

## 头足类耳石的微化学研究进展

刘必林<sup>1,2,3</sup>, 陈新军<sup>1,2,3\*</sup>, 马金<sup>1</sup>, 钱卫国<sup>1,2,3</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:**耳石是位于平衡囊内起平衡作用的一对钙化组织,它是头足类的加速度感应器,记录其生命周期内的生物和生态信息。随着鱼类耳石微化学研究及应用的日趋成熟与完善,头足类耳石的相应研究也逐渐兴起。目前头足类耳石微化学的研究内容主要包括无机和有机大分子、微量元素、同位素、微化学标记等方面,其中微量元素是应用研究的重点,在头足类种群识别、生活史分析及栖息环境重建等方面发挥了重要作用。分析认为,头足类微量元素在与栖息环境尤其水温关系的研究中取得了很好的结果,被认为是测定头足类生活水温的“温度计”。然而,涉及种群识别、生活史分析以及与盐度和食物关系的研究还不够充分,且多集中于 Sr/Ca 的研究。因此,建议在今后的研究中要综合多种研究方法按时间和空间序列从日轮水平分析多种微量元素的含量与变化。

**关键词:**头足类;耳石;无机及有机大分子;微量元素;同位素;微化学标记

**中图分类号:**Q 954.53; S 917

**文献标识码:**A

耳石(statolith)是位于平衡囊(statocyst)内起平衡作用的一对硬组织,它是头足类的加速度感应器<sup>[1]</sup>,记录了其生命周期内大量生物和生态信息<sup>[2]</sup>,是年龄和生长研究的理想材料<sup>[3-4]</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>[5]</sup>,它在珊瑚骨骼<sup>[6]</sup>、双壳类贝壳<sup>[7]</sup>、腹足类<sup>[8]</sup>和鱼类<sup>[9]</sup>的耳石中得到了广泛应用。头足类耳石与鱼类耳石享有许多相似的地球化学和微结构特性,主要成份为碳酸钙,均具有由蛋白质和文石交替形成的周期性生长纹<sup>[10]</sup>,两者的相似性使其微化学成份在头足类研究中的应用具有了可能性<sup>[11]</sup>。本综述将从无机及有机大分子、微量元素、同位素和微化学标记等四方面对头足类耳石的研究结果进行总结,并着重分析微量元素的研究方法、研究内容和应用现状,为国内学者开展头

足类耳石微化学的应用研究提供基础。

### 1 耳石无机及有机大分子的研究

头足类耳石的形成是一个生物矿化的过程,细胞吸收矿物质然后晶体化,并按照规律形成特定的结构。这个结构包括无机矿物质和有机物,无机矿物质含量占整个耳石的95%以上,主要是碳酸钙盐结晶形成的文石,无方解石、球霏石等晶相;有机物含量占整个耳石的4%~5%,主要成份为蛋白质<sup>[12-15]</sup>。蛋白质分为不可溶性和可溶性两种,圆鳍枪乌贼(*Loliguncula brevis*)耳石中的蛋白质主要由8种分子量为25~200 ku的不溶性蛋白、1种分子量约为100 ku和2种高分子量的可溶蛋白组成<sup>[16]</sup>;滑柔鱼(*Illex illecebrosus*)耳石中的蛋白质以酸性氨基酸为主,富含天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸等<sup>[13]</sup>。另有研究证明,耳石中的蛋白质含量与头足类的年龄和胴长成反比,而耳

收稿日期:2009-09-04 修回日期:2009-11-09

资助项目:国家自然科学基金项目(NSFC40876090);上海曙光计划跟踪项目(08GG14);上海市教委科研创新项目(10YE127);上海市教委优秀青年基金(SSC-07012);上海市捕捞学重点学科(S30702)资助

