

头足类耳石轮纹研究进展

肖 述, 郑小东, 王如才, 王昭萍

(中国海洋大学 国家教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要:头足类耳石与鱼类一样, 是一种很好的信息载体, 它具备2个基本条件, 即: 1) 信息的输入稳定; 2) 所输入的信息能得到良好的储存。因此耳石研究可拓宽人类对头足类生物学的了解范畴, 尤其是加深对繁殖生物学的认识, 丰富渔业资源管理的方法和手段。本文从研究方法和应用方面, 综述30年来头足类耳石及其轮纹的研究成果及进展, 期望为头足类生物学研究提供有效的方法。

关键词: 头足类; 耳石; 生长轮

中图分类号: S917; Q959.216 **文献标识码:** A

文章编号: 1005-8737-(2003)01-073-06

头足纲动物作为软体动物门的特殊类群, 不仅具有很高的经济价值, 而且在海洋生态中占有重要地位。头足类耳石与鱼类一样, 是一种很好的信息载体, 它具备2个基本条件: 1) 信息的输入稳定; 2) 所输入的信息能得到良好的储存^[1]。因此耳石研究可拓宽人类对头足类生物学的了解范畴, 尤其是加深对繁殖生物学的认识, 丰富渔业资源管理的方法和手段, 对头足类的资源保护具有重要意义。国内有关头足类耳石研究尚未见报道。

1 头足类耳石轮纹研究的历史

耳石具备轮纹结构, 是众多生物学工作者对其感兴趣的主要原因。Young^[2]在真蛸 *Octopus vulgaris* 和 *Alloteuthis subulata* 的研究中最先发现了耳石的轮纹结构。后来又在卡氏柔鱼和翼柄柔鱼耳石中发现了轮纹沉积规律性。

乌贼 *Sepia officinalis*、真蛸等的耳石扫描电镜照片最先发表于1976年, 但没有观察到轮纹结构^[3]。Spratt^[4]首次阐述了头足类耳石生长迭片结构以及年龄研究和分析方法。1979年 Lipinski^[5]正式提出“一轮纹等于一天的假说”。

枪乌贼属 (*Loligo*) 是头足类耳石研究的重点, 其中有关年龄与生长的研究做得最多。近年来随着耳石微化学技术的不断发展, 耳石的研究手段也不断更新。透射电镜、原子力显微镜、X射线衍射技术等的应用, 使耳石微细结构的研究

更加便利; 特别是分子生物学技术在各领域的延伸与拓展, 新兴材料科学、生物矿化等的研究技术又进一步丰富了耳石研究内容和方法。

2 耳石的研究方法

2.1 形态结构研究方法

国内头足类耳石的研究还未见报道, 鱼类耳石形态、应用方面的研究相对较多, 在形态特征上, 两者有较大差别, 鱼类耳石分为3种: 矢耳石、星耳石、微耳石, 它们不但大小形态不同, 结构差异也很大。通常矢耳石较多的被用于年龄研究。鲑科鱼类耳石通常存在一个中心 (core) 及其包被的几个原基 (primordium), 如图1。在头足类中耳石只有一对, 只存在种间差异。在轮纹结构方面头足类与鱼类耳石区别不大。但多数头足类寿命不长, 因此基本都是日轮 (图2)。目前, 研究耳石形态结构的方法主要包括光学显微技术、电镜技术和化学处理技术。

2.1.1 光学显微技术 主要包括3个步骤: 固定、样品制备、观察。对于小型种类 (如: *Idiosepius pygmaeus*) 或幼体、胚胎时期样品, 解剖时用解剖针剔除周围组织块, 清洗后, 用热塑性水泥 (晶体黏合剂) 之类的黏合物固定即可^[6]。普通个体, 耳石解剖出来后, 常用70%、95% 的酒精浸泡或者干燥保存。样品的制备方法很多, 常用的有切面、打磨、抛光、酸蚀等。打磨技术最重要的是保证耳石中心核所处的平面正好落在打磨面上, 通常认为双面打磨比单面打磨效果好^[9]。

2.1.2 扫描电镜技术 耳石的电镜样品要经清洗、干燥、裂碎、蚀刻等处理。裂碎的方法主要有压碎法、切割法、冻裂法。压碎法适用于样品较多的情况, 钻石刀切割法常用于稀少样品 (如: 化学标记的样品), 冻裂法有利于观察耳石沉积过程^[8]。蚀刻法有盐酸与 EDTA 蚀刻2种, 但对于滑柔鱼

收稿日期: 2002-06-14.

