

东太平洋茎柔鱼的耳石微结构

刘必林^{1,2,3,4}, 陈新军^{1,2,3,4*}, 李建华¹

(1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学国家远洋渔业工程技术研究中心, 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;

4. 上海海洋大学远洋渔业协同创新中心, 上海 201306)

摘要: 根据采集于东太平洋哥斯达黎加、秘鲁和智利外海的茎柔鱼耳石样本, 分析了其生长纹、标记轮和其他异常结构。结果显示, 耳石生长纹由明暗相间的环纹组成, 按照生长纹宽度的不同可分为后核心区、暗区和外围区3个明显的生长区。通过对后核心区和暗区生长纹的计数显示, 哥斯达黎加、秘鲁和智利外海3个海区的茎柔鱼仔鱼的年龄分别约为26、32和33日龄, 稚鱼的年龄分别约为86、84和88日龄。茎柔鱼的耳石微结构中存在7类标记轮, 它们的形成与茎柔鱼自身的内源节律(孵化、交配、产卵等)和外部环境压力(温度骤变、捕食者攻击等)等因素有关。研究还在个别茎柔鱼的耳石中发现一些不规则的异常结构(副核心、附生长纹、附中心)和生长纹方向颠倒的现象, 推断它们的形成可能是由于外力作用使得耳石被破坏或耳石脱离原先的位置所造成的。

关键词: 茎柔鱼; 耳石; 生长纹; 标记轮; 特殊结构; 东太平洋

中图分类号: Q 958.8; S 917.4

文献标志码: A

茎柔鱼(*Dosidicus gigas*)为大洋性浅海种, 广泛分布于东太平洋的美国加利福尼亚北部至智利南部海域^[1], 是中国远洋鱿钓渔业的重要捕捞对象之一, 年最高产量达25万t。耳石是位于头足类平衡囊内的1对石灰质硬组织, 它是头足类感受自身游泳速度和控制身体平衡的主要器官^[2], 同时还记录了头足类生命周期内大量的生物与生态学信息^[3]。通过对耳石微结构的分析, 可揭示头足类的年龄、生长、种群、洄游、产卵、繁殖、摄食、栖息环境等生活史信息^[3]。茎柔鱼因其在中国远洋渔业中的特殊地位, 其年龄、生长、繁殖以及种群结构等基础生活史得到了广泛研究^[4-7]。尽管如此, 关于茎柔鱼的特殊生活史事件(例如, 幼体期年龄、产卵与交配发生时间和次数等)的研究工作始终未得到开展。为此, 本实验通过对茎柔鱼主要渔场(哥斯达黎加、秘鲁和智利外海)所采集耳石的生长

纹、标记轮以及异常结构等的分析, 期待为研究茎柔鱼的特殊生活史事件提供基础。

1 材料与方法

1.1 样本采集

样本采集于哥斯达黎加、秘鲁和智利外海。哥斯达黎加外海采集时间为2009年7月和8月, 采集地点为91°48'~99°30'W、6°36'~9°30'N, 样本数量为161尾; 秘鲁外海采集时间为2008年1月至2010年10月, 采集地点为79°12'~88°48'W、10°21'~18°16'S, 样本数量为765尾; 智利外海采集时间为2008年2—3月和2010年4—6月, 采集地点为75°5'~82°28'W、20°30'~39°43'S, 样本数量为289尾。

1.2 耳石提取

样本在实验室解冻后, 按照刘必林等^[8]的方

收稿日期: 2015-01-19 修回日期: 2016-03-06

资助项目: 国家自然科学基金(41306127, 41276156); 上海市自然科学基金(13ZR1419700); 教育部博士点基金(20133104120001)

通信作者: 陈新军, E-mail: xjchen@shou.edu.cn

法取出1对耳石,然后放入90%的酒精中保存,并贴好标签备用。

1.3 耳石切片制作

每个样本选出1对耳石,其中的1个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,并放置于阴凉处待其硬化;硬化后的耳石块用Isomet 1000®切割机将其切成2~3 mm的小块,并以热熔胶粘于载玻片之上。研磨过程中,在Struers®专业耳石研磨机上先后以3M® 240grits、600grits、1200grits、2000grits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。

