

几种前处理方法所获刀鲚(*Coilia nasus*) 耳石年轮的效果比较*

姜涛^{1,2} 刘洪波² 卢明杰³ 陈婷婷¹ 杨健^{1,2①}

(1. 南京农业大学无锡渔业学院 无锡 214081; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心院长江中下游渔业生态环境和资源养护重点实验室 无锡 214081; 3. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

摘要 本研究较为系统地比较了刀鲚(*Coilia nasus*)耳石的几种碾磨方法及耳石酸蚀前处理所获刀鲚耳石年轮的效果。结果显示,耳石横截面碾磨法更易获取较为清晰的年轮,而矢状面碾磨法的效果不及前者,但后者在用于耳石微化学的研究中却更有优势。经5%EDTA处理过的耳石,比用1%HCl处理过的耳石,更容易获得较好的年轮效果。本研究还发现,刀鲚耳石年轮形成过程中的一些形态变化,与刀鲚生活史中的生境变化有关联性。

关键词 刀鲚; 耳石; 年轮; 前处理

中图分类号 Q176; S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)02-0062-06

年龄是鱼类资源学研究中最重要参数之一。由于鱼类鳞片易取,常被作为鉴定鱼类年龄的重要材料。刀鲚(*Coilia nasus*)是一种重要的洄游性经济鱼类,其鳞片较为特殊,结构复杂,幼轮、副轮较多。同时,刀鲚的鳞片也比一般鱼类的鳞片要薄,容易脱落,所以,常出现较多的再生鳞。通常,分析一尾刀鲚样品,要采集多片鱼鳞,进行综合分析,才能最终确定其年龄(袁传宓等,1978)。相比鳞片而言,鱼类的耳石是一种更加稳定的年龄鉴定材料,经碾磨加工后可以观察到环状年轮(Chang *et al.*, 2004)。通过对仔稚鱼耳石的加工分析,甚至能读取其日龄(Nakaya *et al.*, 2008; Yamada *et al.*, 2009; Iida *et al.*, 2010)。近年来,鱼类洄游生态信息的破解越来越多地利用耳石的微化学手段来进行,如分析耳石中锶(Arai *et al.*, 2003; Campana, 2005; Gillanders, 2005; Yang *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2009; Tsukamoto *et al.*, 2011; Jiang *et al.*, 2012)元素或稳定同位素(Kennedy *et al.*, 2000)的生境“指纹”特征等。这使得耳石的年龄信息可以和微化学信息相结合,从而为客观了解鱼类生活史过程中的

时空动态提供了独特而有力的手段。

迄今,已有通过耳石矢状面微化学分析有效研究刀鲚洄游履历的报道(Yang *et al.*, 2006; Zhong *et al.*, 2007; Dou *et al.*, 2012a、b; Jiang *et al.*, 2012; 姜涛等, 2013)。但对耳石年轮的研究仅有黎雨轩等(2010)从刀鲚耳石横截面(最小面)上,通过耳石上轮纹边缘生长线的弯折特征,对年轮进行过判读;而从矢状面碾磨能否获得清晰年轮的可能性缺乏探索。如何通过前处理方法的优化,更好地将两种碾磨方式结合起来,以便同时有效开展耳石年轮和微化学研究,已是刀鲚耳石研究亟需解决的重要技术问题之一。鉴于此,本研究以刀鲚耳石为对象,通过比较目前几种耳石的前处理方法,归纳不同碾磨、分析和拍照情况下的差别,总结不同前处理效果的优劣及其实用性;在此基础上,本研究还尝试分析刀鲚耳石在生长过程中的变化过程,讨论其可能的生态学意义,以便为刀鲚耳石研究提供技术积累,也为其他鱼类的相关研究提供参考。

* 国家自然科学基金项目(31372533)、江苏省科技项目(自然科学基金)(BK20131089)和江苏省普通高校研究生科研创新计划项目(CXLX12_0266)共同资助。姜涛, E-mail: jiangt@ffrc.cn

