

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2013.03.006

## 水体钙离子质量浓度对褐牙鲆幼鱼鱼体和耳石元素成分的影响

王茂林<sup>1</sup>, 张秀梅<sup>2</sup>, 高天翔<sup>2</sup>, 张沛东<sup>2</sup>

(1. 大连海洋大学农业部海洋水产增养殖学重点开放实验室, 辽宁 大连 116023;  
2. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 在盐度 30 和水温 20 °C 条件下, 分别配制钙离子 ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 质量浓度为 200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (A 组)、400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (B 组, 对照)、800  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (C 组)、1 600  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (D 组) 和 3 000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (E 组) 的人工海水, 研究了水体  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  对褐牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 幼鱼鱼体和耳石元素成分的影响。经 60 d 养殖发现褐牙鲆鱼体中仅钙 (Ca)、锌 (Zn) 和铜 (Cu) 质量分数差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 鱼体中磷 (P)、钠 (Na)、镁 (Mg)、锶 (Sr)、铁 (Fe)、锰 (Mn) 和镍 (Ni) 质量分数随水体  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  的增加而下降。不同  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  对褐牙鲆幼鱼耳石长、宽、长宽比和耳石质量影响显著 ( $P < 0.05$ )。低浓度 A 组耳石长和耳石宽显著低于 B 组和 C 组, A 组耳石长宽比 (L/W) 显著低于 D 组, A 组的耳石质量显著低于 B 组和 D 组 ( $P < 0.05$ )。其中  $w(\text{Sr})$  随  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  的增加显著下降, 锶/钙 (Sr/Ca) 比、镁/钙 (Mg/Ca) 比随  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  增加而下降。结果表明, 水体  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  对褐牙鲆鱼体成分、耳石形成及组分产生明显影响,  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  能够影响鱼体和耳石元素的累积。

**关键词:** 褐牙鲆; 钙离子; 鱼体; 耳石; 元素

中图分类号: S 917

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2013)03-0031-08

## Effects of $\text{Ca}^{2+}$ concentrations in seawater on element content of fish body and otolith of juvenile *Paralichthys olivaceus*

WANG Maolin<sup>1</sup>, ZHANG Xiumei<sup>2</sup>, GAO Tianxiang<sup>2</sup>, ZHANG Peidong<sup>2</sup>

(1. Key Lab. of Mariculture, Ministry Agriculture, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;  
2. Key Lab. of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** We investigated the effects of  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations on element content of fish body and otolith of juvenile *Paralichthys olivaceus* that were raised at 20 °C in artificial seawater for 60 more days. Five groups of seawater with  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations 200  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (group A), 400  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (group B, control), 800  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (group C), 1 600  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (group D), and 3 000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (group E), were used for raise. It was found that with the increase of  $\text{Ca}^{2+}$  concentration, the contents of P, Na, Mg, Sr, Fe, Mn and Ni in fish body decreased, and that  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations significantly influenced the otolith length, width, L/W and weight. Specifically, otolith length and width of juvenile *P. olivaceus* group A were significantly lower than that of group B and C; L/W was significantly lower than that of group D; and otolith weight was significantly lower than that of group B and D. Sr content of otolith, significantly, and the ratio of Sr/Ca and Mg/Ca also decreased with increasing concentration of  $\text{Ca}^{2+}$ . The results indicate that  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations affect juvenile *P. olivaceus* significantly in terms of its body and otolith element content formation, composition and accumulation.

**Key words:** *Paralichthys olivaceus*;  $\text{Ca}^{2+}$ ; fish body; otolith; element

收稿日期: 2012-11-22; 修回日期: 2012-12-18

资助项目: 国家科技支撑计划项目(2006BAD09A15); 大连海洋大学博士启动基金项目(SYYJ2009008)

作者简介: 王茂林(1980-), 男, 博士, 讲师, 从事鱼类生理生态学研究。E-mail: wml13804@hotmail.com

通信作者: 张秀梅(1964-), 女, 博士, 教授, 从事资源增殖生态学研究。E-mail: xiumei1227@163.com

鱼类在与外界环境进行物质交换时,环境中的化学元素不断被摄入鱼体,通过鱼类的鳃呼吸等方式进入血液,在鱼体内经过一系列的代谢和循环,最终沉积到耳石。现已发现耳石中含有钙(Ca)、铝(Al)、锶(Sr)、铁(Fe)、钠(Na)、钾(K)、氯(Cl)、氮(N)和硫(S)等多种化学元素<sup>[1-3]</sup>。在耳石的组成成分中,碳酸钙(CaCO<sub>3</sub>)占96.2%,痕量元素占0.7%,有机质占3.1%。耳石在形成过程中其轮纹形态结构与化学组成相当稳定,记录了鱼类个体生活过程中丰富的生物-物理-化学环境信息,所以,耳石信息分析可以揭示鱼类的生活史及其所经历的环境变化<sup>[1,4]</sup>。研究表明,水体盐度、食物中Sr的含量、生长的季节变化和生殖周期等生理因素均可能影响元素在耳石中的沉积<sup>[5-6]</sup>。海、淡水洄游性鱼类从海水进入淡水或从淡水进入海水后耳石中Ca、Sr等元素的沉积量也会有明显的变化<sup>[7-9]</sup>。许多因素影响着耳石中的锶/钙(Sr/Ca)比率,并且一些因素对耳石中的Sr/Ca比率具有协同影响作用<sup>[10]</sup>。一般认为耳石各部分元素沉积量与环境中该元素的可利用率以及水化学特性等有关<sup>[3-4]</sup>。此外,耳石中化学元素的沉积是一个生理过程,与环境温度也关系密切<sup>[11]</sup>。所以,很多学者认为分析耳石中化学元素的沉积规律有助于鱼类生活史的研究<sup>[12]</sup>,甚至通过耳石中化学元素的分析来研究水域的污染度。Ca对动物生理机能有着重要作用,是构成骨、齿、鳞及甲壳的主要成分。Ca在组织中参与肌肉收缩、血液凝固、神经传导、渗透压调节、某些酶的激活以及细胞膜的完整性和通透性的维持等生理作用。水中钙离子(Ca<sup>2+</sup>)质量浓度不同能影响水生生物的产卵孵化<sup>[13]</sup>、成活和生长<sup>[14-16]</sup>。

褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*),俗称牙片、偏口、比目鱼,是名贵的暖温性、底栖海产经济鱼类,

也是中国北方沿海重要的海水增殖殖鱼类之一。目前,还未见关于Ca<sup>2+</sup>质量浓度对褐牙鲈鱼体和耳石元素积累方面的研究。文章通过研究Ca<sup>2+</sup>质量浓度对褐牙鲈鱼体组分和耳石成分的影响,探求其影响褐牙鲈生长的化学成分机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验鱼于2008年5月29日购自山东省文登市小观镇养殖场,于室内循环水槽暂养20 d。暂养期间,水温(20 ± 0.5)℃, pH(7.80 ± 0.40),盐度30,连续充气,每天饱食投喂山东升索牌牙鲈颗粒饲料2次(08:00和18:00)。

### 1.2 试验设计和海水配置

为排除其他离子成分的干扰,试验用水以海水素和自来水配制。海水素为中国海洋大学海水素厂专门设计和生产的无钙海水素。保证其他离子成分和总盐度(30)基本不变,分别由氯化钙(CaCl<sub>2</sub>)、硫酸镁(MgSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O)或氯化镁(MgCl<sub>2</sub>·7H<sub>2</sub>O)降低和增加Ca、Mg含量,盐度差值部分由无钙海水素补充。Ca<sup>2+</sup>、镁离子(Mg<sup>2+</sup>)质量浓度用EDTA络合滴定法测定。在预试验基础上设置了5个处理组,按ρ(Ca<sup>2+</sup>)不同设为A、B、C、D和E共5组,其中B组(对照)中ρ(Ca<sup>2+</sup>)为正常海水值(表1)。暂养结束后试验鱼停食24 h,从中选取600尾大小均匀、体质量为(4.06 ± 0.04)g的褐牙鲈幼鱼用作试验。用纱布吸干鱼体表水分,精确称质量到0.01 g。按照每组3个平行,每个水族箱(120 L)放养试验鱼40尾。每天早、晚各投喂1次(8:30和18:00)。试验为期60 d,试验期间投喂规格为P1饵料(山东升索牙鲈颗粒饲料)。

### 1.3 日常管理

每天补充因收集残饵和粪便流失的水量,每隔

表1 各处理组人工海水中钙离子浓度( $\bar{X} \pm SD$ )  
Tab. 1 Ca<sup>2+</sup> concentration in different artificial seawater treatments

	处理组/mg·L <sup>-1</sup> treatments				
	200 A	400(对照 control) B	800 C	1 600 D	3 000 E
钙/镁 Ca <sup>2+</sup> /Mg <sup>2+</sup>	1/5.80	1/2.82	1/1.41	1/0.71	1/0.37
ρ(钙离子)/mg·L <sup>-1</sup> Ca <sup>2+</sup>	194 ± 15	418 ± 24	780 ± 37	1 567 ± 52	2 935 ± 73
ρ(镁离子)/mg·L <sup>-1</sup> Mg <sup>2+</sup>	1 126 ± 46	1 179 ± 52	1 097 ± 53	1 117 ± 44	1 080 ± 63

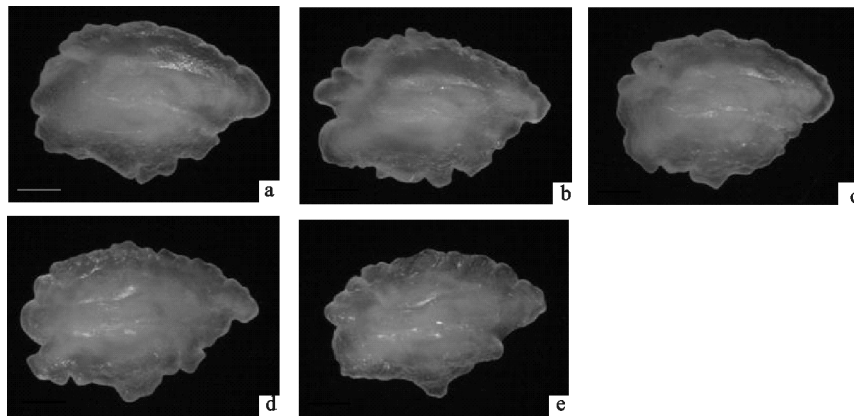


图1 不同质量浓度钙对牙鲈耳石形态的影响

a~e. 试验组 A~E; 标尺 50  $\mu\text{m}$ Fig. 1 The effects of different calcium concentrations on *P. olivaceus* otolith morphologya~e. group A~E; bar is 50  $\mu\text{m}$ 

