

〈総 説〉

耳石の元素・同位体分析による回遊生態研究

横内一樹¹, 天野洋典², 石村豊穂³, 白井厚太郎^{4†}

Geochemical analysis of otoliths for studying the migratory ecology of fishes

Kazuki YOKOUCHI¹, Yosuke AMANO², Toyoho ISHIMURA³ and Kotaro SHIRAI^{4†}

魚類の個体群構造や移動履歴を明らかにすることは、回遊生態への理解を深めるだけでなく、水産重要種における資源の管理のためにも非常に有用である。近年、魚類の回遊生態研究の手法として、耳石の微量元素・安定同位体組成を自然標識 (natural tag) として用いる研究が注目されている。そこで本稿では、耳石の微量元素・安定同位体組成の変動メカニズムとその取り込み過程、または分析データの取扱いなどについて、耳石の微量元素・安定同位体組成を生態研究に応用する際の有用な指針となるように地球化学的な側面を交えて概説した。

キーワード: 安定同位体比, 回遊性魚類, 耳石, 地球化学, 微量元素組成

For the appropriate stock management of fish species, it is essential to investigate ecological information, such as species distribution and migration patterns. Recent studies have shown the usefulness of elemental and stable isotopic composition in fish otoliths as a natural tag for reconstructing the migratory ecology of fish. To provide guidance for the use elemental and stable isotopic composition of otoliths in ecological studies of fish, this study focuses on quantitatively describing the process and degree of variations of each chemical composition of otoliths, primarily by describing their geochemical aspects. The types of factors that are responsible for variations in elemental and stable isotopic composition of otoliths are discussed based on biological and latest geochemical findings. Additional detailed discussions are provided regarding things to be considered when interpreting data. Finally, some of our views are discussed as to the selection of optimal otolith elements and analysis methods required for providing new insights into the ecological studies of fish.

Key words: stable isotope ratio, migratory fish, otolith, geochemistry, trace element

2016年9月30日受付, 2017年6月1日受理

¹ 国立研究開発法人水産研究・教育機構・中央水産研究所
〒238-0316 神奈川県横須賀市長井6-31-1
National Research Institute of Fisheries Science, Fisheries Research Agency, 6-31-1 Nagai, Yokosuka, Kanagawa 238-0316, Japan

² 国立研究開発法人水産研究・教育機構・東北水産研究所
〒985-0001 宮城県塩釜市新浜町3-27-5
Tohoku National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, 3-27-5 Shioyama, Miyagi 985-0001, Japan

³ 独立行政法人国立高等専門学校機構・茨城工業高等専門学校
〒312-8508 茨城県ひたちなか市中根866
National Institute of Technology, Ibaraki College, 866 Nakane, Hitachinaka, Ibaraki 312-8508, Japan

⁴ 東京大学大気海洋研究所・国際沿岸海洋研究センター
〒277-8564 千葉県柏市柏の葉5-1-5
International Coastal Research Center, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8564, Japan

† kshirai@aori.u-tokyo.ac.jp

はじめに

一般に、回遊性魚類の個体群の特性を理解するためには、分布や移動・回遊についての生態学的な情報に加え、分集団構造や集団間の交流状況を定量的に把握することが必用不可欠である。とりわけ資源の加入に貢献する集団がどの海域で生まれ、どのような回遊経路を経て再生産に至るのかを把握することは管理方策を決定するうえで非常に重要である。従来の研究では、個体ごとの回遊行動や集団構造を把握するために、標識放流法、バイオロギング法、遺伝学的集団構造解析などの手法により、多くの回遊性魚類の生態学的知見が明らかとなっている。

しかしながら、適用される手法ごとに生態研究へ応用する際の長所と短所が異なるため、それぞれの手法の対象となる現象の規模や、最適な時空間的スケールは異なる。例えば標識放流法は、最も一般的で簡便な手法である一方、標識の装着による魚体への影響や採集努力量に依存した再

捕率が推定結果に大きく影響を与える。バイオロギング法は個体の詳細な回遊行動に関する情報を得ることができるが、体サイズの小さい魚へ標識を装着することや、数多くの個体を標識することは技術的に困難で、経済的なコストもかかる。遺伝学的集団構造解析は、対象とする個体群に検出できるレベルの遺伝的差異のあることが必要とされ、個体レベルでの回遊経路や再生産に直接関わりのない交流を明らかにすることは難しい。

本稿では、従来技法によるアプローチを補完する新たな手法として、魚類の硬組織の一つである耳石の微量元素・安定同位体組成が、魚類の回遊生態情報を復元する自然標識 (natural tag) となることを紹介する。魚類の耳石とは、カルシウム (Ca) (主にアラゴナイト結晶) で構成された平衡感覚や聴覚を司る外胚葉性の石灰化した硬組織で、偏平石 (Sagitta)、礫石 (Lapillus)、星状石 (Asteriscus) の三種類が左右それぞれ一組ずつ内耳に存在している。耳石は、胚発生の発眼初期にその核が形成され、内耳の内リンパ液に満たされた耳石胞の中で、魚体の成長に従い付加的に成長をする。耳石には生物の概日リズムや周年のサイクルによって、一日もしくは一年に一本の輪紋が形成されることが多く、古くから魚類の年齢形質として水産学研究に利用されてきた。また、耳石が成長する際に、Caとともにナトリウム (Na)、カリウム (K)、マンガン (Mn)、ストロンチウム (Sr)、バリウム (Ba) など少なくとも30の微量元素が耳石へ取り込まれる (Campana, 1999)。耳石は非細胞性の組織であることから、一度沈着した元素は終生変化しない。

耳石中の元素組成は、生息環境水の水温、塩分および元素組成、または個体の生理状態や体成長速度などから影響を受け変化するため (例えば Townsend et al., 1992; Fowler et al., 1995; Tsukamoto et al., 1998; Campana, 1999; Elsdon et al., 2008)、耳石には個体が経験した全生活史の環境・生理状態に関する情報が時系列に沿って保持されることとなる。したがって、耳石の微量元素・安定同位体組成を、耳石核から縁辺部に向かって耳石の成長軸に沿って分析することで (Fig. 1)、個体レベルでの回遊経路や産卵集団を判別することが可能となる。自然標識は、人為的な標識放流を必要とせず、再捕率に依存しないため、耳石の微量元素・安定同位体組成には、採集されたどの標本からでも、その由来や履歴を推定することができるという大きな利点がある。さらに、遺伝学的手法では検出が困難な場合においても、グループ間の生態学的な違いを取り扱うことができる点で優れている (Perrier et al., 2011)。したがって、耳石の微量元素・安定同位体組成による魚類生態研究は、回遊性魚類に新たな知見を与える極めて優れた手法であるといえる。

これまで、河川、河口域、海洋に生息する様々な魚類において、耳石の微量元素・安定同位体組成が、分集団構造の解析や、個体の回遊履歴の推定などを目的とした自然指

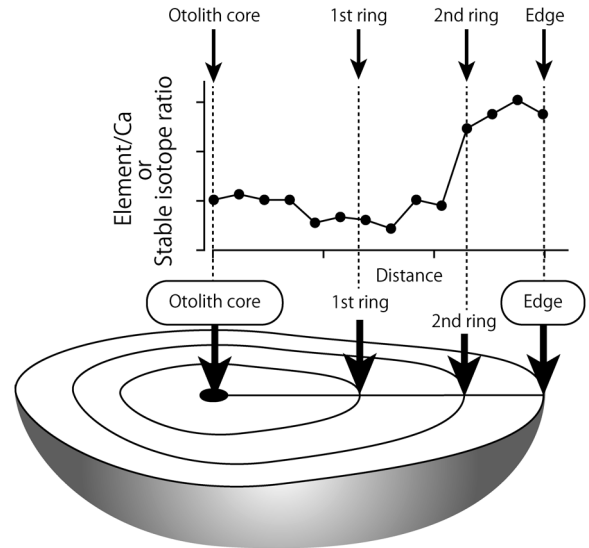


Figure 1. Diagram of Element/Ca or stable isotope ratios at positions along a transect between the otolith core and the otolith edge of a fish.

標として検証され、その有用性が多く示されている (Campana, 1999; Elsdon and Gillanders, 2003; Sturrock et al., 2012; Walther and Limburg, 2012)。耳石の元素組成とその変動メカニズム、魚類生態研究への応用については、すでに多くの総説があり、以下のものが参考となる。Campana (1999) は、耳石微量元素組成の変動メカニズムから、その魚類生態への応用までをあつかった先駆的な総説を発表した。Elsdon and Gillanders (2003) は、耳石微量元素組成の変動メカニズムについて、環境要因と生物的要因から概説した。Elsdon et al. (2008) は、耳石試料のサンプリングからデータの統計解析まで、耳石研究に必要な知見に関して整理しており、とりわけ応用研究に必要とされる仮定や前提条件、手法の応用範囲について詳細に解説した。Kerr and Campana (2013) は、耳石だけでなく、鱗、脊椎骨、鰭条などを含む魚類の硬組織を用いた個体群判別法について紹介している。

これまで、耳石微量元素組成を利用した魚類生態研究は、淡水魚や海と川を行き来する通し回遊魚について多く行われてきた。Gillanders (2005) は、淡水魚と通し回遊魚における耳石微量元素組成について総説している。Walther and Limburg (2012) は、地球化学的な視点から通し回遊魚を対象とした耳石微量元素の変動要因や分析手法について紹介している。とりわけ、海と川の生活期を耳石の Sr/Ca 比から明らかにする手法や、Sr の安定同位体比から生活河川を判別する手法は、通し回遊魚類の生態研究にほぼ確立された手法として広く応用されている。一方で、狭塩性の海水魚 (あるいは非通し回遊魚、本稿では以降、海水魚) についての報告例は通し回遊魚と比較して少ない。海水魚の場

