

## 哥斯达黎加外海茎柔鱼耳石的微量元素

李建华<sup>1</sup>, 陈新军<sup>1,2,3\*</sup>, 刘必林<sup>1,2,3</sup>, 方 舟<sup>1</sup>

(1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学大洋生物资源开发和利用上海市高校重点实验室, 上海 201306;

3. 上海海洋大学大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室, 上海 201306)

**摘要:** 实验通过激光剥蚀电感等离子质谱法分析哥斯达黎加外海茎柔鱼耳石的微量元素, 了解其微量元素组成及其与表温关系, 推测其不同生活史阶段的栖息环境。结果表明, 茎柔鱼耳石含有 54 种元素, 其中 Ca、Na 和 Sr 为主要元素。总体耳石 Sr/Ca 大于太平洋褶柔鱼、巴塔哥尼亚枪乌贼和魷乌贼。胚胎期耳石 Sr/Ca 最高, 随着年龄增加而下降。Sr/Ca 与表温呈反比例关系。不同孵化月份的茎柔鱼在不同生长阶段的耳石 Sr/Ca 差异不明显。Ba/Ca 可看做茎柔鱼垂直移动的指标元素, 茎柔鱼仔鱼至成鱼期耳石 Ba/Ca 呈“U”型变化, 与其幼体生活在海水表层, 成体生活在较深层海水相对应。茎柔鱼耳石 Mg/Ca 核心高外围低, 可能与耳石生长率逐渐减小有关, Mg/Ca 与表温呈正相关。此外, 研究认为茎柔鱼胚胎期是以自身携带的卵黄囊为营养物质, 此时耳石的微量元素与亲体的遗传因素相关, 与外界水环境无关。

**关键词:** 茎柔鱼; 耳石; 微量元素; 表温; 栖息环境; 哥斯达黎加

**中图分类号:** Q 958.8; S 917.4

**文献标志码:** A

茎柔鱼 (*Dosidicus gigas*) 广泛分布于太平洋东部海域<sup>[1]</sup>, 从东太平洋的加利福尼亚湾到智利南部海域, 是东太平洋最大的头足类渔业, 其中以加利福尼亚湾至智利北部尤其秘鲁沿岸资源最为丰富<sup>[2-3]</sup>。我国鱿钓渔船于 2009—2010 年对哥斯达黎加外海茎柔鱼进行了资源探捕, 取得日产最高为 15 t 的好成绩。目前, 世界各国学者对哥斯达黎加外海茎柔鱼渔业生物学、渔场分布等做了一些研究, 但对其生活史过程及栖息环境了解很少。耳石是位于平衡囊内起平衡作用的一对硬组织<sup>[4]</sup>, 包含大量生物学和生态学信息, 被形象的称作生命记录仪<sup>[5]</sup>, 近些年来, 基于生物体钙化组织中微量元素和同位素等微化学成份的分析, 已成为研究和分析海洋生物种类的种群结构与栖息环境的一种新兴手段<sup>[6]</sup>, 同时在头足类的种群鉴定、生活史分析以及栖息环境等方面得到了很好的应用<sup>[7-13]</sup>。以往研究证明, 耳石微量元素的沉积与环境尤其水温关系密切, Sr、Fe、Zn 等

元素被看作是重建栖息水温的指示元素。为此, 本实验将利用激光剥蚀电感等离子质谱法 (laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, LA-ICP-MS), 分析哥斯达黎加专属经济区以外海域茎柔鱼耳石微量元素, 探讨不同生活史阶段耳石微量元素的组成和分布, 并比较不同产卵群体间的差异, 从而为了解和掌握哥斯达黎加外海茎柔鱼生活史过程及其栖息环境提供基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料来源

样本采集时间为 2009 年 7 月 23 日—8 月 30 日。调查海域为 10°30'N ~ 4°30'S、100°W ~ 91°W。调查船为“丰汇 16 号”, 总长 49.2 m, 型宽 8.3 m, 型深 3.6 m; 总吨 492 t; 舱容 851 m<sup>3</sup>; 主机功率 698 kW; 副机 4 台, 总功率 880 kW; 水上集鱼灯 120 盏 × 1 kW。从每个站点渔获中随机抽取茎柔鱼 20 尾 (不足 20 尾则取所有样本), 获

收稿日期: 2012-03-31 修回日期: 2012-05-30

资助项目: 国家自然科学基金项目 (HSFC41276156); 国家“八六三”高技术研究发展计划 (2012AA092303); 国家发改委产业化专项 (2159999); 上海市科技创新行动计划 (12231203900)

通信作者: 陈新军, E-mail: xjchen@shou.edu.cn

得的样本经冷冻保藏运回实验室。

表温(sea surface temperature)数据来自哥伦比亚大学网站 <http://iridl.ldeo.columbia.edu>。时间为2009年7—8月,空间分辨率为经纬度1°×1°。

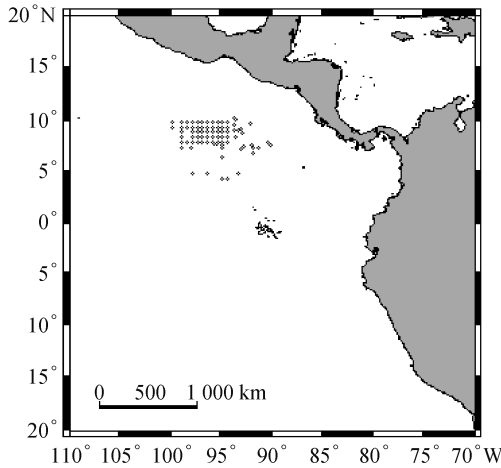


图1 茎柔鱼样本采样点图  
Fig.1 Sampling localities of *D. gigas* off the Costa Rica water

1.2 实验方法

生物学测定及耳石提取 实验室解冻后对茎柔鱼进行生物学测定,包括胴长(mantle length, ML)、体质量(body weight, BW)等。ML测定精确至1 mm,体质量精确至0.1 g。