1.4 耳石轮纹计数

研磨好的耳石切片在连接有CCD的Olympus双筒光学显微镜400倍下拍照,利用Photoshop图象处理软件对图片进行叠加处理(图1)。重新拼

合好的耳石图片以Microsoft Office Picture Manager软件打开,独立计数2次,2次计数的生长纹数目与均值的差值低于10%,则认为计数准确,否则计数无效^[9]。

1.5 统计检验

采用方差分析(ANOVA)检验不同地理区域茎柔鱼轮纹数目的差异。所有统计检验在SPSS 15.0处理下完成。

2 结果

2.1 耳石生长纹

茎柔鱼的耳石由背区(dorsal dome)、侧区(lateral dome)、吻区(rostrum)和翼区(wing)4部分组成。耳石内部的生长纹由明暗相间的环纹组成,耳石的生长始于核心(focus, F),核心区(nuclear, N)为诞生轮(natal ring, NR)以内的区域。核心区以外的背区部分,根据生长纹宽度可分为后核心区(postnuclear, PN),暗区(dark zone, DZ)和外围区(peripheral zone, PZ)3个明显的生长区,其中暗区的生长纹最宽,后核心区的次之,

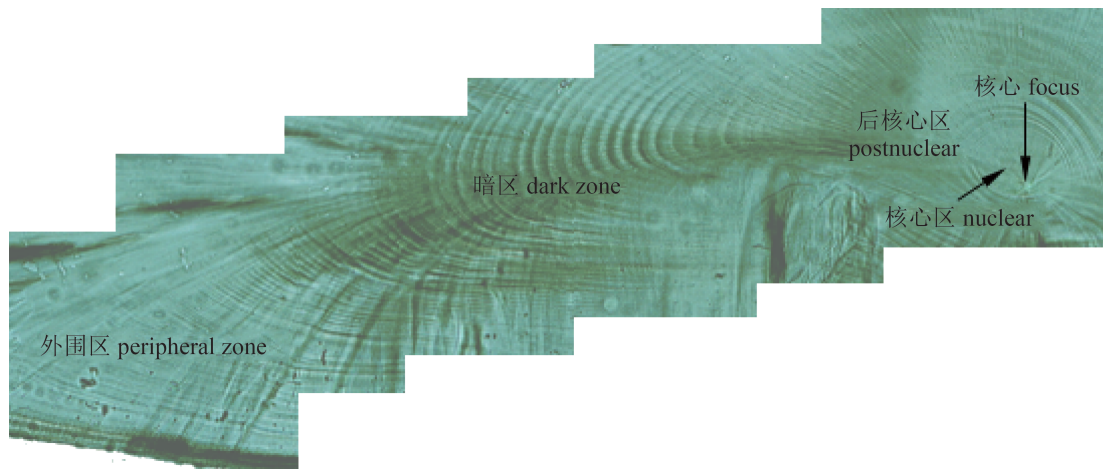


图1 茎柔鱼耳石背区微结构

Fig. 1 Statolith dorsal dome microstructure of *D. gigas* in the eastern Pacific Ocean

外围区的最窄(图1)。

哥斯达黎加外海茎柔鱼耳石PN的生长纹数目为16~35(26.2 ± 3.7)个;DZ的长纹数目为65~112(86.1 ± 11.5)个(表1)。秘鲁外海茎柔鱼耳石PN的生长纹数目为20~45(31.9 ± 3.8)个;DZ的生长纹数目为60~116(84.5 ± 8.9)个(表1)。智利外海茎柔鱼耳石PN的生长纹数目为24~44(33.0 ± 3.7)个;DZ的生长纹数目为70~114(88.4 ± 7.3)个(表1)。

ANOVA分析显示,3个海区的耳石PN的生长纹数目差异明显($P=0.000<0.05$),哥斯达黎加与秘鲁的耳石DZ的生长纹数目无明显差异($P=0.084>0.05$),而智利则与这2个海区差异显著(哥斯达黎加 $P=0.023<0.05$,秘鲁 $P=0.000<0.05$)。

2.2 耳石标记轮

观察发现,茎柔鱼耳石的不同区域通常会

表 1 茎柔鱼耳石后核心区和暗区生长纹数目

Tab. 1 Increments number in statolith PN and DZ of *D. gigas* in the eastern Pacific Ocean

海区 area	样本数/尾 sample size	后核心区生长纹数目/个 number of increments in PN		暗区生长纹数目/个 number of increments in DZ	
		范围 range	均值 mean	范围 range	均值 mean
哥斯达黎加 Costa Rica	119	16~35	26.2±3.7	65~112	86.1±11.5
秘鲁 Peru	624	20~45	31.9±3.8	60~116	84.5±8.9
智利 Chile	237	24~44	33.0±3.7	70~114	88.4±7.3