通讯作者:陈新军,E-mail:xjchen@shou.edu.cn

石的钙化程度与胴长和年龄成正比<sup>[13]</sup>。耳石的生长纹 (increments) 由明纹 (light rings) 和暗纹 (dark rings) 两部分组成, 明纹主要成份为碳酸钙, 暗纹主要成份为有机物质<sup>[14]</sup>。去蛋白和去矿物质的实验表明, 生长纹的沉积与蛋白质的分泌有着明显的相关性<sup>[17]</sup>, 其中不溶性蛋白是影响耳石生长纹规律性沉积的主要因素<sup>[16]</sup>。

## 2 耳石微量元素的研究

### 2.1 研究原理

与鱼类一样, 头足类在与外界环境进行物质交换过程中, 环境中的化学元素通过呼吸、摄食等方式进入体内, 然后经过一系列的代谢、循环进入内淋巴结晶后沉积在耳石中。这些元素经过体内的递减传输后, 沉积在耳石中的含量非常小, 被称为微量元素。微量元素根据其含量大小又可分为微量元素 (minor element, 浓度  $> 100 \times 10^{-6}$ , 如 Na、Sr、K、S、N、Cl、P 等) 和痕量元素 (trace element, 浓度  $< 100 \times 10^{-6}$ , 如 Mg、Cu、Pb、Hg、Mn、Fe、Zn 等) 两种<sup>[9]</sup>。由于耳石的非细胞性和代谢惰性, 随着头足类及其耳石的同步生长, 水环境中沉积在耳石中的化学元素基本上是永久性的<sup>[9]</sup>。头足类耳石记录了其整个生命周期内所生活的水环境特征, 而水环境的变化导致耳石微量元素的改变。通过周围水环境和耳石中微量元素的相关信息分析, 不仅可以有效的划分头足类群体, 而且对头足类的洄游、繁殖、产卵等生活史分析, 以及温度、盐度、食物等栖息环境的重建起着重要作用。

### 2.2 研究方法

目前用于头足类耳石微量元素分析的方法主要有: 电感耦合等离子质谱法 (inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)<sup>[11]</sup>、激光剥蚀—电感耦合等离子体质谱法 (laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, LA-ICPMS)<sup>[18]</sup>、质子激发 X 射线发射法 (proton induced X-ray emission, PIXE)<sup>[19-24]</sup>、同步 X 射线荧光光谱法 (synchrotron X-ray fluorescence, SYXRF)<sup>[25]</sup>、电子探针微量法 (electron probe microanalysis/Electron microprobe analysis, EPMA)<sup>[14,26-29]</sup>、极小二次离子质谱法 (nano secondary ion mass spectrometry, nanoSIMS)<sup>[30]</sup>、原子吸收光谱法 (atomic absorption spectrometry,

AAS)<sup>[31]</sup>、电感耦合等离子光谱分析法 (inductively coupled plasma mass spectrometry with optical spectrum analysis, ICP-OES)<sup>[31]</sup> 和质子背散射分析法 (proton back scattering, BS)<sup>[24,32]</sup>。

电感耦合等离子质谱法 (ICP-MS) 采用 ICP-MS 法的主要步骤有<sup>[11,33]</sup>: ①耳石制备与除污。耳石在酸洗过的聚乙烯离心管内用去离子水音波清洗 5 min, 再用去离子水中清洗 3 遍, 然后在层流柜中干燥, 最后称重 (精确至 10  $\mu\text{g}$ ) 并密封保存; ②酸融。在酸洗过的聚乙烯离心管内加入 70% 的硝酸酸融, 然后用去离子水稀释至 1%; ③数据分析。采用多因素方差分析 (multivariate ANOVA, MANOVA) 及典型判别分析 (canonical discriminant analysis) 解析不同地理或季节产卵群体耳石各元素的差异。

通常 ICP-MS 是元素组成研究的首选设备, 它即可用于分析耳石的微量元素<sup>[11]</sup>, 也可分析头足类生活的水环境以及食物样本<sup>[34]</sup> 中的微量元素。其优点: 敏感度高, 可同时测量出多种含量极低的痕量元素<sup>[11]</sup>; 缺点: 不能从时间序列上分析耳石断面上的微量元素, 只能从空间上分析不同个体耳石的整体微量元素。

