

DOI: 10.11964/jfc.20231214265

淡水养殖中华鲟与长江鲟幼鱼海水渗透调节能力比较



王谱渊^{1,2}, 冷小茜^{2*}, 任飞翔^{1,2}, 仲嘉², 程佩琳², 张立宁³, 乔新美², 杜浩^{1,2*}

1. 上海海洋大学海洋生物资源与管理学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 农业农村部淡水生物多样性保护重点实验室, 湖北 武汉 430223; 3. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325700

摘要:

【目的】探讨中华鲟和长江鲟幼鱼适应海水的渗透调节能力的差异。

【方法】实验以淡水养殖的中华鲟和长江鲟幼鱼为研究对象, 采用连续升盐的方式进行海水驯化实验, 分别在驯化过程中盐度为 0、9、19、28 时对中华鲟和长江鲟幼鱼血清渗透压、Na⁺含量、皮质醇、鳃 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性以及鳃组织结构变化等渗透压调节指标进行比较分析。

【结果】随环境盐度的升高, 中华鲟和长江鲟幼鱼血清渗透压均呈升高趋势, 但高渗条件下中华鲟血清渗透压显著低于长江鲟; 同样中华鲟血清 Na⁺含量显著低于长江鲟; 中华鲟幼鱼血清皮质醇含量显著升高, 而长江鲟皮质醇含量无明显变化。鳃 Na⁺/K⁺-ATPase (NKA) 检测结果显示, 中华鲟鳃 NKA 活性在高盐度时显著升高, 长江鲟鳃 NKA 活性在盐度为 9 时升高, 但在高盐度又显著下降。鳃组织 H.E 染色结果显示, 随着盐度的升高, 中华鲟和长江鲟幼鱼泌氯细胞的直径和数量显著增加; 但长江鲟幼鱼在高渗条件下鳃丝出现结构完整性缺失, 鳃小片扁平上皮细胞出现不同程度的脱落或分离现象。

【结论】在高盐环境中, 中华鲟幼鱼具有较强的渗透调节能力和适应能力, 机体可通过激素水平的调节, 增强鳃丝 NKA 活性, 刺激鳃上皮泌氯细胞直径和数量增加, 实现高盐度环境离子外排和渗透压平衡; 而长江鲟幼鱼渗透调节能力较差, 当盐度超过一定的耐受范围, 会对组织结构造成不可逆影响。本研究可为中华鲟陆海接力保种模式探索提供基础数据。

关键词: 中华鲟; 长江鲟; 淡水养殖; 渗透调节

第一作者: 王谱渊, 从事濒危鱼类保护生物学研究, E-mail: wang_puyuan@163.com



通信作者: 冷小茜, 从事濒危水生动物保护生物学研究, E-mail:

lengxiaoqian@yfi.ac.cn;

杜浩, 从事濒危水生动物保护生物学研究, E-mail: duhao@yfi.ac.cn

资助项目: 国家重点研发计划 (2021YFD1200305, 2021YFD1200304); 国家自然科学基金 (32202940)

收稿日期: 2023-12-07

修回日期: 2024-02-26

文章编号:

1000-0615(2025)06-069111-11

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)

盐度是影响鱼类生长发育的重要因子^[1], 外界环境盐度发生变化时, 鱼类通过自身调节机制维持体内渗透压平衡, 从而保持渗透浓度的稳定^[2]。现国内外对于鱼类渗透调节的研究多集中于广盐性鱼类, 如大麻哈鱼 (*Oncorhynchus keta*)^[3]、莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*)^[4]、中国花鲈 (*Lateolabrax maculatus*)^[5-6] 等。鲟形目 (Acipenser-



formes) 鱼类作为软骨硬鳞鱼类普遍具有广盐性, 根据其生活史可分为 4 种类型: 淡咸水洄游型、江海洄游型、河流河口生活型、纯淡水生活型。

中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 和长江鲟 (*A. dabryanus*) 是长江流域的旗舰物种^[7], 近年来, 由于自然资源的严重衰退^[8], 建立人工保种群体、开展增殖放流是目前实现中华鲟和长江鲟野外种群修复的关键措施^[9]。中华鲟和长江鲟属于进化关系中的姐妹种^[10], 拥有河海洄游和淡水定居两种不同的生活史类型, 在幼鱼阶段均生活在长江流域, 中华鲟幼鱼在长江口滩涂觅食, 适应外界环境盐度变化, 调节机体渗透压并完成相关组织器官的适应性发育^[11]; 而长江鲟幼鱼在长江中上游流域及其支流索饵^[12], 未进入海洋生活。作为物种分化的重要特征, 二者在幼鱼阶段对盐度适应的渗透压调节能力可能存在显著差异。已有研究发现淡水养殖中华鲟具有一定海水适应能力^[13-14], 但针对中华鲟渗透调节机制方面尚未有较为系统的研究, 此外对于长江鲟盐度适应力及渗透调节机制的研究尚未见报道。

目前, 关于鲟形目鱼类渗透调节的研究大多采用急性盐度胁迫法, 研究体内发挥渗透调节作用的因素, 如中华鲟^[15-17]、史氏鲟 (*A. schrenckii*)^[18-19]、俄罗斯鲟 (*A. gueldenstaedtii*)^[20] 等, 无法模拟自然条件下鲟对盐度适应的效果。本实验采用连续递增盐度法模拟自然条件下鲟在海水中的适应过程, 探讨中华鲟和长江鲟幼鱼的盐度适应性及渗透调节能力, 为进一步揭示中华鲟和长江鲟环境适应机制和进化关系提供基础数据, 并为中华鲟和长江鲟新的保种模式探索提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验鱼及海水驯化

实验鱼为淡水养殖的子 2 代中华鲟 (2.1 ± 0.1) kg 和长江鲟 (2.2 ± 0.1) kg 幼鱼各 80 尾, 来源于中国水产科学研究院长江水产研究所荆州太湖中华鲟繁育基地。实验地点位于浙江省海洋水产养殖研究所洞头基地。实验前将幼鱼平均分配于 4 个混凝土圆池中, 实验鱼在曝气的自来水中暂养, 待鱼情况稳定后加入当地海水

(盐度 28) 进行海化, 使用手持盐度计实时检测盐度, 以每天升高 1 的速率, 直至当地海水盐度后进行海水养殖。养殖用水采用过滤海水和曝气自来水, 溶解氧为 (7.5 ± 0.5) mg/L, 水温为 (21.4 ± 0.5) °C。使用广东越群海洋生物科技股份有限公司的鲟鱼专用配合饲料, 采取饱食投食方式, 每天投喂 2 次 (投喂时间为 8:00 和 20:00, 按照体重的 0.5% 进行投喂)。实验过程遵守中国水产科学研究院长江水产研究所实验动物福利和相关制度。