5~7 d 按水族箱 1/3~1/2 量换一次水(补水和换水为提前配好的试验用水,保持各试验组  $\rho(\text{Ca}^{2+})$ 、 $\rho(\text{Mg}^{2+})$  不变,试验期间保持光照[光照(L):黑暗(D)]14L:10D, pH 为  $7.80 \pm 0.40$ ,  $\rho(\text{DO})$  为  $(7.30 \pm 0.41) \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 氨氮( $\text{NH}_4\text{-N}$ )质量浓度低于  $0.05 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 温度设定在  $(20 \pm 0.50)^\circ\text{C}$ 。

#### 1.4 样品处理和分析

试验结束后用纱布吸干鱼体水分称体质量,用烘箱在  $70^\circ\text{C}$  烘干至恒质量,磨碎。耳石去除包膜和黏液,清洗后  $60^\circ\text{C}$  烘烤 24 h,于干燥器中冷却后,用电子天平称质量,精确到  $0.01 \text{mg}$ 。取磨碎的全鱼和耳石样品分别经高氯酸和硝酸消化后<sup>[17]</sup>,经电感耦合等离子体原子发射光谱仪(Icp-Oes; Vista-Mpx, Varian)测定样品成分。每个试验组取 15 尾鱼,每个样品测定 3 次,取平均值。在解剖镜下观察耳石形态、测量其长和宽( $\mu\text{m}$ )<sup>[18-19]</sup>,并拍照(图 1)。

#### 1.5 数据计算和统计分析

对所有试验数据进行单因子方差分析,如果差异显著,进一步对各处理组进行 Duncan's 多重比较,以  $P < 0.05$  作为差异显著的标准。数据的统计分析采用 SPSS 13.0 进行。

## 2 结果

### 2.1 水体 $\text{Ca}^{2+}$ 质量浓度对鱼体成分的影响

试验发现鱼体中含有多种元素,其中 Ca、磷(P)、Na、镁(Mg)元素质量分数接近或超过  $1 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,各元素在鱼体中顺序为  $w(\text{P}) > w(\text{Ca}) > w(\text{Na}) > w(\text{Mg}) > w(\text{Sr})$ (表 2)。 $w(\text{Ca})$  在各组中差

异不显著( $P > 0.05$ ),各组间  $w(\text{Ca})$ 、 $w(\text{P})$ 、 $w(\text{Na})$ 、 $w(\text{Mg})$  的差异均显著( $P < 0.05$ )。其中 E 组  $w(\text{P})$  显著低于 A 和 B 组,分别为  $66.24\%$  和  $65.13\%$  ( $P < 0.05$ ); C 组  $w(\text{Na})$  显著低于 A 和 B 组,分别为  $70.19\%$  和  $67.85\%$  ( $P < 0.05$ ); E 组  $w(\text{Mg})$  显著低于 A 和 B 组,为  $68.53\%$  和  $66.67\%$  ( $P < 0.05$ ); A 和 B 组  $w(\text{Sr})$  显著高于其他各组( $P < 0.05$ )。同时鱼体中含有多种微量元素,在鱼体中顺序为  $w(\text{Fe}) > w(\text{Zn}) > w(\text{Mn}) > w(\text{Cu}) > w(\text{Ni})$ ,各组间  $w(\text{Zn})$  和  $w(\text{Cu})$  差异不显著( $P > 0.05$ ); A 组  $w(\text{Fe})$ 、 $w(\text{Mn})$  和  $w(\text{Ni})$  显著高于 B、C、D 和 E 组( $P < 0.05$ ),A 组  $w(\text{Mn})$  显著高于 C 和 E 组( $P < 0.05$ ),A 组  $w(\text{Ni})$  显著高于 C、D 和 E 组( $P < 0.05$ )(表 3)。

### 2.2 耳石常规指标分析

各组试验鱼体长、体质量差异均不显著( $P > 0.05$ )(表 4)。A 组耳石长显著低于 B 组和 C 组,分别为 B 组和 C 组的  $92.38\%$  和  $90.77\%$  ( $P < 0.05$ ); A 组耳石宽也显著低于 B 组和 C 组,分别为  $90.10\%$  和  $95.71\%$  ( $P < 0.05$ ); A 组耳石长宽比  $L/W$  显著低于 D 组,为 D 组的  $94.77\%$  ( $P < 0.05$ ); A 组的耳石质量显著低于 B 组和 D 组,分别为  $89.69\%$  和  $90.16\%$  ( $P < 0.05$ )。通过拟合得到各组褐牙鲈耳石长和耳石质量的关系分别为 A 组  $y = 0.648 2e^{0.005 6x}$ ,  $R^2 = 0.565 8$ ; B 组  $y = 2.275 8 e^{0.001 6x}$ ,  $R^2 = 0.276 6$ ; C 组  $y = 1.084 4e^{0.003 9x}$ ,  $R^2 = 0.281 2$ ; D 组  $y = 0.766 8e^{0.004 9x}$ ,  $R^2 = 0.481 3$ ; E 组  $y = 0.523 9e^{0.006 2x}$ ,  $R^2 = 0.721 8$ (图 2)。