① 通讯作者: 杨健, 研究员, E-mail: jiany@ffrc.cn

收稿日期: 2015-03-18, 收修改稿日期: 2015-05-14

1 材料与方法

1.1 材料

本研究旨在讨论刀鲚的年轮特征,故选取长江口崇明岛南支水域2冬龄刀鲚样品(鱼鳞读数),以研究其轮纹特征(表1)。

表1 刀鲚样品的全长和体重
Tab.1 Total length and body weight of *C. nasus*

样品 Sample	全长 Total length(cm)	体重 Body weight(g)
1	27.8	64.8
2	28.2	66.3
3	28.2	69.8
4	28.3	68.1
5	29.1	71.8
6	28.3	64.8
7	28.8	79.3
8	27.5	57.0
9	28.4	73.8
10	28.4	66.5

1.2 耳石碾磨

选取刀鲚最大的左右1对矢耳石开展研究。参考Secor等(1991)的方法,利用热熔胶固定其矢耳石,并分别从矢状面(Sagittal)和横截面(Transverse)进行碾磨(图1)。为方便比较,左耳石统一碾磨矢状面,右耳

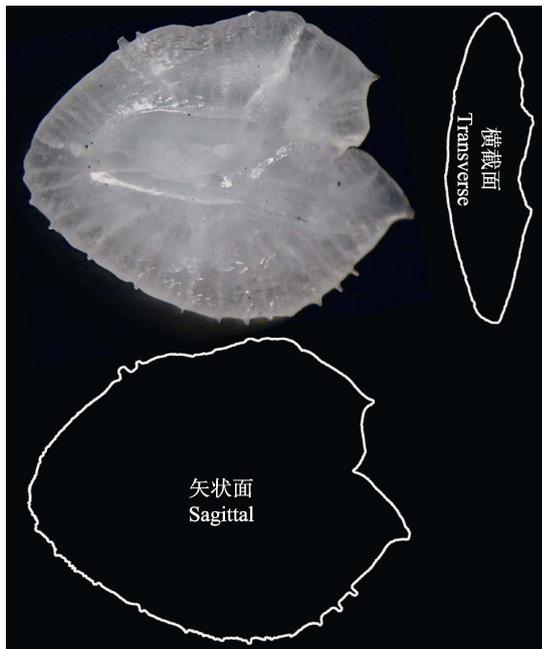


图1 刀鲚矢耳石两种碾磨面
Fig.1 Sagittal and transverse planes in the otolith of *C. nasus*

石统一碾磨横截面。纵截面(longitudinal)亦可碾磨,但由于相关研究无使用该面碾磨耳石的报道,故而本研究暂不涉及。由于矢状面较薄,仅磨抛一面即可;而横截面较厚,需要在一面碾磨至核心即将暴露的时候,翻转过来碾磨另一面,以获得一个薄片,从而获得清晰的轮纹。

先将切取的一小段热熔胶置于载玻片上,并用酒精灯加热使之融化后,将耳石放于其中。冷却凝固后,用500目砂纸进行粗磨,待核心即将暴露时,换用2000目的砂纸进行细磨。

所有处理后的耳石标本在光学显微镜下进行观察并拍照。由于耳石矢状面面积较大,拍摄单张照片无法显示完整的耳石面,故先将耳石含轮纹的各部分拍成照片后,使用Photoshop CS 6.0(美国Adobe Systems公司)软件拼合出一张含整体轮纹的照片,以便分析年轮。

1.3 耳石酸蚀

参考Secor等(1991)方法,分别使用5%EDTA与1%HCl对矢状面碾磨的左耳石进行酸蚀处理,并比较酸蚀效果。首先,将左耳石置于5%的EDTA中进行酸蚀,每间隔2s取出,用去离子水清洗、观察和拍照,直至获得年轮较清晰的照片。随后,将酸蚀的样品用MD-Chem抛光布结合OP-S抛光液(丹麦Struers公司)进行抛光处理,以去除表层被5%EDTA酸蚀的部分。所有样品经抛光后,使用1%HCl进行酸蚀处理。具体过程为:将左耳石置于1%HCl中酸蚀,每间隔2s取出并用去离子水清洗、观察并拍照,直至获得年轮较清晰的照片。