形成一些规则的标记轮: 第1类标记轮位于N边缘(图2-a, e); 第2类标记轮位于PN内(图2-a, e); 第3类标记轮位于PN与DZ过渡区域(图2-a, e); 第4类标记轮位于DZ向PZ过渡区域(图2-b, e); 第5类标记轮位于PZ内(图2-c, e); 部分耳石周期性半月带或月带之间特殊的标记轮分开(第6类, 图2-d)。除此之外, PN、DZ及PZ内还会形成一些不规则的标记轮(第7类, 图2-e)。

2.3 耳石异常结构

观察发现, 极少数茎柔鱼的耳石中还存在一些不规则的异常结构, 如副核心、附生长纹、附中心等(图3-a, b, c, d)。研究在1尾成熟雌性个体的耳石中发现了极其独特的异常结构, 该样本在第70、80、95、104、131日龄处分别形成标记轮, 在第104日龄形成新的核心, 围绕新核心形成的生长纹方向与正常的生长纹方向完全相反, 异常部分的吻区与正常部分的背区重合, 异常部分的背区与正常部分的吻区重合(图3-e)。

3 讨论

3.1 生长纹

茎柔鱼的耳石与其他柔鱼科种类相似, 由明显的背区、侧区、吻区和翼区等4部分组成, 其N以外的背区, 根据生长纹宽度可分为PN、DZ和PZ等3部分。有分析认为, 各区的形成与茎柔鱼的主要发育期密切相关, N形成于胚胎期, PN形成于仔鱼期, DZ形成于稚鱼期, PZ形成于亚成鱼和成鱼期^[3]。因此, 通过计算PN和DZ长纹的数目可得出, 哥斯达黎加、秘鲁和智利外海茎柔鱼仔鱼的日龄分别为26、32和33日龄, 稚鱼的日龄分别为86、84和88日龄, 这一结果明显小于滑柔鱼(*Illex illecebrosus*)和阿根廷滑柔鱼(*I. argentinus*)^[10]。Arkhipkin等^[11]根据同样的方法得出, 茎柔鱼仔稚鱼的日龄与本实验哥斯达黎加

外海茎柔鱼所得的结果相近, 但大于秘鲁外海茎柔鱼的结果。ANOVA分析显示, 不同海区茎柔鱼仔稚鱼的日龄差异明显, 哥斯达黎加外海茎柔鱼仔鱼的日龄最小($P<0.05$), 智利外海茎柔鱼稚鱼的日龄最大($P<0.05$), 这可能与不同海区水温、食物等栖息环境有关。

3.2 标记轮

标记轮是耳石微结构中有别于正常生长纹的特殊生长纹, 通常可分为规则和不规则两类, 其中规则标记轮又可分为周期性和非周期性两类^[10-12]。规则的周期性标记轮一般以半月或一月为周期, 它们的形成可能与月亮周期有关, 这类标记轮在乌贼(*Gonatus fabricii*)和鱼钩乌贼(*Ancistrocheirus lesueurii*)的耳石中也曾发现^[13-14]。本研究发现, 少数茎柔鱼耳石的PZ存在以半月为周期的生长带(图2-d), 生长带之间被明显的标记轮隔开, 这在以往的研究中并没有发现。规则的非周期性标记轮通常与个体发育期相关, 如孵化、交配、产卵、仔鱼期和稚鱼期等^[3, 15]。它们通常是沿耳石整个断面完整地分布, 此类标记轮的出现阻止或延缓了耳石的生长, 其形成是由于体细胞的生长速率降低所致^[10]。

本实验在茎柔鱼的耳石中发现了一系列规则的非周期性标记轮: 第1类标记轮位于N边缘(图2-a, e), 它形成于茎柔鱼孵化时, 通常被称作诞生轮或零轮; 第2类标记轮位于耳石PN内(图2-a, e), 它的形成可能与仔鱼期结束有关, 此时仔鱼的喙管分裂成2个独立的触腕时消耗了大量能量^[11, 16], 进而延缓了耳石的生长, 因此促使了标记轮的形成; 第3类和第4类标记轮分别位于PN-DZ(图2-a, e)和DZ-PZ过渡区域(图2-b, e), 它们的形成可能与仔鱼期向稚鱼期和稚鱼期向成鱼期过渡有关, 此时由于食性的变化导致耳石生长暂时变缓, 因而形成标记轮^[3]; 第5类标记