### 2.3 水体 Ca<sup>2+</sup> 质量浓度对耳石元素成分的影响

褐牙鲈耳石中含有多种元素, 主要元素在鱼体中顺序为  $w(\text{Ca}) > w(\text{Na}) > w(\text{Sr}) > w(\text{Mg}) > w(\text{Fe})$  (表5)。其中各处理组耳石中  $w(\text{Ca})$  差异均不显著 ( $P > 0.05$ ),  $w(\text{Sr})$  随  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  增加显著下降 ( $P < 0.05$ ); 各处理组耳石  $w(\text{Na})$  和  $w(\text{Fe})$  差异不显著 ( $P > 0.05$ ); D组  $w(\text{Mg})$  显著低于B组和C组, 为82.61%和61.29% ( $P < 0.05$ )。耳石中存在多种微量元素,  $w(\text{P}) > w(\text{Cu}) > w(\text{Mn}) > w(\text{铅})(\text{Pb}) > w(\text{Ni})$ , 各处理组  $w(\text{Mn})$  和  $w(\text{Ni})$  差异不显著 ( $P > 0.05$ ), A和C组  $w(\text{P})$  和  $w(\text{Pb})$  显著高于其他组 ( $P < 0.05$ ); C组  $w(\text{Cu})$  显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ ) (表6)。分析耳石微量成分发现, Sr/Ca、Mg/Ca 随水体  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  增加而显著下降; E组 Cu/Ca 显著低于B组和C组,

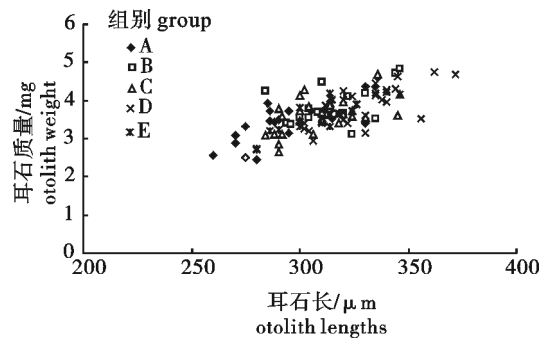


图2 不同钙离子质量浓度下褐牙鲈耳石长和耳石质量的关系

Fig.2 Correlation between otolith length and weight of *P. olivaceus* in the artificial seawater with different Ca<sup>2+</sup> concentrations

分别为B、C组的87.5%和87.5% ( $P < 0.05$ ); 各处理组 Fe/Ca 差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (表7)。

表2 不同钙离子质量浓度下褐牙鲈鱼体主要元素成分的变化 ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ )

Tab.2 Main element content of *P. olivaceus* in the artificial seawater with different Ca<sup>2+</sup> concentrations mg·g<sup>-1</sup>

处理组 treatments	w(磷) P	w(钙) Ca	w(钠) Na	w(镁) Mg	w(锶) Sr
A	21.18 ± 0.99 <sup>b</sup>	12.44 ± 0.56 <sup>a</sup>	4.63 ± 0.32 <sup>bc</sup>	1.43 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.27 ± 0.01 <sup>c</sup>
B	21.54 ± 2.10 <sup>b</sup>	12.52 ± 0.99 <sup>a</sup>	4.79 ± 0.34 <sup>c</sup>	1.47 ± 0.14 <sup>b</sup>	0.14 ± 0.02 <sup>b</sup>
C	16.32 ± 2.62 <sup>ab</sup>	11.58 ± 0.87 <sup>a</sup>	3.25 ± 0.60 <sup>a</sup>	1.12 ± 0.16 <sup>ab</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>a</sup>
D	18.32 ± 1.25 <sup>ab</sup>	12.91 ± 1.01 <sup>a</sup>	4.00 ± 0.15 <sup>abc</sup>	1.25 ± 0.08 <sup>ab</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>a</sup>
E	14.03 ± 1.48 <sup>a</sup>	11.50 ± 0.50 <sup>a</sup>	3.44 ± 0.41 <sup>ab</sup>	0.98 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.04 ± 0.00 <sup>a</sup>

注: 同一行数字不同上标字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); 后表同此

Note: Values with different superscripts within the same line are significantly different ( $P < 0.05$ ). The same case in the following tables.

表3 不同钙离子质量浓度下褐牙鲈鱼体微量元素成分的变化 ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ )

Tab.3 Microelement content of *P. olivaceus* in the artificial seawater with different Ca<sup>2+</sup> concentrations μg·g<sup>-1</sup>

处理组 treatments	w(铁) Fe	w(锌) Zn	w(锰) Mn	w(铜) Cu	w(镍) Ni
A	60.14 ± 4.54 <sup>b</sup>	56.97 ± 1.14 <sup>a</sup>	47.46 ± 4.40 <sup>b</sup>	9.29 ± 2.47 <sup>a</sup>	5.41 ± 1.93 <sup>b</sup>
B	32.11 ± 1.63 <sup>a</sup>	58.84 ± 0.39 <sup>a</sup>	41.85 ± 4.64 <sup>ab</sup>	8.35 ± 1.35 <sup>a</sup>	2.67 ± 0.11 <sup>ab</sup>
C	31.13 ± 4.37 <sup>a</sup>	42.80 ± 4.00 <sup>a</sup>	30.84 ± 3.60 <sup>a</sup>	3.99 ± 0.40 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.30 <sup>a</sup>
D	35.87 ± 5.89 <sup>a</sup>	48.68 ± 11.42 <sup>a</sup>	34.64 ± 3.59 <sup>ab</sup>	6.79 ± 1.94 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.48 <sup>a</sup>
E	32.09 ± 3.29 <sup>a</sup>	48.23 ± 3.71 <sup>a</sup>	32.36 ± 3.54 <sup>a</sup>	4.19 ± 0.25 <sup>a</sup>	1.20 ± 0.24 <sup>a</sup>

表4 不同钙离子质量浓度下褐牙鲈耳石形态特征的变化 ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ )

Tab.4 The variation of otolith morphology of *P. olivaceus* in the artificial seawater with different Ca<sup>2+</sup> concentrations