2 结果与分析

2.1 横截面碾磨

图2为右侧耳石横截面碾磨的结果。从图2中可以清晰看到耳石上的两条“直-弯折”的轮纹,对应于黎雨轩等(2010)所描述的生长特征(图2中a, b箭头所示)。参照鱼鳞所读取的年龄情况,这些轮纹数与年轮十分吻合。

2.2 矢状面碾磨

图3为显微镜透射光下左耳石矢状面碾磨至核心暴露后所显示的状况。几乎无法观察到清晰的轮纹来推测年轮。

2.3 耳石酸蚀

在反射光下,不酸蚀的刀鲚耳石矢状面上观察不

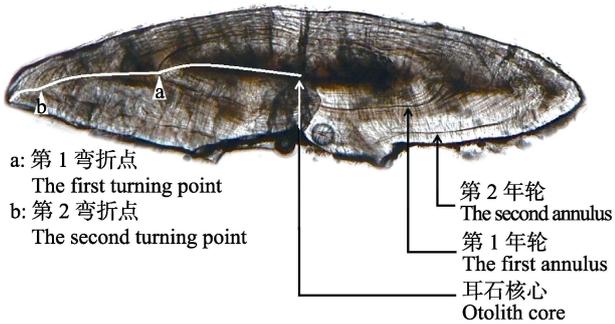


图 2 刀鲚耳石横截面上的年轮

Fig.2 Annulus on the transverse section in the otolith of *C. nasus*.

白色弯曲线为耳石弯曲生长曲线，点 a 和 b 分别为两次转折折点，即新、旧年轮界线。图中箭头自左向右依次为耳石核心、第 1 年轮和第 2 年轮

The white curve showed the straight-curved periodical growth pattern. a and b were the turning points indicating two annuli. The arrows from left to right were otolith core, the first annulus and the second annulus, respectively

到任何轮纹(图 4a)。通过比较酸蚀结果发现，1% HCl 的酸蚀效果较严重，不易把握酸蚀的程度，很容易导致酸蚀过度，读取年轮的效果不佳。相比之下，5% $EDTA$ 酸蚀效果较好，酸蚀程度比较稳定，且较容易控制。经 5% $EDTA$ 酸蚀的样品表面可见较为清晰的两条轮纹(图 4b)，而经 1% HCl 酸蚀的样品表面腐蚀较深，除第 1 年轮隐约可见外，第 2 年轮几乎不可辨别(图 4c)。

除了酸蚀试剂的选择外，酸蚀时间的把握也十分重要。光镜下是否能够清晰分辨不同年轮间的轮纹界线

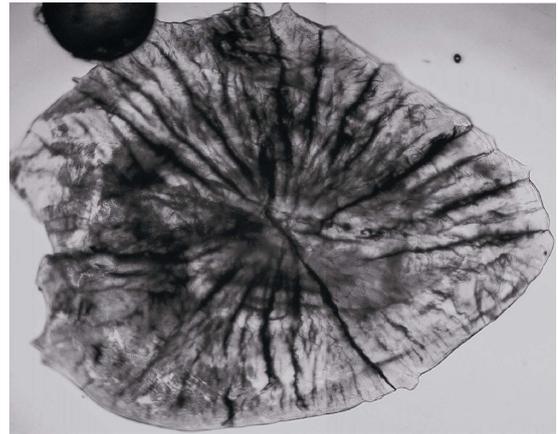


图 3 经碾磨至耳石核心暴露的刀鲚耳石矢状面

Fig.3 The sagittal section through the core of *C. nasus* otolith

可以作为判别酸蚀效果的参考标准。酸蚀初始阶段效果不明显，但当达到一定时间时，第 1 年轮会变得清晰。此时，在透射镜下，宽带会呈深黑色，而窄带则呈浅色；而在反射镜下，宽带的酸蚀程度较窄带深。通过比较酸蚀的结果，可以确定 10 s 为最合适的酸蚀时间。

通过对矢状面形态的仔细观察，发现刀鲚耳石经历过明显变形的过程，可由基叶和翼叶的变化来反映。从图 4b 可以看出，耳石从圆形逐渐向两端生长，到了一定时间，基叶部分向外伸出，远超翼叶部分。到第 1 年轮结束时，翼叶部分发生改变，生长加快(图 4b)。

