

doi: 10.7541/2020.069

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

李培伦¹ 刘伟¹ 王继隆¹ 鲁万桥¹ 崔康成^{1,2} 高文燕^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 为研究不同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, 试验共设置4个盐度组(S0、S8、S16、S24), 试验周期42d, 解剖取鱼鳃测定ATP酶活力, 并运用组织切片及扫描电镜技术观察其鳃组织结构的变化。结果显示: S8和S16组大麻哈鱼幼鱼存活率最高, 均达到98.89%, S0组存活率为94.45%, 而S24组存活率最低, 为83.34%。随着盐度的升高, 大麻哈鱼幼鱼鳃组织 Na^+/K^+ -ATP和 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶活力均呈现出先升高后下降的趋势且酶活力最高的均为S8组、最低的为S24组。鳃丝宽度随盐度升高逐渐增大且各组之间呈现出显著性差异($P<0.05$), 而鳃小片长度和宽度均随盐度升高逐渐减小。扫描电镜结果表明随着盐度的升高线粒体丰富细胞数量逐渐增多、顶膜变小且微绒毛消失; 同S0组相比, S8组和S16组鳃丝表面扁平上皮细胞之间的轮廓更加清楚且环形微脊条纹清晰, 而S24组鳃丝表面扁平上皮细胞之间界限模糊, 环形微脊间有融合或间断情况; 鳃小片底部扁平上皮细胞表层结构由清晰逐渐变得混乱、气孔数量逐渐减少且孔径变小。因此推测大麻哈鱼幼鱼在降海阶段适宜的盐度生存范围可能介于8‰—16‰, 具体有待进一步研究。

关键词: 大麻哈鱼; 盐度; 鳃丝; 鳃小片; 线粒体丰富细胞

中图分类号: Q178.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2020)03-0562-08

一般来讲, 鱼类为更好地适应其生存的水环境, 在长期进化过程中形成了良好的渗透压调节机制, 面对水体环境的变化, 能够及时做出适应性调节以便更好地生存, 其中盐度作为水体环境中重要的生态因子, 会对鱼类的生存、生长发育、新陈代谢和渗透压等产生一定程度的影响^[1,2]。鱼鳃不仅是绝大多数硬骨鱼类的呼吸器官, 同时还具备调节机体渗透压平衡、体液pH、离子转运和排泄氨氮等重要功能^[3,4]。诸多研究表明^[5-10], 广盐性鱼类具有较高的盐度生存范围, 在其海淡水适应过程中, 鱼鳃的结构、生理功能等会产生明显的适应性改变, 主要体现在鳃丝宽度、鳃小片大小及间距、线粒体丰富细胞的数量及其顶膜形态、ATP酶活力等方面。

大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta* Walbaum), 俗称太平洋鲑、秋鲑、大马哈鱼等, 属鲑形目(Salmoniformes)、鲑科(Salmonidae)、大麻哈鱼属(*Oncorhynchus*), 其自然分布于北纬35°—73°, 东经120°—123°的太平洋、北冰洋海域及其有出海口的河流, 终生只进行一次繁殖, 繁殖后亲体死亡, 为典型的溯河生殖洄游型冷水性鱼类^[11,12]。大麻哈鱼在进入其出生地淡水河流产卵繁殖之前需要在海洋中度过大部分生命旅程, 淡水中孵化生长的幼鱼在体重1 g左右时开始由淡水进入海水进行盐化过渡以逐步适应高盐度的海水环境^[13]。目前, 国内外有关大麻哈鱼的研究报道较多, 主要集中在种群结构生物学^[14-17]、耳石标记技术^[18,19]、嗅觉印记^[20]、幼鱼生长特征^[21-23]等方面, 而有关在不同盐度条件下大麻哈鱼幼鱼鳃丝结构形态、ATP酶活力等方面的报道较少。本文对不同盐度条件下大麻哈鱼幼鱼成活率、鱼鳃组织结构及其ATP酶活力响应情况等进行了研究, 不仅能够丰富大麻哈鱼在降海洄游方面的生理生态资料, 还可为进一步探索其降海洄游过程中渗透压调节机理提供科学基础。

收稿日期: 2019-03-28; 修订日期: 2019-08-19
基金项目: 农业农村部财政专项物种资源保护项目(2010-2019); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(HSY201712Q)资助 [Supported by the Species Resources Conservation Project of the Ministry of Agriculture and Rural Areas (2010-2019); Fundamental Research Business Expenses of Central Public Welfare Research Institutions (HSY201712Q)]
作者简介: 李培伦(1989—), 男, 助理研究员; 主要从事鱼类生理生态研究。E-mail: lpl19890925@163.com
通信作者: 刘伟(1960—), 女, 研究员; 主要从事鱼类增殖保护利用研究。E-mail: liuwe_1020@aliyun.com

1 材料与方法

1.1 试验材料

2017年10月下旬,在乌苏里江清乡江段采捕大麻哈鱼繁殖亲本,运至汤原县大麻哈鱼孵化繁育基地进行采卵授精孵化。2018年4月上旬,将大麻哈鱼鱼苗运至中国水产科学研究院黑龙江水产研究所养殖车间,在全自动循环控温水族箱(80 cm×60 cm×50 cm)内进行饲养。

1.2 试验方法

试验设计 试验共设置4个盐度组S0、S8、S16和S24,对应盐度分别为0、8‰、16‰和24‰,其中S0为淡水对照组。试验用水为地下井水与海水素调配而成,盐度计校正各试验组盐度。挑选生长状况良好且个体接近的大麻哈鱼幼鱼随机分配放入各组,每个试验组各设3个平行(每个平行30尾),每个盐度组为90尾实验鱼。采用逐步过渡法进行盐度驯化,每天上升4个盐度,直至达到各试验组盐度设定,试验周期为42d,期间统计大麻哈鱼幼鱼存活率。实验鱼初始叉长为(5.27±0.24) cm,体质量为(1.01±0.14) g。试验期间水温控制在(14±0.50)℃,每天投喂鲑鱼颗粒饲料2次,每3天换水一次,试验期间养殖车间其他管理条件一致。