基金项目: 山东省科技兴海项目资助.

作者简介: 肖述 (1976-), 男, 硕士, 主要从事贝类基础生物学研究.

E-mail: xs302@163.com

Illex illecebrosus 耳石, 2种蚀刻法结果都不太理想^[10-11]。现在常用改进了的蚀刻法, 10% 的三氟醋酸和 0.1mol/L 的 HCl 2:1(体积比)混合, 外加 0.5 克氯化镁配成的 100 mL 溶液代替单一的盐酸溶液^[12], 效果较好, 且可重复性强。

2.1.3 化学处理技术

(1) 化学清洗。化学清洗主要适用于小型的或枪乌贼种类, 不会影响耳石的晶体结构和有机物模板。

(2) 化学溶解。化学溶解一般是用 EDTA 溶液或者 NaOH 溶液温和条件下进行。EDTA 处理的目的是去掉无机物碳酸钙, NaOH 溶液主要是溶解有机物。经过 EDTA 处理过的样品, 轮纹明显清晰, 而且还可进一步用考马斯亮蓝 (BB-G250) 染色。

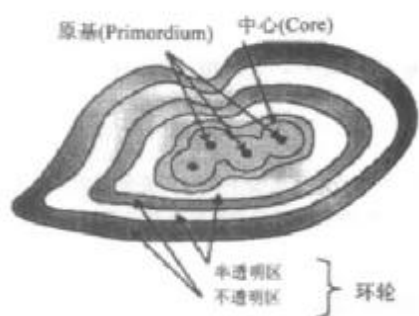


图1 鲑耳石截面宏观结构示意图^[6]

Fig.1 Macrostructure of a sectioned otolith

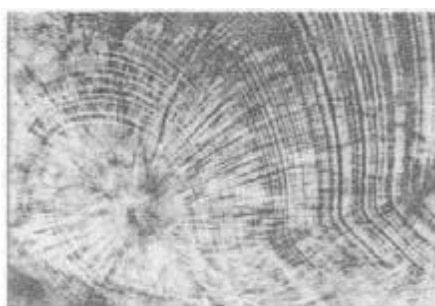


图2 贝乌贼耳石光镜下微细结构图^[7]

Fig.2 Microstructure of statolith of *Berytthis magister* (light micrographs)^[7]

总之, 光镜技术具有快速、灵活的优点, 但需要精细而烦琐的打磨工艺, 分辨率低, 若结合显微照相技术, 轮纹计数才比较方便。电镜技术分辨率高, 放大倍数大, 轮纹计数准确, 是现在常用的技术。

2.2 耳石形成机理的研究方法

2.2.1 微化学技术 应用微化学技术可对耳石形成机理进行探讨^[13]。其在耳石方面的应用, 主要是分析元素种类、含

量和分布等。锶元素在耳石中有特殊的作用, 锶的含量与耳石轮纹清晰度直接相关。用核微探针并辅助以 PIXE (Particle induced X-ray emission) 和 BS (proton backscattering) 技术对 *Loligo vulgaris* 耳石中的锶、钙离子的分布研究发现, 锶离子主要集中在翼区, 支持了锶离子作用的假说^[14]。晶型的选择受离子种类的影响。在鱼类耳石的研究中, 已反应了这种元素与晶型的关系^[15]。

2.2.2 耳石中无机物和有机大分子的研究 耳石中无机物含量占整个耳石的 95% 以上, 主要成分是碳酸钙晶体, 且晶体形式几乎全为文石, 缺乏方解石、球霏石等晶相, 这与鱼类耳石不同, 同时否定了“晶体形式的相变导致了周期性轮纹沉积”的假说^[16]。耳石中有机物占 4% ~ 5%, 含量体重比与体重呈负相关。蛋白质分不可溶性和可溶性两种, 以酸性氨基酸为主, 富含天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸^[10, 17]。头足类耳石蛋白质性质与特点研究还很少, 初步认为耳石蛋白多是糖蛋白, 而蛋白质糖基化、磷酸化则是蛋白质行使功能的重要修饰过程。耳石轮纹沉积规律与蛋白质的分泌规律有明显的相关性^[18], 一定程度上支持了生物矿化的蛋白质调控理论。具体的调控机制, 虽然 Bettencourt 等^[17]做过离体矿化试验, 但由于缺乏对蛋白质空间结构的了解, 尚无人阐述。寻找耳石蛋白分泌相关的基因是个新的研究方向, 在鱼类中已开始类似的工作^[19]。