激光剥蚀—电感耦合等离子体质谱法 (LA-ICPMS) 采用 LA-ICPMS 法在进行元素分析之前, 其耳石要双面打磨制成薄片, 并在高倍显微镜下选定好测试位点, 然后在去离子水中清洗 3 次<sup>[34]</sup>。LA-ICPMS 空间分辨率一般在 30  $\mu\text{m}$  以上, 能够比较准确的探测大多数微量元素 (如 K、Na、Sr 等)<sup>[35]</sup>。该方法优点: 样品制备和测试简单, 可从时间序列上分析耳石断面上的微量元素<sup>[18,36]</sup>; 缺点: 敏感度较低, 激光测样点范围相当于数十个轮纹水平, 尚难达日轮水平, 且对样品造成较大程度的损伤<sup>[35]</sup>。

质子激发 X 射线发射法 (PIXE) 采用 PIXE 法在进行微量元素分析前, 首先要对耳石进行截面选择, 然后对截断后的耳石块进行打磨制片<sup>[24,32]</sup>。该方法用来分析耳石某个截面的元素分布情况, 一次测量可同时分析几种元素<sup>[20]</sup>; 空间分辨率为 3  $\mu\text{m}$ , 一般用来分析含量较高的微量元素, 如 Sr、Ca、Cr、Fe、Cu、Zn、Br 等<sup>[24,32]</sup>。

同步 X 射线荧光光谱法 (SYXRF) 采用 SYXRF 法在分析耳石前, 要将耳石进行双面打磨

并制成约 40  $\mu\text{m}$  的薄片。该方法可从时间序列上同时对周期表中 Ca 至 Pb 的所有元素进行分析,其优点:无破坏性,样本可重复分析;空间分辨率高,可达 12  $\mu\text{m}$ ,耳石测样点范围相当于耳石 5 日轮增长区水平;敏感度高,元素检出下限可达  $0.5 \times 10^{-6}$  [25]。

**电子探针微量法 (EPMA)** 采用 EPMA 法在分析耳石前,同样需要将耳石打磨制成薄片。该方法分析时不会对样品造成较大程度损伤,空间分辨率 1 ~ 3  $\mu\text{m}$  [35]。它可从时间序列上进行分析,但只能准确的探测出浓度大于  $300 \times 10^{-6}$  的少量元素,在头足类中一般用于分析 Sr/Ca [27]。

**极小二离子质谱法 (nanoSIMS)** 采用 nanoSIMS 法在分析耳石前,同样需要将耳石打磨制成薄片。该方法空间分辨率极高,可达 400 nm,耳石测样点可达日轮水平 [30]。

### 2.3 应用现状

头足类耳石微量元素主要是 Sr/Ca 的研究。Sr 在头足类耳石生物矿化过程中扮演重要角色 [37],它是耳石发育过程中不可缺少的微量元素,控制着头足类初孵幼体的游泳行为 [38]。影响头足类耳石轮纹清晰度的因素存在多种观点,其中一种观点认为,耳石中 Sr 含量与轮纹清晰度存在密切关系,含量越高轮纹越清晰 [24,37]。然而一些学者分析得出,轮纹相对不清晰的翼区和吻区 Sr 含量却明显高于轮纹清晰的侧区 [14,34],这与前者观点不同。Zumholz 等 [30] 运用高分辨率的 nanoSIMS 法从日轮水平分析贻乌贼 (*Gonatus fabricii*) 耳石微量元素发现,Sr 的沉积白昼多于黑夜。

除 Sr、Ca 外,已探测出的微量元素还包括 Mg、Ba、Na、Cd、Fe、Zn、Cr、Br、Mn、Pb、Cu、As、Nb、I、Y、U 等。Mg 被认为在耳石的钙化过程中也起着重要作用 [14,39];乌贼 (*Sepia officinalis*) 耳石中 Ba 的沉积与盐度无关,但却可看作是乌贼生活水温的指示元素 [25];贻乌贼耳石中 Na 的沉积白昼少于黑夜;Cd 可作为巴塔哥尼亚枪乌贼 (*Doryteuthis gahi*) 不同产卵群划分的依据 [11];太平洋褶柔鱼 (*Todarodes pacificus*) 耳石中 Fe 和 Zn 与其生活水温呈正相关 [20]。