鱼鳃ATP酶活力测定 取样前24h停止投喂,用MS-222麻醉剂麻醉鱼体。每个盐度组随机取6尾实验鱼置于冰盘上进行解剖,取出鱼鳃后用预冷生理盐水快速冲洗并用吸水纸吸干水分,保存于冰箱(-80℃)中。测定前对组织解冻,准确称取组织重量,按重量(g):体积(mL)=1:9的比例加入9倍的生理盐水,冰水浴条件下机械匀浆,2500 r/min,离心10min,取上清再用生理盐水5倍稀释,取样50 μL进行总蛋白及酶活力测定。Na⁺/K⁺-ATPase酶和Ca²⁺/Mg²⁺-ATPase酶活力采用试剂盒(南京建成)检测,按照说明书进行操作。

鳃丝组织结构观察 波恩试液固定各盐度组鱼鳃用于常规组织学观察,固定24h后转入70%酒精中保存。后经梯度酒精脱水、常规石蜡包埋与切片(厚度6 μm)、HE染色、二甲苯透明,中性树胶封片保存。Olympus BX53显微镜观察,Olympus DP27显微拍摄系统进行拍照并测量鳃丝宽度、鳃小片长度、鳃小片宽度和鳃小片间距。

鳃丝扫描电镜制样 用2.5%浓度的戊二醛(pH 7.2)对各盐度组鱼鳃进行固定且在4℃条件下保存。固定好的样品先用磷酸缓冲溶液冲洗3次,然后用1%浓度的锇酸再固定2h,再用磷酸缓冲溶液冲洗3次。梯度酒精脱水,叔丁醇置换,冷冻干燥

仪干燥后镀膜,最后用SU-8010型扫描电子显微镜观察拍照。

1.3 数据处理

运用Excel2007和SPSS19.0对实验数据进行统计分析,采用单因素分析法进行方差分析,Duncan法进行组间多重比较,数据结果用平均值±标准差(Mean±SD)表示, $P<0.05$ 为差异显著,最后用Graph-Pad Prism 5软件作图。

其中:存活率(Survival rate, %)= $100 \times (N_t/N_0)$ 。式中, t 为实验天数(d), N_t 为大麻哈鱼幼鱼终末尾数, N_0 为大麻哈鱼幼鱼初始尾数。

2 结果

2.1 盐度对大麻哈鱼幼鱼存活率的影响

如表1所示,在试验结束后S0组共死亡5尾幼鱼,存活率为94.45%;S8和S16组死亡数量最少,均为1尾,存活率达到98.89%;而S24组幼鱼死亡数量最多,为15尾,存活率为83.34%,大麻哈鱼幼鱼存活率随着盐度的升高呈现出先升高后下降的趋势。其中在盐度驯化过渡期间,除S24组死亡1尾大麻哈鱼幼鱼之外,其余各组均正常,无死亡现象。

2.2 盐度对大麻哈鱼幼鱼鳃ATP酶活力影响

从试验结果可以看出,大麻哈鱼幼鱼鳃Na⁺/K⁺-ATP酶活力为0.2924—1.1294 U/mg,而Ca²⁺/Mg²⁺-ATP酶活力为0.3665—0.8353 U/mg,各盐度组之间的酶活力单因素方差分析结果见图1。随着盐度的升高,大麻哈鱼幼鱼鳃中Na⁺/K⁺-ATP和Ca²⁺/Mg²⁺-ATP酶活力均呈现出先升高后下降趋势。其中Na⁺/K⁺-ATP酶活力最高的是S8组,最低的是S24组,且S8组与S0组、S24组之间具有显著性差异($P<0.05$),而S16组与其余各组之间均无显著性差异($P>0.05$);不同盐度组之间Ca²⁺/Mg²⁺-ATP酶活力由高到低依次: S8组、S16组、S0组和S24组;单因素方差分析结果来看, S8组与S0、S24组之间具有显著性差异($P<0.05$),而与S16组之间无显著差异($P>0.05$); S24组与S8、S16组之间具有显著性差异($P<0.05$),而与S0组之间无显著差异($P>0.05$)。

表1 在不同盐度条件下大麻哈鱼幼鱼的存活率

Tab. 1 Survival rates of juvenile chum salmon under different salinities

盐度Salinity	存活率Survival rate (%)					
	7d	14d	21d	28d	35d	42d
S0	100	100	98.89	98.89	96.67	94.45
S8	100	100	100	100	98.89	98.89
S16	100	100	98.89	98.89	98.89	98.89
S24	98.89	96.67	94.45	88.89	86.67	83.34

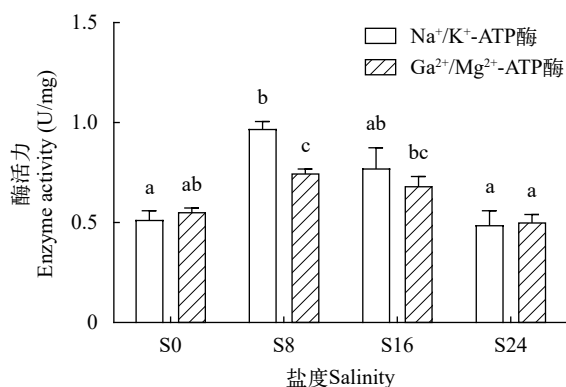


图1 不同盐度下大麻哈鱼幼鱼鳃ATP酶活力

Fig. 1 ATP enzyme activity levels of juvenile chum salmon at different salinities

不同字母表示存在显著差异($P<0.05$)