用镊子轻轻将耳石从平衡囊取出,并对耳石进行编号,然后存放于盛有95%乙醇溶液的1.5 mL离心管中,以便清除包裹耳石的软膜和表面的有机物质。

耳石切片制作与日龄读取 耳石的研磨根据刘必林等<sup>[14]</sup>的研磨方法,选取耳石切片样本18个(表1)。用于年龄鉴定的耳石放入长方形塑料模具当中,加入固化剂和冷埋树脂进行包埋,并放置阴凉处待其硬化;硬化后的耳石块用 Isomet 1000<sup>®</sup>切割机将其切成小块,并以热熔胶粘于载玻片之上。研磨过程中,在 Struers<sup>®</sup>专业耳石研磨机上先后以 3M<sup>®</sup> 240 grits 600 grits、1 200 grits、2 000 grits 防水耐磨砂纸沿耳石纵切面研磨至核心,此过程中不断在显微镜下检查,以免磨过核心;如此完成一面研磨,然后重复以上过程完成另外一面。待两面都研磨至核心,再用 0.3 μm 氧化铝水绒布抛光研磨好的耳石切片;最后将制备好的耳石切片放入鳞片袋中保存,并做好标记。研磨好的耳石切片置于×400的光学显微镜下采用 CCD(连接装置)拍照,并运用 PhotoShop 7.0 对图像进行叠加处理(图2)。计数过程中,每个耳石轮纹由两个不同的人计数,每次计数的轮纹数目与均值的差值低于5%,则认为计数准确<sup>[14]</sup>,否则重新计数。

表1 茎柔鱼样本信息  
Tab.1 Summary information of sampled *D. gigas*

| 样本<br>sample | 捕捞日期<br>fishing date | 坐标<br>coordinates | 胴长/mm<br>ML | 体质量/g<br>BW | 性别<br>sex | 性腺成熟度<br>maturity stage | 日龄/d<br>age | 孵化日期<br>hatching date |
|--------------|----------------------|-------------------|-------------|-------------|-----------|-------------------------|-------------|-----------------------|
| 1            | 2009-08-18           | 9°21'N, 94°52'W   | 429         | 1 690       | ♀         | 成熟 mature               | 251         | 2008-12-10            |
| 2            | 2009-07-29           | 8°30'N, 96°30'W   | 374         | 1 060       | ♀         | 成熟 mature               | 199         | 2008-01-11            |
| 3            | 2009-08-18           | 9°21'N, 94°52'W   | 275         | 420         | ♂         | 未成熟 immature            | 162         | 2009-03-09            |
| 4            | 2009-08-13           | 9°00'N, 96°00'W   | 239         | 270         | ♂         | 未成熟 immature            | 297         | 2008-10-20            |
| 5            | 2009-07-27           | 7°47'N, 93°54'W   | 272         | 460         | ♀         | 未成熟 immature            | 203         | 2009-01-05            |
| 6            | 2009-07-29           | 8°30'N, 96°30'W   | 235         | 350         | ♂         | 未成熟 immature            | 202         | 2009-01-08            |
| 7            | 2009-08-27           | 7°55'N, 96°08'W   | 326         | 860         | ♀         | 成熟 mature               | 212         | 2009-01-27            |
| 8            | 2009-08-09           | 7°46'N, 91°48'W   | 362         | 1 130       | ♀         | 成熟 mature               | 203         | 2009-01-18            |
| 9            | 2009-07-29           | 8°30'N, 96°30'W   | 316         | 830         | ♀         | 未成熟 immature            | 221         | 2008-12-20            |
| 10           | 2009-08-17           | 8°55'N, 94°55'W   | 263         | 458         | ♂         | 成熟 mature               | 175         | 2009-02-23            |
| 11           | 2009-08-19           | 8°35'N, 94°19'W   | 259         | 477         | ♀         | 未成熟 immature            | 163         | 2009-03-09            |
| 12           | 2009-08-18           | 9°21'N, 94°52'W   | 409         | 1 090       | ♂         | 未成熟 immature            | 215         | 2009-02-15            |
| 13           | 2009-08-18           | 9°21'N, 94°52'W   | 285         | 450         | ♂         | 成熟 mature               | 186         | 2009-02-13            |
| 14           | 2009-08-09           | 7°46'N, 91°48'W   | 274         | 542         | ♀         | 未成熟 immature            | 183         | 2009-02-07            |
| 15           | 2009-07-26           | 9°30'N, 95°30'W   | 271         | 460         | ♀         | 成熟 mature               | 220         | 2008-12-18            |
| 16           | 2009-08-15           | 6°36'N, 95°02'W   | 250         | 570         | ♀         | 成熟 mature               | 174         | 2009-02-22            |
| 17           | 2009-08-18           | 9°21'N, 94°52'W   | 310         | 590         | ♂         | 成熟 mature               | 215         | 2009-01-15            |
| 18           | 2009-08-09           | 7°46'N, 91°48'W   | 295         | 627         | ♂         | 成熟 mature               | 180         | 2009-02-10            |



图2 茎柔鱼耳石微区元素分析打样点

1~5 取样点的位置分别代表胚胎期、仔鱼期、稚鱼期、亚成鱼期和成鱼期。

Fig. 2 Analysis points in statolith of *D. gigas*

1-5. represent embryonic, paralarval, juvenile, subadult and adult phase, respectively.

**耳石整体微量元素测定** 取9个耳石样品,放入7 mL 特弗隆带盖小瓶中,加入120  $\mu\text{L}$  硝酸,然后放在120  $^{\circ}\text{C}$  的电热板上蒸干。然后再加入120  $\mu\text{L}$  硝酸,确保样品完全溶解,在120  $^{\circ}\text{C}$  的电热板上再次蒸干。最后趁热加入含 $50 \times 10^{-9}$  的5% 硝酸溶液250  $\mu\text{L}$ ,盖上盖子等待电感耦合等离子体质谱(ICPMS)测试。

**耳石微区微量元素测定** 为了减少污染物对元素测试带来的干扰,经过日龄鉴定后的耳石切片在电阻率大于18  $\Omega$  的去离子水中清洗5 min 并在Class-100 层流柱中晾干。由耳石中心至背区边缘(图2),在代表胚胎期耳石的核心区、仔鱼期的后核心区、稚鱼期的暗区、亚成鱼期的外围区接近暗区处、成鱼期的外围区边缘处,分别各选取1个取样点<sup>[5]</sup>。

选取打样点后,微区每个打样点5种元素( $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Ba}$ ,  $^{24}\text{Mg}$ ,  $^{23}\text{Na}$ )在中国地质大学(武汉)地质过程与矿产资源国家重点实验室(GPMR)利用激光剥蚀电感等离子质谱法测试完成。激光系统为GeoLas 2005, ICP-MS 为Agilent 7500a。激光剥蚀直径为24  $\mu\text{m}$ ,激光频率为5 Hz。激光剥蚀过程采用氦气(0.7 L/min)作为载气,氩气作为补偿气(0.8 L/min)以调节灵敏度<sup>[15]</sup>。每个打样点包括20~30 s 空白信号和20 s 样品信号,详细仪器操作条件参考文献[16~17]。以USGS 参考玻璃(如BCR-2G, BIR-1G 和BHVO-2G)为校正标准,采用多外标,无内标法对元素含量进行定量计算。