1.2 样品采集

分别在盐度为 0、9、19、28 时进行采样, 每个采样时间点, 2 种鲟随机选取 6 尾并测量其生长指数, 经鱼尾部静脉抽取血液, 静脉血静置后以 $3\,000 \times g$ 离心 15 min, 取上层血清移入 1.5 mL 离心管中, 血清置于 -80 °C 超低温冰箱中保存后用于血清渗透压、离子浓度和皮质醇含量的测定。实验鱼经麻醉致死, 采集左侧第二鳃弓鳃丝, 一部分鳃丝用 Bouin 氏液固定后用于组织切片观察, 一部分鳃丝用液氮速冻后置于 -80 °C 超低温冰箱中保存后用于鳃 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ (NKA) 的测定。

1.3 中华鲟和长江鲟幼鱼各指标的测定

血液渗透指标测定 中华鲟和长江鲟幼鱼血清渗透压使用 VAPRO® 5600 血清渗透压仪测定; 血清中 Na^+ 含量采用 GB/T 15337—2008 中的原子吸收光谱法检测; 血清皮质醇采用南京建成生物工程研究所生产的鱼皮质醇酶联免疫检测试剂盒检测, 具体方法参考试剂盒说明书。

鳃 NKA 取鳃丝约 0.02 g, 用生理盐水润洗, 置于 9 倍生理盐水中, 用玻璃匀浆管进行冰水浴匀浆, 4 °C 下以 1 500 r/min 离心 10 min, 使用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定, 具体方法参考试剂盒说明书。

1.4 鳃组织学观察

鳃组织用 Bouin 氏液固定 24 h 后, 用乙醇进行梯度脱水, 经二甲苯透明、浸蜡及包埋, 切片厚度 6 μm , 苏木精伊红 (H.E) 染色。使用组织切片数字扫描仪 (Pannoramic DESK) 扫描, 采用数字切片浏览软件 (CaseViewer2.4) 对鳃丝显微结构中的泌氯细胞直径和泌氯细胞数量进

行测量统计, 每尾鱼随机取 10 个鳃丝, 每组共计 30 个鳃丝 ($n=30$)。泌氯细胞计数为每 100 μm 鳃小片上的泌氯细胞个数^[21-22]。

1.5 数据分析

实验数据使用 SPSS 26.0 软件进行分析, 数据结果用平均值 $\pm$ 标准差 (mean $\pm$ SD), 采用单因素方差分析法 (One-Way ANOVA) 探究组内之间的差异, 并用 Student-Newman-Keul 氏检验法分析组间显著性, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 中华鲟和长江鲟幼鱼海水驯化过程中血清渗透压变化及等渗点计算

盐度对中华鲟和长江鲟幼鱼的血清渗透压有显著影响。中华鲟和长江鲟幼鱼渗透压均随盐度的升高而增加; 盐度 0 时, 中华鲟和长江鲟幼鱼血清渗透压无显著差异 ($P>0.05$); 随着盐度升高, 长江鲟幼鱼血清渗透压显著高于中华鲟 ($P<0.05$); 同盐度 0 时相比, 长江鲟幼鱼在盐度 19 时渗透压增长率是中华鲟幼鱼的 1.6 倍; 长江鲟幼鱼在盐度 28 时渗透压增长率是中华鲟幼鱼的 2.1 倍 (图 1)。

环境渗透压和盐度的变化关系使用线性拟

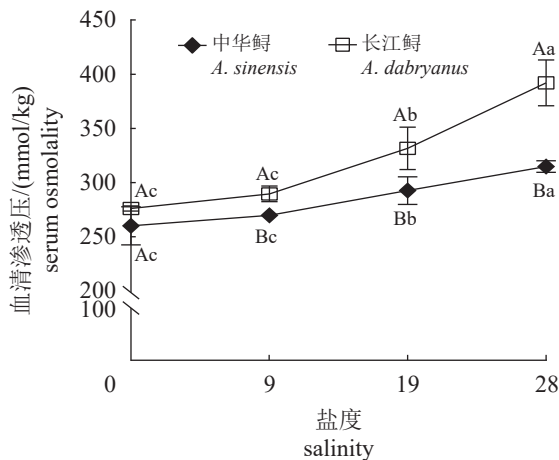


图 1 中华鲟和长江鲟幼鱼海水驯化过程中血清渗透压的变化

标有不同大写字母者表示组间差异显著 ($P<0.05$); 标有不同小写字母者表示组内差异显著 ($P<0.05$), 下同。

Fig. 1 Changes in serum osmolality during seawater acclimation of juvenile *A. sinensis* and *A. dabryanus*

Different capital letters indicate significant differences between groups ($P<0.05$); different lowercase letters indicate significant differences within groups ($P<0.05$), the same below.

合; 中华鲟和长江鲟幼鱼血清渗透压 (mmol/kg) 和盐度之间的关系使用二阶多项式拟合:

$$Y_w = 11.66742 + 28.62436x, R^2 = 0.997;$$

$$Y_{s1} = 259.47587 + 0.96643x + 0.03655x^2, R^2 = 0.997;$$

$$Y_{s2} = 275.90950 + 0.30130x + 0.13743x^2, R^2 = 0.999.$$

式中, Y_w 表示水的渗透压, x 为水的盐度, Y_{s1} 表示中华鲟血清渗透压, Y_{s2} 表示长江鲟血清渗透压, x 为水的盐度。

求解方程得中华鲟幼鱼等渗点为 9.071, 长江鲟幼鱼等渗点为 9.795 (图 2, 图 3)。

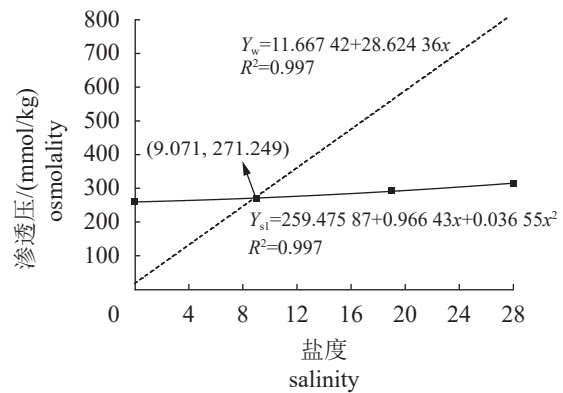


图 2 中华鲟幼鱼血清渗透压和水质盐度之间的关系

Fig. 2 Relationship between serum osmolality and water salinity of juvenile *A. sinensis*

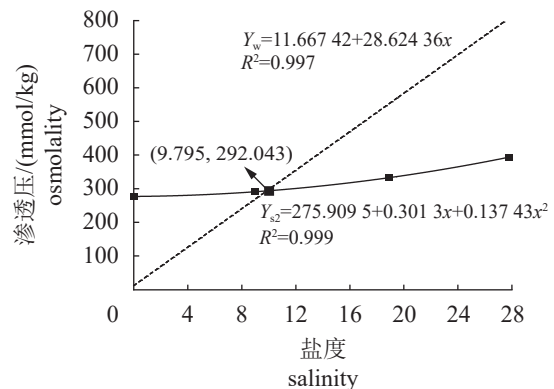


图 3 长江鲟幼鱼血清渗透压和水质盐度之间的关系

Fig. 3 Relationship between serum osmolality and water salinity of juvenile *A. dabryanus*