合、生涯海水で生活するため、その生活史のなかで淡水や汽水の影響を受ける機会があまりない。そのため河川や汽水水域で生活する魚類と比べ、環境水の物理・化学的な変動が少なく、耳石においてもその化学的組成はそれほど変動しないものと考えられている（詳しくは、本稿「環境変化による影響」を参照）。そのため、海洋生活期における耳石の自然指標としての有用性は、いまだ検証中の段階のものが多いのが現状と言える。また、海洋生活期の耳石組成に関する総説としては、Sturrock et al. (2012) が、耳石微量元素組成の変動メカニズムについて“hard and soft acid and base theory”というユニークなカテゴリー分けをすることで統一的な説明を試みているので参考にされたい。

加えて、耳石の微量元素・安定同位体組成の生態研究への応用を考える場合には、分集団の判別や回遊経路の推定といったそれぞれの研究目的に応じて、適用可能となる要件が異なることに注意する必要があるだろう。これについては後述する個別の該当箇所を参照してもらう必要があるが、例えば、単に分集団を判別するのが目的なのであれば、耳石の組成の変動がどのような原因で生じようと分集団間でその組成が異なっていれば研究への応用に支障はない。しかし、その回遊経路を推定する必要がある場合、指標とすべき元素・安定同位体については、研究対象とする種の全生活史を通じて同一の条件で耳石へ取り込まれることが確認されていることが重要である。また、対象とする生態現象の時空間スケールで、海洋物理・化学的環境条件と微量元素・安定同位体組成の対応関係を確認する必要がある。そのため、耳石微量元素・安定同位体組成を生態研究に用いるためには、クリアすべき前提条件（もしくは妥当な仮定）が多く、実際に技法の適応が可能であるかどうか事前に十分に検討する必要がある。

本稿では、耳石における微量元素・安定同位体組成について、生態研究に用いる際の有用な指針となるよう、元素・同位体の変動プロセスごとに解説する。耳石指標に関する全体的な概要については、上述のように多くの総説が存在するため、本稿では、どの指標がどの程度変動しうのかな

を主に地球化学的な側面から可能な限り定量的に示すことを心がけた。また、データを解釈するために気をつけるべき事柄について特に詳しく議論するようにした。なお、本稿はCRC Pressより出版されたBiology and Ecology of Bluefin Tuna (Takashi Kitagawa and Shingo Kimura Eds.) の第10章であるOtolith Geochemical Analysis for Stock Discrimination and Migratory Ecology of Tunas (Amano et al., 2015) の内容のうち、耳石の元素・同位体分析全般に関する内容を和訳・改訂したものである。

微量元素・安定同位体組成について

耳石の微量元素組成を用いて魚類の個体群構造を明らかにするためには、耳石の微量元素組成が群間で異なる必要がある。さらに回遊経路推定のためには、組成の変動が経路上のそれぞれの生息域と対応している必要がある。耳石の微量元素組成に個体群間で差異を生じさせる要因は、環境の影響（外因的）と個体の生物学的影響（内因的）の二つに大別される。また、環境が変化することそのものが個体の生命活動へ影響し、耳石の組成にさらに間接的に影響を与えることもあり得る。

生体の外部から耳石へと物質を取り込むということは、外部環境から耳石へと到る個体内の生理的な過程を経ることを意味し、その過程を経ることによって元素・安定同位体の分別が起こりうる。その段階は、環境水中の変化、環境水-血液・内リンパ液間、内リンパ液-耳石間、耳石内の不純物の4つに大別することができる。さらに環境学的影响と生物学的影響および上記4段階のそれぞれにおいて、元素変動を引き起こす複数の過程・要因が存在する (Fig. 2)。環境学的影响と生物学的影響による耳石微量元素・安定同位体組成の変動メカニズムを正確に把握することは、より詳細な生態学的应用のために必要不可欠である。それにもかかわらず、耳石の微量元素組成の変動メカニズムはこれまで十分に解明されたとは言えない (Campana, 1999; Elsdon and Gillanders, 2003; Sturrock et al., 2012; Walther and Limburg, 2012)。変動メカニズムを解明することを難しく

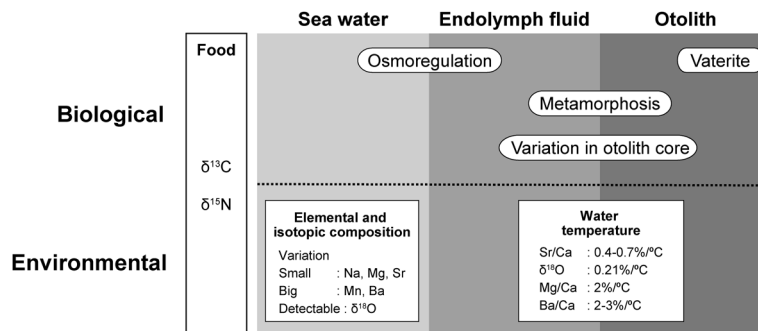


Figure 2. Schematic diagram of fractionation mechanisms, steps, and factors on elemental and isotopic compositions in fish otolith. Figure 2 is modified after Amano et al. (2015).

している理由としては、元素・安定同位体の取り込みには様々な要因が複雑に関係することに加え、元素ごと、魚種ごとにその変動メカニズムが異なることが原因と考えられる。

しかしこれまでに、河川や沿岸域に生息する魚類の耳石の微量元素・安定同位体組成については比較的情報が整理されており、様々な総説がある (Campana, 1999; Gillanders, 2005; Elsdon et al., 2008)。そこで本稿では、海洋を回遊する魚類を想定した外洋域の特徴を考慮し、耳石の微量元素・安定同位体組成の変動に関して環境の影響が強く働く要因と生物学的な影響を強く受ける要因について概説する。なお、すべての元素について解説することは難しいため、従来の研究で報告例が多く、ある程度耳石中の濃度が高い元素・安定同位体について、その変動メカニズムと耳石への取り込み過程について議論する。

環境変化による影響

環境水組成の変化

最もシンプルに魚類の回遊経路について情報を与えてくれる可能性があるものは、環境水自身の元素・安定同位体組成の変化であろう。理想的な耳石指標は、水域ごとに特徴的な組成を示し、耳石の組成と環境水の組成が比例関係にあることが検証されているものである。

どのような微量元素や同位体の組成が有用となるかは、魚種ごとの生活型が大きく関与する。例えば、通し回遊魚は海水と淡水という大きな外部環境の変化をその生活史に内包している。淡水魚は、分布に地理的な制限を強く受け、環境変化の大きな陸水域に生息する。河川水の微量元素組成や安定同位体比は流域の地学的な特性によって河川ごとに特徴的な値を示すものがある。例えば、河川水のSr安定同位体比 ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) は流域の地質の同位体比を反映してそれぞれの地域で値が変化し (Bentley, 2006)、さらに耳石の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と平衡関係にあることが明らかとなっている (Kennedy et al., 1997; Ingram and Weber, 1999; Amakawa et al. 2012)。河川水の主要元素についてはMeybeck (2003) に、微量元素についてはGaillardet et al. (2003) に詳しくまとめられている。通し回遊魚と淡水魚について、耳石の組成が生息環境水の組成を強く反映する指標がこれまで比較的多く報告されており、回遊経路の絞り込みが可能となる有用な自然指標として、Sr/Ca比、Ba/Ca比、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が広く認められている (Kennedy et al., 2000; Walther and Thorrold., 2008; Amano et al., 2013; Martin et al., 2013)。

海洋中の主要・微量元素の変動幅や変動パターンについてはBruland and Lohan (2003) に詳しくまとめられているが、外洋環境の元素組成は河川や沿岸域に比べて変化が少ない。一般に耳石における元素組成の変動メカニズムを議論する際、微量元素濃度自体が重要なのか元素とCaとの比 (元素/Ca比) が重要なのか議論されることが多く (例え

ばBrown and Severin, 2009)、また初期には重量比とモル比を混同したものもあった。耳石の主要構成成分であるCaの海水中の濃度は平均 $10.3 \text{ mmol kg}^{-1}$ であり、塩分の低い海水でも $10.1 \text{ mmol kg}^{-1}$ 程度で、外洋域ではほぼ均質の濃度を示す。したがって、外洋ではCa濃度を均一とみなせるため、耳石の微量元素濃度も元素/Ca比もほぼ同等とみなしてよい。

魚類生態研究において、最も多く分析されるSrの海水中の濃度は外洋域ではほぼ均一で $90 \mu\text{mol kg}^{-1}$ である。de Villiers et al. (1994) は、海水中のSrおよびCaを高精度で分析し、その変動幅を評価するために、希釈や蒸発などによる微少な塩分変化に起因するバイアスを補正し、海水の塩分を35に標準化した場合のSr濃度およびSr/Ca比を示した。Sr濃度は、平均値が $87.4 \mu\text{M}$ で変動幅が $86.5 \mu\text{M}$ から $89.2 \mu\text{M}$ (2.8%)、Sr/Ca比は平均値が $8.539 \text{ mmol mol}^{-1}$ で変動幅が $8.49 \text{ mmol mol}^{-1}$ から $8.65 \text{ mmol mol}^{-1}$ (1.4%)だと報告しており、非常に変動が小さい。Brown and Severin (2009) では、淡水魚と通し回遊魚において、環境水のSr/Ca比が耳石Sr/Ca比変動の主要因であるが、海水魚では耳石のSr/Ca比の変動幅が海水のSr/Ca比の変動幅と比べて大きい。そのため、生理学的影響が主たる変動要因だと結論づけている。また、沿岸域ではSr/Ca比の異なる淡水の影響を受けて海水組成が変化することもありうるが、Brown and Severin (2009) は様々な河川のSrとCaの組成を用いて、海水Sr/Ca比の塩分依存性をシュミレーションしている。その結果、例えば塩分33以上の外洋の海水において、Sr/Ca比の変化は無視できる程小さいとされている。一方、多くの海水魚の耳石中Sr/Ca比の変動幅は海水組成の変動幅よりはるかに大きく、海水魚の耳石Sr/Ca比の組成は海水の組成を反映しているわけではないものと思われる (Brown and Severin, 2009)。