对分析数据的离线处理(包括对样品和空白信号的选择、仪器灵敏度漂移校正、元素含量计算)采用软件ICPSDataCal 完成<sup>[16]</sup>。

### 1.3 数据分析

(1)分析耳石元素种类及组成;(2)分不同孵化月份,分别对耳石核心至背区边缘元素与钙元素的比值进行差异比较,如存在显著差异则用多重比较方法分析各剥蚀点间元素比值的差异;(3)分析不同月份孵化的茎柔鱼个体间耳石核心处元素与钙元素的比值差异;(4)对标记轮处微量元素进行比较;(5)探讨各元素与钙元素的比值与温度间的关系;(6)双因素方差分析(two-way analysis of variance, ANOVA)分析不同样本以及不同生活史阶段耳石的元素含量差异。统计分析采用SPSS 15.0 完成。

## 2 结果

### 2.1 耳石微量元素种类及组成

耳石中钙Ca 元素以 $\text{CaCO}_3$  的形式存在, $\text{CaCO}_3$  占各剥蚀点元素总量的 $96.4\% \pm 0.1\%$ 。酸溶结果显示,茎柔鱼耳石检出Ca 等54 种元素,其中Ca 含量最高,浓度为 $370\,723.9 \sim 392\,078.1$  (平均 $388\,035.6 \pm 6\,842.5$ )  $\times 10^{-6}$ 。其次为Na 和Sr,分别为 $3\,457.0 \sim 1\,9537.1$  (平均 $6\,480.2 \pm 5\,039.1$ )  $\times 10^{-6}$ 、 $5\,617.0 \sim 6\,302.1$  (平均 $6\,027.9 \pm 212.3$ )  $\times 10^{-6}$ 。此外,依次是Ba、Mg、K、Zn、B、Fe、Mn、Ni、Cu 等元素(表2)。

表 2 茎柔鱼耳石整体微量元素组成 (  $\times 10^{-6}$  )  
Tab.2 Composition of trace elements in total statolith of *D. gigas*

| 编号 no. | Ca      | Na     | Sr    | Fe  | Mg    | K     | Zn  | B    | Ba   | Mn  | Ni  | Cu  |
|--------|---------|--------|-------|-----|-------|-------|-----|------|------|-----|-----|-----|
| 1      | 392 042 | 3 457  | 6 302 | 853 | 81    | 58    | 28  | 5.0  | 12.7 | 1.4 | 1.2 | 1.1 |
| 2      | 388 515 | 6 322  | 6 001 | 822 | 746   | 267   | 49  | 11.3 | 6.7  | 2.8 | 1.2 | 1.2 |
| 3      | 391 452 | 4 204  | 6 196 | 682 | 116   | 102   | 47  | 8.3  | 11.4 | 2.0 | 1.3 | 0.6 |
| 4      | 385 406 | 6 734  | 6 179 | 855 | 2 335 | 800   | 42  | 10.8 | 10.0 | 4.4 | 1.3 | 1.2 |
| 5      | 391 612 | 4 143  | 6 003 | 848 | 79    | 76    | 18  | 6.5  | 6.2  | 1.5 | 1.2 | 1.0 |
| 6      | 390 987 | 4 395  | 6 120 | 885 | 237   | 133   | 37  | 6.6  | 7.8  | 3.7 | 1.4 | 1.9 |
| 7      | 370 724 | 19 537 | 5 793 | 784 | 4 205 | 1 459 | 108 | 30.1 | 6.4  | 1.4 | 1.1 | 1.5 |
| 8      | 392 078 | 3 637  | 6 040 | 884 | 51    | 65    | 6   | 5.6  | 6.6  | 1.1 | 1.3 | 3.7 |
| 9      | 389 505 | 5 892  | 5 617 | 785 | 549   | 242   | 49  | 6.6  | 6.2  | 4.6 | 1.2 | 1.6 |

进一步分析发现,不同采集点的耳石微量元素如 Na/Ca 和 Mg/Ca 变化较大,而 Sr/Ca、Fe/Ca 变化不明显(图 3)。

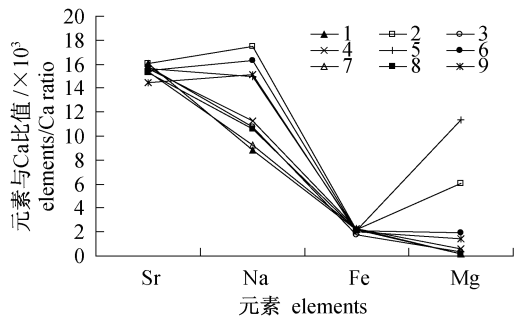


图 3 不同采集点茎柔鱼耳石几种元素与 Ca 之比的变化

Fig.3 Changes of elements/Ca concentration ratio of statoliths of *D. gigas*

分析认为,雌性和雄性茎柔鱼耳石 Sr、Na、Ba、Mg 等 4 种微量元素含量无明显差异 (  $P >$

0.05)。除 Ba 元素以外,Sr、Na、Mg 等 3 种元素在各生长期之间有显著性差异 (  $P < 0.05$  ) (表 3)。

2.2 不同生长期及年龄耳石微量元素与 Ca 的比值

胚胎期耳石 Sr/Ca 最高,随后一直下降,在成鱼期降至最低(图 4-a,5-a);胚胎期和仔鱼期耳石 Sr/Ca 明显高于稚鱼期和成鱼期 (  $P < 0.01$  ),其它生长期之间无明显差异 (  $P > 0.05$  )。仔鱼期和稚鱼期耳石 Na/Ca 明显高于其它两个生长期(图 4-b,5-b;  $P < 0.01$  ),呈倒置“U”型,其它两个生长期之间无明显差异 (  $P > 0.05$  )。成鱼期耳石 Ba/Ca 略高于其它各期(图 4-c,5-c;  $P < 0.05$  ),呈“U”型,其他各个生长期之间均无明显差异 (  $P > 0.05$  )。胚胎期至成鱼期耳石 Mg/Ca 逐渐减小(图 4-d,5-d),胚胎期 Mg/Ca 显著高于其它各期 (  $P < 0.05$  ),其它生长期之间无明显差异 (  $P > 0.05$  )。