**种群划分** 随着耳石微量元素在鱼类种群研究中的成功应用,头足类耳石微量元素也被看

作是一种天然标记来划分其种群结构,此方法可作为同工酶和微卫星 DNA 法等鉴定头足类种群的一个补充 [2]。Arkhipkin 等 [11] 研究发现,巴塔哥尼亚枪乌贼的不同地理群和不同季节产卵群,其耳石的微量元素变化明显。秘鲁海域的耳石 Mn/Ca、Sr/Ca 和 Ba/Ca 较大西洋的低,而 Mg/Ca 较大西洋的高;秋生群的耳石 Ba/Ca 和 Cd/Ca 随着个体性成熟度增加而增大,而春生群的耳石 Ba/Ca 和 Cd/Ca 随着个体性成熟度增加而减小;秋生群的 Mg/Ca 和 Mn/Ca 随着性成熟度增加而减小,春生群的 Sr/Ca 和 Ba/Ca 随着性成熟度增加而增大。Ikeda 等研究不同地理区域的两种太平洋褶柔鱼种群发现其耳石 Sr/Ca 存在明显差异;而 Rodhouse 等 [40] 研究分别采自于南极锋面区 (antarctic polar frontal zone, APFZ) 和巴塔哥尼亚陆架边缘区同一种群的七星柔鱼 (*Martialia hyadesi*) 则发现耳石 Sr/Ca 无明显差异。

**生活史分析** 通过对头足类耳石及其周围水环境和生态环境中微量元素的分析,可重建头足类的生活史。Ikeda 等 [20] 根据耳石微量元素的分析,不仅重建了太平洋褶柔鱼的生活水温,而且还得出亚北极大型群与对马岛小型群产卵场和洄游路线完全不同 [28]。Yatsu 等 [29] 通过对耳石不同生长阶段 Sr 元素的分析,推断柔鱼幼体生活水温较成体要高。福氏枪乌贼 (*Loligo forberi*) 不同生长阶段耳石中 Sr 元素变化明显,推断其生命周期内可能经历不同水环境下的大范围移动 [31]。Arkhipkin 等 [11] 从耳石 Cd/Ca 和 Ba/Ca 的变化,推断冬季巴塔哥尼亚枪乌贼在深水生活。Zumholz [36] 运用 LA-ICPMS 法从时间序列上分析了贻乌贼耳石中的 9 种微量元素,一方面从 Ba/Ca 的变化证实了贻乌贼幼年期生活在表层水域而成年期生活在深层水域,另一方面根据耳石中心至外围区 U/Ca 和 Sr/Ca 逐渐增加推断贻乌贼成体向冷水区进行洄游。Rodhouse 等 [40] 依据耳石 Sr/Ca 及轮纹数据推断七星柔鱼在暖水区产卵。

**栖息环境重建** 头足类耳石中 Sr 含量(等同 Sr/Ca)与水温呈负相关 [20-23]。Ikeda 等 [20] 分析不同水温站点采集的太平洋褶柔鱼耳石的 Sr 显示,采自冷水区的耳石 Sr 含量高于采自暖水区的 Sr 含量;研究栖息于不同气候条件下的柔鱼和枪乌贼发现,生活于亚热带的柔鱼 (*Ommastrephes*