2.2.3 耳石超微结构的研究技术 电镜、原子力显微镜以及 X 射线衍射等技术的广泛使用, 给耳石超微结构的研究提供了便利。耳石的生长即为晶体的生长, 其生长特性与生长规律直接影响了耳石轮纹的规律性。对滑柔鱼 *Illex illecebrosus* 耳石晶体结构的研究发现, 在焦点及核平面处轮纹计数困难, 认为是晶体生长散乱、排列无序所致^[11]。枪乌贼和乌贼的比较研究发现, 前者耳石晶体排列方向性统一, 晶体有弯曲且晶体间连贯性好, 其相对广阔而平滑的晶面, 利于有机物附着, 因此枪乌贼耳石轮纹比乌贼类的清晰^[18]。电镜和原子力显微技术的应用在一定程度上解决了困扰人们的亚日轮问题, 并在鱼类耳石中已有报道^[20]。原子力显微镜可在埃或纳米级水平上比较自然界与生物体内两种文石晶体的生长特点和差异^[21]。超微结构研究的意义在于, 晶体有序排列, 是有机物质正常附着的前提, 而有机物附着又对无机物的规律沉积、晶体的有序生长起指导和调控作用, 为以后的无机、有机界面的相互识别研究打下基础。

2.3 耳石轮纹日周期性规律的证实方法

2.3.1 连续取样法 计数每次样品群平均轮纹数。最早用于滑柔鱼的年龄研究, 随后, 其他种类中 (阿根廷滑柔鱼、双柔鱼等) 也有类似研究^[22], 其结论基本支持了一天一轮的假说。该方法缺陷在于连续取样的时间间隔不好把握, 特别是无法回避迁徙、死亡等因素带来的偏差^[23]。

2.3.2 实验室养殖 通过计数的轮纹数与已知年龄对照, 实验室养殖可以为轮纹周期性证实工作提供最直接的证据。不过, 只有少数种类可以实验室养殖, 而且实验室养殖环境

状况及营养状况均与野生环境大相径庭,所以并不一定是真实情况的反映。

2.3.3 标记法 标记法中最常用的标记物有四环素类药物(如 OTC 和 CTC)、锶元素标记、AC(茜素氨络合物)以及 CA(Calceine)等。这些标记物随种类或生活阶段的不同,效果有差别。Estacio 等^[24]在福氏枪乌贼中对几种方法进行了比较,认为低浓度的 OTC 和 AC 效果比 CA 好,而且被标记个体成活率高。至于四环素类药物在耳石中的扩散性,在鱼类耳石研究中有争论^[25-26]。作为标记物的锶与钙性质相似,无毒、无味,同为二价元素,且锶被认为不会在耳石中扩散^[27],因此锶元素很被看好。耳石标记的使用情况见表 1。

表 1 头足类耳石的化学标记方法一览表

Table 1 Summary of methods used for staining statoliths of cephalopods		
药品 Medicine	使用方法 Method	研究种类 Researched species
土霉素	直接投喂	<i>Illex illecebrosus</i> ^[28-29]
	注射	<i>Loligo vulgaris reynaudii</i> ^[29] <i>Alloteuthis subulata</i> ^[12]
	浸泡	<i>Onychoteuthis borealijaponica</i> ^[29]
盐酸土霉素	掺入食物	<i>Illex illecebrosus</i> ^[28]
四环素	海水浸泡	<i>Idiosepius pygmaeus</i> ^[31] <i>Loliolus noctiluca</i> ^[32,42]
		<i>Lolliguncula brevis</i> ^[33,44]
	注射	<i>Loligo chinensis</i> ^[32]
盐酸四环素	掺入食物	<i>Illex illecebrosus</i> ^[34] <i>Todarodes pacificus</i> ^[35]
氟霉素	注射	<i>Alloteuthis subulata</i> ^[42]
钙和四环素	海水浸泡	<i>Sepioteuthis lessoniana</i> ^[36]
茜素氨络合物	掺入食物	<i>Todarodes pacificus</i> ^[35]
锶	掺入食物	<i>Illex illecebrosus</i> ^[27-28,32,34]