表 3 茎柔鱼不同生长期之间 Sr、Na、Ba、Mg 等 4 种微量元素 ANOVA 分析结果  
Tab.3 Analysis of variance of the element concentrations in different growth periods of *D. gigas* statoliths

| 元素<br>elements | 不同位置微量元素值/( × 10 <sup>-6</sup> ) the value of trace elements in different zones |             |                          |             |                 |             |                        |             | P 值<br>P-value |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------|-------------|-----------------|-------------|------------------------|-------------|----------------|
|                | 核心区<br>nucleus                                                                  |             | 后核心区<br>postnuclear zone |             | 暗区<br>dark zone |             | 外围区<br>peripheral zone |             |                |
|                | 范围<br>range                                                                     | 平均值<br>mean | 范围<br>range              | 平均值<br>mean | 范围<br>range     | 平均值<br>mean | 范围<br>range            | 平均值<br>mean |                |
| Sr             | 5 919 ~ 6 735                                                                   | 6 374 ± 242 | 5 968 ~ 6 891            | 6 353 ± 270 | 5 546 ~ 6 525   | 5 894 ± 277 | 5 453 ~ 6 305          | 5 803 ± 258 | 0              |
| Na             | 3 405 ~ 4 136                                                                   | 3 840 ± 264 | 3 698 ~ 4 927            | 4 384 ± 447 | 3 683 ~ 4 844   | 4 330 ± 344 | 2 938 ~ 4 474          | 3 806 ± 423 | 0              |
| Ba             | 4.3 ~ 22.0                                                                      | 11 ± 6      | 3.8 ~ 16.7               | 9 ± 5       | 3.2 ~ 15.7      | 8 ± 4       | 4.3 ~ 44.8             | 11 ± 9      | 0.147          |
| Mg             | 50 ~ 494                                                                        | 182 ± 158   | 43 ~ 194                 | 100 ± 50    | 39 ~ 164        | 81 ± 37     | 31 ~ 290               | 66 ± 61     | 0.003          |

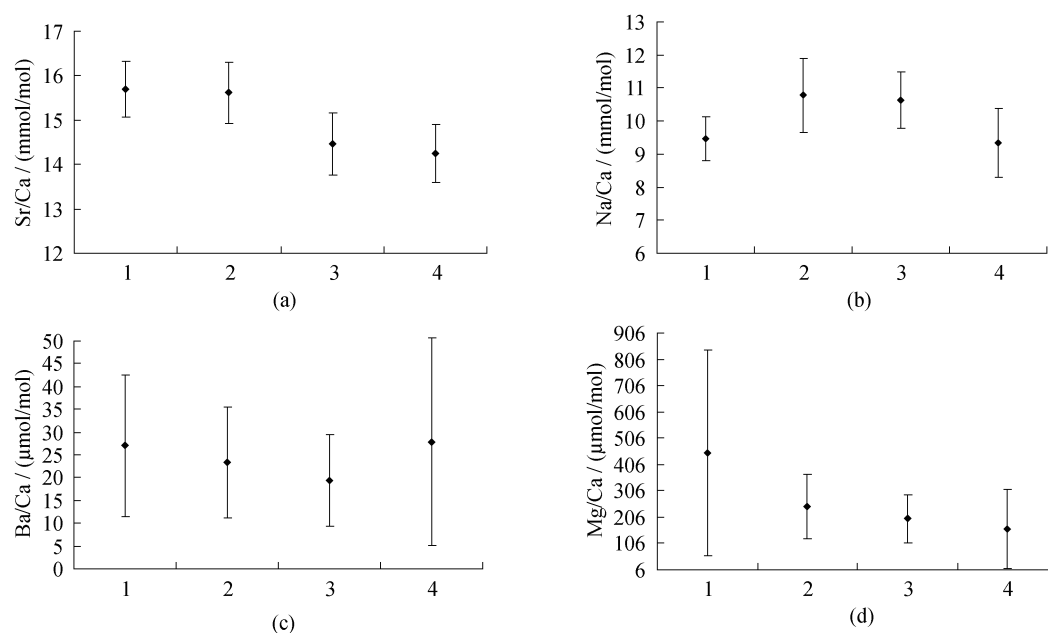


图4 茎柔鱼各生长期耳石元素与Ca比值LA-ICP-MS法分析结果

1. 核心区, 2. 后核心区, 3. 暗区, 4. 外围区。

Fig. 4 Element/Ca ratios measured with LA-ICP-MS in different growth zones of

*D. gigas* statoliths from the nucleus to the edge

1 - 4. represent the nucleus, postnuclear zone, dark zone and peripheral zone respectively.

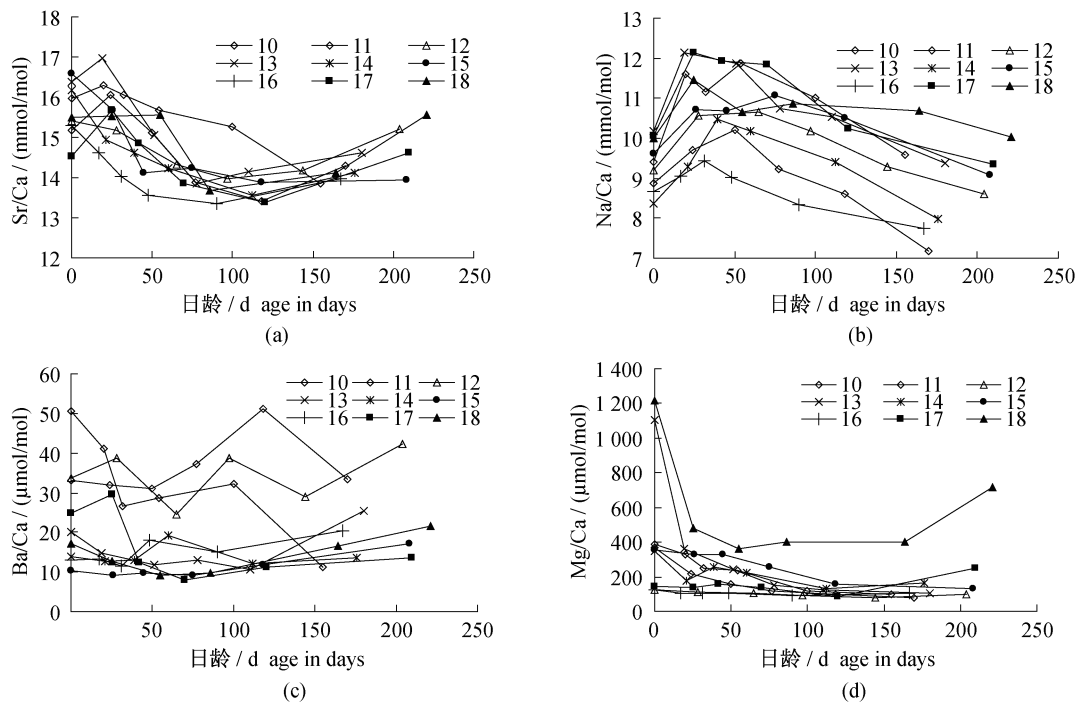


图5 茎柔鱼各年龄阶段耳石元素与Ca比值LA-ICP-MS法分析结果

Fig. 5 Element/Ca ratios measured by LA-ICP-MS in different ages of *D. gigas*

### 2.3 不同孵化月份耳石微量元素与Ca的比值

不同孵化月份的茎柔鱼耳石微量元素与Ca比值无明显差异( $P > 0.05$ )。不同孵化月份在不

同生长时期的茎柔鱼耳石的Na/Ca、Sr/Ca差异均不明显(图6-a, 6-b;  $P > 0.05$ ); Mg/Ca、Ba/Ca在不同生长时期表现出了较大的差异(图6-c, 6-