*bartrami*)和太平洋褶柔鱼耳石中的 Sr 含量高于热带的杜氏枪乌贼(*Uroteuthis duvauceli*)、中国枪乌贼(*Uroteuthis chinensis*)、剑尖枪乌贼(*Uroteuthis edulis*)和莱氏拟乌贼(*Sepioteuthis lessoniana*)<sup>[21]</sup>。生活于温带的柔鱼耳石中 Sr 含量明显高于亚热带的茎柔鱼(*Dosidicus gigas*)和鸢乌贼(*Sthenoteuthis oualaniensis*)<sup>[22]</sup>。日本海北海道北部沿岸水域的水蛸(*Enteroctopus dofleini*)耳石 Sr 含量与其生活的底层水温呈明显的负相关<sup>[23]</sup>。尽管头足类耳石中 Sr/Ca 通常与水温呈负相关,但是其自身经历水域水温的日变化大小将影响 Sr/Ca 与水温的关系。柔鱼类多为大洋性种类,昼夜垂直移动明显(白天栖于深层冷水区,晚上活动于表层暖水区),大的昼夜温差导致 Sr/Ca 随着整体水温变化不明显。例如:有学者将秘鲁海域厄尔尼诺和非厄尔尼诺年份的茎柔鱼耳石进行对比研究发现,尽管两种年份里水温差距明显,但是 Sr/Ca 无明显差异<sup>[26]</sup>。枪乌贼类为近岸性种类,栖息于底层水域,昼夜垂直移动不明显,小的昼夜温差对 Sr/Ca 影响小。生活于日本温带海域的长枪乌贼(*Heterololigo bleekeri*),其耳石中的 Sr/Ca 比生活在安达曼海和泰国湾等热带海域的杜氏枪乌贼、中国枪乌贼和剑尖枪乌贼的高<sup>[22]</sup>。研究认为,巴塔哥尼亚枪乌贼耳石中的 Sr/Ca 和 Ba/Ca 与水温成负相关, Mg/Ca 和 Mn/Ca 与水温成正相关;对不同地理区域的巴塔哥尼亚枪乌贼研究发现,生活在冷水区的巴塔哥尼亚枪乌贼耳石中的 Sr/Ca 高<sup>[11]</sup>。乌贼耳石中 Ba/Ca 与温度呈负相关, I/Ca 与温度(*T*)呈正相关,关系式分别为  $Ba/Ca = 26.89 - 0.574T$  和  $I/Ca = 1.49 + 0.244T$ ;然而 Sr 含量却与温度无明显相关性,与其它头足类研究不符,这可能由于野外和室内环境不同所致<sup>[25]</sup>。

头足类耳石微量元素与盐度也存在一定关系。阿拉伯海、印度洋和太平洋 3 个不同盐度海区,它们鸢乌贼耳石中的 Sr 含量不同<sup>[22]</sup>。分布在高盐度秘鲁海区的茎柔鱼耳石中,其 Sr 含量明显高于低盐度哥斯达黎加海区<sup>[26]</sup>。生活于盐度相对较高的地中海海域的枪乌贼(*Loligo vulgaris*),其耳石中的 Sr 和 Zn 含量比生活于盐度较低北海的福氏枪乌贼高<sup>[31]</sup>。一些研究发现,实验室饲养的乌贼,其耳石中的 Sr、Ba 含量与盐度无明显关系,而 I/Ca 与盐度呈显著的负相

关<sup>[25]</sup>。

食物对头足类耳石中微量元素的含量及其分布也存在影响。Hurley 等<sup>[41]</sup>用 SrCl<sub>2</sub> 加强的饵料投喂滑柔鱼,研究发现其耳石中 Sr 含量与食物中 Sr 含量成正相关。Zumholz 等<sup>[34]</sup>在研究恒温、恒盐条件下饲养的乌贼时发现,用褐虾(*Crangon* sp.)投喂的乌贼耳石侧区中的 Sr/Ca、Ba/Ca、Mn/Ca、Y/Ca 明显比用大西洋鲱(*Clupea harengus*)投喂的高;而在耳石核心区中,上述几种元素与 Ca 比值无明显不同。头足类个体发育过程中一般都经历一个或几个食性转换的过程,结合日龄数据分析不同生长阶段耳石中 Sr 含量的变化,并与食物中 Sr 含量进行比较,可较准确的掌握头足类的摄食变化<sup>[34]</sup>。