处理组 treatments	体质量/g body weight	体长/cm body length	耳石长/μm otolith length	耳石宽/μm otolith width	耳石长/宽比(L/W) length/width	耳石质量/mg otolith weight
A	23.18 ± 1.28 <sup>a</sup>	13.78 ± 0.29 <sup>a</sup>	297.30 ± 4.60 <sup>a</sup>	205.57 ± 3.02 <sup>a</sup>	1.45 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.48 ± 0.12 <sup>a</sup>
B	24.99 ± 1.27 <sup>a</sup>	14.41 ± 0.21 <sup>a</sup>	321.83 ± 8.26 <sup>bc</sup>	216.17 ± 2.41 <sup>c</sup>	1.49 ± 0.03 <sup>ab</sup>	3.88 ± 0.10 <sup>b</sup>
C	22.53 ± 0.86 <sup>a</sup>	13.73 ± 0.18 <sup>a</sup>	309.54 ± 3.20 <sup>ab</sup>	209.25 ± 2.62 <sup>abc</sup>	1.48 ± 0.02 <sup>ab</sup>	3.63 ± 0.08 <sup>ab</sup>
D	25.05 ± 1.01 <sup>a</sup>	14.24 ± 0.17 <sup>a</sup>	327.52 ± 3.31 <sup>c</sup>	214.79 ± 2.28 <sup>bc</sup>	1.53 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.86 ± 0.09 <sup>b</sup>
E	22.48 ± 0.84 <sup>a</sup>	13.80 ± 0.17 <sup>a</sup>	308.06 ± 4.58 <sup>ab</sup>	206.88 ± 3.32 <sup>ab</sup>	1.49 ± 0.01 <sup>ab</sup>	3.59 ± 0.12 <sup>ab</sup>

表5 不同钙离子质量浓度下褐牙鲈耳石主要元素成分的变化( $\bar{X} \pm SD$ )Tab. 5 Main element content in otolith of *P. olivaceus* in the artificial seawater with different  $Ca^{2+}$  concentrations  $mg \cdot g^{-1}$ 

处理组 treatments	w(钙) Ca	w(钠) Na	w(锶) Sr	w(镁) Mg	w(铁) Fe
A	26.05 ± 0.13 <sup>a</sup>	3.47 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.54 ± 0.03 <sup>d</sup>	0.21 ± 0.02 <sup>ab</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>a</sup>
B	24.25 ± 0.84 <sup>a</sup>	3.52 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.16 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.23 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>a</sup>
C	27.44 ± 0.31 <sup>a</sup>	3.54 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.88 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>a</sup>
D	24.44 ± 0.41 <sup>a</sup>	3.60 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>a</sup>
E	27.77 ± 1.14 <sup>a</sup>	3.64 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.09 ± 0.01 <sup>a</sup>

表6 不同钙离子质量浓度下褐牙鲈耳石微量元素成分的变化( $\bar{X} \pm SD$ )Tab. 6 Microelement content in otolith of *P. olivaceus* in the artificial seawater with different  $Ca^{2+}$  concentrations  $\mu g \cdot g^{-1}$ 

处理组 treatments	w(磷) P	w(铜) Cu	w(锰) Mn	w(铅) Pb	w(镍) Ni
A	51.18 ± 2.39 <sup>b</sup>	29.50 ± 2.11 <sup>a</sup>	19.09 ± 0.52 <sup>a</sup>	8.87 ± 1.12 <sup>b</sup>	1.81 ± 0.40 <sup>a</sup>
B	44.41 ± 3.37 <sup>a</sup>	29.19 ± 1.35 <sup>a</sup>	21.45 ± 3.33 <sup>a</sup>	4.74 ± 1.04 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.21 <sup>a</sup>
C	55.44 ± 1.52 <sup>b</sup>	36.84 ± 1.72 <sup>b</sup>	18.01 ± 1.02 <sup>a</sup>	7.69 ± 0.82 <sup>b</sup>	0.83 ± 0.42 <sup>a</sup>
D	42.49 ± 0.78 <sup>a</sup>	27.57 ± 1.31 <sup>a</sup>	20.27 ± 1.92 <sup>a</sup>	4.63 ± 0.78 <sup>a</sup>	1.27 ± 0.33 <sup>a</sup>
E	38.78 ± 2.31 <sup>a</sup>	30.46 ± 2.24 <sup>a</sup>	15.77 ± 2.53 <sup>a</sup>	4.13 ± 0.62 <sup>a</sup>	1.01 ± 0.37 <sup>a</sup>

表7 不同钙离子质量浓度下褐牙鲈耳石主要元素比例的变化( $\bar{X} \pm SD$ )Tab. 7 Element ratio in otolith of *P. olivaceus* in the artificial seawater with different  $Ca^{2+}$  concentrations

处理组 treatments	锶/钙 Sr/Ca	镁/钙 Mg/Ca	铁/钙 Fe/Ca	铜/钙 Cu/Ca
A	44.68 ± 0.32 <sup>c</sup>	13.59 ± 1.02 <sup>b</sup>	2.24 ± 0.25 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.05 <sup>ab</sup>
B	21.82 ± 0.13 <sup>d</sup>	15.71 ± 0.11 <sup>c</sup>	2.40 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.75 ± 0.00 <sup>b</sup>
C	14.62 ± 0.39 <sup>c</sup>	18.42 ± 0.27 <sup>d</sup>	2.60 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.85 ± 0.03 <sup>c</sup>
D	13.01 ± 0.18 <sup>b</sup>	12.91 ± 0.10 <sup>ab</sup>	2.34 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.01 <sup>ab</sup>
E	12.11 ± 0.25 <sup>a</sup>	12.41 ± 0.28 <sup>a</sup>	2.24 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.01 <sup>a</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 耳石形态