图 5 为同一刀鲚个体与图 2 中的右耳石相对应的左耳石。耳石上的第 1 年轮(白色箭头所指)较为清晰，

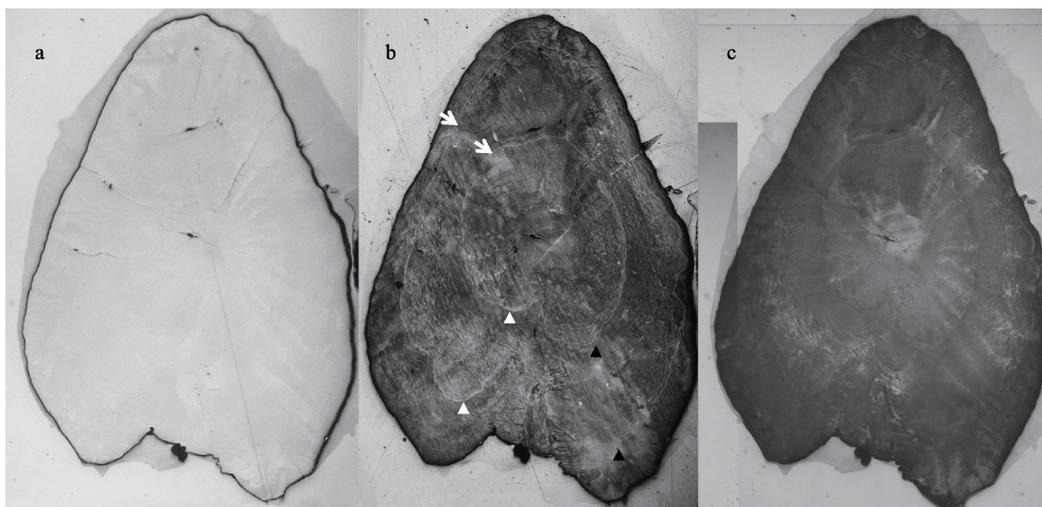


图 4 反射光下经碾磨至耳石核心暴露的刀鲚耳石矢状面

Fig.4 The sagittal section in the otoliths of *C. nasus* under reflected light after the core was exposed

a) $EDTA$ 酸蚀前; b) $EDTA$ 酸蚀后, 白色箭头所指为年轮, Δ 所指为耳石翼叶, \blacktriangle 所示为耳石基叶; c) HCl 酸蚀后
a) Before etching with $EDTA$; b) After etching with $EDTA$; The white arrows indicated the annulus, Δ denoted the antirostrum and \blacktriangle denoted the rostrum; c) After etching with HCl