3 头足类耳石研究的应用

头足类的许多物种通常生长快、寿命短。耳石沉积具不可逆性,耳石生长贯穿整个生命历程,只有极度缺氧的情况才会发生耳石的再吸收^[37]。正是具备这些特点,研究头足类耳石比鱼类意义更大。利用头足类耳石可进行系群分析、生长测定、寿命估计、日龄鉴定、性成熟和产卵期、产卵地的推算等。

3.1 年龄鉴定与生长寿命估算

自乳光枪乌贼耳石中发现生长选片结构后,耳石便开始用于年龄的鉴定,该技术最大贡献是,发现枪乌贼种类寿命极限一般为 70 ~ 360 d^[30,38-43]。头足类的寿命长短受生物、非生物因素共同影响,同一个种,从冷水地区到热带地区,有寿命递减的趋势^[38]。另外,不同种类寿命存在性别差异。此前人们获得生物学信息的重要手段是长度-频率模式测量技术,但该手段并不适合头足类^[44]。在耳石鉴定年龄的过程中,常碰到一些问题,如:年龄间差别大、种类多,不能一一鉴定;某些种类的耳石不适合用来年龄鉴定^[18];不同的耳石制备技术、年龄解释方法所得结果有偏差^[45];日龄与亚日龄鉴别困难;第 1 个计数轮的沉积时间难以确定等。

3.2 种类、群体鉴别以及产卵、孵化期的推算

在分类学上,硬组织是最好的生物分类材料之一,耳石既可用于远古头足类化石分析,也可用于生活种类的分类^[39]。对枪形目、八腕目、乌贼目等种类进行耳石比较观察发现,耳石形态随种类不同区别甚大^[46]。耳石微细结构、微化学的研究,是一个更可靠的研究方法。利用耳石中的生长轮纹宽度、清晰度、标记轮有无、微量元素含量、同位素的比率等,可比较方便的鉴别不同种群^[47-49]。群体的鉴别与孵化期密切相关,Natsukari 等^[50]通过对剑先枪乌贼(*Photololigo edulis*)孵化期的分析,区分了暖水性与冷水性群体。大多数种类的枪乌贼全年都进行产卵与孵化,但有 1~2 个高峰期,该高峰期因种类与环境温度不同而异^[39,50]。结合年龄信息、水域循环模式和幼体漂流方式可以推测出孵化地点。运用该法已经确定了阿根廷滑柔鱼的产卵地为乌拉圭和巴西,主要产卵时间为 6~8 月份^[23]。

3.3 生长率的推算与生长模型的建立

常用作生长研究的参数有体重、体长、外套长以及耳石的大小。绝对生长率与相对生长率通常用来衡量机体生长快慢。

相对生长率随着个体生长呈递减趋势,绝对生长率则相反。个体生长与种类、生长阶段、性别以及不同环境有关。对 *Alloteuthis africana* 和 *A. subulata* 的生长比较研究发现,日龄达到 180 d 时,前者体长是后者的 2 倍,体重是后者的 1.2 ~ 1.5 倍^[52];Natsukari^[50]对剑先枪乌贼的研究认为,后期生长阶段,个体生长差异明显,特别是不同性别之间,这可能与性腺发育有关^[51,53],而温度是影响生长的最主要因素,特别在头足类 100 日龄前,温度提高很少(1~2℃),生长速率加大很多^[44,54]。正因为头足类个体生长受多种因素影响,所以基于耳石年龄研究的生长模型有许多种,如指数模型^[30,54]、线性模型^[38,51]、Logistic 模型^[42,55]、幂函数方程模型^[56-57]、Logarithmic 模型^[40,58]等。线性模型通常对生长初期阶段的个体适合,而曲线模型对那些年龄覆盖范围较大的群体更适合些。单用一个固定的模型来表达某个种类的生长方式往往不够,因此常用多个模型结合。头足类生长快、对环境改变敏感的特点,往往造成某些生长参数随地点或时间而改变,给生长模型的建立带来麻烦。

3.4 其他方面的应用

研究头足类耳石,其应用价值实际上远远不止这些。耳石中包含复杂的生态信息,以前人们对头足类的迁徙缺乏研究方法,利用头足类耳石的研究技术可以有效的调查头足类生活史(包括迁徙时间、路线以及迁徙速度等)^[59]。耳石中微量元素的研究,可推测个体所处环境的状况,如:温度、污染、金元素种类与含量等。