2.2 中华鲟和长江鲟幼鱼海水驯化过程中血清 Na^+ 含量的变化

盐度对中华鲟和长江鲟幼鱼血清 Na^+ 含量

有较为显著的影响, 随着盐度升高, 总体均呈上升趋势; 各盐度组, 两种鱼血清 Na^+ 含量差异显著 ($P < 0.05$); 盐度 9 时, 长江鲟幼鱼血清 Na^+ 含量显著降低, 而中华鲟幼鱼显著升高; 盐度 19、28 时, 长江鲟幼鱼血清 Na^+ 含量显著升高, 而中华鲟幼鱼血清 Na^+ 含量先降低后升高, 且长江鲟幼鱼血清 Na^+ 含量显著高于中华鲟 ($P < 0.05$)。长江鲟幼鱼 Na^+ 浓度在盐度为 9 组最低, 随后升高, 在盐度 28 时最高; 中华鲟幼鱼 Na^+ 浓度在盐度 19 时最低, 盐度 28 时最高 (图 4)。

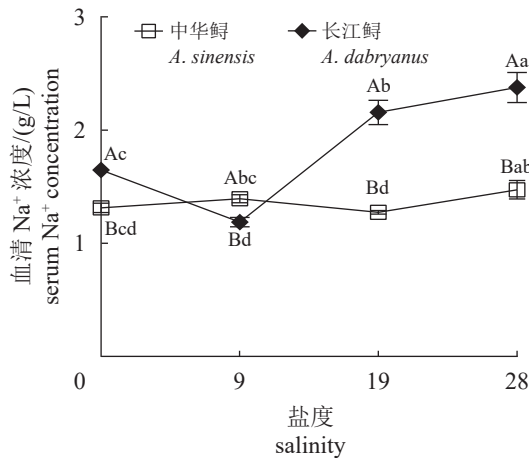


图 4 中华鲟和长江鲟幼鱼在海水驯化过程中血清 Na^+ 含量的变化

Fig. 4 Changes in serum Na^+ content during seawater acclimation of juvenile *A. sinensis* and *A. dabryanus*

2.3 中华鲟和长江鲟幼鱼海水驯化过程中血清皮质醇 (COR) 含量变化

盐度对中华鲟幼鱼血清皮质醇含量有较为显著的影响, 而长江鲟幼鱼随着盐度升高血清皮质醇含量无显著变化; 各盐度组中, 中华鲟幼鱼血清皮质醇含量显著高于长江鲟 ($P < 0.05$)。同盐度 0 时相比, 盐度 9、19 时, 中华鲟幼鱼血清皮质醇含量显著升高; 盐度 28 时, 中华鲟幼鱼血清皮质醇含量显著降低。中华鲟幼鱼血清皮质醇含量在盐度 19 时最高, 随后又恢复到盐度 9 的水平; 长江鲟幼鱼血清皮质醇含量在盐度 19 时最低, 随后恢复到盐度 9 的水平 (图 5)。

2.4 中华鲟和长江鲟幼鱼海水驯化过程中鳃丝 NKA 含量变化

盐度对中华鲟和长江鲟幼鱼鳃丝 NKA 含量有较为显著的影响。随着盐度升高, 中华鲟

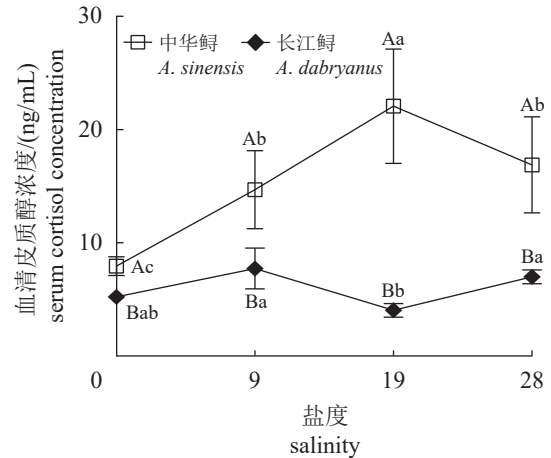


图 5 中华鲟和长江鲟幼鱼海水驯化过程中血清皮质醇含量的变化

Fig. 5 Changes in serum cortisol content during seawater acclimation of juvenile *A. sinensis* and *A. dabryanus*

幼鱼 NKA 含量呈上升趋势, 而长江鲟呈先升高后下降趋势。盐度 0、9 时, 长江鲟幼鱼 NKA 含量显著高于中华鲟 ($P < 0.05$); 盐度 19 和 28 时, 中华鲟幼鱼 NKA 含量显著高于长江鲟 ($P < 0.05$)。长江鲟幼鱼 NKA 含量在盐度 9 时最高, 随后下降, 在盐度 28 时最低; 中华鲟幼鱼 NKA 含量在盐度 28 时最高 (图 6)。

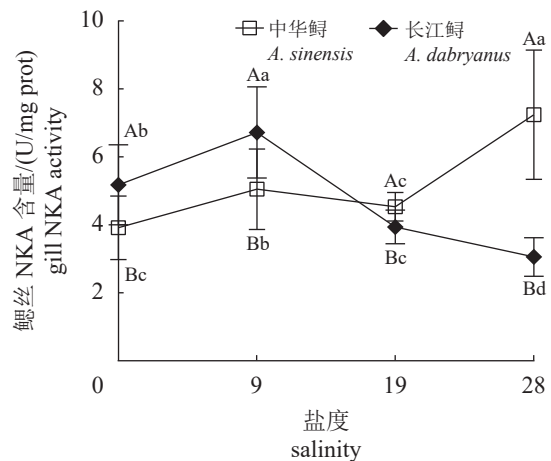


图 6 中华鲟和长江鲟幼鱼海水驯化过程中鳃丝 NKA 活性的变化

Fig. 6 Changes in gill filament NKA activity during seawater acclimation of juvenile *A. sinensis* and *A. dabryanus*