$d; P < 0.05$ ), 其中 12 月份孵化的仔鱼耳石 Ba/Ca 和 3 月份的仔鱼耳石 Ba/Ca 有明显差异(图 6-c;  $P < 0.01$ ), 1, 2, 3 月份孵化的成鱼耳石 Ba/Ca 均有明显差异(图 6-c;  $P < 0.05$ ), 其他月份间均无明显差异(图 6-c;  $P > 0.05$ )。而 12 月份孵化的仔鱼和稚鱼耳石 Mg/Ca 与其他月份孵化的仔鱼和稚鱼耳石的 Mg/Ca 有明显差异(图 6-d;  $P < 0.05$ ), 其他月份间均无明显差异(图 6-d;  $P >$

0.05)。  
**2.4 温度对微量元素沉积的影响**  
假设茎柔鱼在孵化后 0 ~ 60 d 主要是水平移动, 随海流漂流, 而之后就能够进行垂直移动。从表 4 可以看出, 不同个体的茎柔鱼在孵化后 4 个月所经历的表温变化不大, 除 12 月孵化的个体外, 其他表温变化均在 1 °C 内, 同时表温缓慢的减小; 在具备垂直移动习性后, 温度减小较快。

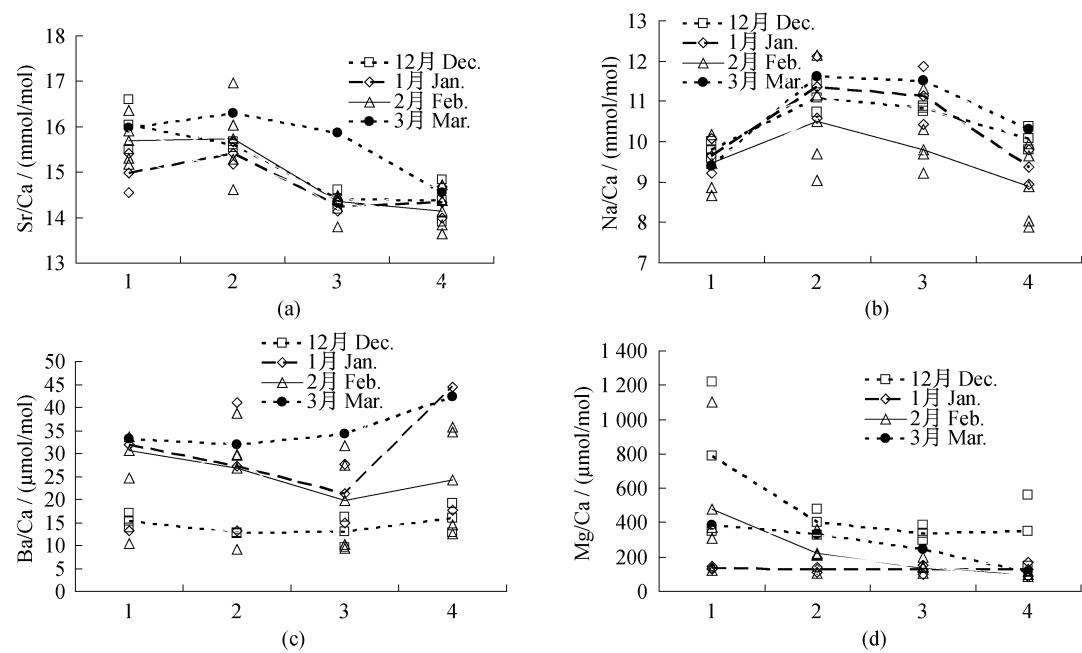


图 6 不同孵化月份的茎柔鱼各生长期耳石元素与 Ca 比值的 LA-ICP-MS 分析结果  
1. 核心区, 2. 后核心区, 3. 暗区, 4. 外围区。

Fig.6 Element/Ca ratios measured with LA-ICP-MS in different growth zones for *D. gigas* of different hatching seasons

1 – 4. represent the nucleus, postnuclear zone, dark zone and peripheral zone respectively.

表 4 假设条件下茎柔鱼孵化后所经历的月平均温度  
Tab.4 The mean monthly sea water temperature for *D. gigas* after the hatching period

| 孵化时间<br>hatching<br>time | 日龄/d<br>age in<br>days | 表温/°C<br>sea surface temperature |                         |                         | 0 ~ 105 m 温度/°C<br>temperature at 0 – 105 m |                         |                         |                         |                         |
|--------------------------|------------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                          |                        | 核心<br>nucleus                    | 孵化后<br>post<br>hatching | 孵化后<br>post<br>hatching | 孵化后<br>post<br>hatching                     | 孵化后<br>post<br>hatching | 孵化后<br>post<br>hatching | 孵化后<br>post<br>hatching | 孵化后<br>post<br>hatching |
|                          |                        | 0 d                              | 30 d                    | 60 d                    | 90 d                                        | 120 d                   | 150 d                   | 180 d                   | 210 d                   |
| 2008-12-06               | 235                    | 23.07                            | 24.47                   | 25.92                   | 26.5                                        | 27.18                   | 25.32                   | 23.45                   | 22.2                    |
| 2008-12-18               | 220                    | 23.33                            | 24.62                   | 26.3                    | 26.41                                       | 27.01                   | 25.24                   | 23.55                   | 22.61                   |
| 2009-01-15               | 215                    | 25.2                             | 26.02                   | 26.88                   | 27.02                                       | 27.46                   | 25.66                   | 23.15                   | 22.61                   |
| 2009-01-20               | 210                    | 25.2                             | 26.02                   | 26.88                   | 27.02                                       | 26.65                   | 24.83                   | 22.14                   | 21.29                   |
| 2009-02-07               | 183                    | 26.48                            | 26.8                    | 27.62                   | 27.2                                        | 27.44                   | 25.23                   | 23.86                   |                         |
| 2009-02-10               | 180                    | 26.48                            | 26.8                    | 27.62                   | 27.2                                        | 27.44                   | 25.78                   | 23.2                    |                         |
| 2009-02-13               | 186                    | 26.02                            | 26.88                   | 27.38                   | 26.55                                       | 26.78                   | 24.65                   | 22.36                   |                         |
| 2009-02-22               | 174                    | 26.6                             | 27.63                   | 27.45                   | 27.05                                       | 27.52                   | 25.56                   |                         |                         |
| 2009-02-23               | 175                    | 26.85                            | 27.08                   | 27.3                    | 26.89                                       | 25.17                   | 23.8                    |                         |                         |
| 2009-03-09               | 163                    | 27.2                             | 27.43                   | 27.15                   | 26.93                                       | 24.4                    | 22.82                   |                         |                         |