鱼类耳石的形态、大小、功能和微结构特征随种类而存在差异,因此,鱼类耳石不仅可作为分类鉴别的特征之一,而且可作为鉴定年龄和分析生长的材料<sup>[18,20-22]</sup>。研究表明,水温、盐度、离子浓度等均可能影响鱼类耳石的形成<sup>[2,23-24]</sup>。叶振江等<sup>[25]</sup>研究了2种鲈鱼(*Lateolabrax* sp.)耳石形态的地理变异,发现鲈(*Lateolabrax japonicus*)与花鲈(*L. maculatus*)耳石形态、耳石质量-耳石长的关系差异显著;并认为中国近海不同海域的花鲈群体耳石形态存在显著地理差异。STRANSKY<sup>[26]</sup>通过耳石形态分析了平鲈(*Sebastes marinus*)和尖吻平鲈(*S. mentella*)的地理差异,获得较高的判别率。郭

弘艺等<sup>[19,27]</sup>研究了中国鲈属鱼类矢耳石的形态特征,发现海水种类或海水生活周期较长种类的矢耳石要明显大于淡水种类或海水生活周期较短的种类,即在海水生活阶段矢耳石元素的沉积速度要明显大于在淡水生活阶段;并且认为耳石形态分析在近缘种判别方面具有良好的应用前景。KATAYAMA和ISSHIKI<sup>[28]</sup>研究了褐牙鲈耳石形态特征以区分养殖和野生鱼,发现野生鱼耳石更趋于椭圆,而养殖鱼耳石边缘粗糙不清晰,且水温和投饵条件对耳石形态没有影响。区又君等<sup>[29-31]</sup>研究了黄唇鱼(*Bahaba flavolabiata*)、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)和棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)耳石的形态特征和微结构,总结了这几种鱼类耳石形态的异同及鉴别特征。

环境中 $\rho(Ca^{2+})$ 的改变也可能影响鱼类耳石的

发育。笔者试验发现, 水体  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  变化后鱼体耳石外部形态受到显著影响(图1), 高  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  组耳石长/耳石宽显著大于低  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  组和对照组。通过拟合发现, 各试验组褐牙鲈耳石长和耳石质量的关系式基本符合指数关系, 水体  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  对其相关性影响较大。结果说明水体  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  能影响褐牙鲈耳石的形成, 使其形态发生显著变化。

### 3.2 鱼体成分

鱼体中含有多种元素, 这些元素在生命活动中发挥重要作用。现已知有 26 种元素为动物生长所必需, 按其含量可分为三大类, 碳(C)、氢(H)、氧(O)、N 为大量元素, 构成机体的有机物质; Ca、P、Mg、Na、K、Cl 和 S 为常量矿物元素, 约占体内无机物质的 60% ~ 80%; Fe、Cu、Mn、Zn 和 Ni 等在动物体内质量分数不超过  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 称为微量元素, 还有一些含量极微的称为痕量元素。这些元素在褐牙鲈鱼体中也存在, 且含量基本符合上述结论。研究表明, 水生生物能够富集水体中重金属离子, 可以作为评价水体污染情况的指标<sup>[32-33]</sup>。LAROCQUE 和 RASMUSSEN<sup>[34]</sup> 报道了 Ca、Cu、Fe、Mg、Pb 和 Zn 元素会从水中进入鱼体内, 且鱼体内重金属含量远大于水体中含量, 证明这些离子可在鱼体中富集。因此, LIAO 和 LING<sup>[35]</sup> 建议用莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*) 作为监测水体污染的指标。一般肝脏和鳃中的金属含量要高于肌肉中的含量。

笔者试验发现, 褐牙鲈鱼体也含有多种元素, 在高  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  组 Mg、Sr、Fe、Mn、Ni 质量分数较低, 说明高  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  降低了一些金属离子在体内的累积。水体较高  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  可以调节其他离子的利用, 并控制重金属离子的毒性, 主要通过化学竞争、生物学适应或者两者协同作用<sup>[35-36]</sup>。PERSCHBACHER 和 WURTS<sup>[37]</sup> 报道 Ca-Mg 硬度增加会降低硫酸铜( $\text{CuSO}_4$ ) 对斑点叉尾鲴(*Ictalurus punctatus*) 的毒性, 在  $1.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CuSO}_4$  溶液中暴露 48 h 后,  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$  水体中斑点叉尾鲴的死亡率为 90%, 而  $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$  水体中为 5%。笔者试验结果也证实高  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  水体可能限制了一些离子在鱼体的积累。但未发现在鱼体内 Ca 的累积与水体  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  呈正相关, 推测 Ca 在鱼体内累积还受其他因素的影响, 需要进一步研究加以验证。