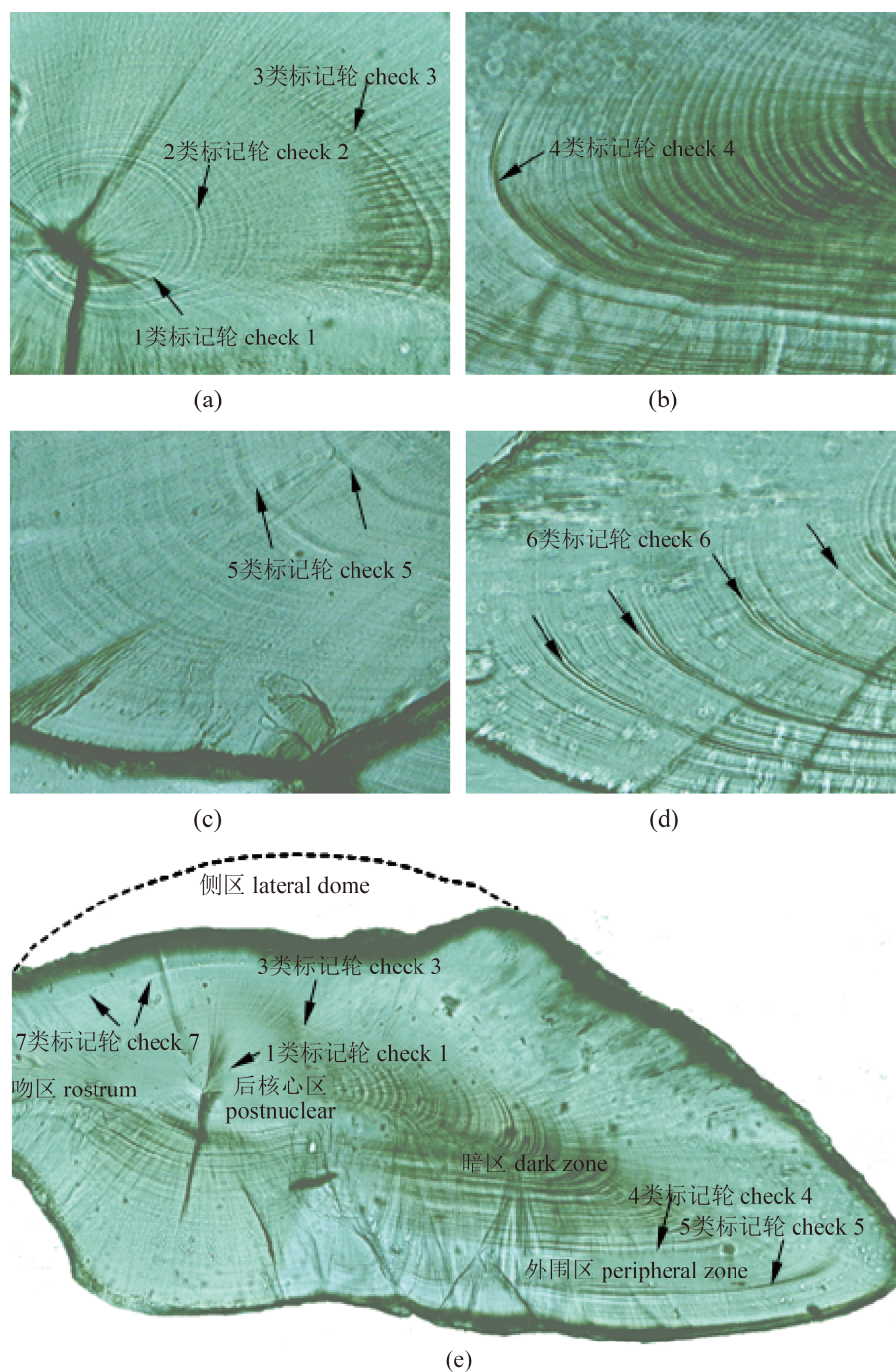


图2 茎柔鱼耳石标记轮

(a)第1、第2和第3类标记轮; (b)第4类标记轮; (c)第5类标记轮; (d)第6类标记轮; (e)第7类标记轮

Fig. 2 Checks of *D. gigas* statolith

(a) check 1, check 2 and check 3; (b) check 4; (c) check 5; (d) check 6; (e) check 7