Different letters denote significant differences ($P<0.05$) between salinity groups

2.3 不同盐度下大麻哈鱼幼鱼鳃组织学观察

在光学显微镜下观察到S0组大麻哈鱼幼鱼鳃丝主干较窄,宽度约(12.71 ± 1.51) μm ,由1—2层上皮细胞组成且排列紧密,上皮细胞多呈圆形、长椭圆形;线粒体丰富细胞主要分布在鳃丝与鳃小片交汇区域,胞体较大但数量较少,呈椭圆状,着色较深(图版 I -1、2);鳃丝顶端鳃小片与鳃丝基部融合,主干部位含大量软骨细胞,末端逐步收缩呈平滑的椭圆弧状且内含血细胞(图版 I -3、4);鳃丝上的鳃小片内柱细胞多呈圆柱形或长梭形,柱细胞之间连接形成血管腔,内含红细胞,而扁平上皮细胞则位于鳃小片边缘(图版 I -2)。鳃小片在所有试验组中长度最长,约为(68.79 ± 13.82) μm ;宽度最宽,约为(8.35 ± 1.32) μm ;间距最小约为(11.47 ± 1.72) μm (表 2)。

S8组大麻哈鱼幼鱼鳃丝主干同S0组相比稍宽,约(24.32 ± 3.32) μm ,其内部上皮细胞层数增多且形状不一,多呈卵圆形、圆形、长梭形等,线粒体丰富细胞数量增多,体积增大,染色深浅不一(图版 I -5、6);鳃丝顶端鳃小片逐渐变短直至完全同鳃丝合为一体,软骨细胞排列紧密,细胞核明显,末端呈规则的椭圆弧状(图版 I -7、8);鳃小片内部柱细胞

着色较深,呈明显的长梭形,扁平上皮细胞位于边缘区域(图版 I -6)。鳃小片大小较S0组相比有所减小,其长度约为(65.42 ± 5.45) μm ,宽度约为(7.77 ± 0.89) μm ,鳃小片间距亦有所减小,约为(12.29 ± 2.56) μm (表 2)。

S16组大麻哈鱼幼鱼鳃丝主干同S0、S8组相比逐渐增宽,约(28.71 ± 3.08) μm ,线粒体丰富细胞数量增多,集中在鳃丝与鳃小片基部,细胞较大,核明显(图版 I -9、10);鳃丝顶端逐步收缩呈椭圆弧状,能够清晰观察到软骨细胞和血细胞(图版 I -11、12)。鳃小片大小较S0、S8组相比继续减小,其长度约为(58.11 ± 10.99) μm ,宽度约为(6.74 ± 0.73) μm ,但鳃小片间距较S0、S8组有所增大,约为(13.06 ± 3.00) μm (表 2)。

S24组大麻哈鱼幼鱼鳃丝及鳃小片的结构变化同其他试验组相比,鳃丝主干最宽,约为(33.68 ± 2.81) μm ;鳃小片最短,约为(52.52 ± 7.30) μm ,且其基部膨大弯曲(图版 I -13);线粒体丰富细胞数量增多,主要分布在鳃丝主干边缘部位,鳃小片基部区域亦有分布;柱细胞分布于鳃小片内部区域呈长梭形或卵圆形,扁平上皮细胞位于鳃小片边缘区域(图版 I -14);鳃丝顶端逐渐收缩呈规则的椭圆弧状,与其他试验组无明显区别,其内软骨细胞和红细胞明显(图版 I -15、16)。S24组大麻哈鱼幼鱼鳃小片间距最小,约为(12.02 ± 2.68) μm ,但其鳃小片宽度较S16组有所增加,为(6.28 ± 0.75) μm (表 2)。

2.4 不同盐度下大麻哈鱼幼鱼鳃扫描电镜观察

在实验结束时,不同盐度下大麻哈鱼幼鱼鳃扫描电镜观察结果见图版 II。S0组大麻哈鱼幼鱼鳃丝表面布满了扁平上皮细胞、线粒体丰富细胞和黏液细胞等,其中以扁平上皮细胞为主,线粒体丰富细胞和黏液细胞数量较少(图版 II -1)。扁平上皮细胞界限轮廓较清晰,呈不规则多边形,表面覆盖迷宫状环形微脊,微脊之间具有深沟;黏液细胞位于相邻扁平上皮细胞之间,呈细长窄条状,表明凹凸不平,起伏较大;线粒体丰富细胞顶膜位于扁平上皮细胞之间,大多数位于鳃丝靠近鳃小片一侧,

表 2 盐度对大麻哈鱼幼鱼鳃组织结构的影响

Tab. 2 Effects of salinity on the gill structures of juvenile chum salmon

盐度Salinity	鳃丝宽度Gill filament width (μm)	鳃小片间距Gill lamella distance (μm)	鳃小片长度Gill lamella length (μm)	鳃小片宽度Gill lamella width (μm)
S0	12.71 ± 1.51^a	11.47 ± 1.72^a	68.79 ± 13.82^a	8.35 ± 1.32^c
S8	24.32 ± 3.32^b	12.29 ± 2.56^b	65.42 ± 5.45^a	7.77 ± 0.89^b
S16	28.71 ± 3.08^c	13.06 ± 3.00^b	58.11 ± 10.99^b	6.74 ± 0.73^a
S24	33.68 ± 2.81^d	12.02 ± 2.68^b	52.52 ± 7.30^b	6.28 ± 0.75^a

注: 同列数据不同上标字母表示组间差异显著($P<0.05$)

Note: Superscripts in the same column indicate significant differences between groups ($P<0.05$)

顶膜相对平整, 开口较大, 呈不规则四边形或三角形, 且其表面存在大量的微绒毛(图版 II-2)。鳃小片底部表层扁平上皮细胞微脊较短、呈点状、棒状或长弧状, 排列密集, 其上含有大量的气孔(图版 II-3、4)。