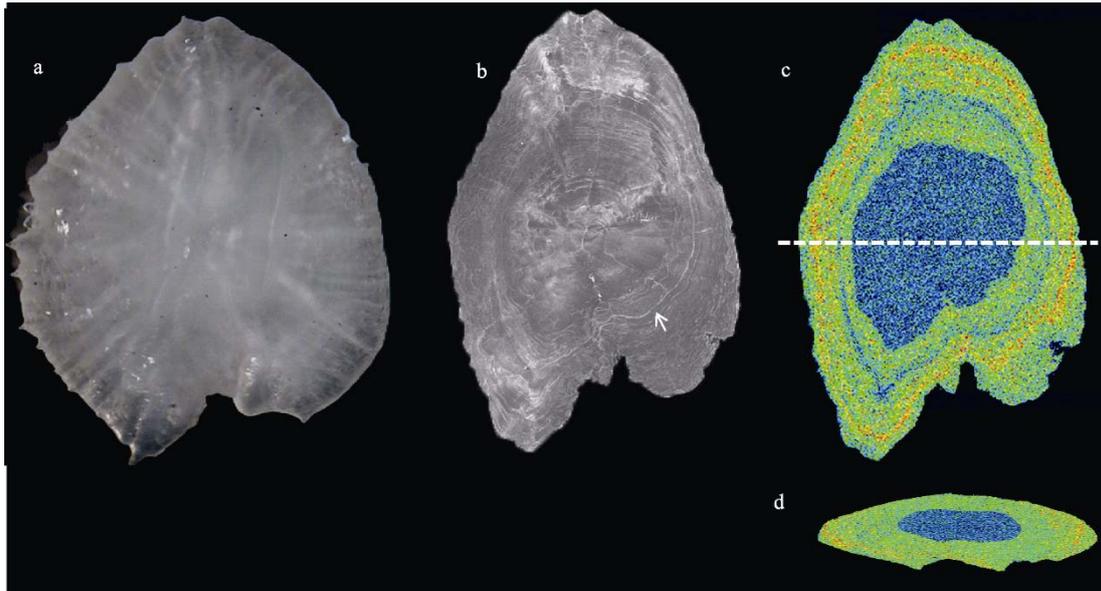


图 5 刀鲚耳石(a), 矢状面 EDTA 酸蚀照片(b, 白色箭头所示为第 1 年轮)和耳石电子探针(EPMA)二维锶(Sr)元素微化学矢状面分布(c, 白色虚线为横截面方向)以及横截面分布(d)

Fig.5 Otolith (a), sagittal sectioning plane etched with EDTA (b, the white arrow denoted the first annulus) and the two-dimensional imaging with mapping analysis of Sr by EPMA in the sagittal plane (c, the white dotted line denoted the transverse section direction) and transverse plane (d) of *C. nasus*

第 2 年轮并不明显。结合微化学分析结果(图 5c)可以推测, 该个体在第 1 冬龄前已进入半咸水生境生活(图 5c 所示中心蓝色区域沿生长轴向外变为绿色的现象), 并在第 1 冬龄形成时, 在淡水中有短期逗留(图 5c 所示蓝色环纹)。与矢状面微化学分析结果相比, 横截面(图 5d)的微化学结果与之相似, 中心蓝色区域沿生长轴向外变为绿色。不过与矢状面相比, 横截面在第 1 年轮附近无法观察到清晰可见的蓝色环纹。

3 讨论

3.1 刀鲚耳石的两种研磨方法比较

通过比较刀鲚耳石的两种研磨方法(横截面和矢状面)发现, 从耳石的年龄鉴定角度来说, 二者均有比较好的结果(图 2 和图 4), 二者所读出的年轮数据与从鱼鳞读出的结果一致。但是, 在年轮的获取上, 横截面可以直接读取, 而矢状面则需要进行酸蚀, 才能得到较为理想的轮纹(图 4b), 且酸蚀的程度也不容易控制。再从轮纹来看, 横截面得到的轮纹界限比较清楚(图 2), 而矢状面在酸蚀之前轮纹无法直接观察(图 3, 图 4a), 酸蚀后才能获取并分析年轮(图 4b, 图 4c), 一般第 1 年轮会较为清晰, 部分样品的第 2 年轮会较难把握(图 5b)。总体上, 在年轮获取方面, 横截面法较矢状面法更有优势。值得注意的是, 刀鲚耳石并不具有类似吻孔鲃(*Poropuntius huangchuchieni*)(丁城志

等, 2013)、鲫鱼(*Carassius auratus*)(沈建忠等, 2002)等其他鱼类耳石上常见的周期性明暗带, 而是如黎雨轩等(2010)所描述的存在有“周期性直-弯折生长模式”。不过本研究发现, 对应于黎雨轩等(2010)所描述的耳石生长轴由弯曲变直转换的年轮标志处, 依旧有清晰可见的年轮。与其余轮纹相比较, 刀鲚横截面上的年轮较宽, 颜色也较深(图 2)。

由于矢状面的面积较横截面要大, 像素点尺寸相同的情况下, 其横截面具有更高的分辨率。这可能也是为何图 5c 和图 5d 在整体 Sr 元素面分布特征相似的情况下(中心蓝色区域以及沿生长轴向外的绿色同心环区域), 前者还在第 1 年轮处呈现出了 1 个较窄的蓝色环纹, 而后者无法显现的原因。因此, 在耳石微化学的研究中, 矢状面要较横截面更能全面、详细地反映所分析耳石样品的微化学特征。