以 0, 60, 90, 120, 180, 210 d (不足 210 d 则不选取) 的各组个体微量元素比的平均值, 分别代表胚胎期、仔鱼期、稚鱼期、亚成鱼期和成鱼期, 对不同产卵月份的茎柔鱼的耳石 Sr/Ca、Na/Ca、Mg/Ca、Ba/Ca 和对应表温条件进行回归分析 (图 7), 发现 Na/Ca 除 3 月孵化个体外, 其他月份

都与表温之间有显著的线性关系 ( $P < 0.05$ ); Mg/Ca 仅 1 月和 3 月孵化个体与表温有显著的线性关系 ( $P < 0.05$ ); Sr/Ca 仅有 3 月孵化个体与表温有显著线性关系 ( $P < 0.05$ ); 而 Ba/Ca 与温度间线性相关不显著 ( $P > 0.05$ )。

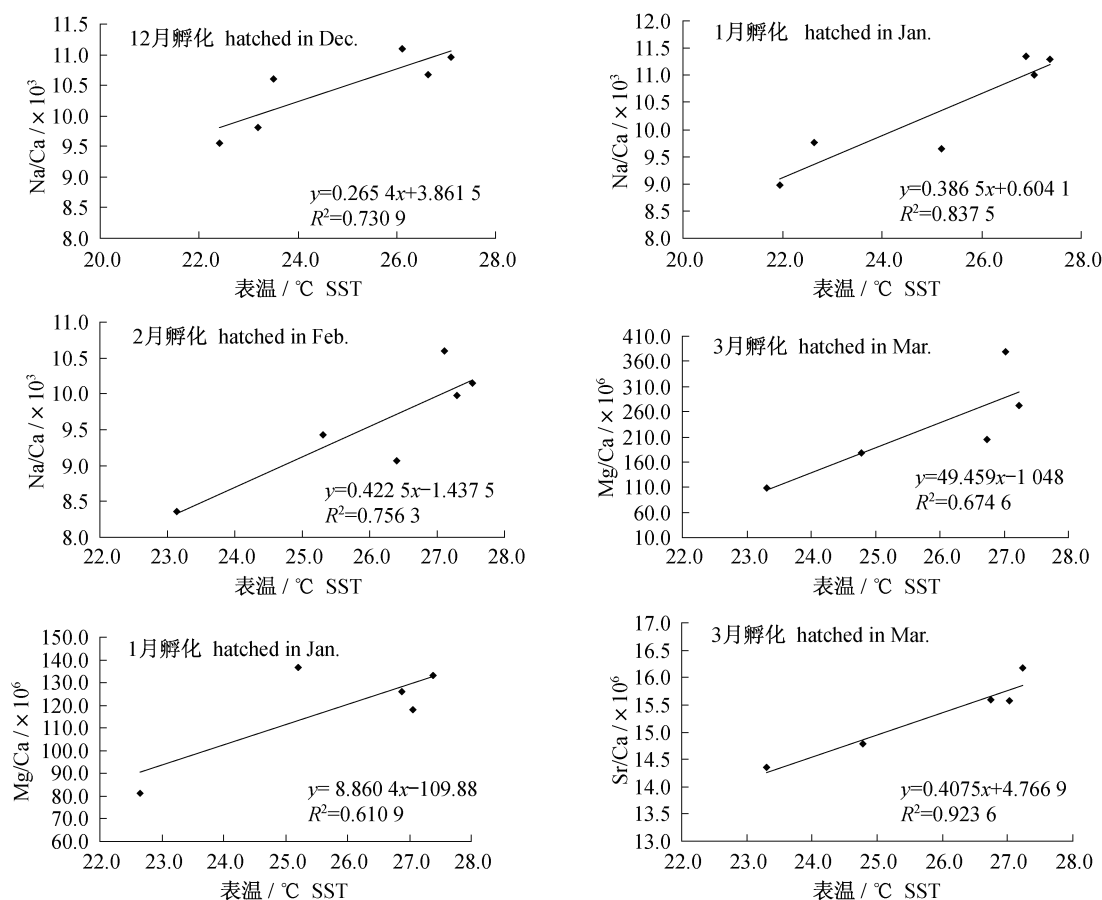


图 7 不同孵化月份茎柔鱼耳石微量元素与表温之间的关系

Fig. 7 Relationship between element/Ca ratios of *D. gigas* and SST of different hatching months

### 3 讨论

柔鱼类耳石微结构由核心、后核心、暗区和外围区等 4 部分组成<sup>[18]</sup>。耳石微区的形成与柔鱼类主要个体发育期息息相关<sup>[5]</sup>。核心区是位于孵化轮以内的区域, 即代表胚胎期的耳石, 后核心区代表仔鱼期的耳石, 暗区代表稚鱼期耳石, 而外围区代表亚成鱼和成鱼期的耳石<sup>[5,19]</sup>。Arkhipkin<sup>[20]</sup>的分析结果直接证明了茎柔鱼耳石后核心区形成于仔鱼期。本实验通过分析茎柔鱼不同生长期耳石的微量元素与 Ca 的比值, 用来探索其经历的环境变化。

Sr 是头足类耳石沉积的关键元素<sup>[21]</sup>, 茎柔鱼耳石 Sr/Ca (14.4 ~ 16.1 mmol/mol) 大于太平洋褶柔鱼 (*Todarodes pacificus*) 的 8.5 ~ 10 mmol/mol<sup>[10]</sup>、巴塔哥尼亚枪乌贼 (*Loligo gahi*) 的 8.0 mmol/mol<sup>[8]</sup> 和 魷乌贼 (*Gonatus fabricii*) 的 6.3 ~ 8.1 mmol/mol<sup>[13]</sup>。胚胎期耳石 Sr/Ca 最高, 随后一直下降, 在成鱼期降至最低, 这与柔鱼<sup>[11]</sup> 和 魷乌贼<sup>[22]</sup> 的耳石中发现的耳石核心至外围区域 Sr/Ca 呈 U 型分布有所不同, 这可能与种类差异有关。茎柔鱼仔稚鱼期生活在海表层, 到亚成鱼和成鱼期下潜至至少 1 200 m 水层生活, 而仔稚鱼在表层水域生活的极限温度通常为 15 ~ 32 °C, 深