S8、S16和S24组大麻哈鱼幼鱼鳃丝表层结构与S0组相似, 随着盐度的升高, 鳃丝表层线粒体丰富细胞数量有所增加, 但其顶膜开口不断变小; 其中S8组和S16组鳃丝表面扁平上皮细胞之间的轮廓更加清楚且环形微脊条纹清晰(图版 II-5、9), 而S24组鳃丝表面扁平上皮细胞之间界限模糊, 表面环形微脊变短, 隆起的微脊上有细小的横突且微脊之间有融合或间断情况(图版 II-10); S8、S16和S24组线粒体丰富细胞顶膜呈不规则的椭圆形, 其中S8线粒体丰富细胞顶膜含有少量的微绒毛(图版 II-6), 而S16、S24组线粒体丰富细胞顶膜平整稍向外凸且其表面没有微绒毛(图版 II-16、24); S8、S16和S24组鳃小片底部扁平上皮细胞迷宫样环形微脊结构清晰, 但随着盐度的升高, 微脊长度明显变短、数量增多且间距逐渐变小(图版 II-7、11、15); 鳃小片底部扁平上皮细胞表层气孔数量逐渐减少且孔径变小(图版 II-8、12、16)。

3 讨论

3.1 盐度对大麻哈鱼幼鱼鳃ATP酶活力影响

ATP酶是鱼鳃执行离子调控功能的重要膜结合蛋白酶, 主要为离子转运提供载体和驱动力, 其中 Na^+/K^+ -ATP酶被称作Na-K泵, 主要作用是向胞内运输 K^+ 的同时向胞外排出 Na^+ , 而 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶能够将胞内 Ca^{2+} 转移至胞外, 使胞内 Ca^{2+} 维持在较低水平^[6]。由于自然界中鱼类种类繁多, 其生活环境有所不同进而导致有关盐度对鱼鳃 Na^+/K^+ -ATP酶活力影响的研究形成了两种观点, 一种为盐度对鱼鳃 Na^+/K^+ -ATP酶活力具有显著的影响, 如银鲑(*Oreochromis mosambicus*)^[24]、银鲟(*Pampus argenteus*)^[6]、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[25]等, 而另一种观点则认为盐度对其无显著影响, 如多鳍南极鱼(*Notothenia neglecta*)^[26]。本文研究结果显示, 随着盐度的升高, 大麻哈鱼幼鱼鳃中 Na^+/K^+ -ATP和 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶活力均呈现出先升高后下降趋势且酶活力最高的均为S8组、最低的为S24组, 其中盐度组(S8、S16、S24)ATP酶活力随盐度的升高呈现下降的趋势, 说明盐度对大麻哈鱼鳃ATP酶活力具有显著的影响, 但其活力同盐度之间的变化趋势又与其他学者的研究结果有所不同, 如在不同盐度中养殖60d的大菱鲆(*Scophthal-*

mus maximus)^[25]、养殖30d的四指马鲛(*Eleutheronema tetradactylum*)^[27]等其 Na^+/K^+ -ATP酶活力均随着盐度的升高而增大, 这可能与大麻哈鱼的生理生态习性有关。大麻哈鱼作为海淡水洄游型广盐性鱼类, 具有较大的盐度适应范围, 推测体重1 g左右的幼鱼在降海过程中能够很好的适应低盐度的海水环境, 但当盐度超出其适应范围后ATP酶活力反而会下降, 不能够更好的调节细胞内外的离子浓度及其渗透压平衡。

3.2 盐度对大麻哈鱼幼鱼鳃组织结构的影响

鳃是鱼体与其生存的水环境之间进行物质交换的媒介, 鳃丝形态结构及各类细胞对其发挥正常生理功能具有重要作用^[7]。大麻哈鱼为海淡水洄游型广盐性鱼类, 不仅能在高盐度海水中生存, 亦可在淡水中生活, 受栖息水环境盐度的影响鳃组织会发生一定程度的适应性改变。本文结果可以看出生活在S0组淡水环境中的大麻哈鱼幼鱼, 其鳃丝宽度较窄、鳃小片长且宽、细胞排列紧密, 这些结构形态能够保障鱼鳃与水体充分接触进而摄取其中的无机离子维持渗透压平衡, 这与魏渲辉等^[2]的研究结论相似。而生活在不同盐度水体(S8、S16、S24)中的幼鱼, 其鳃丝宽度随着盐度的升高逐渐增厚且各盐度组之间呈现出显著性差异, 鳃小片的长度和宽度亦随着盐度的升高发生一定程度的萎缩, 鳃小片间距同淡水组相比有所增大, 这一结果与鲮(*Mugil cephalus*)^[7]、虹鳟(*Salmo cairdneri*)^[28]等研究相一致, 可能为适应水体高渗环境, 增加水氧交换量以满足其生长需求而发生结构上的适应性改变。

3.3 盐度对大麻哈鱼幼鱼线粒体丰富细胞和扁平上皮细胞的影响

研究表明^[2, 9, 10], 无论是生活在海水中的鱼类还是淡水环境中的鱼类, 鳃丝上都有线粒体丰富细胞的存在, 但由于鱼类生活的环境不同, 线粒体丰富细胞的数量和结构会存在较大的差异。大麻哈鱼幼鱼线粒体丰富细胞主要分布于鳃丝与鳃小片相交区域, 且随着水体盐度的升高向相邻鳃小片中间扩散, 此外其数量逐渐增多、胞体变大、顶膜变小且微绒毛消失, 这些变化可有效提高线粒体丰富细胞的泌氯功能和代谢水平以便更好地适应高盐度环境。大麻哈鱼幼鱼鳃丝表层绝大部分区域被扁平上皮细胞所覆盖, 其主要以被动运输的方式参与鱼鳃的生理功能^[10], 此外, 该类细胞表面存在的微褶、沟、孔等结构致使鳃丝表面凹凸不平, 对于提高鳃丝表面的阻碍作用、延长水流的停留时间有重要的作用^[29]。通过扫描电镜观察大麻哈鱼幼鱼鳃丝基部表面结构可以看出, 在不同盐度条件下扁