4 展望

生物技术、材料科学的发展,为研究耳石的形成机制提供了新的思路。目前人们对耳石形成有许多假说。概括起来有 2 种。①离子的作用是耳石形成文石晶体规律性排列

的主要原因,离子种类不同与浓度的变化导致耳石轮纹清晰度的差异^[18,60],整个过程受外源因素(如 pH)的影响。②主要倾向于有机物质的调控作用,即有机蛋白是耳石晶体形成的主要调控者,种间有机物质量的差异直接影响耳石轮纹清晰度^[17]。对贝壳的研究发现,不溶性蛋白在矿化过程中起模板的作用,选择性吸附无机物离子,可溶性蛋白兼起酶的调节功能^[61-62]。

笔者认为,耳石的生长与有机物和金属离子的种类、含量都有关系。因为生物矿化与一般的无机化过程不一样,是通过无机有机界面的相互作用,从分子水平控制无机矿物相的析出^[63]。耳石晶体的形成实质就是生物矿化过程,有机蛋白一部分作为结晶模板,另一部分可能对耳石结晶起加速或抑制的作用;离子的种类影响晶体的晶格形式,内淋巴囊中离子浓度决定了晶体的产生与生长速率。离子运输主要是细胞跨膜运输^[64]与新陈代谢作用有关。这就导致了耳石轮纹形成的复杂性。

耳石的形成是一种复杂、广泛的固液相之间的生物无机物理化学过程,不仅受热力学因素(温度、pH)以及动力学因素(核化、结晶)等因素控制,而且也受生物学因素在空间、构造和化学上的控制。目前,我们尚未能获得耳石中有机大分子物质的足够信息如蛋白质的一、二级结构以及控制这些蛋白质形成的基因与基因的时序表达等;而且对于耳石晶体矿物学的知识更是缺乏。对这些方面的研究必定能为今后耳石的形成机理研究提供有力的帮助。

参考文献:

- [1] 高志惠(译).关于鱼类耳石信息分析的研究.国外水产, 1995, 2 (2):34-37.
- [2] Young J Z. The statocysts of *Octopus vulgaris* [J]. Proc Roy Soc B, 1960, 152:3-29.
- [3] Hixon R E, Villoch M R. Growth rings in statoliths of young laboratory cultured squids (*Loligo opalescens*) [J]. Amer Malacol Bull, 2:93 (Abstract).
- [4] Spratt J D. Age and growth of the market squid *Loligo opalescens* Berry, in Monterey Bay [J]. Fish Bull Dept Fish Game Calif, 1978, 169:35-44.
- [5] Lipinski M. The information concerning current research upon ageing procedure of squids [J]. ICNAF Working Paper, 1979, 40: 4.
- [6] Kulish J M, Beamish R J, Brothers E B, et al. Glossary for otolith studies [A]. Recent developments in fish otolith research [C]. Porto: University of Porto, 1995.
- [7] Arkhipkin A. Distribution, stock structure, and growth of the squid *Beryttheris magister* (Berry, 1913) (Cephalopoda, Gunatidae) during summer and fall in the western Bering Sea [J]. Fish Bull, 1996, 94:1-30.
- [8] Jereb P, Ragonese S, von Boletzky S. Squid age determination using statoliths [R]. Proceedings of the International Workshop. Mazara del Vallo, Italy, 1989.
- [9] Takagi K, Yatsu A. Age determination using statolith microstructure of the purpleback flying squid, *Shenoteuthis oualaniensis*, in the North Pacific ocean [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1996, 65 (2): 98-113.
- [10] Radtke R L. Chemical and structural characteristics of statoliths from the short-finned squid *Illex illecebrosus* [J]. Mar Biol, 1983, 76:47-54.
- [11] Dawe E G, O'Dor R K, Odense P H, et al. Validation and application of an aging technique for short-finned squid (*Illex illecebrosus*) [J]. J North Atl Fish Sci, 1985, 6: 107-116.
- [12] Lipinski M R. Methods for the validation of squid age from statoliths [J]. J M Biol As - Soc UK, 1986, 66:505-526.
- [13] Lipinski M R, Przybylowicz W J, Mesjasz - Przybylowicz J, et al. Quantitative micro-PIXE mapping of squid statoliths [J]. N I M B, 1997, 130: 374-380.
- [14] Durholtz D, Lipinski M R, Przybylowicz W J, et al. Nuclear microprobe mapping of statoliths of chokka squid *Loligo vulgaris* reynaudii d'orbigny [J]. Mar Biol Lab Woods Hole, 1997, 193 (2):125-140.
- [15] Thresher R E. Elemental composition of otoliths as a stock delineator in fishes [J]. Fish Res, 1999, 43: 165-204.
- [16] Gauldie R W, Nelson D G A. Aragonite twinning and neuropeptide secretion are the cause of daily growth rings in fish otoliths [J]. Comp Biochem Physiol, 1988, 90 A (3): 501-509.
- [17] Bettencourt V V, Guerra A. Growth increments and biomineralization process in cephalopod statoliths [J]. J Exp Mar Bio Eco, 2000, 248: 191-205.
- [18] Durholtz M D, Kretsinger R H, Lipinski M R. Unique proteins from the statoliths of *Lolliguncula brevis* (Cephalopoda: Loliginidae) [J]. Comp Biochem Physiol, 1999, 123 B (4):381-388.
- [19] Murayama Emi, Okuno A, Ohira T, et al. Molecular cloning and expression of an otolith matrix protein cDNA from the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Comp Biochem Physiol, 2000, 126 B (4): 511-520.
- [20] Gauldie R W, Xhie J. Atomic force microscopy of the morphology of the matrix and mineral components of the otolith of *Hyperoglyphe Antarctica* [J]. J Morphol, 1995, 223: 203-214.
- [21] Gauldie R W. Ultrastructure of lamellae, mineral and matrix components of fish otolith twinned aragonite crystals: implications for estimating age in fish [J]. Tissue and Cell, 1999, 31(2): 138-153.
- [22] Uozumi Y, Ohara H. Age and growth of *Nototodarar sloanli* (Cephalopoda: Oegopsida) based on daily increment counts in statoliths [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1993, 59(9):1469-1477.
- [23] Arkhipkin A I. Age, growth, stock structure and migratory rate of pre-spawning short-finned squid *Illex argentinus* based on statolith aging investigations [J]. Fish Res (Amst.), 1993, 16:313-338.
- [24] Estacio S, Goncalves J. Comparison of fluorescent bands during of statoliths of the squid *Loligo forbesi* (Cephalopoda: Loliginidae) [J]. J Mol Stud, 1999, 65:374-377.
- [25] Campana S E, Neilson J D. Daily growth increments in otoliths of starry flounder (*Platichthys stellatus*) and the influence of some environmental variables on their production [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1982, 39:937-942.
- [26] Wild A, Fourman T J. The relationship between otolith increments and