轮位于PZ内(图2-c, e), 它的形成通常被认为与繁殖有关^[15]; 第6类标记轮位于周期性半月带或月带之间(图2-d), 它的形成可能与月亮周期性的变化有关^[14]。

研究认为, 环境变化所产生的生长压力是

影响耳石不规则标记轮形成的主要原因, 如饥饿、风暴、逃脱以及温度波动等^[3]。此类标记轮通常是一种不完整的标记轮, 只出现在耳石断面的某一区域, 它们的形成往往是由于耳石的保护膜被扰乱或破坏所致, 当保护膜恢复正常之后耳石又重新开始生长^[10]。本研究也发现此类不

规则的标记轮(图2-e), 从耳石形态上来看, 它们可能是遭受捕食者攻击所致, 图中虚线所示部分为假设没有标记轮时正常耳石所应有的形态。

3.3 异常结构

除了常见的标记轮之外, 茎柔鱼耳石中还存在一些特殊的微结构, 如副核心、附中心以及附生长纹等(图3-a, b, c, d)。一般来说, 头足类的耳石只有一个原基(即核心, 图1), 而鱼类的耳石往往有几个甚至多个原基, 且同一世代的

鱼类耳石的原基数量可能不同^[17]。然而, 本实验在个别茎柔鱼耳石的PN(图3-a)和DZ(图3-b)发现了副核心, 这在真枪乌贼(*Loligo vulgaris*)耳石的N^[18]和阿根廷滑柔鱼耳石的PN中也有发现^[10], 其形成原因尚不清楚, 推断可能是由于外力作用使得耳石被破坏, 待其恢复之后碳酸盐在被破坏的地方重新沉积形成新的核心。Arkhipkin等^[11]在极少数茎柔鱼的耳石中也发现了与本实验相同的附中心结构(图3-c), 这在鱼钩乌贼的耳石中