平上皮细胞表面迷宫状环形微脊亦有所变化,同S0组相比,S8组和S16组鳃丝表面扁平上皮细胞之间的轮廓更加清楚且环形微脊条纹清晰,而S24组鳃丝表面扁平上皮细胞之间界限模糊,表面环形微脊变短,隆起的微脊上有细小的横突且微脊之间有融合或间断情况,此外,随着盐度升高鳃小片底部扁平上皮细胞表层结构亦有清晰逐渐变得混乱、气孔数量逐渐减少且孔径变小,通过这些变化可直观看出扁平上皮细胞对水环境中盐度的响应结果,同时推测这些微脊、沟、孔等的结构形态可作为鉴别鱼体是否适应盐度的标准,而降海阶段的大麻哈鱼幼鱼适宜的盐度生存范围可能介于8—16,具体有待进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] Lin H R. Fish Physiology [M]. Guangzhou: Sun Yatsen University Press, 2011: 205-221. [林浩然. 鱼类生理学 [M]. 广州: 中山大学出版社, 2011: 205-221.]
- [2] Wei X H, Ru S G, Xu L, *et al.* Structural and functional changes of euryhaline fish branchial chloride cell and hormonal regulation during seawater and freshwater adaptation [J]. *Marine Science*, 2001, **25**(4): 16-20. [魏渲辉, 汝少国, 徐路, 等. 海水和淡水适应过程中广盐性鱼类鳃氯细胞的形态与功能变化及其激素调节 [J]. *海洋科学*, 2001, **25**(4): 16-20.]
- [3] David H, Evans, Peter M, *et al.* The multifunctional fish gill: dominant site of Cas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste [J]. *Physiological Reviews*, 2005, **85**(1): 97-177.
- [4] Fang Z H. Effects of salinity on the growth of juveniles tongue sole and its eco-physiological mechanisms [D]. Qingdao: Chinese Ocean University, 2013: 3-7. [房子恒. 不同盐度对半滑舌鳎幼鱼生长的影响及其生理生态学机制的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013: 3-7.]
- [5] Dabom K, Cozzi R R F, Marshall W S. Dynamics of pavement cell-chloride cell interactions during abrupt salinity change in *Fundulus heteroclitus* [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2001, **204**(11): 1889-1899.
- [6] Yin F, Sun P, Peng S M, *et al.* Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus* liver and the ATPase activities in its gill and kidney [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, **22**(4): 1059-1066. [尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏ATP酶活性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2011, **22**(4): 1059-1066.]
- [7] 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. [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.]
- [8] 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. [刘娟娟, 王京数, 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]. *水生生态学杂志*, 2015, **36**(1): 60-65.]
- [9] Wang W, Qu Y J, Wen J F, *et al.* Effects of various salinities stress on the relationship between concentrations of ions, hormones in serum and gill mitochondrion-rich cells osmotic regulations of *Epinephelus coioides* juveniles [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, **41**(9): 1383-1391. [王雯, 区又君, 温久福, 等. 不同盐度对斜带石斑鱼幼鱼血清离子浓度和激素水平的影响及其与鳃MRCs渗透调节功能的关系 [J]. *水产学报*, 2017, **41**(9): 1383-1391.]
- [10] Wen J F, Lan J N, Cao M, *et al.* Effect of salinity on histological structure of gills, spleen and muscle in *Lateolabrax maculatus* juveniles [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, **41**(1): 112-118. [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.]
- [11] Wu W X. China's Economic Animal Chronicles [M]. Freshwater fishes. Beijing: Science Press, 1979: 24-25. [伍献文. 中国经济动物志 [M]. 淡水鱼类. 北京: 科学出版社, 1979, 24-25.]
- [12] Ren M L. Fishes of Heilongjiang [M]. Harbin: Heilongjiang People's Press, 1981: 17-19. [任慕莲. 黑龙江鱼类 [M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1981: 17-19.]
- [13] 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.
- [14] Wang J L, Tang F J, Liu W. Age and growth of Chum salmon [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, **36**(6): 1149-1155. [王继隆, 唐富江, 刘伟. 大麻哈鱼的年龄与生长 [J]. *水生生物学报*, 2012, **36**(6): 1149-1155.]
- [15] Wang J L, Liu W, Tang F J, *et al.* Age composition and growth difference of chum salmon migrating to Ussuri River [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, **22**(1): 88-92. [王继隆, 刘伟, 唐富江, 等. 乌苏里江大麻哈鱼年龄结构及异龄组间生长差异 [J]. *上海海洋大学学报*, 2013, **22**(1): 88-92.]
- [16] Kentaro M, Masa A F. Does size matter most? The effect of growth history on probabilistic reaction norm for salmon maturation [J]. *Evolution*, 2006, **60**(7): 1516-1521.
- [17] Volobuav V V. Long-term changes in the biological parameters of chum salmon of the Okhotsk Sea [J]. *NPAFC Bulletin*, 2000, (2): 175-180.
- [18] Liu W, Zhan P R, Zhao C G, *et al.* Study on morphological development of fall Chum salmon (*Oncorhynchus keta*) otoliths in Heilongjiang River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(6): 1069-1076. [刘伟, 战培荣, 赵春刚, 等. 黑龙江秋大麻哈鱼耳石形态发育研究 [J]. *水生生物学报*, 2010, **34**(6): 1069-1076.]
- [19] Wang C, Liu W, Zhan P R, *et al.* Exogenous Sr^{2+} sedimentation on otolith of chum salmon embryos [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, **26**(10): 3189-3194. [王臣, 刘伟, 战培荣, 等. 外源 Sr^{2+} 在大麻哈鱼胚