除此之外, 在对矢状面的两种酸蚀处理方法比较中, 作者发现与 1% HCl 相比, 5% EDTA 更易于控制酸蚀的程度, 以获得更为清晰的轮纹照片。Secor 等(1991)曾总结过两种酸蚀试剂对于不同大小耳石的酸蚀效果, 其中, 使用 1% HCl 酸蚀耳石能够获得较为平整的酸蚀表面, 适用于较大的耳石; 而使用 5% EDTA 则能获得更多的细节, 更适用于较小的耳石。本研究中的分析对象虽然为较大的刀鲚成鱼耳石, 但是从图 4b 和图 4c 中均可见其表面轮纹较密, 且从 5% EDTA 处理的照片来看其年轮很窄(图 4b), 使用 1% HCl 较易造

成酸蚀过度从而破坏表面的年轮特征(图 4c)。

3.2 刀鲚耳石横截面的生长特征

本研究中刀鲚耳石在横截面方向的生长也有一定的特殊性,与黎雨轩等(2010)的结果相似。随着刀鲚的生长,耳石会从早期的直线生长到后期的向外弯曲生长,至第1年轮处,更会发生弯折。之后,新一轮的直线、弯曲、弯折生长又将开始(图 2)。这样的周期生长有可能导致了耳石核心不在耳石球体的中心位置上,而是偏向外侧。这种耳石的生长模式类似条纹鲈鱼(*Morone saxatilis*),即在耳石的形成过程中,其会向着矢状面外弯曲生长(Secor *et al.*, 1991)。而这种弯曲生长的情况也可能导致耳石矢状面碾磨至核心暴露时,靠近耳石边缘的部分已经很薄,较难观察到清晰的轮纹。

3.3 刀鲚耳石矢状面的生长特征

通过对刀鲚耳石矢状面上轮纹进行分析发现,其耳石轮纹在生长的过程中发生了较大的变化,对应到具体的耳石形态变化过程为从早期的圆形到后期前端分叉的纺锤形(图 4b)。需要注意的是多数鱼类在早期时耳石均为圆形,而随着耳石不断生长逐渐发生了特异的形状变化(Xie *et al.*, 2005; 严太明等, 2014)。由此可见,如果从耳石形态去判别鱼类群体的组成,需要考虑使用耳石形态较为稳定的成鱼个体样品。

在本次研究中,作者发现刀鲚耳石轮纹特征呈现出年际间的变化,即其形态自第1年轮前后发生了较为明显的改变,特别是耳石前端开始分叉,基叶部分向外伸出;而在随后的生长过程中,其翼叶部分开始加速生长,并最终在耳石前端形成分叉。由于刀鲚耳石在接近第1年轮形成前,所反映的多为蓝色区域(淡水生境履历),而在第1年轮外所反映的多为较高 Sr 浓度的绿色区域(半咸水履历)。两道年轮间形态的差异与刀鲚生境履历的转换相符(蒋日进等, 2009)。因此,不同水体的盐度条件很有可能是除了生理条件之外(Lombarte *et al.*, 2003),影响刀鲚耳石轮纹形态的又一重要原因。而这一结果也可通过与刀鲚的两类淡水定居群体:湖鲚(*C. nasus taihuensis*)和短颌鲚(*C. brachygnathus*)的耳石形态进行比较论证。由于湖鲚和短颌鲚均不被认为是有效物种,而是刀鲚的淡水生态型种群(唐文乔等, 2007; 许志强等, 2009),后二者成鱼耳石与刀鲚耳石形态较为相似,仅在翼叶部分有较为明显的区别,表现为后二者耳石翼叶明显的小于刀鲚成鱼耳石(郭弘艺等, 2007; 姜涛等, 2011)。但是与本研究结果中刀鲚耳石第1年轮处形态相比较,二