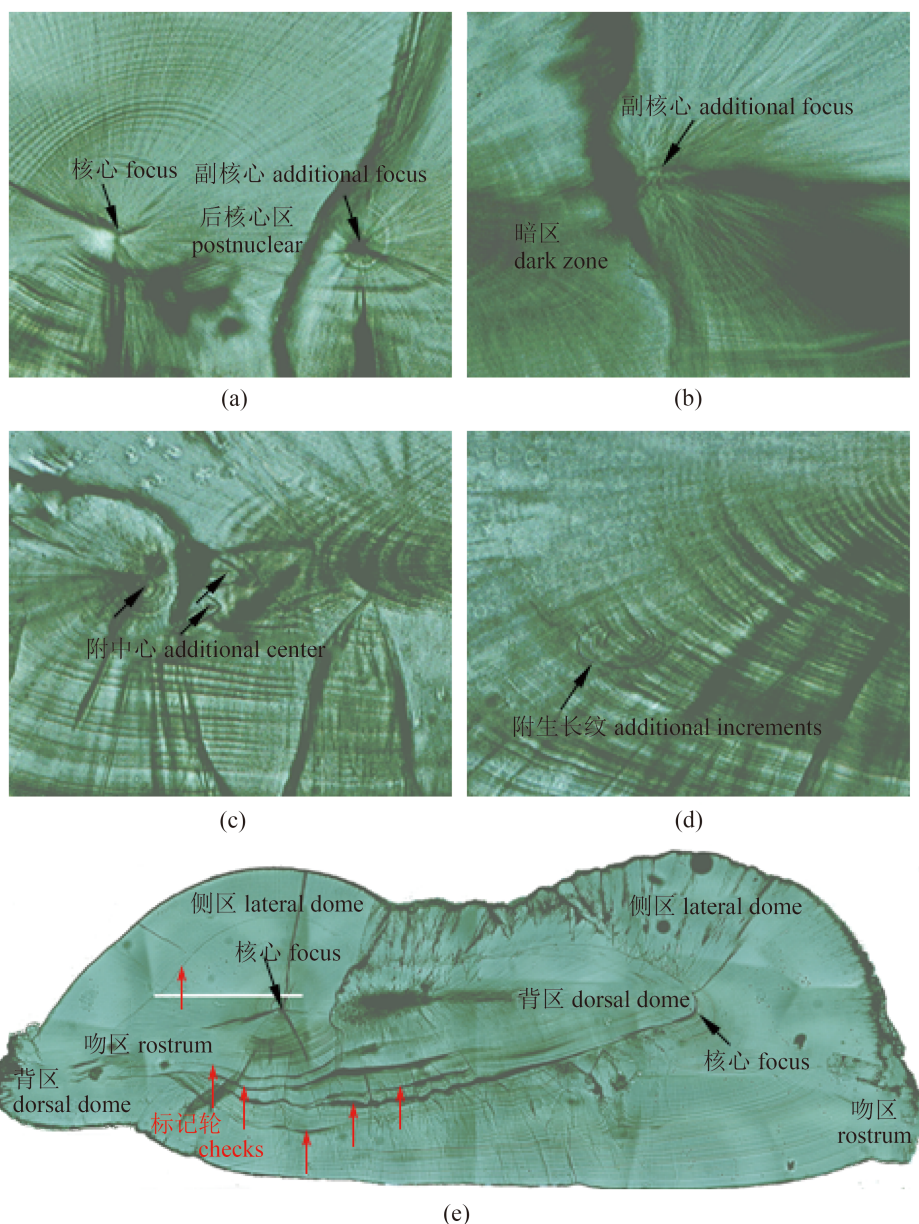


图3 茎柔鱼耳石特殊微结构

(a)后核心区的副核心; (b)暗区的副核心; (c)附中心; (d)附生长纹; (e)异常结构

Fig. 3 Special microstructure of *D. gigas* statolith

(a) additional focus in PN; (b) additional focus in DZ; (c) additional center; (d) additional increments; (e) aberrant structures

也有报道^[14]。而独特的附轮结构为本实验首次发现,在其他头足类中还未见报道。

Arkhipkin等^[19]报道了1尾未成熟的雌性茎柔鱼的耳石异常微结构,他们发现仔鱼期的12个生长纹的方向与正常的生长纹完全相反,仔鱼期耳石的吻区与成鱼耳石的背区完全重合,而背区则与成鱼耳石的吻区重合,之后生长纹的方向又开始恢复正常,第55~60生长纹之后完全正常。与此极其相似的是,本实验也在1尾成熟的雌性茎柔鱼耳石中发现类似的异常结构。该尾茎柔鱼稚鱼期的生长纹(第104轮开始)的方向与正常的生长纹完全相反,稚鱼期耳石的吻区与成鱼期耳石的背区重合,而背区则与成鱼期耳石的吻区重合。这种异常现象可能是稚鱼期茎柔鱼头部受到外力作用(如受到捕食动物的攻击)使耳石脱离了主听斑,因而此时的生长纹发生错乱,之后耳石的相反一侧与主听斑重新接合,生长纹开始向相反的方向生长。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Arkhipkin A I, Bizikov V A. Role of the statolith in functioning of the acceleration receptor system in squids and sepioids[J]. Journal of Zoology, 2000, 250(1): 31-55.
- [3] Arkhipkin A I. Statoliths as 'black boxes' (life recorders) in squid[J]. Marine and Freshwater Research, 2005, 56(5): 573-583.
- [4] 刘必林, 陈新军, 钱卫国, 等. 智利外海茎柔鱼繁殖生物学初步研究[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(1): 68-73.
Liu B L, Chen X J, Qian W G, et al. Preliminary study on reproductive biology of *Dosidicus gigas* in the high seas off Chile[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(1): 68-73 (in Chinese).
- [5] Chen X J, Lu H J, Liu B L, et al. Age, growth and population structure of jumbo flying squid, *Dosidicus gigas*, based on statolith microstructure off the Exclusive Economic Zone of Chilean waters[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2011, 91(1): 229-235.
- [6] Chen X J, Li J H, Liu B L, et al. Age, growth and population structure of jumbo flying squid, *Dosidicus gigas*, off the Costa Rica Dome[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2013, 93(2): 567-573.
- [7] Liu B L, Chen X J, Chen Y, et al. Age, maturation, and population structure of the Humboldt squid *Dosidicus gigas* off the Peruvian Exclusive Economic Zones[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2013, 31(1): 81-91.
- [8] 刘必林, 陈新军, 陆化杰, 等. 头足类耳石[M]. 北京: 科学出版社, 2011.
Liu B L, Chen X J, Lu H J, et al. Cephalopod Statolith[M]. Beijing: Science Press, 2011 (in Chinese).
- [9] Yatsu A, Midorikawa S, Shimada T, et al. Age and growth of the neon flying squid, *Ommastrephes bartrami*, in the North Pacific Ocean[J]. Fisheries Research, 1997, 29(3): 257-270.
- [10] Arkhipkin A I, Perez J A A. Life history reconstruction[M]//Rodhouse P G, Dawe E G, O'Dor R K. Squid Recruitment Dynamics. The Genus *Illex* as a Model, the Commercial *Illex* Species and Influence on Variability. Rome: FAO, 1998: 157-180.
- [11] Arkhipkin A I, Murzov S A. Age and growth patterns of *Dosidicus gigas* (Ommastrephidae)[M]//Resources and Prospects of Utilization of Squid Stocks in the World Ocean. Moscow: Moscow VNIRO Press, 1986: 107-123.
- [12] Lipinski M R, Roelevelde M A, Underhill L G. Comparison of the statoliths of *todaropsis eblanae* and *Todarodes angolensis* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in South African Waters[M]. Tokyo: Tokai University Press, 1993: 263-273.
- [13] Kristensen T K. Periodical growth rings in cephalopod statoliths[J]. Dana, 1980, 1: 39-51.
- [14] Arkhipkin A I. Age and growth of the mesopelagic squid *Ancistrocheirus lesueurii* (Oegopsida: Ancistrocheiridae) from the central-east Atlantic based on statolith microstructure[J]. Marine Biology, 1997, 129(1): 103-111.
- [15] Arkhipkin A I, Jereb P, Ragonese S. Checks in the statolith microstructure of the short-finned squid, *Illex coindetii* from the Strait of Sicily (Central Mediterranean)[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 1999, 79(6): 1091-1096.