Li, B, Na, Mg, K, Rbなど海水中の主要・微量元素は、耳石中の濃度が比較的高いため分析に利用されることもあるが、これらの元素はいわゆる保存性成分型 (conservative-type distribution) の分布を示し、Srと同様に極端な環境以外では環境中の濃度が変化することはない (Millero, 2003)。そのため、これらの元素が回遊経路を推定するうえで、意味のある情報を与えるような指標となるのは難しいと考えられる。一方、後述するように、これらの元素は環境変化が生物に与える間接的な影響や生物学的要因で変動するため、個体群の判別に用いることは可能かもしれない。

海洋における鉛直分布に基づく分類型において、Ni, Cu, Zn, Ge, Cd, Baなどの栄養塩類似型 (nutrient-like distribution) やAl, Mn, Coなどのスキヤベンジ型 (scavenged-type distribution) を示す元素は、鉛直方向に濃度が変化するのみならず、水平方向にも濃度勾配がある (Bruland and Lohan, 2003; Nozaki, 2001)。そのため、海域ごとに固有の組成を示す可能性があり、その海水組成が耳石の組成に反映され

るのであれば、回遊経路を絞り込める指標となる可能性がある。ただし、Ni, Cu, Zn, Cd, Mn, Coなどは生理活性物質を構成する元素もしくは生物濃縮される元素でもあるため、これら元素に対しては個体による濃度調節が強く働く可能性が高く、おそらく海水組成は耳石組成に反映されないであろう(本稿「生態系群集構造の影響」で後述)。また、Ni, Cu, Zn, Cd, Mn, Coに加えGe, Alなどの元素は、耳石中の濃度の低い場合が多く、分析時に汚染も受けやすいため耳石組成の定量が困難な場合も多い。ここまでに挙げた元素の中で、生態研究に最も有用だろうと思われるのがBa/Ca比である。Baは、Caと同じ周期表第II属の元素であり、CaやSrと化学的性質や挙動が似ているためアラゴナイトに取り込まれやすい元素である(Dietzel et al., 2004; Gaetani and Cohen, 2006)。Baは海水中の濃度が平均110 nmol kg⁻¹と比較的高く、変動範囲も30 nmol kg⁻¹から150 nmol kg⁻¹と大きいことが知られており(Bruland and Lohan, 2003)、水塊ごとに特徴的な組成を示す(Jacquet et al., 2005, 2007; Hoppema et al., 2010)。様々な魚種で環境水中のBa/Ca比と耳石Ba/Ca比の関係で直線性が検証されているため、Baは、他の元素と比べて生物学的要因の影響を受けにくい元素であると考えられている(Bath et al., 2000; Milton and Chenery, 2001; Elsdon and Gillanders, 2003; Walther and Thorrold, 2006)。

海水中の元素組成の変化に加えて、溶存酸素、pHなどの海水化学組成が海域ごとに変化する可能性がある。これらの変化は耳石の微量元素変動を直接引き起こす可能性は低いと考えられるが、生物学的要因を介して間接的に影響を与える可能性や、錯体形成や化学種(chemical speciation)の変化により、海水魚が取り込み可能なイオン量を変化させる可能性も否定できない。ただし、量的な観点から考えると、海水のこれらの化学組成の変化は、魚体内の化学組成の変化と比較して小さいものと考えられるため、これらの海水化学組成が耳石の元素組成に与える影響は無視できる程度に小さいだろう。

これまで生態研究に用いられることが多い酸素安定同位体比($\delta^{18}\text{O}$: ^{16}O と ^{18}O の存在比)については、海水の同位体比の変動要因を把握することが有用である。 $\delta^{18}\text{O}$ の海洋における変動範囲は、太平洋では海域によっておおむね1‰程度の違いがあることが知られている(LeGrande and Schmidt, 2006)。また、日本海と太平洋を比べてみると、海水の $\delta^{18}\text{O}$ 値の差は約0.5‰程度である(Kitagawa et al., 2013)。 $\delta^{18}\text{O}$ 値の変動要因としては、外洋域では海水そのものの違いより水温の影響(4℃で約1‰変化する: 本稿「水温の影響」を参照)の方が大きいと考えられる。しかし、淡水域や沿岸域では環境水そのものの $\delta^{18}\text{O}$ 値の変動も無視できない大きさであり、注意を払う必要はある。河川水の $\delta^{18}\text{O}$ は天水(雨水)の影響を受けて変化しており、日本列島における変動範囲は-5‰から-13‰と(Mizota and Kusakabe, 1994; Katsuyama et al., 2015)、後述の水温とともに耳石へ無

視できない影響を与えている。沿岸域や表層の海水の $\delta^{18}\text{O}$ 値は、海洋への淡水(海水より軽い $\delta^{18}\text{O}$ 値を持つ)の流入と海水からの水蒸気の蒸発(軽い $\delta^{18}\text{O}$ 値の水蒸気の散逸)によって決まる。この結果、環境水の $\delta^{18}\text{O}$ 値と塩分との間に直線的な正の相関関係が成り立つことになる。しかし、「塩分自体の変動によって炭酸カルシウムの $\delta^{18}\text{O}$ 値が変わる」という誤解が無いように留意されたい。

以上より、経験した環境水の変化と、海水魚の回遊経路を推定する目的に鑑みると、必要条件である耳石の組成と環境水の組成が一意に比例関係となる可能性のある指標はBa/Ca比のみであるといえよう。

水温の影響

耳石微量元素・同位体組成を考えるうえで、水温は最も重要な物理的要因である。水温は、河川や湖沼などの淡水域では季節的な周期変動が、海水域(主に外洋域)では水深と緯度方向に急激な勾配があるため、耳石中の温度依存性を示す微量元素・同位体組成については、回遊パターン推定への応用が期待できる。温度による分別(fractionation)は、液体・固体相互作用(fluid-solid interaction)であり、内リンパ液と耳石との間で起こる。微量元素の取り込みの際に、環境変化と耳石組成の変化にはタイムラグのあることが知られているが(例えばYokouchi et al. 2011)、水温(もしくは母液温度)変化が耳石に記録されるとすれば、温度依存による組成についてはタイムラグが存在しないことになる。温度依存性を示す元素・同位体組成として、Mg/Ca比、Sr/Ca比、Ba/Ca比および酸素同位体比が様々な魚種においてよく議論されている。これらの元素/Ca比や酸素同位体比の温度依存性は、無機的に生成されたアラゴナイト中のそれらの組成が温度に依存するという経験則に大きく由来しているものと推察される。

炭酸カルシウムには三方晶系(trigonal)なカルサイトと斜方晶系(orthorhombic)なアラゴナイトの熱力学的に安定な2つの鉱物相(mineral phase)が存在し、六法晶系のバータライトは熱力学的に不安定である。炭酸カルシウムへの微量元素の分配(partitioning)やそのメカニズムについてはカルサイトについての研究が多く行われている(例えばWatson, 1996, 2004; Tesoriero and Pankow, 1996; Rimstidt et al., 1998, Curti, 1999)。無機的なカルサイトではCa²⁺のイオン半径(1.00オングストローム)より小さくなるに従って、微量元素は取り込まれにくくなり、かつ、1.1オングストロームを超えるイオンもほとんど取り込まれない。それに対し、アラゴナイトではSrやBaなどCaよりイオン半径の大きな2価の陽イオンが取り込まれやすいのに対し、Caよりイオン半径の小さいMgは取り込まれにくい(Gaetani and Cohen, 2006)。他の元素の分配に関する知見は十分でないものの、このような無機炭酸カルシウムの傾向は耳石組成や変動傾向を大雑把に予測する助けになる

だろう。無機的なアラゴナイトにおける微量元素分配の温度依存性は、Sr/Ca比 (Kinsman and Holland, 1969; Dietzel et al., 2004; Gaetani and Cohen, 2006), Mg/Ca比 (Gaetani and Cohen, 2006), Ba/Ca比 (Dietzel et al., 2004; Gaetani and Cohen, 2006) について報告されている。これらの元素のうち、Sr/Ca比はいずれの報告も整合的な結果を示したため、物理化学的な過程による定量的な温度依存性を示す元素比であることがわかる。ただし、依存性は0.4–0.7‰/°Cと比較的小さい。Mg/Ca比は2‰/°C, Ba/Ca比は2–3‰/°C, と温度と負の相関を示し、Sr/Ca比より温度依存性が大きい。ただしデータが十分ではないこと、報告ごとに関係性が一致しないことから定量的な取り扱いには注意する必要がある。

炭酸カルシウムの $\delta^{18}\text{O}$ は、形成時の温度と周辺水の $\delta^{18}\text{O}$ によって決定されるため、温度履歴の復元に活用できる環境指標であると考えられている。無機的なアラゴナイトの $\delta^{18}\text{O}$ に基づく温度依存性はGrossman and Ku (1986) によりはじめて体系的に報告された。Kim et al. (2007) は、アラゴナイトの合成実験によって、温度換算式を算出し、Grossman and Ku (1986) の天然試料の実測データと比較してもおおむね調和的な値を報告している。この研究成果から、無機沈殿によって形成される炭酸塩の $\delta^{18}\text{O}$ はおおむね4°Cの温度変化につき約1‰同位体値が変わることがわかっている。そのため、周辺水の $\delta^{18}\text{O}$ が一定(主に外洋域の海水組成: 本稿「環境水組成の変化」を参照)であれば炭酸カルシウムの $\delta^{18}\text{O}$ 値を温度指標として活用することが可能となり、これまでに $\delta^{18}\text{O}$ は、サンゴ・貝類・有孔虫などを用いた環境変動解析に多く応用されてきた。なお、生物源炭酸塩の安定同位体比研究の詳細に関してはRohling and Cooke (1999) が詳しいので参照されたい。

しばしば、耳石の $\delta^{18}\text{O}$ を分析した研究において、アラゴナイトの同位体計算上の問題が考慮されていないため、ここに特別に記し注意を促しておく。炭酸塩の炭素・酸素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$)は、以下のリン酸反応によって得られた CO_2 ガスの $\delta^{13}\text{C}$ (^{12}C と ^{13}C の存在比)と $\delta^{18}\text{O}$ (^{16}O と ^{18}O の存在比)を分析することによって定量される。