者与其十分相似,均具有翼叶很小,而基叶较为发达的特征。加上刀鲚在接近第1年轮形成前,才离开淡水进入半咸水乃至海水生活(Jiang *et al.*, 2012)。由此可见,在相同的淡水环境下,亲缘关系相近的鱼(刀鲚、湖鲚以及短颌鲚)耳石生长机制很有可能相似;而在水体环境一旦发生改变后(如从淡水进入半咸水乃至海水),由于环境中用于构成耳石的元素浓度发生了变化,对耳石的生长可能产生了影响,因此造成了耳石形态上的分化。而整个耳石形态生长变化的过程则通过年轮被客观地记录在了耳石上。此外,这种由于环境变化而导致的耳石积累发生改变的情况,也可能是影响到耳石矢状面轮纹酸蚀结果的重要原因之一,即所有耳石用 5%EDTA 酸蚀后第1年轮均较为清晰可辨,而部分个体第2年轮不明显。因此在针对刀鲚耳石矢状面的一系列研究中(如耳石微化学研究),如果需要获取年轮,首先应该尝试使用 5%EDTA 进行酸蚀,如果在酸蚀的基础上仍旧无法获取第1年轮外的其他年轮信息,则需要考虑换用耳石横截面碾磨获取年轮,以比对相应的矢状面分析结果。

参 考 文 献

- 丁城志, 陈毅峰, 姚景龙, 等. 澜沧江云南吻孔鲃的耳石年轮特征及其年轮鉴定. 生态学杂志, 2013, 32(11): 3069–3073
- 许志强, 葛家春, 黄成, 等. 基于颌骨长度和线粒体 Cyt b 序列变异探讨短颌鲚的分类地位. 大连水产学院学报, 2009, 24(3): 242–246
- 沈建忠, 曹文宣, 崔奕波. 鲫耳石年轮的观察及其确证. 华中农业大学学报, 2002, 21(1): 64–68
- 严太明, 胡佳祥, 杨婷, 等. 骨唇黄河鱼耳石早期形态发育和轮纹特征研究. 水生生物学报, 2014, 38(4): 764–771
- 郭弘艺, 唐文乔, 魏凯, 等. 中国鲚属鱼类的矢耳石形态特征. 动物学杂志, 2007, 42(1): 39–47
- 姜涛, 杨健, 刘洪波, 等. 刀鲚、凤鲚和湖鲚矢耳石的形态学比较研究. 海洋科学, 2011, 35(3): 23–31
- 姜涛, 周昕期, 刘洪波, 等. 鄱阳湖刀鲚耳石的两种微化学特征. 水产学报, 2013, 37(2): 239–244
- 唐文乔, 胡雪莲, 杨金权. 从线粒体控制区全序列变异看短颌鲚和湖鲚的物种有效性. 生物多样性, 2007, 15(3): 224–231
- 袁传泌, 林金榜, 刘仁华, 等. 刀鲚的年龄和生长. 水生生物学集刊, 1978, 6(3): 285–298
- 蒋日进, 钟俊生, 张冬良, 等. 长江口沿岸随波带仔稚鱼的种类组成及其多样性特征. 动物学研究, 2009, 29(3): 297–304
- 黎雨轩, 何文平, 刘家寿, 等. 长江口刀鲚耳石年轮确证和年龄与生长研究. 水生生物学报, 2010, 34(7): 787–793
- Arai T, Goto A, Miyazaki N. Migratory history of the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus*. Ichthyol Res, 2003, 50(1): 9–14