- [16] Laptikhovsky V V, Arkhipkin A I, Golub A A. Larval age, growth and mortality in the oceanic squid *Sthenoteuthis pteropus* (Cephalopoda, Ommastrephidae) from the eastern tropical Atlantic[J]. Journal of Plankton Research, 1993, 15(4): 375-384.
- [17] Neilson J D, Geen G H, Chan B. Variability in dimensions of salmonid otolith nuclei: Implications for stock identification and microstructure interpretation[J]. Fishery Bulletin, 1985, 83(1): 81-89.
- [18] Arkhipkin A I. Age, growth and maturation of the European squid *Loligo vulgaris* (Myopsida, Loliginidae) on the west Saharan shelf[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 1995, 75(3): 593-604.
- [19] Arkhipkin A I, Golub A N. Aberrant structure of the statolith postnuclear zone in the squid *Todarodes sagittatus* (Cephalopoda: Ommastrephidae)[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2000, 80(1): 183-184.

Statolith microstructure analysis of the Humboldt squid (*Dosidicus gigas*) in the eastern Pacific Ocean

LIU Bilin^{1, 2, 3, 4}, CHEN Xinjun^{1, 2, 3, 4*}, LI Jianhua¹

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

2. National Distant-water Fisheries Engineering Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

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

4. Collaborative Innovation Center for Distant-water Fisheries, Shanghai 201306, China)

Abstract: This study analyzed the growth increments, checks and aberrant structures of statolith microstructure for *Dosidicus gigas* in Costa Rican, Peruvian and Chilean waters in the eastern Pacific Ocean. The growth increments of the statolith are composed of one light and one dark circle line. Three different growth zones were defined bases on the width of growth increment that is postnuclear, dark and peripheral zone. The average age of paralarvae is about one month with 26 days in Costa Rica, 32 days in Peru and 33 days in Chile. Average age of juvenile is about 3 months with 86 days in Costa Rica, 84 days in Peru and 88 days in Chile. There were seven kinds of checks within the statolith, the formation of which might result from endogenous rhythm (such as hatching, mating and spawning) or external stress (such as thermal shock and attacking from predator). In addition, we also found several abnormal structures (such as additional focus, increment and center) and aberrant increment growth pattern in a few statoliths, which was believed to be the result of the damage of statolith caused by external stress.

Key words: *Dosidicus gigas*; statolith; checks; aberrant; microstructure; eastern Pacific Ocean

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

Funding projects: National Nature Science Foundation of China (41306127, 41276156); National Nature Science Foundation of Shanghai (13ZR1419700); Programs Foundation of Ministry of Education of China (20133104120001)