层水温极限通常为  $4.0 \sim 4.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>[2]</sup>,因此,茎柔鱼个体发育期内的垂直移动导致的水温降低,导致其成鱼期耳石 Sr/Ca 低于仔鱼期。这种 Sr/Ca 与水温的反比例关系也被其他学者的研究所证明<sup>[8]</sup>。

Ikedo 等<sup>[23]</sup>研究秘鲁和哥斯达黎加厄尔尼诺与非厄尔尼诺年间的茎柔鱼耳石发现,Sr/Ca 无明显差异,他们认为这与茎柔鱼成体昼夜垂直移动导致的水温变化有关。本研究发现,不同孵化月份的茎柔鱼仔鱼、稚鱼和成鱼耳石 Sr/Ca 差异不明显。3 月孵化的茎柔鱼仔鱼耳石 Sr/Ca 最高,然而到成鱼期却降至最低,由此可推断,不同孵化期的茎柔鱼生命周期内经历的水环境不同。

胚胎期即孵化开始前的一个发育期,它以自身携带的卵黄囊为营养物质。因此,此时耳石的微量元素与亲体的遗传因素相关,而与外界水环境无关<sup>[13]</sup>。Yatsu 等<sup>[11]</sup>研究认为,柔鱼 (*Ommastrephes bartramii*) 胚胎期耳石 Sr、Ca 元素的浓度变化原因与其它发育期不同。Bustamante 等<sup>[24]</sup>指出,乌贼 (*Sepia officinalis*) 胚胎外层的保护膜能够有效阻止水环境中的金属离子如 Zn、Ca 等进入胚胎内。对魷乌贼<sup>[22]</sup>的研究同样发现,胚胎期耳石高 Sr/Ca 值与生活水环境无关,而与卵黄囊相关。此外本研究发现不同孵化月份的茎柔鱼在不同生长时期的耳石 Sr/Ca 差异不明显。

茎柔鱼耳石 Ba/Ca ( $19.4 \sim 27.8\text{ }\mu\text{mol/mol}$ ) 高于魷乌贼的  $5.7 \sim 8.2\text{ }\mu\text{mol/mol}$ <sup>[13]</sup> 和巴塔哥尼亚枪乌贼的  $3.0 \sim 8.0\text{ }\mu\text{mol/mol}$ <sup>[8]</sup>,这可能是由于种间差异所导致。海水中 Ba 元素的含量随着水深增加而增加,因此,在珊瑚和头足类中它可看做上升流的指标元素<sup>[8,25]</sup>。Arkhipkin 等<sup>[8]</sup>研究认为,福克兰群岛周围大陆架海域上升流的强度,直接影响该海域巴塔哥尼亚枪乌贼耳石 Ba 元素的含量。实验数据证明,腹足类胎壳<sup>[26]</sup>和鱼类耳石<sup>[27]</sup>中的 Ba/Ca 与海水中的成正比。Ba/Ca 被看做是头足类垂直移动的指标元素<sup>[8]</sup>。因此,茎柔鱼成鱼期耳石 Ba/Ca 明显高于其它各期,仔鱼至成鱼期耳石 Ba/Ca 呈“U”型变化,这与茎柔鱼幼体生活在海水表层,成体生活在较深层海水相对应。类似的研究结果在魷乌贼中也得到了验证<sup>[13]</sup>。

Mg 元素是头足类耳石生物矿化过程中又一重要元素,其含量高低与耳石中有机物成份多少

有关<sup>[28]</sup>,并随着耳石增大而减小<sup>[29]</sup>。Zumholz<sup>[13]</sup>研究认为,魷乌贼耳石 Mg/Ca 分布式样(核心高,向耳石边缘逐渐减小)与耳石生长率逐渐减小有关,因此,本文中茎柔鱼耳石 Mg/Ca 核心高外围低可能也与此有关。Arkhipkin 等<sup>[8]</sup>指出,与珊瑚骨骼相似<sup>[30]</sup>,巴塔哥尼亚枪乌贼 Mg/Ca 与水温成正相关,本文中,茎柔鱼耳石 Mg/Ca 在 1 月和 3 月孵化的个体与温度有显著的线性关系,符合 Mg/Ca 与水温呈正相关。

本实验样本采集的时间只有 7 月和 8 月,时间跨度较小,由于样本采集方法的限制,本实验也没有采集到全部胴长范围的样本。头足类耳石的微量元素研究是一个极为复杂的生物学问题,下一阶段将通过其他月份的样本或者在产卵场取样,开展茎柔鱼的年龄与生长研究,耳石的微量元素研究,进一步了解茎柔鱼在不同生活史阶段的栖息环境。

#### 参考文献:

- [1] 王尧耕,陈新军.世界大洋性经济柔鱼类资源及其渔业[M].北京:海洋出版社,2005:240-264.
- [2] Nigmatullin C M, Nesis K N, Arkhipkin A I. A review of the biology of the Jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) [J]. Fisheries Research, 2001, 54(1): 9-19.
- [3] Food and Agriculture Organization. FAO yearbook. Fishery and aquaculture statistics [M]. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2008:12.
- [4] Arkhipkin A I, Bizikov V. Role of the statolith in functioning of the acceleration receptor system in squids and sepioids [J]. Journal of Zoology, 2000, 250(1): 31-55.
- [5] Arkhipkin A I. Statolith as 'black boxes' (life recorders) in squid [J]. Marine and Freshwater Research, 2005, 56: 573-583.
- [6] Thorrold S R, Jones G P, Hellberg M E, et al. Quantifying larval retention and connectivity in marine populations with artificial and natural marks [J]. Bulletin of Marine Science, 2002, 70: 291-308.
- [7] 刘必林,陈新军,马金,等.头足类耳石微化学研究进展[J].水产学报,2010,34(2):315-321.
- [8] Arkhipkin A I, Campana S E, FitzGerald J, et al. Spatial and temporal variation in elemental signatures of statoliths from the Patagonian longfin squid