分析には一般的に安定同位体比質量分析計(stable isotope ratio mass spectrometry)が用いられ、同位体値は国際標準物質NBS19を基準としてVPDB (Vienna Pee Dee Belemnite)スケールで標準化が行われる(Brand et al., 2014)。同位体値の表現方法についてはCoplen (2011)に指針が示されているので参考にさせていただきたい。同じ海水から形成されたアラゴナイトの $\delta^{18}\text{O}$ は、カルサイトと比べておよそ0.6‰程度重い $\delta^{18}\text{O}$ を示すことが知られている(Tarutani et al., 1969; Grossman and Ku, 1986)。Kim et al. (2004)は、同位体

比分析におけるリン酸反応における同位体分別係数(同位体比 R_1 の炭酸カルシウムからリン酸反応を経て R_2 の CO_2 ガスとなる化学反応について、同位体比の変化を表す化学的な比で、その同位体分別係数 $\alpha_{1/2}$ は R_1/R_2 で表される)がカルサイトとアラゴナイトで異なり、さらにその同位体分別係数が温度に依存することを明らかにした。つまり、全く同じ同位体組成を持つカルサイトとアラゴナイトからリン酸分解により CO_2 を発生させた場合でも、その CO_2 の $\delta^{18}\text{O}$ は両者の間で有意な組成の違いを示し、かつその違いの大きさが反応温度に依存するということである。このことは、カルサイトの標準物質との比較によりアラゴナイトである耳石 $\delta^{18}\text{O}$ 値を決定する場合、実験ごとの反応温度の違いや、用いる同位体分別係数の違いによって、結果として得られる耳石の $\delta^{18}\text{O}$ 値が大きく異なることを意味する。先行研究での $\delta^{18}\text{O}$ 値において、リン酸との反応温度、計算に用いる同位体分別係数などが一様ではないので、先行研究との比較においては特に注意が必要である。今後の耳石 $\delta^{18}\text{O}$ の研究報告では、分析時の反応温度と計算に用いた同位体分別係数を明示することが望ましい。

それぞれの元素比・安定同位体比の水温依存性と、14°C, 20°C, 26°Cの水温で外洋海水から無機的にアラゴナイトを生成した場合の元素・酸素安定同位体比($\delta^{18}\text{O}$)をTable 1にまとめた。海水魚の耳石元素比・安定同位体比が純粋に物理化学的な過程のみによって影響を受けるとすれば、耳石元素比・ $\delta^{18}\text{O}$ は、温度依存性と個体の経験可能な水温範囲から予測された範囲内に収まるはずである。しかし多くの魚類で耳石中のSr/Ca比やMg/Ca比の変動範囲は、海水組成の変動幅や水温変化により引き起こされる変動よりも相対的に大きい(詳細はAmano et al. (2015)やBrown and Severin (2009)を参照されたい)。一方、Ba/Ca比については、海水の組成の変化が温度変化の影響に対して相対的に大きい。また、無機炭酸塩からの耳石組成の値のずれは、生物学的要因の影響の存在を意味していると考えられる。水温は体成長率など様々な生物学的要因にも影響を与えるため、おそらく環境の影響により引き起こされる生物学的な過程が、耳石のSr/Ca比やMg/Ca比が温度によって変動する主たる要因だろうと推測される。一方、 $\delta^{18}\text{O}$ は水温の寄与が大きく、耳石 $\delta^{18}\text{O}$ と水温の関係は、無機的なアラゴナイトにおける酸素同位対比と水温の関係式とも大きく外れていない。実際、いくつかの魚種において $\delta^{18}\text{O}$ は、無機のアラゴナイトと同様、同位体平衡によるものと考えられている(Patterson et al., 1993; Thorrold et al., 1997; Radtke et al., 1998; Hoie et al., 2004; Kitagawa et al., 2013)。

以上の耳石微量元素・安定同位体組成へ温度の与える影響についてまとめる。微量元素組成は、水温よりもむしろ関係する生物学的な過程がその変動の主要因であり、微量元素組成から水温を復元することは困難であるものと結論づけられる。それに対し $\delta^{18}\text{O}$ は、特に外洋域に生息する

Table 1. Expected ranges of chemical compositions of aragonite produced under pure inorganic processes caused by environmental variation of which fully marine fishes (e.g. Pacific bluefin tuna) will experience in their life history.

	Reported temperature dependency of fractionation factor	$\delta^{18}\text{O}$ of SW ^{a)} (% relative to VSMOW)		Expected $\delta^{18}\text{O}$ (% relative to VPDB)		Variation caused by SW composition (%)	Variation per 1°C at 20°C (%)	Variation caused by temperature ^{e)} (%)	Reference
		14°C	20°C	14°C	26°C				
Calcite $\delta^{18}\text{O}$	$1000 \ln \alpha = 18.03 (1000/T) - 32.42$	—	—	—	—	1.00	0.21	2.52	Kim and O'Neil (1997)
Aragonite $\delta^{18}\text{O}$ ^{b)}	$1000 \ln \alpha = 17.88 (1000/T) - 31.14$	—	—	—	—	1.00	0.21	2.50	Kim et al. (2007a)

	Reported temperature dependency of distribution coefficient	Distribution coefficient		Element concentration in SW ^{a)} ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	Expected Me/Ca (mmol mol ⁻¹)		Relative variation caused by SW composition ^{b)} (%)	Relative variation per 1°C at 20°C (%)	Relative variation caused by temperature ^{e)} (%)	Reference
		14°C	26°C		14°C	26°C				
Mg/Ca	$\ln K^{Mg/Ca} = (1930/T) - 13.1$	0.00170	0.00148	53000	8.76	7.64	—	2.25	27	Gaetani and Cohen (2006)
Sr/Ca	$K = 1.2488 - 0.00447 \cdot D$	1.19	1.16	53000	8.76	7.64	3.9	0.38	4.5	Kinsman and Holland (1969)
				86.5	9.97	9.75				
$D_{Sr} = 1.27 - 0.0052127 \cdot T$	$\ln K^{Sr/Ca} = (605/T) - 1.89$	1.20	1.17	90.0	10.37	10.14	3.9	0.45	5.4	Dietzel et al. (2004)
				86.5	10.05	9.79				
Ba/Ca	$D_{Ba} = 2.31 - 0.034557 \cdot T$	1.24	1.19	90.0	10.46	10.19	3.9	0.70	8.5	Gaetani and Cohen (2006)
				86.5	10.44	10.00				
	$\ln K^{Ba/Ca} = (2913/T) - 9.0$	1.83	1.62	0.03	10.87	10.41	80	2.13	26	Dietzel et al. (2004)
				0.15	0.0266	0.0236				
		3.16	2.57	0.03	0.0092	0.0075	80	3.39	41	Gaetani and Cohen (2006)
				0.15	0.0460	0.0374				

a) Range of seawater compositions were estimated based on the possible migration route of Pacific bluefin tuna. Ca concentration is assumed to be 10.3 mmol/kg. See text for more details.

b) (maximum value - minimum value) / (maximum value) × 100, calculation based on value at 20°C

c) (value at 14°C - value at 26°C) / (value at 20°C) × 100, calculation based on maximum concentration

d) Calculated by simple linear regression of reported averaged data

e) $\delta^{18}\text{O}$ value at 14°C - $\delta^{18}\text{O}$ value at 26°C

f) Isotopic values of aragonite are calculated using an acid fractionation factor at 25°C as reported in Kim et al. (2007a, 2007b) Table 1 is modified after Amano et al. (2015).

海水魚において、水温の影響を反映する定量性の高い有用な温度指標であると言えるだろう。

生物学的要因による変化

母液組成の変動

環境水中の元素が、耳石と直接接触している液体（内リンパ液つまり石灰化母液）まで取り込まれる際には、環境水-血漿-内リンパ液と複数の段階を経る(Campana, 1999)。微量元素組成はそれぞれの段階ごとに変化する可能性があり、元素ごとにその変化も異なる。主要・微量元素に関して、環境水から血漿への移行は、主に鰹における浸透圧調整による取り込みが重要な役割を担っていると考えられている(Kalish, 1991; Campana, 1999)。また、元素によっては食物由来の栄養摂取による取り込みも大きく影響すると考えられる。加えて、環境水-血漿段階の元素分別は、年齢、体成長速度、成熟や変態などの生理学的・生態学的要因に強く影響を受けるだけでなく、水温や餌などの外部環境にも影響を受けることに注意する必要がある。

Table 2はSturrock et al. (2013) による海水魚の血漿中の

微量元素組成と海水中の元素濃度をまとめたものである。海水の組成と比較して、主要元素は海水中の濃度よりも血漿中の濃度が低いのに対し、環境水だけでなく、食物を介して取り込まれ、生理活性物質などを構成することが想定される生物性元素(bio-elements)であるMn, Cu, Zn, Seは血漿中の濃度が海水中の濃度に比べ10倍以上も高い。Ca比にして比較した場合、生物性元素は同様に海水中のCa比に対して10倍以上高いものの、主要元素は海水中のCa比との差はそれほど大きいものではない。そのため、血漿-内リンパ液間では主要元素はCaとともに、類似した仕組みで輸送されているものと推察される。

しかし、環境水中の元素組成そのものの時空間的な変化と比べ、環境水から体内へと移行する段階における主要元素/Ca比の変化量は相対的に大きいため、これら取り込み段階における元素分別は最終的な耳石組成の変動に大きく影響を及ぼす。また、このような生物学的要因の変化は種依存的に存在するため、実際に血液の微量元素組成を分析することが分別メカニズムの解明にとって必要とされる。なお、血漿-内リンパ液間の分別についてはKalish (1991)

Table 2. Elemental concentrations and their Metal/Ca ratios in seawater, marine fish, male and female plaice blood plasma.