2.5 中华鲟和长江鲟幼鱼海水驯化过程中鳃丝细胞结构变化

盐度 0 时, 中华鲟和长江鲟幼鱼鳃丝细胞

的显微结构组成相似, 鳃丝两侧有较长的鳃小片平行排列, 鳃丝及鳃小片的顶端呈棒状。鳃小片边缘由2层单细胞层组成, 主要由泌氯细胞、血细胞、柱细胞和扁平细胞组成。泌氯细胞常见于鳃小片基部形状近圆形, 染色较深且数量少, 血管腔中含柱细胞和血细胞, 柱细胞多呈梭形(图版 I -1, 图版 II -1)。盐度9时, 中华鲟和长江鲟鳃泌氯细胞的数量和直径略有增大(图版 I -2, 图版 II -2), 且鳃小片间距与盐度0时相比明显增宽; 盐度19时, 长江鲟幼鱼鳃丝基部至鳃丝尾端逐渐缩短, 收缩弯曲, 鳃小片边缘的扁平上皮细胞出现空腔, 扁平上皮分离, 细胞排列疏松间隙增加, 而中华鲟幼鱼泌氯细胞数量增多, 多集中在鳃丝与鳃小片基部, 胞体较大, 鳃小片较盐度0时变窄, 鳃小片间隙增大(图版 I -3, 图版 II -3)。盐度28时, 长江鲟幼鱼鳃小片边缘的扁平上皮出现脱落, 且泌氯细胞游离出来, 而中华鲟幼鱼泌氯细胞数量增多, 逐渐向鳃小片中部扩散分布, 泌氯细胞

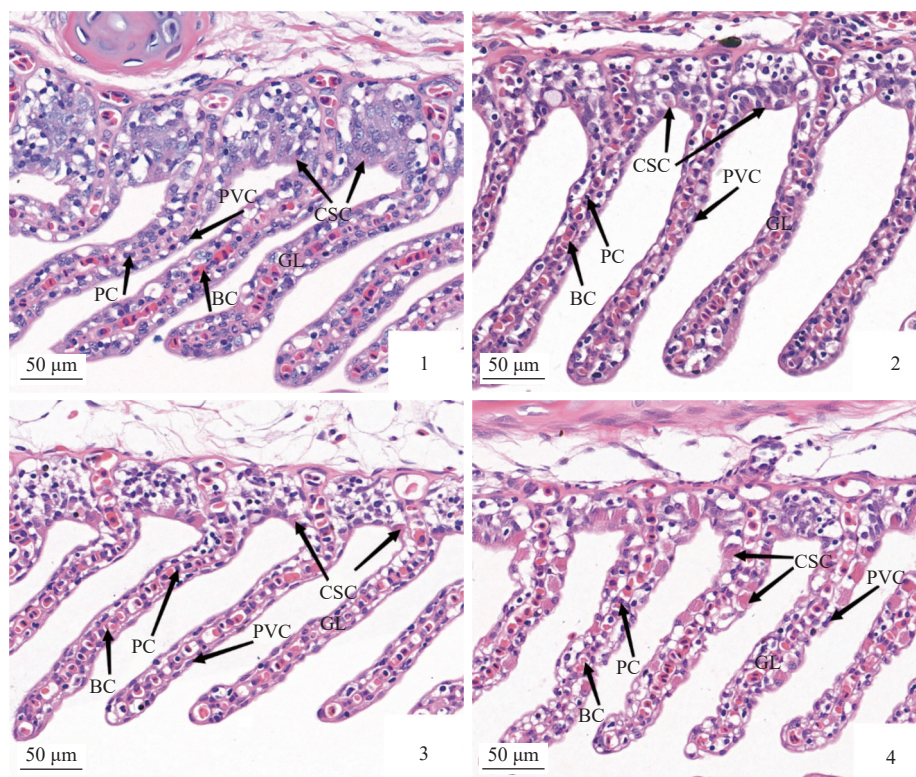
显著增大(图版 I -4, 图版 II -4)。

经测量, 随盐度升高, 中华鲟和长江鲟幼鱼泌氯细胞数量显著增加 ($P<0.05$) (表1), 且中华鲟幼鱼泌氯细胞直径显著增大 ($P<0.05$) (表1)。

3 讨论

3.1 中华鲟和长江鲟幼鱼海化过程中血清渗透压及离子浓度的变化差异

鱼类在适应外界环境盐度变化时, 为维持渗透压的平衡, 机体主要是通过 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 等的吸收与外排^[23-24], 急性盐度转移过程中, 血清渗透压和 Na^+/Cl^- 浓度变化最明显。研究发现, 广盐性鰕鳊 (*Atractosteus spatula*) 幼鱼分别在盐度0、8、16和24的水体中养殖30 d后, 血清 Na^+ 和 Cl^- 含量随盐度增高而显著增加^[25]。当广盐性海水鱼类进入淡水后, 鳃 NKA 活性降低, 减少细胞内 Na^+ 的泵出及 K^+ 的吸收, 从而维持内环境与外界水体中离子浓度平衡^[26]。

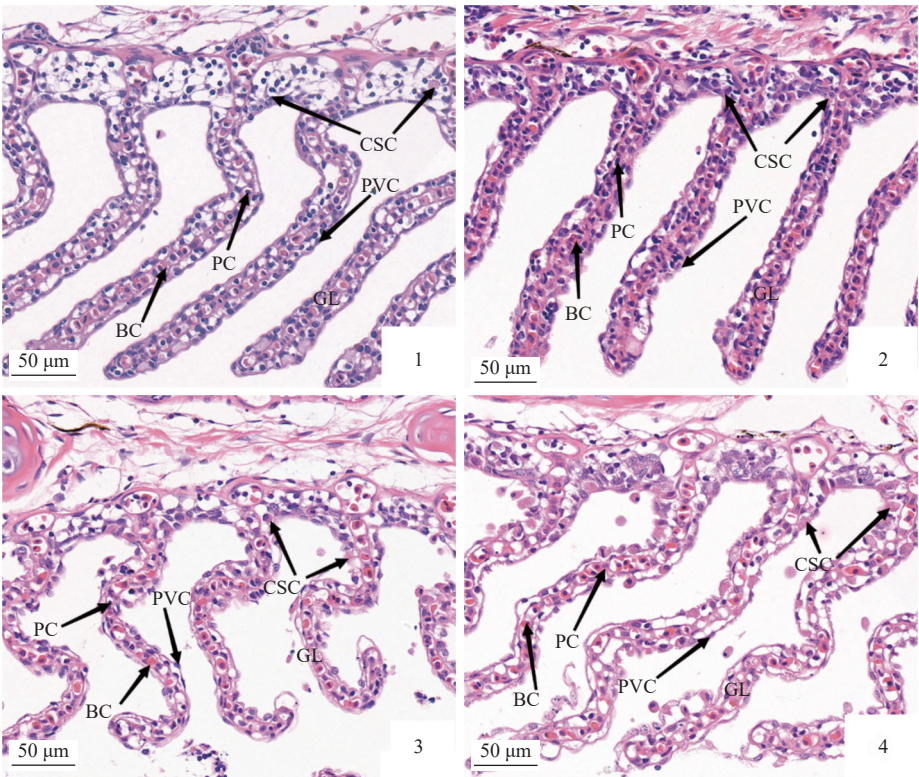


图版 I 不同盐度下中华鲟幼鱼鳃丝组织切片 (H.E) (20×)

1. 盐度0, 2. 盐度9, 3. 盐度19, 4. 盐度28。PVC. 扁平上皮细胞, BC. 血细胞, PC. 柱细胞, CSC. 泌氯细胞, GL. 鳃小片, 下同。

Plate I Gill filaments of juvenile *A. sinensis* at different salinities

1. salinity 0, 2. salinity 9, 3. salinity 19, 4. salinity 28. PVC. pavement cell, BC. blood cell, PC. pillar cell, CSC. chloride secreting cell, GL. gill lamellae, the same below.