- (*Loligo gahi*) [J]. Canadian Journal of Fishery Aquatic Science, 2004, 61: 1212 – 1224.
- [9] Rodhouse P G, Robinson K, Gajdatsy S B, *et al.* Growth, age structure and environmental history in the cephalopod *Martialia hyadei* (Teuthoidea; Ommastrephidae) at the Atlantic Polar Frontal Zone and on the Patagonian Shelf Edge [J]. Antarctic Science, 1994, 6: 259 – 267.
- [10] Ikeda Y, Arai N, Kidokoro H, *et al.* Strontium: calcium ratios in statoliths of Japanese common squid *Todarodes pacificus* (Cephalopoda; Ommastrephidae) as indicators of migratory behaviour [J]. Marine Ecology Progress Series, 2003, 251: 169 – 179.
- [11] Yatsu A, Mochioka N, Morishita K, *et al.* Strontium: calcium ratios in statoliths of the neon flying squid, *Ommastrephes bartrami* (Cephalopoda), in the North Pacific Ocean [J]. Marine Biology, 1998, 131: 275 – 282.
- [12] Biemann M D, Piatkowski. Amounts and composition of trace elements in the statoliths of loliginid squids: reflection of environmental conditions [J]. ICES CM, 2001, K: 5.
- [13] Zumholz K. The influence of environmental factors on the micro-chemical composition of cephalopod statoliths [D]. Germany: University of Kiel, 2005.
- [14] 刘必林, 陈新军, 陆化杰, 等. 头足类耳石 [M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [15] Hu Z C, Gao S, Liu Y S, *et al.* Signal enhancement in laser ablation ICP-MS by addition of nitrogen in the central channel gas [J]. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2008, 23: 1093 – 1101.
- [16] Liu Y S, Hu Z C, Gao S, *et al.* *In situ* analysis of major and trace elements of anhydrous minerals by LA-ICP-MS without applying an internal standard [J]. Chemical Geology, 2008, 257(1 – 2): 34 – 43.
- [17] 郑曙, 胡兆初, 史玉芳. 橄榄石中 Ni、Ca、Mn 含量的电子探针与激光等离子体质谱准确分析 [J]. 地球科学—中国地质大学学报, 2009, 34(1): 220 – 224.
- [18] Lipinski M R. Practical procedures of squid ageing using statoliths. A laboratory manual. Scanning Electron Microscopy (SEM) and chemical treatment [C] // Jereb P, Ragonese S, von Boletzky S, eds. Squid age determination using statoliths. Proceedings of the international workshop held in the Istituto di Tecnologia della e del Pescato (ITPP-CNR). Mazara del Vallo, Italy, 9 – 14 October 1989. NTR. – ITPP. Special Publications. 1991: 97 – 112.
- [19] Arkhipkin A I, Perez J A A. Life history reconstruction [C] // Rodhouse P G, Dawe E G, O' Dor R K, eds. Squid recruitment dynamics. The Genus *Illex* as a model, the commercial *Illex species* and influence on variability. FAO, Rome: FAO Fisheries Technical Paper 376, 1998: 157 – 180.
- [20] Arkhipkin A I, Murzov S A. Age and growth patterns of *Dosidicus gigas* (Ommastrephidae) // Resources and prospects of utilization of squid stocks in the world ocean [M]. Moscow VNIRO Press, 1986: 107 – 123.
- [21] Lipinski M R. The deposition of statoliths: a working hypothesis [M] // Recent advances in cephalopod fisheries biology. Tokyo: Tokai University Press. 1993: 241 – 262.
- [22] Zumholz K, Klügel A, Hansteen T H, *et al.* Statolith microchemistry traces environmental history of the boreoatlantic armhook squid *Gonatus fabricii* [J]. Marine Ecology Progress Series, 2007, 333: 195 – 204.
- [23] Ikeda Y, Okazaki J, Sakurai Y, *et al.* Periodic variation in Sr/Ca ratios in statoliths of the Japanese common squid *Todarodes pacificus* Steenstrup, 1880 (Cephalopoda; Ommastrephidae) maintained under constant water temperature [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2002, 273: 161 – 170.
- [24] Bustamante P, Teyssié J L, Fowler S W, *et al.* Biokinetics of zinc and cadmium accumulation and depuration at different stages in the life cycle of the cuttlefish *Sepia officinalis* [J]. Marine Ecology Progress Series, 2002, 231: 167 – 177.
- [25] Lea D W, Shen G T, Boly E A. Coralline barium records temporal variability in equatorial Pacific upwelling [J]. Nature, 1989, 340: 373 – 376.
- [26] Zacherl D C, Paradis G D, Lea D W. Barium and strontium uptake into larval protoconchs and statoliths of the marine neogastropod *Kelletia kelletii* [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2003, 67: 4091 – 4099.
- [27] Bath G E, Thorrold S R, Jones C M, *et al.* Sr and Ba uptake in aragonitic otoliths of marine fish [J]. Geochim Cosmochim Acta, 2000, 64: 1705 – 1714.
- [28] Morris C. Statocyst fluid composition and its effect on calcium carbonate precipitation in the squid *Alloteuthis subulata* (Lamarck 1798): towards a model for biomineralization [J]. Bulletin of Marine Science, 1991, 49(1 – 2): 379 – 388.
- [29] Bettencourt V, Guerra A. Growth increments and

- biomineralization process in cephalopod statoliths [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 248: 191 – 205.
- [30] Mitsuguchi T, Matsumoto E, Abe O, *et al.* Mg/Ca thermometry in coral skeletons [J]. Science, 1996, 274: 961 – 931.

## Trace elements in the statoliths of jumbo flying squid off the Costa Rica waters

LI Jianghua<sup>1</sup>, CHEN Xinjun<sup>1,2,3\*</sup>, LIU Bilin<sup>1,2,3</sup>, FANG Zhou<sup>1</sup>

(1. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Oceanic Fisheries Resources Exploitation of Shanghai Education Commission, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Jumbo flying squid, *Dosidicus gigas*, is the most important commercial fishery in east Pacific Ocean, and the statolith in statocyst is widely applied in the field of population identification, life history analysis and habitat environment. In this paper, we studied the trace element composition of statolith in *Dosidicus gigas* and its relationship with the corresponding sea surface temperature (SST) by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS), then deduced the habitat in different life stages. The results showed that 54 kinds of elements were found in statolith of *Dosidicus gigas*, calcium (Ca), sodium (Na) and strontium (Sr) are the major elements. Sr/Ca ratio in total statolith is higher than that in *Todarodes pacificus*, *Loligo gahi* and *Gonatus fabricii*. Sr/Ca ratio is the highest in embryonic phase and declined by the age, and its relationship with SST shows a reciprocal ratio. There is no significant difference of Sr/Ca ratio between different hatching months in every life stage. Ba/Ca ratio shows a “U” form from larva to adult, this could be seen as the indicator of vertical movement with larva living in the surface and deep layer for adult. Nucleus is higher than peripheral zone in Mg/Ca ratio which presents positive correlation with SST, and this might be possible with the gradual decrease of growth rate in statolith. Meanwhile, this study also shows that *Dosidicus gigas* in embryonic phase used its own vitellicle as the nutrient substance, so the trace elements in this phase are related with genetic factor in parent rather than the water environment.

**Key words:** *Dosidicus gigas*; statolith; trace elements; sea surface temperature; habitat environment; Costa Rica

**Corresponding author:** CHEN Xinjun. E-mail: xjchen@shou.edu.cn