	Seawater	Marine fish blood plasma composition (range)	Blood plasma enrichment factor ^{a)}	All plaice blood plasma composition (RSD, %)	All enrichment factor ^{a)}	Male plaice blood plasma composition (Reference range ^{b)})	Male enrichment factor ^{a)}	Female plaice blood plasma composition (Reference range ^{b)})	Female enrichment factor ^{a)}	
Li	ppm	0.180	0.05 (0.006)	0.278	0.065 (11)	0.363	0.063 (0.05-0.07)	0.352	0.067 (0.06-0.07)	0.370
Li/Ca	mmol mol ⁻¹	2.515	2.240	0.891	2.974	1.183	2.945	1.171	2.809	1.117
Na	ppm	10759	4043 (109)	0.376						
Na/Ca	mmol mol ⁻¹	45437	54679	1.203						
Mg	ppm	1288	34 (5)	0.027	26 (26)	0.021	27 (19-41)	0.021	27 (21-45)	0.021
Mg/Ca	mmol mol ⁻¹	5146	438	0.085	346	0.067	357	0.069	320	0.062
Cl	ppm	19357	5875 (209)	0.304						
Cl/Ca	mmol mol ⁻¹	53010	51524	0.972						
K	ppm	399	287 (125)	0.720	42 (62)	0.107	45 (14-110)	0.112	41 (13-102)	0.103
K/Ca	mmol mol ⁻¹	990	2284	2.306	344	0.348	371	0.374	307	0.310
Ca	ppm	413	128 (15)	0.312	126 (16)	0.307	124 (108-149)	0.300	137 (112-190)	0.331
	mmol mol ⁻¹									
Mn	ppm	0.00002			0.021 (50)	1274	0.017 (0.009-0.041)	1007	0.024 (0.011-0.050)	1468
Mn/Ca	mmol mol ⁻¹	0.00003			0.121	4148	0.098	3356	0.129	4434
Cu	ppm	0.00019	1.21 (1)	6347	0.736 (25)	3861	0.766 (0.489-1.093)	4020	0.712 (0.452-1.023)	3737
Cu/Ca	mmol mol ⁻¹	0.00029	5.920	20327	3.661	12569	3.901	13394	3.287	11285
Zn	ppm	0.00033	13 (9)	40618	12 (21)	38232	13 (9-17)	40067	12 (7-17)	35296
Zn/Ca	mmol mol ⁻¹	0.00049	63	130079	60	124467	65	133494	52	106586
Se	ppm	0.00013	31 (7)	237648	0.368 (23)	2742	0.375 (0.234-0.516)	2791	0.361 (0.232-0.475)	2691
Se/Ca	mmol mol ⁻¹	0.00017	126	761071	1.473	8925	1.535	9300	1.341	8126
Sr	ppm	7.886	1.1	0.139	1.03 (16)	0.131	0.998 (0.764-1.284)	0.127	1.078 (0.858-1.398)	0.137
Sr/Ca	mmol mol ⁻¹	8.738	3.903	0.447	3.716	0.425	3.685	0.422	3.607	0.413
Ba	ppm	0.015			0.008 (70)	0.536	0.008 (0.003-0.025)	0.543	0.007 (0.003-0.026)	0.483
Ba/Ca	mmol mol ⁻¹	0.011			0.019	1.746	0.019	1.809	0.016	1.459

^{a)} Enrichment factor was calculated from the value of blood plasma composition divided by seawater composition.

^{b)} Reference ranges in male and female plaice blood plasma compositions indicate 5th-95th percentiles of examined specimens. Blood plasma composition referenced from Sturrock et al. (2013) and seawater composition referenced from Bruland and Lohan (2003).

Table 2 is modified after Amano et al. (2015).

などが報告しているものの、魚類についてその分別を一般化し議論をするほどにはデータが十分ではない。一方、酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) に関しては、一般的に反応がある質量数の同位体を選択的であるほど、同位体分別が大きくなることが知られているが (例えば Hoefs, 2009)、環境水-母液間に選択的な輸送過程は現在のところは想定しづらく、同位体分別は無視できるものと考えることが妥当であろう。

一方、炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) は、代謝起源の炭素が付加することによって環境水-内リンパ液間で、 $\delta^{13}\text{C}$ は大きく変化すると予想される。耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は餌物の $\delta^{13}\text{C}$ と環境水の溶存無機炭素 (DIC: dissolved inorganic carbon) の両方がその変動要因として挙げられている (Kalish, 1991; Schwarcz et al., 1998; Solomon et al., 2006; Nonogaki et al., 2007; Tohse and Mugiya, 2008)。耳石への炭素の取り込みは、餌物よりも DIC のほうが大きいという報告もあるが (餌物: 約 20%; DIC: 約 80%, Solomon et al., 2006; Tohse and Mugiya, 2008)、 $\delta^{13}\text{C}$ はその解釈が難しいため先行研究ではあまり議論されていない。ただし、海水における DIC の $\delta^{13}\text{C}$ が示す値 (Kroopnick, 1985; Tagliabue and Bopp, 2008) に比べて、耳石の $\delta^{13}\text{C}$ は極めて低い値を示すことがわかっている。そのため、餌となる有機物が一般に -20‰ から -25‰ 程度であることを踏まえると、魚類の体内では餌の有機物が分解されて生じた呼吸由来の代謝性炭素が耳石形成に寄与していることは間違いない。そして、その寄与の割合が変化すれば、耳石 $\delta^{13}\text{C}$ 値が大きく変化することが予測され、DIC と代謝性炭素の割合は耳石の $\delta^{13}\text{C}$ の重要な変動要因の一つであると考えられる。

生活史段階ごとの生物学的要因

魚類は、卵、仔魚・稚魚、成魚と成長するのに従い、その生物学的・生理学的特性を変化させるため、生活史段階によって耳石の微量元素組成が異なることが知られている。例えば、Ruttenberg et al. (2005) は、5種の魚類について (*Galaxias maculatus*, *Oxylebius pictus*, *Sebastes atrovirens*, *Dascyllus marginatus*, *Stegastes beebei*, and *Thalassoma bifasciatum*)、耳石核周辺部の Mg/Ca 比、Mn/Ca 比、Ba/Ca 比が耳石周縁部に比べ高いことを報告している。Brophy et al. (2004) は、タイセイヨウニシン *Clupea harengus* について、耳石核において Mn/Ca 比が高くなることを報告している。de Pontual et al. (2003) は *Solea solea* 耳石の Sr/Ca 比と K 濃度が耳石核から縁辺部にかけて減少することを報告している。これは、*S. solea* の生活史初期から変態を経て着底に至る成長段階にしたがって耳石の元素組成が変化したものと考察されている。ただし、この変動自体が環境水-母液間で起こっているのか、母液-耳石間で起こっているのかは不明であり、生活史の中で分別の起こる段階が異なる可能性もある。

耳石核やその近傍は、生物学的要因の影響を強く受ける

可能性が高いが、環境の違いが (生物学的要因を介して) 耳石組成に差異を生じさせるほど影響するのであれば、耳石核から縁辺部までの耳石成長線上の耳石組成を個体の由来の判別に使用できる可能性がある。例えば、クロマグロ (*Thunnus orientalis*) のように産卵場が東シナ海 (西部太平洋) と日本海の2ヶ所とほぼ特定されているような場合は、年級群や分析部位などを揃え、可能な限り生物学的要因の影響を最小化することで、産卵場の違いを検出できるかもしれない。

ただし、耳石核周辺部の元素組成に差異があるという結果から異なる由来をもつと結論づけることと、差異がないことから、それらの個体が同一の由来をもつと結論することは等価ではない。耳石核部分においては、耳石組成の個体差も相対的に大きいと推測されるため、環境の違いによる影響が個体差による影響よりも相対的に小さければ異なる由来をもつ個体であっても耳石組成に差異は生じないことになる。したがって、生物学的要因の影響を強く受ける場合には、その結果の解釈には注意する必要がある。

生態系群集構造の影響

一般的に、食物を経由して環境中の主要・微量元素が耳石に取り込まれる量は、環境水から直接体内へ取り込まれる量に比べ、相対的に小さいと考えられているため、体内の元素の組成については食物由来の影響を受けにくいと予想される。例えば、Kerr and Campana (2013) は、Buckel et al. (2004) と Marohn et al. (2009) の結果に基づいて、Na, Mg, Mn, K, Ca, Cu は餌起源の寄与はさほど大きくないもの想定されると述べている。しかし、環境水中の濃度が極めて低い元素のうち、Ni, Cu, Zn, Mn, Co など魚類に必須とされる微量元素や、Cd, Pb, Hg など生物濃縮される元素については、環境水から直接取り込まれるだけでなく、食物を介して生体内に取り込まれるため、その影響は無視できないものと考えられる。そのため、これらの元素については積極的な取り込みが行われている可能性が高い (本稿「母液組成の変動」も参照)。これらの元素の耳石組成が食物の組成を反映するとすれば、生息域ごとの生物群集の構造とその特徴に影響を受ける可能性があり、間接的な過程による変動ではあるものの、それらの耳石組成を生息域の絞り込みに応用できる可能性がある。これら生物性元素の耳石への取り込み経路やメカニズムについては、いまだ不明な点も多く、さらなる研究が望まれる。

その他の影響

耳石内の不純物 (バーテライト (vaterite) と有機物)

耳石中に存在する有機物や異なる結晶組織 (バーテライト: vaterite) などの不純物は、内リンパ液-耳石間、もしくは耳石内での元素変動を引き起こす可能性がある。耳石の主成分は炭酸カルシウム CaCO_3 であり、その結晶構造はアラ

Table 3. Virtual variation patterns of otoliths used for the simulation of how analytical results can change depending on the selection of otolith portion presented in Fig. 2.