### 3 碳氧同位素的研究

头足类耳石中的碳(<sup>12</sup>C、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C)、氧(<sup>16</sup>O、<sup>18</sup>O)同位素一定程度上反应了头足类的生活水温、栖息水深、年龄和生长率等信息。Landman 等<sup>[42]</sup>根据耳石中 δ<sup>18</sup>O 值,推算桑氏大王乌贼(*Architeuthis sanctipauli*)生活水温为 10.5 ~ 12.9 °C,并结合历史垂直水温数据推算其生活平均水深 120 ~ 250 m;根据耳石中 Δ<sup>14</sup>C 时间序列上的变化,建立了年龄估算方程。对滑柔鱼研究发现,其耳石中 δ<sup>18</sup>O 的分馏与周围水环境相平衡;而 δ<sup>13</sup>C 分馏则与周围水环境不平衡,它可能与个体本身的代谢、摄食等生物过程相关<sup>[13]</sup>。

### 4 微化学标记

微化学标记是头足类耳石轮纹日周期性证实的方法之一。其原理是在头足类的食物、生活的水环境中加入或直接注射标记物,这些标记物通过代谢进入体内并最终沉积在耳石中,然后通过对耳石生长纹上标记物的观察并以实际日龄对比,从而确定轮纹是否具有日周期性。用于头足类耳石的标记物有四环素类药物(如 OTC 和 CTC)、Sr 元素、茜素氨络合物(AC)、以及 CA(Calceine)等<sup>[15]</sup>。

### 5 分析与讨论

随着耳石微化学成份在鱼类生态学和渔业生物学领域应用研究中的不断发展,头足类耳石微量元素的相关应用研究也逐步兴起。微量元素和

同位素在头足类种群识别、生活史分析及栖息环境重建等方面发挥了重要作用。国外在头足类微量元素的应用方面开展了广泛研究,并在水温、盐度、食物等环境因子(尤其水温)的研究中取得了很好的研究结果<sup>[20-23,26]</sup>, Sr、Fe、Zn 等微量元素被看作是测试头足类生活水温的“温度计”<sup>[20]</sup>。但由于技术条件的限制国内还没有开展相关方面的研究,仅少数报道见于鱼类耳石<sup>[43]</sup>。因此,通过本文的综述希望能够为以后国内学者开展这方面的研究提供借鉴和参考。

纵观全文,尽管耳石微化学成份在头足类的研究中取得了不错的成绩,但是应当看到仍存在一些问题。首先,虽然测定头足类耳石微量元素的方法较多,但多数方法空间分辨率低、元素含量的检测下限较高,无法从日轮水平分析多种微量元素,因此为了从时间、空间上分析多种元素的组成和变化情况有必要结合多种测定方法。其次,目前的微量元素研究仅集中于 Sr、Ca、Ba、Mg 等少数几种元素上,涉及其它元素的研究较少或较肤浅。第三,目前微量元素的应用研究主要集中在 Sr/Ca 与水温关系的研究,涉及种群鉴定、生活史分析以及与盐度和食物关系的研究显得不够深入和充分,今后须要加强这方面的研究。