图版 II 不同盐度下长江鲟幼鱼鳃丝组织切片 (H.E) (20×)

Plate II Gill filaments of juvenile *A. dabryanus* at different salinities

表 1 不同盐度对中华鲟和长江鲟幼鱼鳃泌氯细胞的影响

盐度 salinity	泌氯细胞直径/ μm chloride cells diameter		泌氯细胞数量/(个/ $100\ \mu\text{m}$) chloride cells no.	
	中华鲟 <i>A. sinensis</i>	长江鲟 <i>A. dabryanus</i>	中华鲟 <i>A. sinensis</i>	长江鲟 <i>A. dabryanus</i>
0	4.67 $\pm$ 0.39 ^d	4.17 $\pm$ 0.29 ^d	5.22 $\pm$ 1.63 ^d	5.72 $\pm$ 1.32 ^c
9	6.41 $\pm$ 0.21 ^c	5.22 $\pm$ 0.19 ^c	6.39 $\pm$ 1.85 ^{bc}	6.44 $\pm$ 1.38 ^{bc}
19	7.41 $\pm$ 0.29 ^b	7.18 $\pm$ 0.17 ^b	7.17 $\pm$ 2.18 ^b	6.78 $\pm$ 1.35 ^{ab}
28	11.23 $\pm$ 1.03 ^a	9.77 $\pm$ 0.33 ^a	8.78 $\pm$ 2.10 ^a	7.33 $\pm$ 1.71 ^a

注：同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

Notes: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

本研究中, 中华鲟和长江鲟幼鱼血清渗透压随盐度升高显著升高, 此适应期渗透压的变化和短吻鲟 (*A. brevirostrum*) 幼鱼的盐度适应相一致, 血清渗透压随盐度增加而增加^[27], 但同盐度 0 时相比, 长江鲟幼鱼在盐度 19 时渗透压增长率是中华鲟幼鱼的 1.6 倍; 长江鲟幼鱼在盐度 28 时渗透压增长率是中华鲟幼鱼的 2.1 倍, 可以看出, 中华鲟和长江鲟幼鱼渗透调节能力不同, 高渗环境时长江鲟幼鱼血清渗透压显著高于中华鲟。中华鲟和长江鲟幼鱼血清渗透压和 Na^+ 浓度都随着盐度的升高呈上升趋势, 其

血清渗透压和离子含量与盐度变化呈正相关。

通过对中华鲟和长江鲟幼鱼血清渗透压和盐度之间的关系进行二阶多项式拟合, 求得中华鲟幼鱼等渗点约为 9.071, 长江鲟幼鱼等渗点约为 9.795。在等渗点附近, 长江鲟幼鱼 Na^+ 浓度显著下降, 可能是由于此时长江鲟幼鱼的渗透调节机制被激活, Na^+ 被排出。随着盐度升高, 中华鲟幼鱼血清 Na^+ 含量稳定在适宜范围内, 而长江鲟 Na^+ 含量显著升高, 超出自身离子排出能力, 最终导致渗透压显著升高。这与盐度环境超过 9.06 时, 西伯利亚鲟 (*A. baerii*) 不能保

持血清渗透压和电解质平衡的结果一致^[28]。

3.2 中华鲟和长江鲟幼鱼海化过程中血清激素含量的变化差异

研究表明, 高盐度胁迫时皮质醇促进鱼类离子转运, 刺激鱼类鳃上皮氯细胞密度增加, 增强鳃细胞 NKA 活性, 从而使 NKA mRNA 的表达水平增强, 使过多的盐分排出体外, 进而增加鱼体盐度耐受力, 以适应盐度变化^[29]。随着盐度升高, 越洋公鱼 (*Hypomesus transpacificus*) 皮质醇含量升高^[30]; 褐点石斑鱼 (*Epinephelus fuscoguttatus*) 在不同盐度中, 相比于对照组, 高盐度组中血清皮质醇水平显著升高^[31]。可见, 洄游性鱼类为适应低盐度向高盐度环境的变化, 皮质醇含量的升高尤为重要。

本研究中, 随着盐度升高中华鲟血清皮质醇含量升高, 且中华鲟幼鱼的血清皮质醇含量变化显著高于长江鲟幼鱼, 说明中华鲟在环境盐度变化后, 可以快速通过下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPI) 分泌的促肾上腺皮质激素, 应对环境盐度变化。而长江鲟幼鱼血清皮质醇在盐度 0 到 9 变化过程时, 有上升趋势, 是因为长江鲟幼鱼在盐度提升后 Na^+ 含量升高刺激皮质醇的分泌, 激素调节发挥作用适应盐度变化, 当盐度上升到 19 和 28 时, Na^+ 含量过高, 激素调控受到抑制, 因而分泌的皮质醇含量减少, 这与虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[32] 在盐度胁迫时的变化相似, 说明低盐度时长江鲟幼鱼可以调控皮质醇含量适应盐度变化; 在高盐度时, 长江鲟无法通过激素皮质醇进行调控。童燕等^[33] 研究发现, 盐度胁迫可导致施氏鲟血清皮质醇浓度先升高再下降后趋于稳定。这一结果表明不同鱼类对胁迫的敏感性及适应能力是不同的, 其血液皮质醇浓度随着盐度变化存在一定差异。

3.3 中华鲟和长江鲟幼鱼海化过程中 NKA 活性的变化差异

鳃丝中 NKA 活性对于鱼类的正常呼吸和离子平衡至关重要, 它确保了鳃丝能够有效地进行离子和气体交换。通过水解 ATP 获得制造离子和电子梯度的能力, 并为 Na^+/K^+ 分泌和吸收提供主要驱动力^[34]。不同物种甚至相同物种的不同组织中 NKA 活性受盐度影响的程度存在差异^[35-36]。鳃丝 NKA 活性上升, 可能由于鳃丝

上泌氯细胞数量增多, 使鳃 NKA 表达量增加。在对中吻鲟 (*A. medirostris*)^[37]、俄罗斯鲟^[20]、纳氏鲟 (*A. naccarii*)^[38] 幼鱼研究中发现, 随着盐度的升高, 鳃丝 NKA 活性逐渐上升。而广盐性鱼类如大麻哈鱼, 随着盐度的升高, 幼鱼鳃中 NKA 活性呈现出先升高后下降趋势^[39]。