Otolith distance (μm)	Elemental ratio (mmol mol^{-1})				Otolith distance (μm)	Elemental ratio (mmol mol^{-1})			
	Pattern a	Pattern b	Pattern c	Pattern d		Pattern a	Pattern b	Pattern c	Pattern d
0	300	150	10	204	490	40	20	80	50
10	280	160	10	200	500	40	20	60	49
20	260	170	10	196	510	40	20	40	48
30	240	180	10	192	520	40	20	60	47
40	220	190	10	188	530	40	20	80	46
50	200	200	10	184	540	40	20	100	45
60	180	210	10	180	550	40	20	120	44
70	160	220	10	176	560	40	20	140	43
80	140	230	10	172	570	40	20	120	42
90	120	240	10	168	580	40	20	100	41
100	100	250	10	164	590	40	20	80	40
110	80	260	10	160	600	40	20	60	39
120	60	270	10	156	610	40	20	40	38
130	40	280	10	152	620	40	20	60	37
140	40	260	10	148	630	40	20	80	36
150	40	240	10	144	640	40	20	100	35
160	40	220	10	140	650	40	20	120	34
170	40	200	10	136	660	40	20	140	33
180	40	180	10	132	670	40	20	120	32
190	40	160	10	128	680	40	20	100	31
200	40	140	10	124	690	40	20	80	30
210	40	120	30	120	700	40	20	60	29
220	40	100	30	116					
230	40	80	30	112					
240	40	60	30	108					
250	40	40	30	104					
260	40	20	30	100					
270	40	20	30	96					
280	40	20	30	92					
290	40	20	30	88					
300	40	20	30	84					
310	40	20	30	80					
320	40	20	30	76					
330	40	20	30	72					
340	40	20	30	68					
350	40	20	30	64					
360	40	20	30	63					
370	40	20	30	62					
380	40	20	30	61					
390	40	20	30	60					
400	40	20	30	59					
410	40	20	40	58					
420	40	20	60	57					
430	40	20	80	56					
440	40	20	100	55					
450	40	20	120	54					
460	40	20	140	53					
470	40	20	120	52					
480	40	20	100	51					
						Average of elemental ratios (mmol mol^{-1})			
					Averaged ranges of otolith distance (μm)	Pattern a	Pattern b	Pattern c	Pattern d
					0–100	200	200	10	184
					0–200	127	210	10	164
					0–300	99	158	16	144
					0–400	84	125	20	125
					0–500	76	104	34	111
					0–600	70	90	43	100
					0–700	66	80	49	91
					0–40	260	170	10	196
					30–60	210	195	10	186
					50–90	160	220	10	176
					70–110	120	240	10	168
					610–640	40	20	70	36.5
					630–660	40	20	110	34.5
					650–680	40	20	120	32.5
					670–700	40	20	90	30.5
					0–10	290	155	10	202
					10–30	260	170	10	196
					10–50	240	180	10	192
					10–70	220	190	10	188

Table 3 is modified after Amano et al. 2015.

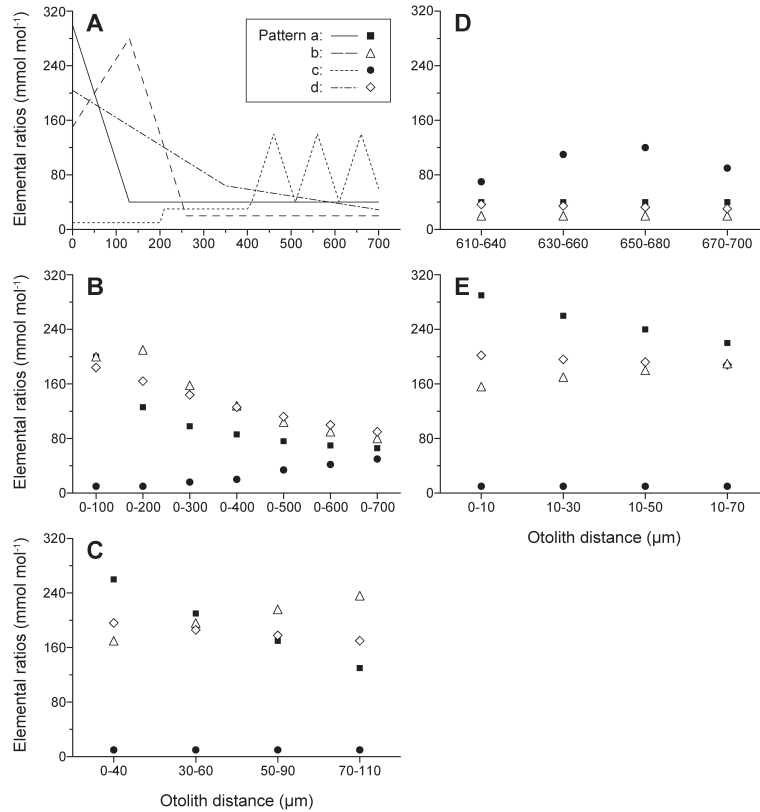


Figure 3. Simulation of how analytical results can change depending on the selection of otolith portion. (A) The otolith variation patterns modified from the elemental profile for South Pacific albacore reported by Macdonald et al. (2013), including pattern a (solid line, closed squares), characterized by enrichment in the otolith core; pattern b (dashed line, open triangles), where the concentration shows an increasing trend from the core, reaching a peak at the first inflection point and then declining; pattern c (dotted line, closed circles), where the concentration is constant in an early stage, then increasing with growth, and finally showing repeated, periodic fluctuations; and pattern d (long dashed dotted line, open diamonds), characterized by a gradual decrease in concentration. By changing the range for data re-sampling from the otolith virtual variation patterns, the following effects were simulated: (B) the effect of differential sampling dates on the whole otolith composition; (C) the effect of minor deviations of the analyzed spot from the core on analysis results; (D) the effect of minor deviations of analyzed spot at the otolith edge or of differential sampling dates on analysis results; and (E) the effect of the spot size used for analyzing the core on analysis results. Figure 3 is modified after Amano et al. (2015).

ゴナイト (aragonite) である。厳密には、生物起源炭酸カルシウムは CaCO_3 と有機物のハイブリッドであり、さらに不純物として微量元素を含んでいる。耳石の微量元素組成を自然指標として使う場合、環境水と耳石アラゴナイト間の微量元素の取込を想定している。一方、環境水と有機物の間での元素分配はアラゴナイトのそれとは大きく異なると考えられ、有機物が局所的に偏在すると微量元素の分布も変化する可能性がある。

耳石を対象にこのような変動メカニズムが議論されることは比較的少ないが、地球化学や古環境学で多く使われるサンゴ、有孔虫、二枚貝などの生物起源炭酸カルシウム組織では、しばしば有機物による混交が問題になり、定量値への影響の議論やその除去を試みる研究例が多くある (例

えば Mitsuguchi et al., 2001; Watanabe et al., 2001; Barker et al., 2003; Pena et al., 2005; Shiao et al., 2014)。最近では、石灰化の際の溶液中の有機物が CaCO_3 への微量元素取り込みに影響を与えることが示唆されている (Stephenson et al., 2008; Wang et al., 2009; Shirai et al., 2014)。耳石の年輪を形成する透明帯と不透明帯は、有機物の組成の違いに由来すると考えられており (Jolvet et al., 2008)、微量元素の変動要因が環境学的要因なのか有機物組成に由来するかは、注意深く解釈する必要があるだろう。

通常の耳石は、アラゴナイトで構成されているが、偶発的にバーテライトが形成されることが知られている。耳石中のバーテライトとアラゴナイトでは元素組成に大きな違いがあるため (Tomas and Geffen, 2003; Melancon et al., 2005)、

耳石中にバーテライトが含まれていないか注意する必要があるだろう。

分析やデータ解析における人為的な影響

本稿「生活史段階ごとの生物学的要因」でも述べたように、耳石微量元素組成は個体発生・発達に伴う変動を示すことがあり、変動要因を把握できていない場合、耳石データの取り扱いや不適切な分析部位の選択による人為的影響 (artifact) が、見かけ上の元素変動を引き起こす可能性がある。Table 3 と Fig. 3 は仮想的な耳石変動プロファイルが分析や解析手法の選び方でどのように変化しうるのであるかをシミュレーションしたものである。耳石の変動パターンは Macdonald et al. (2013) のビンナガ *T. alalunga* の変動プロファイルを改編したもので、耳石核に濃集するパターン a (Fig. 3A), 耳石核から増加し First infection point でピークを迎えその後減少するパターン b (Fig. 3A), 最初は一定だが成長とともに増加し周期的な変動を繰り返すパターン c (Fig. 3A), 徐々に減少していくパターン d (Fig. 3A) の合計 4 パターン作成した。耳石組成の変動プロファイルからデータを再抽出する範囲を変化させることで、(1) 標本採取日の違いが耳石組成の全平均に与える影響 (Fig. 3B), (2) 耳石核からの分析部位の微小なずれが分析結果に与える影響 (Fig. 3C), (3) 耳石縁辺の微小なずれと、個体の採取日の違いが縁辺組成の分析結果に与える影響 (Fig. 3D), (4) 核を分析する際の測定点の直径が分析結果に与える影響 (Fig. 3E), をそれぞれシミュレーションした。その結果、同一の微量元素変動パターンを持つ耳石からでも、採取日、分析部位の微小な位置のずれ、測定点の径によって分析結果に差異を生じさせる可能性があることがわかる。このシミュレーションは平面的にデータリサンプリングをしているため、体積ベースで計算すると相対的に影響は小さくなる。耳石組成から個体群の判別や回遊経路の推定を行うためには、日輪・年齢査定結果と併せ、孵化後の日齢や年齢を揃えることで生物学的要因の影響を最小限もしくは一定にすることが非常に重要である。可能であれば、成長方向に沿った元素変動プロファイルを取得した後に、適切な分析部位やスポットサイズを決める必要があるだろう。

まとめ

耳石の微量元素組成と安定同位体比を個体群や回遊生態の指標として利用するためには、元素が耳石へ取り込まれる過程を把握することが重要である。耳石微量元素組成の主な変動は、環境学的要因と生物学的要因が複合的に影響した結果として耳石微量元素組成が形成される。少なくとも、魚類の耳石微量元素組成を用いて個体群構造や回遊経路の推定を行う際、水温や塩分、環境水中の元素組成等の環境要因を最大限に検出するために、年齢や体成長率、成