- 胎耳石上的沉积 [J]. 应用生态学报, 2015, **26**(10): 3189-3194.]
- [20] Kim N N, Choi Y J, Lim S G, *et al.* Effect of salinity changes on olfactory memory-related genes and hormones in adult chum salmon *Oncorhynchus keta* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 2015(187): 40-47.
- [21] Song H J, Liu W, Wang J L, *et al.* Allometric growth during yolk-sac larval of chum salmon (*Oncorhynchus keta* Walbaum) and consequent ecological significant [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, **37**(2): 329-335. [宋洪建, 刘伟, 王继隆, 等. 大麻哈鱼卵黄囊期仔鱼异速生长及其生态学意义 [J]. *水生生物学报*, 2013, **37**(2): 329-335.]
- [22] Li P L, Liu W, Wang J L, *et al.* The relationship between morphometric characters and body mass of *Oncorhynchus keta* during the releasing period [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2018, **31**(2): 6-11. [李培伦, 刘伟, 王继隆, 等. 大麻哈鱼放流期形态性状对体质量的影响分析 [J]. *水产学杂志*, 2018, **31**(2): 6-11.]
- [23] Honda K, Kawakami T, Saito T, *et al.* First report of growth rate of juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta* captured in the sea of Okhotsk offshore [J]. *Ichthyological Research*, 2019, **66**(1): 155-159.
- [24] Hwang P P, Sun C M, Wu S M, *et al.* Changes of plasma osmolality, chloride concentration and gill Na^+/K^+ -ATPase activity in tilapia *Oreochromis mosambicus* during seawater acclimation [J]. *Marine Biology*, 1989, **100**: 295-299.
- [25] Zeng L, Lei J L, Liu B, *et al.* Effects of salinity on Na^+/K^+ -ATPase activity in gills, and concentrations of ions and hormones in serum of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2014, **49**(3): 407-414. [曾霖, 雷霖霖, 刘滨, 等. 盐度对大菱鲆幼鱼鳃 Na^+/K^+ -ATPase活力、血清离子浓度和激素水平的影响 [J]. *动物学杂志*, 2014, **49**(3): 407-414.]
- [26] Romao S, Freire C A, Fanta E. Ionic regulation and Na^+/K^+ -ATPase activity in gills and kidney of the antarctica glomerular cod ice fish exposed to dilute sea water [J]. *Journal of Fish Biology*, 2001(59): 463-468.
- [27] Luo H H, Li W Y, Fu R B, *et al.* The effects of salinity on the growth of juvenile *Eleutheronema tetradactylum* and Na^+/K^+ -ATP enzyme [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2015, **36**(2): 94-99. [罗海忠, 李伟业, 傅荣兵, 等. 盐度对四指马鲛(*Eleutheronema tetradactylum*)幼鱼生长及其鳃丝 Na^+/K^+ -ATP酶的影响 [J]. *渔业科学进展*, 2015, **36**(2): 94-99.]
- [28] Shen A C Y, Leatherland J F. Histogenesis of the pituitary in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in different ambient salinities particular reference to the rostral pars distalis [J]. *Cell and Tissue Research*, 1978, **189**(2): 355-363.
- [29] Qu Y J, Chen S H, Li J E, *et al.* Light, scanning and transmission electron microscopical observation of gill of captive *Liza haematocheila* on the coast of Pearl River estuary [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2013, **32**(4): 550-554. [区又君, 陈四海, 李加儿, 等. 珠江口池养梭鱼的光镜、扫描和透射电镜观察 [J]. *四川动物*, 2013, **32**(4): 550-554.]