- time for yellowfin and skipjack tuna marked with tetracycline[J]. Int Am Trop Tuna Comm, 1980, 17: 507 - 557.
- [27] Hurley G V, Odense P H, Dawe E G, et al. Strontium labeling for verifying daily growth increments in the statolith of the short - finned squid (*Illex illecebrosus*) [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1985, 42: 80 - 383.
- [28] Dawe E G, O' Dor R K, Odense L. Development of an Ageing Technique for the Short - finned Squid (*Illex illecebrosus*) [J]. NAFO SCR Document, 1984. 84/IX/110, 24.
- [29] Lipinski M R, Durholtz M D, Underhill L G. Field validation of age readings from the statoliths of chokka squid (*Loligo vulgaris reynaudii* d'Orbigny, 1845) and an assessment of associated errors[J]. ICES J Mar Sci, 1998, 55: 240 - 257.
- [30] Bigelow K A. Age and growth of the oceanic squid *Onychoteuthis boreal-japonica* in the North Pacific[J]. Fish Bull, 1994, 92: 13 - 25.
- [31] Jackson G D. The use of statolith microstructures to analyze life - history events in the small tropical cephalopod *Idiosepius pygmaeus* [J]. Fish Bull, 1989, 87: 265 - 272.
- [32] Jackson G D. The use of tetracycline staining techniques to determine statolith growth ring periodicity in the tropical loliginid squids *Lololus noctiluca* and *Loligo chinensis* [J]. Veliger, 1990, 33 (4): 389 - 393.
- [33] Villanueva R. Differential increment - deposition rate in embryonic statoliths of the loliginid squid *Loligo vulgaris* [J]. Marine Biology, 2000, 137 (1): 161 - 168.
- [34] Hurley G V, Odense P, O' dor R K. First marking of squid (*Illex illecebrosus*) statoliths with tetracycline and strontium in captivity [J]. NAFO SCR Doc. No. 31, Serial No. N684, 8.
- [35] Nakamura Y, Sakurai Y. Validation of daily growth increments on statoliths of Japanese common squid *Todarodes pacificus* [J]. Nihon Suisan Gakkaishi, 1991, 57: 2 007 - 2 011.
- [36] Jackson G D. Age and Growth of the Tropical near shore Loliginid squid *Sepioteuthis lessoniana* determined from statolith growth - ring analysis [J]. Fish Bull US, 1990, 88: 113 - 118.
- [37] Jackson G D. Growth in tropical cephalopods: an analysis based on statolith microstructure [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1992, 49: 218 - 228.
- [38] Jackson G D, Wadley V A. Age, growth, and reproduction of the tropical squid *Nototodaros hawaiiensis* (Cephalopoda: Ommastrephidae) off the North West Slope of Australia [J]. Fish Bull, 1998, 96: 779 - 787.
- [39] Arkhipkin K I, Bizikov V A. Statolith shape and microstructure in studies of systematics, age and growth in planktonic paralarvae of gonatid squids (Cephalopoda, Oegopsida) from the western Bering Sea [J]. J Plankton Res, 1997, 19 (12): 1 993 - 2 030.
- [40] Collins M A, Burnell G M, Rodhouse P G. Age and growth of the squid *Loligo forbesi* (Cephalopoda: Loliginidae) in Irish waters [J]. J Mar Bio Ass U K, 1995, 75: 605 - 620.
- [41] Zakaria Z B, Mohammad. Age and growth studies of oceanic squid, *Sepioteuthis oualaniensis* using statoliths in the South China Sea, Area 3, Western Philippines [J]. SEAFDEC Bangkok (Thailand), 2000, 44: 118 - 134. (abstract)
- [42] Dimmlich W F, Hoeft F E. Age and growth of the myosid squid *Lololus noctiluca* in Western Port, Victoria, determined from statolith microstructure analysis [J]. J Mar Biol Assoc UK, 1998, 28: 557 - 586.