- Brown RJ, Severin KP. Otolith chemistry analyses indicate that water Sr: Ca is the primary factor influencing otolith Sr: Ca for freshwater and diadromous fish but not for marine fish. *Can J Fish Aquat Sci*, 2009, 66(10): 1790–1808
- Campana SE. Otolith science entering the 21st century. *Mar Freshwater Res*, 2005, 56(5): 485–495
- Chang C, Iizuka Y, Tzeng WN. Migratory environmental history of the grey mullet *Mugil cephalus* as revealed by otolith Sr: Ca ratios. *Mar Ecol Prog Ser*, 2004, 269(1): 277–288
- Dou SZ, Amano Y, Yu X, *et al.* Elemental signature in otolith nuclei for stock discrimination of anadromous tapertail anchovy (*Coilia nasus*) using laser ablation ICPMS. *Environ Biol Fish*, 2012a, 95(4): 431–443
- Dou SZ, Yokouchi K, Yu X, *et al.* The migratory history of anadromous and non-anadromous tapertail anchovy *Coilia nasus* in the Yangtze River Estuary revealed by the otolith Sr: Ca ratio. *Environ Biol Fish*, 2012b, 95(4): 481–490
- Gillanders BM. Otolith chemistry to determine movements of diadromous and freshwater fish. *Aquat living Resour*, 2005, 18(3): 291–300
- Iida M, Watanabe S, Tsukamoto K. Validation of otolith daily increments in the amphidromous goby *Sicyopterus japonicus*. *Coast Mar Sci*, 2010, 34(1): 39–41
- Jiang T, Yang J, Liu HB, *et al.* Life history of *Coilia nasus* from the Yellow Sea inferred from otolith Sr: Ca ratios. *Environ Biol Fish*, 2012, 95(4): 503–508
- Kennedy BP, Blum JD, Folt CL, *et al.* Using natural strontium isotopic signatures as fish markers: methodology and application. *Can J Fish Aquat Sci*, 2000, 57(11): 2280–2292
- Lombarte A, Torres GJ, Morales-Nin B. Specific *Merluccius* otolith growth patterns related to phylogenetics and environmental factors. *J Mar Biol Ass U.K.*, 2003, 83(2): 277–281
- Nakaya M, Morioka T, Fukunaga K, *et al.* Validation of otolith daily increments for larval and juvenile Japanese halfbeak *Hyporhamphus sajori*. *Fish Res*, 2008, 93(1–2): 186–189
- Secor DH, Dean JM, Laban EH. Manual for otolith removal and preparation for microstructural examination. Columbia: South Carolina, 1991, 11–38
- Tsukamoto K, Chow S, Otake T, *et al.* Oceanic spawning ecology of freshwater eels in the western North Pacific. *Nat Commun*, 2011, 2(1): 179
- Xie S, Watanabe Y, Saruwatari T, *et al.* Growth and morphological development of sagittal otoliths of larval and early juvenile *Trachurus japonicus*. *J Fish Biol*, 2005, 66(6): 1704–1719
- Yamada H, Chimura M, Asami K, *et al.* Otolith development and daily increment formation in laboratory-reared larval and juvenile black-spot tuskfish *Choerodon schoenleinii*. *Fisheries Sci*, 2009, 75(5): 1141–1146
- Yang J, Arai T, Liu HB, *et al.* Reconstructing habitat use of *Coilia mystus* and *Coilia ectenes* of the Yangtze River estuary, and of *Coilia ectenes* of Taihu Lake, based on otolith strontium and calcium. *J Fish Biol*, 2006, 69(4): 1120–1135
- Zhong L, Guo H, Shen H, *et al.* Preliminary results of Sr: Ca ratios of *Coilia nasus* in otoliths by micro-PIXE. *Nucl Instrum Meth B*, 2007, 260(1): 349–352

(编辑 江润林)

The Comparison of Different Pre-treatment Methods for Acquiring Otolith Annuli of *Coilia nasus*

JIANG Tao^{1,2}, LIU Hongbo², LU Mingjie³, CHEN Tingting¹, YANG Jian^{1,2①}

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081; 2. Key Laboratory of Fishery Ecological Environment Assessment and Resource Conservation in Middle and Lower Reaches of the Yangtze River, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081; 3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract Estuarine tapertail anchovy *Coilia nasus* has been a highly popular and commercially valuable anadromous species in China the texture of which is delicate. Recently age estimation by otolith of this fish has become a hotspot in ecological research, which largely depends on efficient pre-treatment methods that generate clearer annual rings in the otolith of *C. nasus*. In this study we compared the effectiveness of several pre-treatment methods. The results showed that the transverse plane was clearer than the sagittal plane through the core; however, the latter was more suitable in some special analysis (especially microchemistry). Etching with 5% EDTA produced a clearer surface than 1% HCl. Analysis on the rings in the sagittal planes after etching suggested that the morphological change in the otoliths was correlated with transition in the habitat during the lifetime. In conclusion, the transverse plane is suitable for determining the age, and the sagittal plane is optimal in microchemical analysis.

Key words *Coilia nasus*; Otoliths; Annulus; Pre-treatment

① Corresponding author: YANG Jian, E-mail: jiany@ffrc.cn