EFFECTS OF SALINITY ON SURVIVAL RATE, GILL ATPASE ACTIVITY AND GILL STRUCTURE OF JUVENILES CHUM SALMON

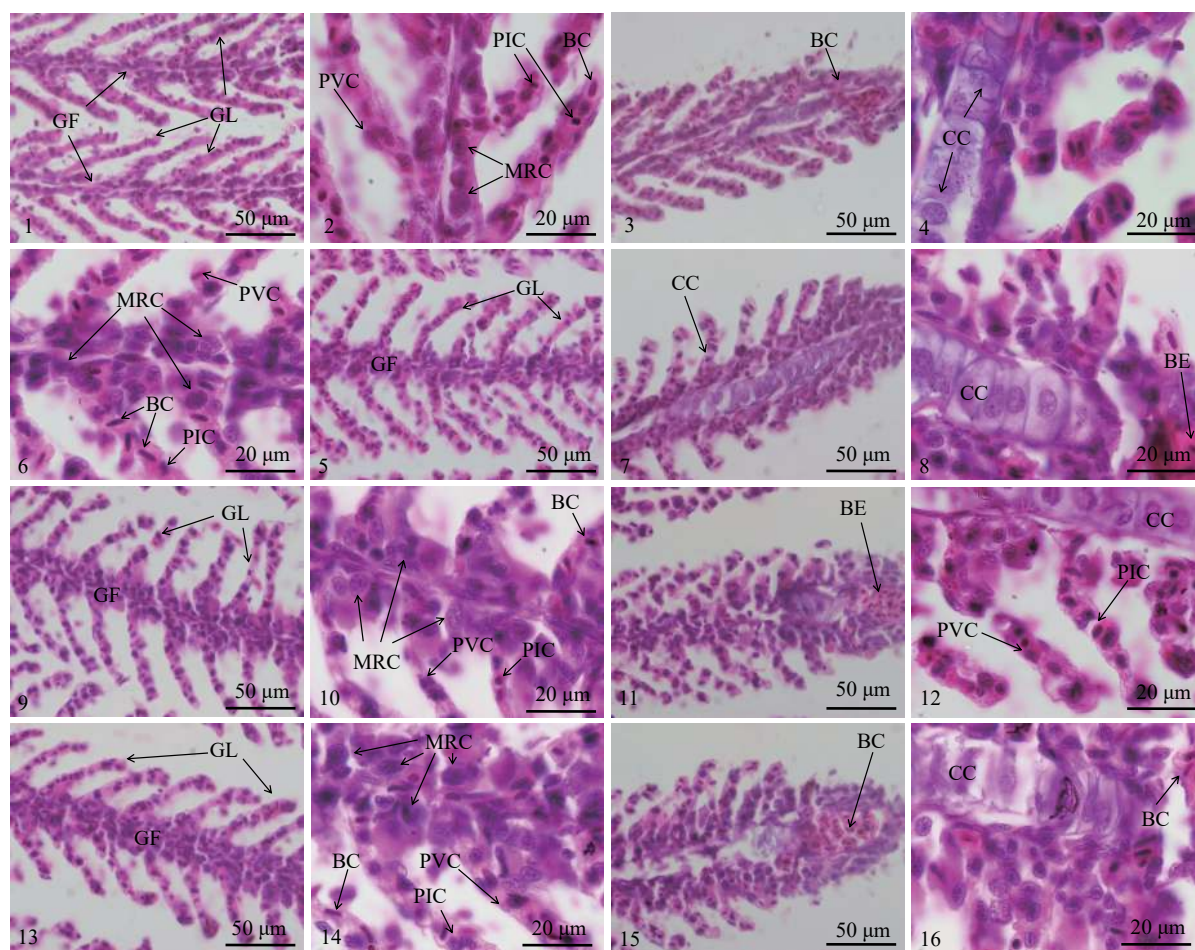
LI Pei-Lun¹, LIU Wei¹, WANG Ji-Long¹, LU Wan-Qiao^{1,2}, CUI Kang-Cheng^{1,2} and CAO Wen-Yan^{1,2}

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Harbin 150070, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In this study, chum salmon (*Oncorhynchus keta*) were cultured in different salinities for 0, 8, 16 and 24 for 42 days to investigate the effects of salinity level on survival rate, ATP enzyme activity and gill structure. Chum salmon gills were dissected to measure ATP enzyme activity and to observe the gill structure under different salinities using histological photomicrography and scanning electron microscopy technologies for determining the mechanism of catadromous migration. The results showed that the survival rates of the S8 and S16 groups were the highest, reaching 98.89%; the survival rate of the S0 group was 94.45%, and for the S24 group, it was 83.34%. The Na^+/K^+ -ATP and $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP enzyme activities first increased and then decreased with increasing salinity, and the highest enzyme activity was found for the S8 group, and the lowest enzyme activity was found for the S24 group. The gill filament width increased with increasing salinity, while the gill lamella length and width decreased, and the differences between these groups were significant ($P < 0.05$). The number of mitochondria-rich cells gradually increased, the apical membrane area decreased and the microvilli disappeared with the increase in salinity, as observed by electron microscopy. The boundaries between the flat epithelial cells on the surface of the gill filament and the circular micro ridges in the S8 group and the S16 group were clearer than those of the S0 group, while the boundaries between the flat epithelial cells on the surface of the gill filament were blurry, and fusion or discontinuity between annular microridges was observed in the S24 group. The surface structures of the flat epithelial cells at the bottom of the gill patches gradually changed from

being organized to being disorganized, the number of stomata gradually decreased, and the pore sizes were reduced. According to these results, the suitable salinity range in which juvenile chum salmon survive was suggested to be between 8‰ and 16‰ during the catadromous migration stage, a supposition that needs to be confirmed by further study.

Key words: Chum salmon; Salinity; Gill filament; Gill lamella; Mitochondria-rich cell