- [43] Sanchez P, Gonzalez A F. *Illex coindetii* [J]. FAO Fish Tech Pap, 1998, 376: 59 - 76. (abstract)
- [44] Jackson G D, Forsythe J W. Age, growth and maturation of *Loliginula brevis* (Cephalopoda: Loliginidae) in the northwestern Gulf of Mexico with a comparison of length frequency versus statolith age analysis [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1997, 54: 2 907 - 2 919.
- [45] Gonzalez A F, Dawe E G. Bias associated with statolith - based methodologies for ageing squid: a comparative study on *Illex illecebrosus* (Cephalopoda: Ommastrephidae) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2000, 244 (2): 161 - 180.
- [46] Clarke M P. The cephalopod statolith: an introduction to its form [J]. J Mar Biol U K, 1978, 58: 701 - 712.
- [47] Zhang Z, Beamish R J. Use of otolith microstructure to study life history of juvenile chinook salmon in the Strait of Georgia in 1995 and 1996 [J]. Fish Res, 2000, 46: 239 - 250.
- [48] Izumi Nakai, Raita Iwata. Ecological study of the migration of eel by synchrotron radiation induced X - ray fluorescence imaging of otoliths [J]. Spectro - chimica Acta Part B, 1999, 54: 167 - 170.
- [49] Yatsu A, Mori J. Early growth of the autumn cohort of neon flying squid, *Ommastrephes bartramii*, in the North Pacific Ocean [J]. Fish Res, 2000, 45: 189 - 194.
- [50] Natsukari Y, Nakanose T, Oda K. Age and growth of the loliginid squid *Photololigo edulis* (Hoyle, 1885) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1988, 116: 177 - 190.
- [51] Dawe E G, Beck P. Population structure, growth, and sexual maturation of short - finned squid (*Illex illecebrosus*) at Newfoundland [J]. J Can Fish Aquat Sci, 1997, 54 (1): 137 - 146.
- [52] Arkhipkin A, Nekudova N. Age, growth and maturation of the loliginid squids *Alloteuthis africana* and *A. subulata* on the west African shelf [J]. J Mar Bio Ass UK, 1993, 73: 949 - 961.
- [53] Guerra F. Age and growth of two sympatric *Loligo vulgaris* and *Loligo forbesi*, in Galician waters [J]. J Mar Biol Assoc U K, 1999, 79 (4): 697 - 707.
- [54] Hatfield E M C, Hanlon R T, Forsythe J W, et al. 2001. Laboratory testing of a growth hypothesis for juvenile squid *Loligo pealeii* (Cephalopoda: Loliginidae) [J]. Can J Fish Aquat Sci, 2001, 58 (5): 845 - 857.
- [55] Arkhipkin A I. Age of the micronektonic squid *Pterygioteuthis gemmata* (Cephalopoda: Pyroteuthidae) from the central - east Atlantic based on statolith growth increments [J]. J Molluscan Stud, 1997, 63 (2): 287 - 290.
- [56] Lipinski M R. A preliminary study on ageing of squids from their statoliths [J]. NAFO SCR Doc. 1980, 80/II/22, 54: 1 - 12. (abstract)
- [57] Forsythe J W, Hanlon R T. Growth of the eastern Atlantic squid *Loligo forbesi* Steenstrup Aquac [J]. Fish Manag, 1989, 20: 1 - 14.
- [58] Arkhipkin A I, Murzov S A. Age and growth patterns of the micronektonic squid *Abraliopsis atlantica* [J]. Sov J Mar Bio, 1991, 16: 254 - 260.
- [59] Arkhipkin A. Age, growth, stock structure and migratory rate of pre - spawning short - finned squid *Illex argentinus* based on statolith ageing investigation [J]. Fish Res, 1983, 16: 313 - 338.