### 3.3 耳石成分

关于耳石中化学元素的沉积规律, 前人作过较多的研究。耳石元素组成受到很多因素的影响, 主要包括一些生理因素(生长率、胁迫和再生等)和环境因素(温度、盐度和水中离子含量等)<sup>[1,4,22]</sup>。WRIHGT 等<sup>[24]</sup> 对大西洋鲑(*Salmo salar*) 的研究发现, 耳石上 Ca 的沉积受血浆中 Ca 含量的调节, 血浆中 Ca 含量增高, 耳石生长的速度也加快。通过鱼耳石微化学分析, 可以了解远距离迁徙鱼类生活习性的转变。海、淡水洄游性鱼类从海水进入淡水或从淡水进入海水后, 耳石中 Ca、Sr 等元素的沉积量会有变化<sup>[8]</sup>, 生活在不同水系淡水环境中的红大麻哈鱼(*Oncorhynchus nerka*) 耳石中的 Sr 含量的变化依赖于水体中该元素含量的变化<sup>[9]</sup>。TZENG<sup>[38]</sup> 发现在海洋生活阶段, 日本鳗鲡(*Anguilla japonica*) 耳石上 Sr 的含量逐渐增加, 约在溯河洄游前 1 个月达到高峰; 进入河口后 Sr 含量急剧下降并长期维持在较低水平。ARAI 等<sup>[39]</sup> 通过研究远东哲罗鱼(*Hucho perryi*) 耳石的 Sr/Ca, 探讨其在河流的迁移路径, 认为耳石 Sr/Ca 比可以作为鱼类迁移的路标。王巍令<sup>[40]</sup> 对中国沿海 8 个站点斑尾复鰕虎鱼(*Synechogobius ommaturus*) 耳石的 10 种元素进行了研究, 以分析斑尾复鰕虎鱼生活水体的相似度, 结果显示 Sr、Co、Ba、Pb、K、Mn 和 Sr/Ca 有显著性差异。

笔者试验发现, 各组褐牙鲈幼鱼耳石中仅  $w(\text{Ca})$  差异不显著。分析认为, Ca 在耳石中主要以  $\text{CaCO}_3$  形式存在, 虽然一些微量元素可以替代, 但因水体中含量有限, 对耳石中  $w(\text{Ca})$  影响不大。另一方面, 试验水体中  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  很高, 远超过鱼类生长发育的需要, 因此, 各组试验鱼耳石  $w(\text{Ca})$  没有显著差异。但其他离子的质量分数有显著差异, 一些微量元素的质量分数随着  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  的增加而下降, 其中  $w(\text{Sr})$  随  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  增加显著下降, 且随  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  增加 Sr/Ca 比、Mg/Ca 比显著下降。研究表明, 鱼类从海洋进入河口或河流时耳石 Sr/Ca 比急剧下降<sup>[41]</sup>。BROWN<sup>[17]</sup> 分析了侧枝鲈(*Pleuronectes vetulus*) 和眼点副棘鲈(*Citharichthys stigmaeus*) 耳石元素组成在河口和海岸带的差异, 发现与海岸带相比, 河口区鱼类耳石中 Sr 的含量较高, 锂(Li)的含量较低, 利用耳石多种元素判别鱼类生活类群的准确率在 80%。笔者试验高  $\rho(\text{Ca}^{2+})$  水体中试验鱼耳石 Sr/Ca 比、Mg/Ca 比的下降, 说明

水体中 $\rho(\text{Ca}^{2+})$ 的改变在耳石中留下明显标记, 耳石离子组分可作为养殖水体中离子成分变化的指标。

水体中离子成分的改变, 对试验鱼体组分、耳石形状和组分影响显著。由此说明, 通过鱼体和耳石组分微量元素的检测分析, 对研究鱼类耳石生长、元素累积和评价水环境以及鱼类生活史具有重要意义。