熟等の生物学的・生理学的影響を最小限に抑えることが重要である。耳石の元素組成による回遊研究は、従来行われてきた標識放流法、バイオロギング法、遺伝学的集団構造解析法を補うだけでなく、それらと組み合わせることで回遊生態研究に新たな切り口をもたらすものと考えられる。また、生息環境の物理的な循環システムに関する情報 (海洋環境における水塊構造や塩分フロントの形成、陸水環境における水の流量や循環水の影響など) や、そのシミュレーション解析も相乗効果が期待できる重要なアプローチとなるだろう。さらに高精度・高分解能の最新分析機器を用いた地球化学技術をフィードバックさせ続けることで、耳石を用いた回遊生態研究は新たな展開ができるものと期待している。

謝辞

本稿を執筆するにあたり、きっかけを与えてくださった東京大学大気海洋研究所の北川貴士博士と、Otolith Geochemical Analysis for Stock Discrimination and Migratory Ecology of Tunas (Amano et al., 2015) を執筆する際にご参画いただき、有用なご助言をいただいた台湾大学の J. C. Shiao 博士に、深く御礼を申し上げる。小論を査読頂いた 1 名の匿名の査読者からは、本原稿改善のための貴重なご助言を頂いた。記して謝意を表す。

引用文献

- Amakawa, H., T. Suzuki, T. Takahashi, Y. Tatsumi and T. Otake (2012) Sr isotopic compositions of ayu otolith and its ambient water. *Fish. Sci.*, **8**, 1023–1029.
- Amano, Y., M. Kuahara, T. Takahashi, K. Shirai, K. Yamane, H. Amakawa and T. Otake (2013) Otolith elemental and Sr isotopic composition as a natal tag for Biwa salmon *Oncorhynchus masou* subsp. in Lake Biwa, *Jpn. Aquat. Biol.*, **19**, 85–95.
- Amano, Y., J. C. Shiao, T. Ishimura, K. Yokouchi and K. Shirai (2015) Otolith geochemical analysis for stock discrimination and migratory ecology of tunas. *Biology and ecology of Bluefin tuna*. Science publishers, Enfield, New Hampshire, pp. 225–257.
- Barker, S., M. Greaves and H. Elderfield (2003) A study of cleaning procedures used for foraminiferal Mg/Ca paleothermometry. *Geochem. Geophys. Geosy.*, 4 pp.
- Bath, G. E., S. R. Thorrold, C. M. Jones, S. E. Campana, J. W. McLaren and J. W. Lam (2000) Strontium and barium uptake in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **64**, 1705–1714.
- Bentley, R. A. (2006) Strontium isotopes from the earth to the archaeological skeleton: A review. *J. Archaeol. Method Theory*, **13**, 135–187.
- Brand, W., T. B. Coplen, J. Vogl, M. Rosner and T. Prohaska (2014) Assessment of international reference materials for stable isotope ratio analysis 2013. *Pure Appl. Chem.*, **86**, 425–467.
- Brophy, D., T. E. Jeffries and B. S. Danilowicz (2004) Elevated manganese concentrations at the cores of clupeid otoliths: Possible environmental, physiological, or structural origins. *Mar. Biol.*, **144**: 779–786.
- Brown, R. J. and K. P. Severin (2009) 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.*, **66**, 1790–1808.

- Bruland, K. W. and M. C. Lohan (2003) Controls of trace metals in seawater. *Ocean Mar. Geochem.*, **5**, 23–47.
- Buckel, J. A., B. L. Sharack and V. S. Zdanowicz (2004) Effect of diet on otolith composition in *Pomatomus saltatrix*, an estuarine piscivore. *J. Fish. Biol.*, **64**, 1469–1484.
- Campana, S. E. (1999) Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **188**, 263–297.
- Coplen, T. B. (2011) Guidelines and recommended terms for expression of stable-isotope-ratio and gas-ratio measurement results. *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.*, **25**, 2538–2560.
- Curti, E. (1999) Coprecipitation of radionuclides with calcite: Estimation of partition coefficients based on a review of laboratory investigations and geochemical data. *Appl. Geochem.*, **14**, 433–445.
- de Pontual, H., F. Lagardère, R. Amara, M. Bohn and A. Ogor (2003) Influence of ontogenetic and environmental changes in the otolith microchemistry of juvenile sole (*Solea solea*). *J. Sea Res.*, **50**, 199–211.
- de Villiers, S., G. T. Shen, and B. K. Nelson (1994) The Sr/Ca-temperature relationship in coralline aragonite: Influence of variability in $(\text{Sr}/\text{Ca})_{\text{seawater}}$ and skeletal growth parameters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **58**, 197–208.
- Dietzel, M., N. Gussone and A. Eisenhauer (2004) Co-precipitation of Sr^{2+} and Ba^{2+} with aragonite by membrane diffusion of CO_2 between 10 and 50°C. *Chem. Geol.*, **203**, 139–151.
- Elsdon, T. S. and B. M. Gillanders (2003) Reconstructing migratory patterns of fish based on environmental influences on otolith chemistry. *Rev. Fish. Biol. Fish.*, **13**, 217–235.
- Elsdon T. S., B. K. Wells, S. E. Campana, B. M. Gillanders, C. M. Jones, K. E. Limburg, D. H. Secor, S. R. Thorrold and B. D. Walther (2008) Otolith chemistry to describe movements and life-history parameters of fishes: Hypotheses, assumptions, limitations and inferences. *Oceanogr. Mar. Biol. An Annual Rev.*, **46**, 297–330.
- Fowler, A. J., S. E. Campana, S. R. Thorrold and C. M. Jones (1995) Experimental assessment of the effect of temperature and salinity on elemental composition of otoliths using laser ablation ICPMS. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **52**, 1431–144.
- Gaetani, G. A. and A. L. Cohen (2006) Element partitioning during precipitation of aragonite from seawater: A framework for understanding paleoproxies. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **70**, 4617–4634.
- Gaillardet, J., J. Viers and B. Dupré (2003) Trace elements in river waters. *Ocean. Mar. Geochem.*, **5**, 225–272.
- Gillanders, B. M. (2005) Otolith chemistry to determine movements of diadromous and freshwater fish. *Aquat. Living Resour.*, **18**, 291–300.
- Grossman, E. L. and T. L. Ku (1986) Oxygen and carbon isotope fractionation in biogenic aragonite: temperature effects. *Chem. Geol.*, **59**, 59–74.
- Hoefs, J. (2009) Stable isotope geochemistry (Sixth edition). Springer-Verlag, Berlin. 286 pp.
- Høie, H., E. Otterlei and A. Folkvord (2004) Temperature-dependent fractionation of stable oxygen isotopes in otoliths of juvenile cod (*Gadus morhua* L.). *ICES J. Mar. Sci.*, **61**, 243–251.
- Hoppema, M., F. Dehairs, J. Navez, C. Monnin, C. Jeandel, E. Fahrbach and H. J. W. de Baar (2010) Distribution of barium in the Weddell Gyre: Impact of circulation and biogeochemical processes. *Mar. Chem.*, **122**, 118–129.
- Ingram, B. L. and P. K. Weber (1999) Salmon origin in California's Sacramento—San Joaquin river system as determined by otolith strontium isotopic composition. *Geology*, **127**, 851–854.
- Jacquet, S. H. M., F. Dehairs, D. Cardinal, J. Navez and B. Delille (2005) Barium distribution across the Southern Ocean frontal system in the Crozet-Kerguelen Basin. *Mar. Chem.*, **95**, 149–162.
- Jacquet, S. H. M., F. Dehairs, M. Elskens, N. Savoye and D. Cardinal (2007) Barium cycling along WOCE SR3 line in the Southern Ocean. *Mar. Chem.*, **106**, 33–45.
- Jolivet, A., J. F. Bardeau, R. Fablet, Y. M. Paulet and H. de Pontual (2008) Understanding otolith biomineralization processes: New insights into microscale spatial distribution of organic and mineral fractions from Raman microspectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, **392**, 551–560.
- Kalish, J. M. (1991) ^{13}C and ^{18}O isotopic disequilibria in fish otoliths: Metabolic and kinetic effects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **75**, 191–203.
- Katsuyama, M., T. Yoshioka and E. Konohira (2015) Spatial distribution of oxygen-18 and deuterium in stream waters across the Japanese archipelago. *Hydrol. Earth. Syst. Sci.*, **19**, 1577–1588.
- Kennedy, B. P., J. D. Blum, C. L. Folt and K. H. Nislow (2000) Using natural strontium isotopic signatures as fish markers: Methodology and application. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **57**, 2280–2292.
- Kennedy, B. P., C. L. Folt, J. D. Blum and C. P. Chamberlain (1997) Natural isotope markers in salmon. *Nature*, **387**, 766–767.
- Kerr, L. A. and S. E. Campana (2013) Chemical composition of fish hard parts as a natural marker of fish stocks. In: *Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science (Second Edition)*. eds. S. X. Cadrin, L. A. Kerr, S. Mariani. Academic Press, London, Waltham, San Diego., pp. 205–234.
- Kim, S. T., A. Mucci and B. E. Taylor (2004) Phosphoric acid fractionation factors for calcite and aragonite between 25 and 75°C: revisited. *Chem. Geol.*, **246**, 135–146.
- Kim, S. T., J. R. O'Neil, C. Hillaire-Marcel and A. Mucci (2007a) Oxygen isotope fractionation between synthetic aragonite and water: Influence of temperature and Mg^{2+} concentration. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **71**, 4704–4715.
- Kim, S. T., A. Mucci and B. E. Taylor (2007b) Phosphoric acid fractionation factors for calcite and aragonite between 25 and 75°C: Revisited. *Chem. Geol.*, **246**, 135–146.
- Kinsman, D. J. J. and H. D. Holland (1969) The co-precipitation of cations with CaCO_3 —IV. The co-precipitation of Sr^{2+} with aragonite between 16° and 96°C. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **33**, 1–17.
- Kitagawa, T., T. Ishimura, R. Uozato, K. Shirai, Y. Amano, A. Shinoda, T. Otake, U. Tsunogai and S. Kimura (2013) Otolith $\delta^{18}\text{O}$ of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* as an indicator of ambient water temperature. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **481**, 199–209.
- Kroopnick, P. M. (1985) The distribution of ^{13}C of ΣCO_2 in the world oceans. *Deep-Sea. Res. Pt. I*, **32**, 57–84.
- LeGrande, A. N. and G. A. Schmidt (2006) Global gridded data set of the oxygen isotopic composition in seawater. *Geophys. Res. Lett.*, **33**, doi: 10.1029/2006GL026011
- Macdonald, J. I., J. H. Farley, N. P. Clear, A. J. Williams, T. I. Carter, C. R. Davies and S. J. Nicol (2013) Insights into mixing and movement of South Pacific albacore *Thunnus alalunga* derived from trace elements in otoliths. *Fish. Res.*, **148**, 56–63.
- Marohn, L., E. Prigge, K. Zumholz, A. Klügel, H. Anders and R. Hanel (2009) Dietary effects on multi-element composition of European eel (*Anguilla anguilla*) otoliths. *Mar. Biol.*, **156**, 927–933.
- Martin, J., G. Bareille, S. Beraïl, C. Pecheyrán, F. Davaerat, N. Bru and O. Donard (2013) Spatial and temporal variations in otolith chemistry and relationships with water chemistry: A useful tool to distinguish Atlantic salmon *Salmo salar* parr from different natal streams. *J. Fish. Biol.*, **82**, 1556–1581.
- Melancon, S., B. J. Fryer, B. S. A. Ludsins, J. E. Gagnon and Z. Yang (2005) Effects of crystal structure on the uptake of metals by lake trout (*Salvelinus namaycush*) otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **62**, 2609–2619.
- Meybeck, M. (2003) Global occurrence of major elements in rivers.