#### 参考文献:

- [1] 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.
- [2] Arkhipkin A I. Statolith as 'black boxes' (life recorders) in squid [J]. *Marine and Freshwater Research*, 2005, 56:573-583.
- [3] 陈新军, 刘必林, 钟俊生. 头足类年龄与生长特性的研究方法进展[J]. *大连水产学院学报*, 2006, 21(4): 371-377.
- [4] 刘必林. 利用耳石微结构研究印度洋西北海域鳶乌贼的年龄和生长[D]. 上海: 上海水产大学, 2006.
- [5] 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 (Suppl): 291-308.
- [6] Beck J W, Edwards R L, Ito E, et al. Sea-surface temperature from coral skeletal strontium/calcium ratios[J]. *Science*, 1992, 257(5070): 644-647.
- [7] Becker B J, Fodrie F J, McMillan P A, et al. Spatial and temporal variation in trace elemental fingerprints of mytilid mussel shells: A precursor to invertebrate larval tracking [J]. *Limnology Oceanography*, 2005, 50(1): 48-61.
- [8] Zacherl D C, Manriquez P H, Paradis G D, et al. Trace elemental fingerprinting of gastropod statoliths to study larval dispersal trajectories [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 284: 297-303.
- [9] Campana S E. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1999, 188: 263-297.
- [10] Jackson G D. Application and future potential of statolith increment analysis in squids and sepioids [J]. *Canadian Journal of the Fisheries and Aquatic Sciences*, 1994, 51: 2612-2652.
- [11] Arkhipkin A I, Campana S E, FitzGerald J, et al. Spatial and temporal variation in elemental signatures of statoliths from the Patagonian lonfin squid (*Loligo gahi*) [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2004, 61: 1212-1224.
- [12] Dilly P N. The structure of some cephalopod statoliths[J]. *Cell and Tissue Research*, 1976, 175: 147-163.
- [13] Radtke R L. Chemical and structural characteristic of statoliths from the short-finned squid *Illex illecebrosus*[J]. *Marine Biology*, 1983, 76: 47-54.
- [14] Bettencourt V, Guerra A. Growth increments and biomineralization process in cephalopod statoliths [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, 248(2):191-205.
- [15] 肖述, 郑小东, 王如才, 等. 头足类耳石论文研究进展[J]. *中国水产科学*, 2003, 10(1): 73-78.
- [16] Durholtz M D, Kretsinger R H, Lipinski M R. Unique proteins from the statoliths of *Lolligurricula brevis* (Cephalopoda: loliginidae) [J]. *Comp Biochem and Physiol*, 1999, 123(4): 381-388.
- [17] Kristensen T K. Periodical growth rings in cephalopod statoliths[J]. *Dana*, 1980, 1: 39-51.
- [18] 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.