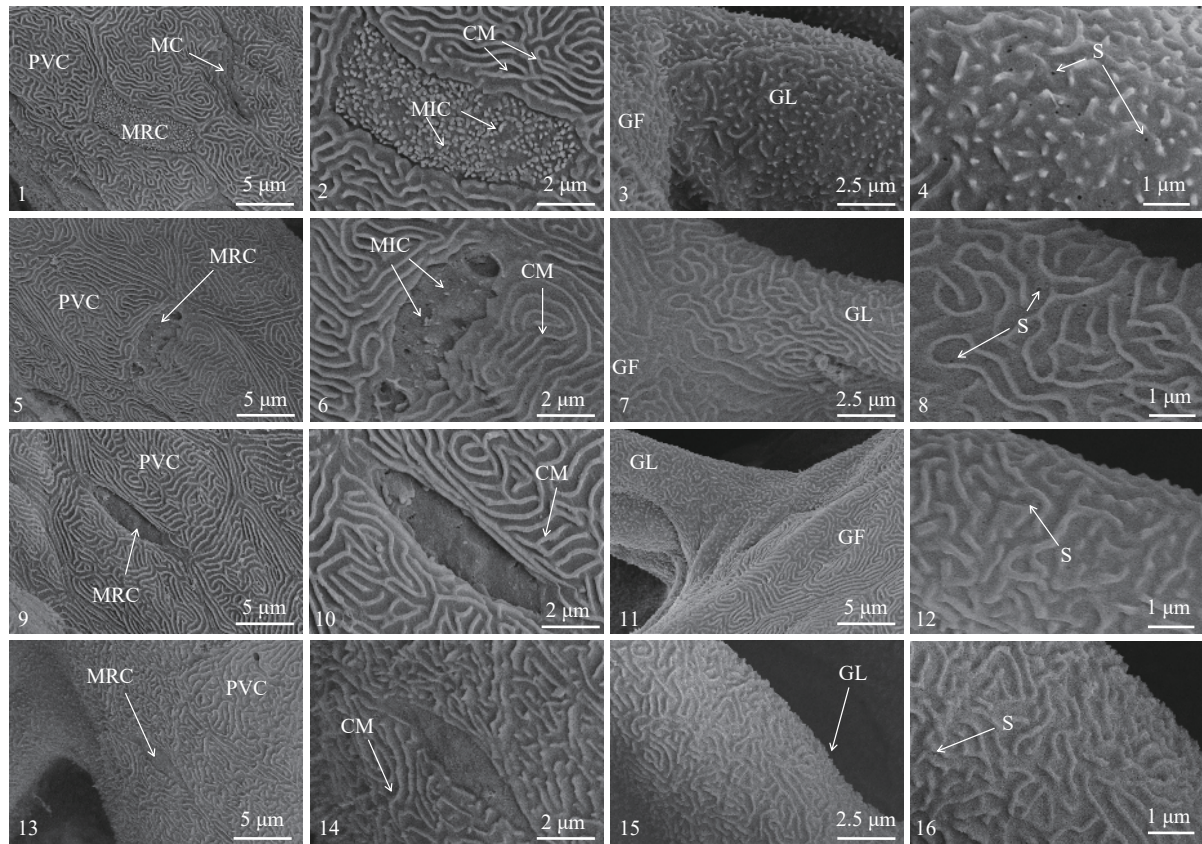


图版 I 盐度对大麻哈鱼幼鱼鳃组织的影响

Plate I The effect of salinity on the gills of the juvenile chum salmon juveniles

1. S0组鳃丝和鳃小片; 2. S0组鳃丝和鳃小片上各类细胞; 3. S0组鳃丝顶端; 4. S0组鳃丝顶端软骨细胞; 5. S8组鳃丝和鳃小片; 6. S8组鳃丝和鳃小片上各类细胞; 7. S8组鳃丝顶端; 8. S8组鳃丝顶端放大; 9. S16组鳃丝和鳃小片; 10. S16组鳃丝和鳃小片上各类细胞; 11. S16组鳃丝顶端; 12. S16组鳃丝顶端放大; 13. S24组鳃丝和鳃小片; 14. S24组鳃丝和鳃小片上各类细胞; 15. S24组鳃丝顶端; 16. S24组鳃丝顶端放大; GF: 鳃丝; GL: 鳃小片; MRC: 线粒体丰富细胞; PVC: 扁平上皮细胞; PIC: 柱细胞; BC: 血细胞; CC: 软骨细胞

1. Gill filament and lamella at salinity of 0; 2. each type of cells on gill filament and lamella at salinity of 0; 3. the top of gill filament at salinity of 0; 4. chondrocyte at the top of gill filament at salinity of 0; 5. gill filament and lamella at salinity of 8; 6. each type of cells on gill filament and lamella at salinity of 8; 7. the top of gill filament at salinity of 8; 8. chondrocyte at the top of gill filament at salinity of 8; 9. gill filament and lamella at salinity of 16; 10. each type of cells on gill filament and lamella at salinity of 16; 11. the top of gill filament at salinity of 16; 12. chondrocyte at the top of gill filament at salinity of 16; 13. gill filament and lamella at salinity of 24; 14. each type of cells on gill filament and lamella at salinity of 24; 15. the top of gill filament at salinity of 24; 16. chondrocyte at the top of gill filament at salinity of 24; GF: gill filament; GL: gill lamellae; MRC: mitochondria-rich cell; PVC: pavement cell; PIC: pillar cell; BC: blood cells; CC: chondrocyte



图版 II 不同盐度下大麻哈鱼幼鱼鳃丝表层结构扫描电镜图

Plate II Scanning electron micrographs of the surface structure of the gill filaments in chum salmon at different salinities

1. S0组鳃丝表层结构; 2. S0组线粒体丰富细胞; 3. S0组鳃小片底部表层结构; 4. S0组鳃小片底部气孔; 5. S8组鳃丝表层结构; 6. S8组线粒体丰富细胞; 7. S8组鳃小片底部表层结构; 8. S8组鳃小片底部气孔; 9. S16组鳃丝表层结构; 10. S16组线粒体丰富细胞; 11. S16组鳃小片底部表层结构; 12. S16组鳃小片底部气孔; 13. S24组鳃丝表层结构; 14. S24组线粒体丰富细胞; 15. S24组鳃小片底部表层结构; 16. S24组鳃小片底部气孔; GF: 鳃丝; GL: 鳃小片; CM: 环形微嵴; MRC: 线粒体丰富细胞; MIC: 微绒毛; PVC: 扁平上皮细胞; MC: 黏液细胞; S: 气孔

1. Surface structure of gill filament at salinity of 0; 2. the mitochondrial-rich cell at salinity of 0; 3. surface structure at the bottom of gill lamellae at salinity of 0; 4. the stomata at the bottom of lamellae at salinity of 0; 5. surface structure of gill filament at salinity of 8; 6. the mitochondrial-rich cell at salinity of 8; 7. surface structure at the bottom of gill lamellae at salinity of 8; 8. the stomata at the bottom of lamellae at salinity of 8; 9. surface structure of gill filament at salinity of 16; 10. the mitochondrial-rich cell at salinity of 16; 11. surface structure at the bottom of gill lamellae at salinity of 16; 12. the stomata at the bottom of lamellae at salinity of 16; 13. surface structure of gill filament at salinity of 24; 14. the mitochondrial-rich cell at salinity of 24; 15. surface structure at the bottom of gill lamellae at salinity of 24; 16. the stomata at the bottom of lamellae at salinity of 24; GF: gill filament; GL: gill lamellae; CM: circular micro-ridge; MRC: mitochondrial-rich cell; MIC: microvilli; PVC: pavement cell; MC: mucus cell; S: stomata