在本研究中, 中华鲟幼鱼随着盐度的升高, 鳃丝 NKA 活性总体呈上升趋势。长江鲟幼鱼鳃丝 NKA 活性呈现先升高后下降趋势。长江鲟幼鱼从低渗到等渗, 血清皮质醇含量升高, 鳃丝 NKA 活性增强, 使机体 Na^+ 浓度显著降低; 到高渗条件后 NKA 活性降低, 无法为离子转运提供能量, 使血清渗透压和离子浓度持续升高, 这与大麻哈鱼的研究结果相似^[39]。而中华鲟幼鱼在外界盐度升高后, 可以通过皮质醇刺激鳃上皮泌氯细胞密度增加, 增强鳃内 NKA 活性, 使血清渗透压及离子浓度稳定在一个适宜范围内。

3.4 中华鲟和长江鲟幼鱼海化过程中鳃丝细胞结构的变化差异

鳃是鱼类渗透调节的重要器官之一, 随着外界环境盐度变化, 鳃丝也会发生相应的适应性变化^[40]。不同鱼类的鳃丝在细胞结构和数量上存在显著差异, 但组成鳃表皮的细胞类型相同, 主要为扁平上皮细胞、泌氯细胞和黏液细胞^[41]。其中扁平上皮细胞主要参与呼吸作用, 黏液细胞主要有支持和保护作用, 泌氯细胞主要作为离子调节的重要细胞。已有研究表明, 泌氯细胞的形态结构、分布和数量会随着生活环境渗透压条件的改变而发生适应性变化^[42]。在本研究中, 随着盐度的升高, 中华鲟幼鱼泌氯细胞数量和直径显著增大。这一结果和红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*)^[21] 幼鱼鳃丝在显微镜观察结果一致。中华鲟幼鱼在达到高渗环境后, 鱼体通过下丘脑-垂体-肾上腺轴分泌的皮质醇, 刺激鳃上皮氯细胞密度增加, 增强鳃内 NKA 活性, 促使过多的离子排出体外, 维持渗透压平衡。这与珍珠龙胆石斑鱼在高渗环境中^[22] 的研究结果相似。

随着盐度升高, 在盐度为 9 时, 长江鲟幼鱼鳃丝泌氯细胞数量和直径显著增大, 鳃 NKA 活性增强, 同时血清 Na^+ 浓度显著降低, 说明长江鲟幼鱼在等渗点盐度附近时, 可以通过体内渗透调节适应外界环境盐度变化。当盐度分

别达到 19、28 时, 虽然泌氯细胞数量和直径显著增大, 但是血清渗透压显著升高, 同时鳃内 NKA 活性减弱、血清 Na^+ 浓度显著升高、鳃小片扁平上皮细胞结构损伤且有细胞游离到鳃小片间隙中, 这与鲮 (*Mugil cephalus*) 幼鱼鳃在高渗环境中的变化相似^[43], 说明在高盐度条件下, 虽然鳃丝泌氯细胞形态发生变化, 但盐度超过其渗透调节能力时, 长江鲟幼鱼无法做出适应性调整。

本实验通过对中华鲟和长江鲟幼鱼在血液生化、NKA 活性、鳃组织结构等渗透调节不同层面的差异进行分析, 结果发现, 中华鲟幼鱼具有较强的渗透调节能力, 机体可通过激素水平的调节增强鳃丝 NKA 活性, 刺激鳃上皮泌氯细胞直径和数量增加, 实现高盐度环境离子外排和渗透压平衡; 长江鲟幼鱼在低盐环境中有一定的渗透调节能力, 但当盐度超过其耐受范围时离子外排能力降低, 最终导致机体不可逆损失。有关中华鲟和长江鲟幼鱼离子转运机制差异将进一步研究。

参考文献 (References):

- [1] 蔡星媛, 张秀梅, 田璐, 等. 盐度胁迫对魁蚶稚贝血淋巴渗透压及鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响 [J]. 南方水产科学, 2015, 11(2): 12-19.
Cai X Y, Zhang X M, Tian L, et al. Effect of salinity stress on hemolymph osmolality and gill Na^+/K^+ -ATPase activity of juvenile ark shell (*Anadara broughtonii*) [J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(2): 12-19 (in Chinese).
- [2] Kang C K, Yang W K, Lin S T, et al. The acute and regulatory phases of time-course changes in gill mitochondrion-rich cells of seawater-acclimated medaka (*Oryzias latipes*) when exposed to hypoosmotic environments [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2013, 164(1): 181-191.
- [3] Taniyama N, Kaneko N, Inatani Y, et al. Effects of seawater transfer and fasting on the endocrine and biochemical growth indices in juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) [J]. General and Comparative Endocrinology, 2016, 236: 146-156.
- [4] Breves J P, Hasegawa S, Yoshioka M, et al. Acute salinity challenges in Mozambique and Nile tilapia: differential responses of plasma prolactin, growth hormone and branchial expression of ion transporters [J]. General and Comparative Endocrinology, 2010, 167(1): 135-142.
- [5] 王孝杉, 方秀, 彭士明, 等. 盐度骤变对花鲈血清及肝脏代谢酶、抗氧化酶活力及皮质醇含量的影响 [J]. 海洋渔业, 2021, 43(3): 340-349.
Wang X S, Fang X, Peng S M, et al. Impact of abrupt salinity changes on activity of metabolic enzymes, antioxidant enzymes and cortisol content in serum and liver of *Lateolabrax maculatus* [J]. Marine Fisheries, 2021, 43(3): 340-349 (in Chinese).
- [6] 张晓燕, 温海深, 张凯强, 等. 花鲈等渗点分析及海水淡化对 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ 浓度、 Na^+/K^+ -ATP 酶活性及基因表达的影响 [J]. 水产学报, 2018, 42(8): 1199-1208.
Zhang X Y, Wen H S, Zhang K Q, et al. Analysis of the isotonic point and effects of seawater desalination on the $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ concentration, Na^+/K^+ -ATPase activity and relative gene expressions in *Lateolabrax maculatus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(8): 1199-1208 (in Chinese).
- [7] 王连龙, 王华. 长江鱼类生物多样性与保护对策 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(21): 12876-12877.
Wang L L, Wang H. Status and strategy for protection of fishes in Changjiang River [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(21): 12876-12877 (in Chinese).
- [8] 许兰馨, 周亮, 危起伟. 长江鲟类资源现状及保护 [J]. 水产学报, 2023, 47(2): 029304.
Xu L X, Zhou L, Wei Q W. Stock status and conservation dilemma of species of Acipenseriformes in the Yangtze River and relevant suggestions [J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(2): 029304 (in Chinese).
- [9] 罗江, 杜浩, 危起伟, 等. 濒危中华鲟人工群体的繁殖生物学 [J]. 中国水产科学, 2020, 27(3): 269-276.
Luo J, Du H, Wei Q W, et al. Reproductive biology of an artificial population of endangered Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(3): 269-276 (in Chinese).
- [10] 姜明, 刘焕章. 鲟形目鱼类重要形态与生态特征的演化格局与适应策略 [J]. 水生生物学报, 2023, 47(12): 1932-1951.
Jiang M, Liu H Z. Evolutionary pattern and adaptive strategies of key morphological and ecological characters in the Acipenseriformes [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2023, 47(12): 1932-1951 (in Chinese).
- [11] 危起伟. 从中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 生活史剖析其物种保护: 困境与突围 [J]. 湖泊科学, 2020, 32(5): 1297-1319.
Wei Q W. Conservation of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) based on its life history: dilemma and breakthrough [J]. Journal of Lake Sciences, 2020, 32(5): 1297-1319 (in Chinese).
- [12] 杜浩. 达氏鲟的保护养殖: 丰容环境中仔幼鱼的生存适应性