- [19] Ikeda Y, Arai N, Sakamoto W. Preliminary report on the PIXE analysis of the squid statoliths [ J ]. International Journal of PIXE, 1995, 5(2-3): 159-162.
- [20] Ikeda Y, Arai N, Sakamoto W, et al. Relationship between statoliths and environmental variables in cephalopods [ J ]. International Journal of PIXE, 1996, 6: 339-345.
- [21] Ikeda Y, Arai N, Sakamoto W, et al. PIXE analysis of trace elements in squid statoliths: composition between Ommastrephidae and Loliginidae [ J ]. International Journal of PIXE, 1996, 6: 537-542.
- [22] Ikeda Y, Arai N, Sakamoto W, et al. Comparison on trace elements in squid statoliths of different species' origin as available key for taxonomic and phylogenetic study [ J ]. International Journal of PIXE, 1997, 7: 141-146.
- [23] Ikeda Y, Arai N, Sakamoto W, et al. Preliminary report on PIXE analysis for trace elements of *Octopus dofleini* statoliths [ J ]. Fisheries Science, 1999, 65(1): 161-162.
- [24] Durholtz M D, Lipinski M R, Przybylowicz W J, et al. Nuclear microprobe mapping of statoliths of Chokka Squid *Loligo vulgaris reynaudii* d'Orbigny, 1845 [ J ]. Biology Bulletin, 1997, 193: 125-140.
- [25] Zumholz K, Hansteen T H, Piatkowski U, et al. Influence of temperature and salinity on the trace element incorporation into statoliths of the common cuttlefish (*Sepia officinalis*) [ J ]. Marine Biology, 2007, 151: 1321-1330.
- [26] Ikeda Y, Yatsu A, Arai N, et al. Concentration of statolith trace elements in the jumbo flying squid during El Nio and non-El Nio years in the eastern Pacific [ J ]. Journal of the Marine Biology Association of the UK, 2002, 82: 863-866.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] Zumholz K, Hansteen T H, Hillion F, et al. Elemental distribution in cephalopod statoliths: NanoSIMS provides new insights into nano-scale structure [ J ]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2007, 17: 487-491.
- [31] Biemann M D, Piatkowski U. Amounts and composition of trace elements in the statoliths of loliginid squids: reflection of environmental conditions? [ J ] ICES CM, 2001, K: 5.
- [32] Lipinski M, Przybylowicz W J, Durholtz M D, et al. Quantitative micro-PIXE mapping of squid statoliths [ J ]. Nuclear Instruments Methods in Physics Research B, 1997, 130: 374-380.
- [33] 黎硕增. 鱼类的耳石信息分析及生活史重建—理论、方法与应用 [ J ]. 海洋科学集刊, 2007, 48: 93-113.
- [34] Zumholz K, Hansteen T H, Klügel A, et al. Food effects on statolith composition of the common cuttlefish (*Sepia officinalis*) [ J ]. Marine Biology, 2006, 150: 237-244.
- [35] Fowler A J, Campana S E, Jones C M, et al. Experimental assessment of the effect of temperature and salinity on elemental composition of otoliths using solution-based ICPMS [ J ]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1995, 52: 1431-1441.
- [36] Zumholz K. The influence of environmental factors on the micro-chemical composition of cephalopod statoliths [ D ]. PhD Thesis, University of Kiel, Germany, 2005.
- [37] Lipinski M R. The deposition of statoliths: a working hypothesis [ C ] // Okutani T, O' Dor R K, Kubodera T, eds. Recent advances in cephalopod fisheries biology, Tokyo: Tokai University Press, 1993.
- [38] Hanlon R T, Bidwell J P, Tai R. Strontium is required for statolith development and thus normal swimming behaviour of hatchling cephalopods [ J ]. Journal of Experimental Biology, 1989, 141(1): 187-195.
- [39] Morris C C. Statocyst fluid composition and its effects 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.
- [40] 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.
- [41] Hurley G V, Odense P H, O' Dor R K, *et al.* Strontium labelling for verifying daily growth increments in the statolith of the short-finned squid (*Illex illecebrosus*) [ J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1985, 42(2): 380-383.
- [42] Landman N H, Cochran J K, Cerrato R, *et al.* Habitat and age of the giant squid (*Architeuthis sanctipauli*) inferred from isotopic analyses [ J]. *Marine Biology*, 2004, 144: 685-691.
- [43] 付自东, 谢天明, 宋昭彬. 鱼类耳石元素指纹研究进展[ J]. *应用生态学报*, 2007, 13(2): 278-283.

## Review of studies of the microchemical structure of cephalopod statoliths

LIU Bi-lin<sup>1,2,3</sup>, CHEN Xin-jun<sup>1,2,3\*</sup>, MA Jin<sup>1</sup>, QIAN Wei-guo<sup>1,2,3</sup>

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

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

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

**Abstract:** Statoliths are paired calcified structures within the statocyst providing a sense of balance, and they are also an acceleration receptor showing much information about biology and ecology over the life span. With the study and application gradually elevation and improvement for otolith microchemistry of fish, corresponding study in the statolith of cephalopod become popular. Recently, microchemistry study is one of hot topics in fishery animal, and more and more scientists are interested in it as so much biology and ecology information was showed. For the purpose of providing some reference to the researchers, studies of microchemical structure of cephalopod statoliths were reviewed. Presently, the main contents for microchemistry study in cephalopod statolith are composed of inorganic and organic molecules, minor and trace elements, isotope as well as microchemical markers. Minor and trace elements were the important part among the application, which played an important role in discriminating different populations, analyzing life history and reconstructing inhabited environment condition. Some good results have been shown regarding relationship between the elements and environment condition especially water temperature, some of which were considered as a thermometer for reconstructing environment temperature. However, studies refer to population discriminating, life history analyzing and influence by salinity and food for the elements were not enough, moreover, most of study concentrated on strontium to calcium. Therefore, we proposed that the elements value study should be performed at daily level according to different temporal and spatial serial in the further research.

**Key words:** cephalopod; statolith; inorganic and organic molecules; minor and trace elements; isotope; microchemical markers

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