- Ocean. Mar. Geochem., **5**, 207–223.
- Millero, F. J. (2003) Physicochemical controls on seawater. *Ocean. Mar. Geochem.*, **6**, 1–21.
- Milton, D. A. and S. R. Chenery (2001) Sources and uptake of trace metals in otoliths of juvenile barramundi (*Latescalcarifer*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **264**, 47–65.
- Mitsuguchi, T., T. Uchida, E. Matsumoto, P. J. Isdale and T. Kawana (2001) Variations in Mg/Ca, Na/Ca, and Sr/Ca ratios of coral skeletons with chemical treatments: Implications for carbonate geochemistry. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **65**, 2865–2874.
- Mizota, C. and M. Kusakabe (1994) Spatial distribution of δD – $\delta^{18}O$ values of surface and shallow groundwater from Japan, south Korea and east China. *Geochem. J.*, **28**, 387–410.
- Nonogaki, H., J. A. Nelson and W. P. Patterson (2007) Dietary histories of herbivorous loriceriid catfishes: evidence from $\delta^{13}C$ values of otoliths. *Environ. Biol. Fish.*, **78**, 13–21.
- Nozaki, Y. (2001) Elemental distribution overview. In: *Encyclopedia of Ocean Sciences*, ed. J. H. Steele, S. A. Thorpe and K. K. Turekian, Academic Press, San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, pp. 255–260.
- Patterson, W., G. Smith and K. Lohmann (1993) Continental paleothermometry and seasonality using the isotopic composition of aragonite otoliths of freshwater fishes. *Clim. Change. Cont. Isot. Rec.*, **27**, 199–202.
- Pena, L. D., E. Calvo, I. Cacho, S. Eggins, and C. Pelejero (2005) Identification and removal of Mn-Mg-rich contaminant phases on foraminiferal tests: Implications for Mg/Ca past temperature reconstructions. *Geochem. Geophys. Geosyst.*, **6**, Q09P02.
- Perrier, C., F. Daverat, G. Evanno, C. Pécheyrain, J. L. Bagliniere and T. M. Roussel (2011) Coupling genetic and otolith trace element analyses to identify river-born fish with hatchery pedigrees in stocked Atlantic salmon (*Salmosalar*) populations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **68**, 977–987.
- Radtke, R. L., W. Showers, E. Moksness and P. Lenz (1998) Environmental information stored in otoliths: insights from stable isotopes (vol. 127, pp 161, 1996). *Mar. Biol.*, **132**, 347–348.
- Rimstidt, J. D., A. Balog and J. Webb (1998) Distribution of trace elements between carbonate minerals and aqueous solutions. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **62**, 1851–1863.
- Rohling, E. J. and S. Cooke (1999) Stable oxygen and carbon isotope ratios in foraminiferal carbonate. In: *Modern Foraminifera*. ed. B. K. Sen Gupta. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 239–258.
- Ruttenberg, B. I., S. L. Hamilton, M. J. Hickford, G. L. Paradis, M. S. Sheehy, J. D. Standish, O. Ben-Tzvi and R. R. Warner (2005) Elevated levels of trace elements in cores of otoliths and their potential for use as natural tags. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **297**, 273–281.
- Shiao, J. C., S. Itoh, H. Yurimoto, Y. Iizuka and Y. C. Liao (2014) Oxygen isotopic distribution along the otolith growth axis by secondary ion mass spectrometry: Applications for studying ontogenetic change in the depth inhabited by deep-sea fishes. *Deep-Sea Res. Part I-Oceanogr. Res. Pap.*, **84**, 50–58.
- Stephenson, A. E., J. J. DeYoreo, L. Wu, K. J. Wu, J. Hoyer and P. M. Dove (2008) Peptides enhance magnesium signature in calcite: Insights into origins of vital effects. *Science*, **322**, 724–727.
- Shirai, K., B. R. Schöne, T. Miyaji, P. Radarmacher, R. A. Krause Jr and K. Tanabe (2014) Assessment of the mechanism of elemental incorporation into bivalve shells (*Arctica islandica*) based on elemental distribution at the microstructural scale. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **126**, 307–320.
- Sturrock, A. M., C. N. Trueman, A. M. Darnaude and E. Hunter (2012) Can otolith elemental chemistry retrospectively track migrations in fully marine fishes? *J. Fish. Biol.*, **81**, 766–795.
- Sturrock, A. M., E. Hunter, J. M. Milton and C. N. Trueman (2013) Analysis methods and reference concentrations of 12 minor and trace elements in fish blood plasma. *J. Trace. Elem. Med. Biol.*, **27**, 273–285.
- Schwarz, H. P., Y. Gao, S. Campana, D. Browne, M. Knyf and U. Brand (1998) Stable carbon isotope variations in otoliths of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **55**, 1798–1806.
- Solomon, C. T., P. K. Weber, J. J. Cech Jr, B. L. Ingram, M. E. Conrad, M. V. Machavaram and R. L. Frankli (2006) Experimental determination of the sources of otolith carbon and associated isotopic fractionation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **63**, 79–89.
- Tagliabue, A. and L. Bopp (2008) Towards understanding global variability in ocean carbon-13. *Glob. Biogeochem. Cycle*, **22**, GB1025.
- Tarutani, T., R. N. Clayton and T. K. Mayeda (1969) The effect of polymorphism and magnesium substitution on oxygen isotope fractionation between calcium carbonate and water. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **33**, 987–996.
- Thorrold, S. R., S. E. Campana, C. M. Jones and P. K. Swart (1997) Factors determining delta C-13 and delta O-18 fractionation in aragonite otoliths of marine fish. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **61**, 2909–2919.
- Tesoriero, A. J. and J. F. Pankow (1996) Solid solution partitioning of Sr², Ba², and Cd² to calcite. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **60**, 1053–1063.
- Tohse, H. and Y. Mugiya (2008) Sources of otolith carbonate: Experimental determination of carbon incorporation rates from water and metabolic CO₂, and their diel variations. *Aquat. Biol.*, **1**, 259–268.
- Tomas, J. and A. J. Geffen (2003) Morphometry and composition of aragonite and vaterite otoliths of deformed laboratory reared juvenile herring from two populations. *J. Fish. Biol.*, **63**, 1383–1401.
- Townsend, D. W., R. L. Radtke, S. Corwin and D. A. Libby (1992) Strontium: calcium ratios in juvenile Atlantic herring *Clupea harengus* L. otoliths as a function of water temperature. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **160**, 131–140.
- Tsukamoto, K., I. Nakai and W.-V. Tesch (1998) Do all freshwater eels migrate? *Nature*, **396**, 635–636.
- Walther, B. D. and K. E. Limburg (2012) The use of otolith chemistry to characterize diadromous migrations. *J. Fish. Biol.*, **81**, 796–825.
- Walther, B. D. and S. R. Thorrold (2006) Water, not food, contributes the majority of strontium and barium deposited in the otoliths of a marine fish. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **311**, 125–130.
- Walther, B. D. and S. R. Thorrold (2008) Continental-scale variation in otolith geochemistry of juvenile American shad (*Alosa sapidissima*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **65**, 2623–2635.
- Wang, C. H., Y. T. Lin, J. C. Shiao, C. F. You and W. N. Tzeng (2009) Spatio-temporal variation in the elemental compositions of otoliths of southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii* in the Indian Ocean and its ecological implication. *J. Fish. Biol.*, **75**, 1173–1193.
- Watanabe, T., M. Minagawa, T. Oba and A. Winter (2001) Pretreatment of coral aragonite for Mg and Sr analysis: Implications for coral thermometers. *Geochem. J.*, **35**, 265–269.
- Watson, E. B. (1996) Surface enrichment and trace-element uptake during crystal growth. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **60**, 5013–5020.
- Watson, E. B. (2004) A conceptual model for near-surface kinetic controls on the trace-element and stable isotope composition of abiogenic calcite crystals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **68**, 1473–1488.
- Yokouchi, K., N. Fukuda, K. Shirai, J. Aoyama, F. Daverat and K. Tsukamoto (2011) Time lag of the response on the otolith strontium/calcium ratios of the Japanese eel, *Anguilla japonica* to changes in strontium/calcium ratios of ambient water. *Environ. Biol. Fish.*, **92**, 469–478.