- [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- Du H. Conservation aquaculture of Dabry's sturgeon (*Acipenser dabryanus*): fitness for survival of the fingerlings and juveniles from enriched rearing environment[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [13] 李伟. 盐度对中华鲟生长的影响机制及中华鲟的等渗点分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- Li W. Mechanisms of salinity effects on growth performance and isosmotic point calculation in anadromous fish, Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [14] 秦少宗, 冷小茜, 罗江, 等. 中华鲟幼鱼渗透调节器官组织结构在海水条件下的适应性调整 [J]. 渔业科学进展, 2021, 42(4): 82-89.
- Qin S Z, Leng X Q, Luo J, *et al.* Adaptive adjustment of osmotic organ structure of juvenile Chinese sturgeon in seawater conditions[J]. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(4): 82-89 (in Chinese).
- [15] 刘娟娟, 王京树, 赵珣, 等. 不同盐度和驯养时间中华鲟子二代幼鱼鳃的显微结构变化 [J]. 水生态学杂志, 2015, 36(1): 60-65.
- Liu J J, Wang J S, Zhao X, *et al.* Microstructure changes in the gill epithelia of second filial *Acipenser sinensis* juvenile acclimated to various Salinities for different time[J]. Journal of Hydroecology, 2015, 36(1): 60-65 (in Chinese).
- [16] He X G, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Osmoregulation in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) during brackish water adaptation[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2009, 35(2): 223-230.
- [17] Zhao F, Qu L, Zhuang P, *et al.* Salinity tolerance as well as osmotic and ionic regulation in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray, 1835) exposed to different salinities [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2011, 27(2): 231-234.
- [18] 冯广朋, 庄平, 赵峰, 等. 不同盐度海水驯养中氏鲟血清激素浓度的变化 [J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(4): 317-322.
- Feng G P, Zhuang P, Zhao F, *et al.* Changes of serum hormone levels during seawater acclimation in Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*)[J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2007, 16(4): 317-322 (in Chinese).
- [19] Zhao F, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Changes in growth and osmoregulation during acclimation to saltwater in juvenile Amur sturgeon *Acipenser schrenckii*[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2010, 28(3): 603-608.
- [20] 屈亮, 庄平, 章龙珍, 等. 盐度对俄罗斯鲟幼鱼血清渗透压、离子含量及鳃丝 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响 [J]. 中国水产科学, 2010, 17(2): 243-251.
- Qu L, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Influence of salinity change on serum osmolality, ions and gill Na^+/K^+ -ATPase activity in juvenile Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(2): 243-251 (in Chinese).
- [21] 孙梦蕾, 蒋洁兰, 王莉苹, 等. 低盐胁迫下红鳍东方鲀幼鱼鳃、肾和肠组织结构的变化 [J]. 广东海洋大学学报, 2016, 36(6): 38-43.
- Sun M L, Jiang J L, Wang L P, *et al.* Structural changes in gill, kidney and intestine of juvenile *Takifugu rubripes* under low salinity treatment[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2016, 36(6): 38-43 (in Chinese).
- [22] 刘龙龙, 罗鸣, 陈傅晓, 等. 盐度对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长及鳃肾组织学结构的影响 [J]. 大连海洋大学学报, 2019, 34(4): 505-510.
- Liu L L, Luo M, Chen F X, *et al.* Effects of salinity on growth, and gill and kidney histological structures of juvenile pearl gentian grouper[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2019, 34(4): 505-510 (in Chinese).
- [23] Kaneko T, Watanabe S, Lee K M. Functional morphology of mitochondrion-rich cells in euryhaline and stenohaline Teleosts[J]. Aqua-BioScience Monographs, 2008, 1(1): 1-62.
- [24] El-Leithy A A A, Hemeda S A, Abd El Naby W S H, *et al.* Optimum salinity for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth and mRNA transcripts of ion-regulation, inflammatory, stress- and immune-related genes[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2019, 45(4): 1217-1232.
- [25] Schwarz D E, Allen P J. Effects of salinity on growth and ion regulation of juvenile alligator gar *Atractosteus spatula*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2014, 169: 44-50.
- [26] Sakamoto T, Uchida K, Yokota S. Regulation of the ion-transporting mitochondrion-rich cell during adaptation of teleost fishes to different salinities[J]. Zoological Science, 2001, 18(9): 1163-1174.
- [27] Ziegeweid J R, Black M C. Hematocrit and plasma osmolality values of young-of-year shortnose sturgeon following acute exposures to combinations of salinity and temperature[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2010, 36(4): 963-968.
- [28] Rodríguez A, Gallardo M A, Gisbert E, *et al.* Osmoregulation in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*)[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2002, 26(4): 345-354.