### 参考文献:

- [1] 廖锐, 区又君. 鱼类耳石研究和应用进展[J]. 南方水产, 2008, 4(1): 69-75.
- [2] LECOMTE-FINIGER R. The crystalline ultrastructure of otoliths of the eel, *Anguilla anguilla* L[J]. J Fish Biol, 1992, 40(2): 181-190.
- [3] 张治国, 王卫民. 鱼类耳石研究综述[J]. 湛江海洋大学学报, 2001, 21(4): 77-83.
- [4] 窦硕增. 鱼类的耳石信息分析及生活史重建——理论与应用[J]. 海洋科学集刊, 2007(48): 93-113.
- [5] KALISH J M. Otolith microchemistry: validation of the effects of physiology, age and environmental on otolith composition[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1989, 132(3): 151-178.
- [6] SADOVY Y, SEVERIN K P. Trace elements in biogenic aragonite: correlation of body growth rate and strontium levels in the otoliths of the white grunt, *Haemulon plumieri*[J]. Bull Mar Sci, 1992, 50(2): 237-257.
- [7] 付自东, 谢天明, 宋昭彬. 鱼类耳石元素指纹研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13(2): 278-283.
- [8] FRIEDLAND K D, REDDIN D G, SHIMIZU N, et al. Strontium calcium ratios in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) otoliths and observations on growth and maturation[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1998, 55(5): 1158-1168.
- [9] GAO Y W, BEAMISH R J. Isotopic composition of otolith as a chemical tracer in population identification of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1999, 56(11): 2062-2068.
- [10] GALLAHAR N K, KINGSFORD M J. Patterns of increment width and strontium: calcium ratios in otoliths of juvenile rock blackfish, *Girella elevat*[J]. J Fish Biol, 1992, 41(5): 749-763.
- [11] RADTKE R L, SHAFER D J. Environmental sensitivity of fish otolith micro-chemistry[J]. Aust J Mar Freshw Res, 1992, 43(5): 935-951.
- [12] KALISH J M. Oxygen and carbon stable isotopes in the otoliths of wild and laboratory-reared Australian salmon (*Aripis trutta*) [J]. Mar Biol, 1991, 110(1): 37-47.
- [13] SILVA J I, BALDISSEROTTO G B. Incubation of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae), eggs at different calcium and magnesium concentrations[J]. Aquaculture, 2003, 228(1/2/3/4): 279-287.
- [14] 陈昌生, 纪德华, 王兴标.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  对凡纳滨对虾存活及生长的影响[J]. 水产学报, 2004, 28(4): 413-418.
- [15] DAVIS D A, SAOUD I P, BOYD C E, et al. Effects of potassium, magnesium and age on acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to inland saline well-waters in west Alabama [J]. J World Aquac Soc, 2005, 36(3): 416-419.
- [16] ROY L A, DAVIS D A, SAOUD I P, et al. Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival, growth, and respiration of *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity waters[J]. Aquaculture, 2007, 262(2/3/4): 461-469.
- [17] BROWN J A. Classification of juvenile fatfishes to estuarine and coastal habitats based on the elemental composition of otoliths[J]. Est Coast & Shelf Sci, 2006, 66(3/4): 594-611.
- [18] 张国华, 但胜国, 苗志国, 等. 6种鲤科鱼类耳石形态以及在种类和种群识别中的应用[J]. 水生生物学报, 1999, 23(6): 683-688.
- [19] 郭弘义, 唐文乔, 魏凯, 等. 中国鲚属鱼类的矢耳石形态特征[J]. 动物学杂志, 2007, 42(1): 39-47.
- [20] L'ABEE-LUND J H. Otolith shape discriminates between juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*, and brown trout, *Salmo trutta* L [J]. J Fish Biol, 1988, 33(6): 889-903.
- [21] 邓维德, 赵亚辉, 康斌, 等. 耳石在鱼类年龄与生长研究中的应用[J]. 动物学杂志, 2010, 45(2): 171-180.
- [22] 何文平. 鱼类耳石形态研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(30): 14760-14762.
- [23] WRIGHT P J, TALBOT C, THORPE J E. Otolith calcification in Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L., and its relation to photoperiod and calcium metabolism[J]. J Fish Biol, 1992, 40(5): 779-790.
- [24] BEARNISH R J, NOAKES D J, MCFARLANE G A, et al. The regime concept and maturational trends in the production of Pacific salmon[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1999, 56(3): 516-526.
- [25] 叶振江, 孟晓梦, 高天翔, 等. 两种花鲈(*Lateolabrax* sp.)耳石形态的地理变异[J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(4): 356-360.
- [26] STRANSKY C. Geographic variation of golden redbfish (*Sebastes marinus*) and deep-sea redbfish (*S. mentella*) in the North Atlantic based on otolith shape analysis[J]. J Mar Sci, 2005, 62(8): 1691-1698.
- [27] 郭弘艺, 魏凯, 唐文乔, 等. 基于矢耳石形态特征的鲚属鱼类种类识别[J]. 动物分类学报, 2010, 35(1): 127-134.
- [28] KATAYAMA S, ISSHIKI T. Variation in otolith macrostructure of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*): a method to discriminate between wild and released fish[J]. J Sea Res, 2007, 57(2/3): 180-186.
- [29] 区又君, 廖锐, 李加儿, 等. 珠江口棘头梅童鱼耳石的生长特性[J]. 动物学杂志, 2012, 47(1): 88-95.
- [30] 区又君, 廖锐, 李加儿, 等. 黄唇鱼的耳石形态和微结构特征[J]. 广东农业科学, 2011, 38(12): 123-124.
- [31] 区又君, 廖锐, 李加儿, 等. 4种石首鱼耳石形态特征的比较[J]. 华南农业大学学报, 2012, 33(2): 203-210.

- [32] ADHAM K G, HASAN I F, TAHA N, et al. Impact of hazardous exposure to metals in the Nile and Delta Lakes on the catfish, *Clarias Lazera*[J]. Environ Monit Assess, 1999, 54(2): 107-124.
- [33] RASHED M N. Cadmium and lead levels in fish *Tilapia nilotica* tissues as biological indicator for lake water pollution[J]. Environ Monit Assess, 2001, 68(1): 75-89.
- [34] LAROCQUE A C L, RASMUSSEN P E. An overview of trace metals in the environment from mobilization to remediation[J]. Environ Geol, 1998, 33(2/3): 85-90.
- [35] LIAO C M, LING M P. Assessment of human health risks for arsenic bioaccumulation in tilapia *Oreochromis mossambicus* and large-scale mullet *Liza macrolepis* from Blackfoot disease area in Taiwan [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2003, 45(2): 264-272.
- [36] BARRON M G, ALBEKE S. Calcium control of zinc uptake in rainbow trout[J]. Aquat Toxicol, 2000, 50(3): 257-264.
- [37] PERSCHBACHER P W, WURTS W A. Effects of calcium and magnesium hardness on acute copper toxicity to juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Aquaculture, 1999, 172(3/4): 275-280.
- [38] TEZNG W N. Temperature effect on the incorporation of strontium in otolith of Japanese eel, *Anguilla japonica* [J]. J Fish Biol, 1994, 45(6): 1055-1066.
- [39] ARAI T, KOTAKE A, MORITA K. Evidence of downstream migration of Sakhalin taimen, *Hucho perryias* revealed by Sr:Ca ratios of otolith[J]. Ichthyological Res, 2004, 51(4): 377-380.
- [40] 王巍令. 斑尾复鰾虎鱼耳石成分研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- [41] BISHAL G A, MCCONNAHA W E. Consideration of ocean conditions in the management of salmon [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1998, 55(9): 2178-2186.