- [60] Morris C C. Statocyst fluid composition and its effects on calcium carbonate precipitation in the squid *Alloteuthis subulata*. (Lamarekm1798); towards a model for biomineralization[J]. Bull Mar Sci, 1991, 49 (1-2): 379-388.
- [61] Lowenstam H A. Minerals formed by organisms[J]. Science, 1981, 211: 1126-1131.
- [62] Sikes C S, Wheeler A P. The organic matrix from oyster shell as a regulator of calcification in vivo[J]. Bio Bull, 1986, 170: 494-505.
- [63] 李恒德, 冯庆玲, 崔福斋, 等. 贝壳珍珠层及仿生制备研究清华大学学报(自然科学版), 2001, 41 (4-5): 41-47.
- [64] Tohse H, Mugiya Y. Effects of enzyme and anion transport inhibitors on in vitro incorporation of inorganic carbon and calcium into endolymph and otoliths in salmon *Oncorhynchus masou*[J]. Com Bio Phy A, 2001, 128: 177-184.

Current status and prospects of the research on increments of statoliths in Cephalopods

XIAO Shu, ZHENG Xiao-dong, WANG Ru-cai, WANG Zhao-ping

(Mariculture Research Lab of Educational Department, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The studies on statolith of Cephalopods are reviewed in this paper, which mainly include research methods and applications of statoliths in recent years. Some prospects are mentioned, such as the study on microchemistry and organic matrix of statoliths. We anticipate to provide an available access to the mechanism of biomineralization of statoliths.

Key words: Cephalopoda; statoliths; increments

中国水产科学研究院首席科学家简介

陈松林,男,1960年10月出生,博士,中国水产科学研究院黄海水产研究所研究员,博士生导师,生物技术专家。现任农业部海洋渔业可持续利用重点开放实验室常务副主任。主要从事鱼类繁殖及生长的内分泌调控、肽类激素分离及测定技术、鱼类配子冷冻保存、鱼类分子生物学及基因工程、鱼类胚胎干细胞及基因打靶等研究。共发表论文50余篇,获湖北省科技进步一等奖1项、农业部科技进步二等奖2项。获国家科委、科协第三届中国青年科技奖、农业部有突出贡献的中青年专家、沙市市劳动模范等荣誉称号。为国家百、千、万人才工程第一、二层次人选。

庄平,男,1960年8月出生,博士,研究员,博士生导师,鱼类养殖生物学专家。现任中国水产科学研究院东海水产研究所副所长。长期从事鱼类生态学和增养殖技术研究。获省部级科技进步奖3项,通过国家科技部和农业部科研成果验收2项;发表论文50余篇(其中SCI文章5篇)。参加国家“八五”至“十五”重点科技攻关计划水产项目的起草和论证以及“2000年-2015年我国中长期农业科技发展纲要”编写,是水产部分的主要执笔人。担任世界保护联盟(IUCN)鲟鱼专家组、鲟鱼养殖委员会主席,并在国际水生资源管理中心(ICLARM)、热带养殖和渔业专家网络等国际和国家科学组织及学术刊物担任学术职务。