- [29] Madsen S S, Kiilerich P, Tipsmark C K. Multiplicity of expression of Na^+ , K^+ -ATPase α -subunit isoforms in the gill of Atlantic salmon (*Salmo salar*): cellular localisation and absolute quantification in response to salinity change[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2009, 212(1): 78-88.
- [30] Hasenbein M, Komoroske L M, Cannon R E, *et al.* Turbidity and salinity affect feeding performance and physiological stress in the endangered delta smelt[J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2013, 53(4): 620-634.
- [31] Masroor W, Farcy E, Gros R, *et al.* Effect of combined stress (salinity and temperature) in European sea bass *Dicentrarchus labrax* osmoregulatory processes[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2018, 215: 45-54.
- [32] 班红琴, 吴垠, 李阳, 等. 盐度驯化过程中虹鳟血清渗透压、激素水平及离子组成的变化 [J]. *大连海洋大学学报*, 2010, 25(6): 551-555.
- Ban H Q, Wu Y, Li Y, *et al.* The changes in osmotic pressure, concentrations of hormones, and ion composition in serum of rainbow trout during salinity acclimation[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2010, 25(6): 551-555 (in Chinese).
- [33] 童燕, 陈立桥, 庄平, 等. 急性盐度胁迫对施氏鲟的皮质醇、代谢反应及渗透调节的影响 [J]. *水产学报*, 2007, 31(S1): 38-44.
- Tong Y, Chen L Q, Zhuang P, *et al.* Cortisol, metabolism response and osmoregulation of juvenile *Acipenser schrenckii* to ambient salinity stress[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(S1): 38-44 (in Chinese).
- [34] Zhang X Y, Wen H S, Qi X, *et al.* Na^+ - K^+ -ATPase and *nka* genes in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) and their involvement in salinity adaptation[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2019, 235: 69-81.
- [35] 孙鹏, 彭士明, 尹飞, 等. 盐度对条石鲷幼鱼 Na^+ - K^+ -ATP 酶活性的影响 [J]. *水产学报*, 2010, 34(8): 1204-1209.
- Sun P, Peng S M, Yin F, *et al.* Effects of salinity on activity of Na^+ - K^+ -ATPase in juvenile *Oplegnathus fasciatus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(8): 1204-1209 (in Chinese).
- [36] 吴庆元, 蒋玫, 李磊, 等. 低盐度胁迫对鲮鱼 (*Mugil cephalus*) 幼鱼鳃丝、肌肉、肠 Na^+ - K^+ -ATP 酶活性和 MDA 含量的影响 [J]. *生态与农村环境学报*, 2014, 30(4): 481-487.
- Wu Q Y, Jiang M, Li L, *et al.* Effects of chronic stress of lower salinity on activity of Na^+ - K^+ -ATPase and content of MDA in branchial filament, muscle, intestine of juvenile mullet (*Mugil cephalus*)[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2014, 30(4): 481-487 (in Chinese).
- [37] Allen P J, Cech J J Jr, Kültz D. Mechanisms of seawater acclimation in a primitive, anadromous fish, the green sturgeon[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2009, 179(7): 903-920.
- [38] McKenzie D J, Cataldi E, Di Marco P, *et al.* Some aspects of osmotic and ionic regulation in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii*. II: morpho-physiological adjustments to hyperosmotic environments[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 1999, 15(4 - 5): 61-66.
- [39] 李培伦, 刘伟, 王继隆, 等. 盐度对大麻哈鱼幼鱼存活率、鳃 ATP 酶活力及其组织结构的影响 [J]. *水生生物学报*, 2020, 44(3): 562-569.
- Li P L, Liu W, Wang J L, *et al.* Effects of salinity on survival rate, gill atpase activity and gill structure of juveniles chum salmon[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, 44(3): 562-569 (in Chinese).
- [40] 吴贝贝. 长江口中华鲟幼鱼鳃氯细胞的形态结构及盐度适应性变化 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.
- Wu B B. The morphological structure and variation in salinity adaptability of chloride cells on the gills of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in Yangtze Estuary[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014 (in Chinese).
- [41] 温久福, 蓝军南, 曹明, 等. 盐度对花鲈幼鱼鳃、脾及肌肉组织结构的影响 [J]. *渔业科学进展*, 2020, 41(1): 112-118.
- Wen J F, Lan J N, Cao M, *et al.* Effects of salinity on the histological structure of the gills, spleen, and muscle in *Lateolabrax maculatus* juveniles[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(1): 112-118 (in Chinese).
- [42] Wilson J M, Laurent P. Fish gill morphology: inside out[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 2002, 293(3): 192-213.
- [43] 于娜, 李加儿, 区又君, 等. 不同盐度下鲮鱼幼鱼鳃和肾组织结构变化 [J]. *生态科学*, 2012, 31(4): 424-428.
- Yu N, Li J E, Ou Y J, *et al.* Structural changes in gill and kidney of juvenile grey mullet under different salinity[J]. *Ecological Science*, 2012, 31(4): 424-428 (in Chinese).

Comparative analysis of osmoregulatory capacity in freshwater-cultured juveniles of *Acipenser sinensis* and *A. dabryanus*

WANG Puyuan^{1,2}, LENG Xiaoqian^{2*}, REN Feixiang^{1,2}, ZHONG Jia², CHENG Peilin²,
ZHANG Lining³, QIAO Xinmei², DU Hao^{1,2*}

1. College of Marine Living Resource Sciences and Management, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,
Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;

3. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325700, China

Abstract: *Acipenser sinensis* and *Acipenser dabryanus* are flagship species in the Yangtze River Basin. Due to the severe decline of natural resources, establishing artificial conservation populations and breeding and releasing them have become key measures for repairing wild populations. *A. sinensis* and *A. dabryanus* belong to the sisters species in the evolutionary relationship. As an important feature of species differentiation, the difference in natural life history suggests that there may be a huge difference in the osmotic pressure regulation mechanism of salinity adaptation between the two at the juvenile stage. The migratory habits of sturgeons give them unique living habits in rivers and oceans. Studying the osmotic regulation of sturgeons is of great significance for understanding their physiological characteristics and protecting this rare species. In order to investigate the difference of osmotic adjustment ability of juvenile *A. sinensis* and *A. dabryanus* in adapting to seawater. Freshwater cultured juvenile *A. sinensis* and *A. dabryanus* as research subjects, and the seawater domestication experiment was carried out by continuous salt elevation. The osmotic pressure, Na⁺ content, cortisol, gill Na⁺/K⁺-ATPase (NKA) activity and gill tissue structure changes of juvenile *A. sinensis* and *A. dabryanus* were compared and analyzed at 0, 9, 19, 28 during acculturation. The results of serum indexes showed that the serum osmotic pressure of juvenile *A. sinensis* and *A. dabryanus* increased with the increase of environmental salinity, but the serum osmotic pressure of *A. sinensis* was significantly lower than that of *A. dabryanus* at high salinity. Similarly, the serum Na⁺ content of *A. sinensis* was significantly lower than that of *A. dabryanus*. The serum cortisol content of juvenile *A. sinensis* increased significantly, while that of *A. dabryanus* had no significant change. Gill NKA test results showed that the gill NKA activity of *A. sinensis* increased significantly at high salinity, and that of *A. dabryanus* increased at 9 ppt, but decreased significantly at high salinity. H&E staining of gill tissue showed that the diameter and number of secreting chlorine cells of juvenile Chinese and *A. dabryanus* increased significantly with the increase of salinity. However, under the condition of hyperosmosis, the gill filaments of juvenile Yangtze River sturgeon showed complete loss of structure, and the flat epithelial cells of gill lamella showed different degrees of shedding or separation. The results showed that juvenile *A. sinensis* had strong osmotic regulation and adaptability in a high salinity environment. The body could enhance gill filament NKA activity through the regulation of hormone levels, stimulate the increase in the diameter and number of gill epithelial chlorine cells, and achieve ion exhalation and osmotic pressure balance in a high salinity environment. However, the salinity adaptation range of juvenile *A. dabryanus* is poor and when the salinity exceeds a certain tolerance range, it will cause irreversible effects on the organizational structure. The findings provided basic data for the exploration of land-sea relay protection model of *A. sinensis*.

Key words: *Acipenser sinensis*; *Acipenser dabryanus*; cultured in fresh water; osmotic regulation

Corresponding authors: LENG Xiaoqian. E-mail: lengxiaoqian@yfi.ac.cn;

DU Hao. E-mail: duhao@yfi.ac.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China (2021YFD1200305, 2021YFD1200304); National Natural Science Foundation of China (32202940)