

耳石是魚類的時計器和環境紀錄器

——兼記我的學思歷程

文・圖／曾萬年

魚類內耳有三對耳石（otolith, ear stone），是魚類的聽覺和運動平衡器官，也是魚類的時計器和環境紀錄器。1980年我從東京大學學成歸國後，開始投入耳石的研究。耳石除了會形成年輪之外，還會形成日週輪（daily growth increments）。我們利用光學顯微鏡觀察虱目魚苗的耳石日週輪，開啟了魚類初期生活史研究的新里程碑。1990年起進一步利用電子顯微鏡判讀鰻魚耳石日週輪，揭開了日本鰻海洋漂浮期生活史的神秘面紗。利用電子微探儀測量耳石鋇鈣比（Sr/Ca），再現鰻魚在河海之間的洄游環境史。利用耦合電漿質譜儀測量耳石的微量元素組成，深入探討魚類洄游環境議題。本文將回顧40年來耳石研究的心路歷程，如何從一無所有到參與國際合作研究和主辦國際耳石研討會，讓臺灣的耳石研究站上國際舞台。

會寫日記的魚類：耳石日週輪

魚類耳石日週輪可以推算魚類的日齡和生日（Pannella 1971），讓研究魚類生活史的時間單位，從年細緻到日，補足了魚類初期生活史的最後一塊拼圖。

1980年代我們利用高倍率光學顯微鏡判讀虱目魚苗的耳石日週輪，證明其形成的規律性，發現野生虱目魚苗在外海誕生後，兩個禮拜時間就來到沿岸碎波帶，成為漁民捕撈用來養殖的對象（Tzeng and Yu 1988, 1989, 1990, 1992）（圖1）。1990年代利

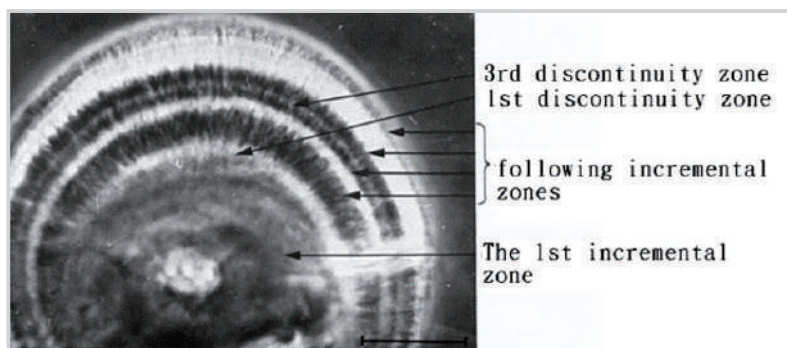


圖1：孵化後第6天的虱目魚（體長5.4mm）的耳石及其日週輪，耳石放大5100倍，scale bar = 10μm。一個日週輪包括一個成長帶（increment zone）和一個不連續帶（discontinuity zone），形成時間大約24小時，故曰日週輪。第一個成長帶是卵黃囊期，由來自母體的卵黃的營養所形成的，為非結晶構造。之後成長帶，是虱目魚開始攝食後形成的，白天虱目魚攝食旺盛，血液中鈣濃度高，耳石形成霏石結晶構造的成長帶。反之，夜間至清晨沒進食，血液中鈣濃度低，耳石形成不連續帶。換言之，日週輪的形成規律與日夜光周期有關。（Tzeng and Yu 1988）。

用掃描式電子顯微鏡（SEM）判讀生長緩慢的日本鰻鰻線耳石的日週輪，再現日本鰻誕生後從外洋隨海流飄送到沿岸河口域的奇幻旅程（Tzeng 1990, Cheng and Tzeng 1996）。日週輪的SEM判讀技術，也擴展到歐洲鰻和美洲鰻（Wang and Tzeng 1998, 2000）以及澳洲和紐西蘭短鰭鰻初期生活史的國際合作研究（Shiao et al. 2001a,b, 2002）。

日本東京大學的研究團隊更利用耳石日週輪推算柳葉鰻的生日，發現日本鰻在6、7月的新月晚上產卵，捕獲了在海洋中產卵的母鰻，證明了日本鰻在馬里亞納海溝西側產卵的海山假說和新月假說（Tsukamoto et al 2003）。

因為耳石日週輪能再現魚類的生活史，有人形容「魚類會寫日記」，更有學者把耳石比喻為解開古埃及象形文字之謎的「羅賽達石碑」（圖2）。

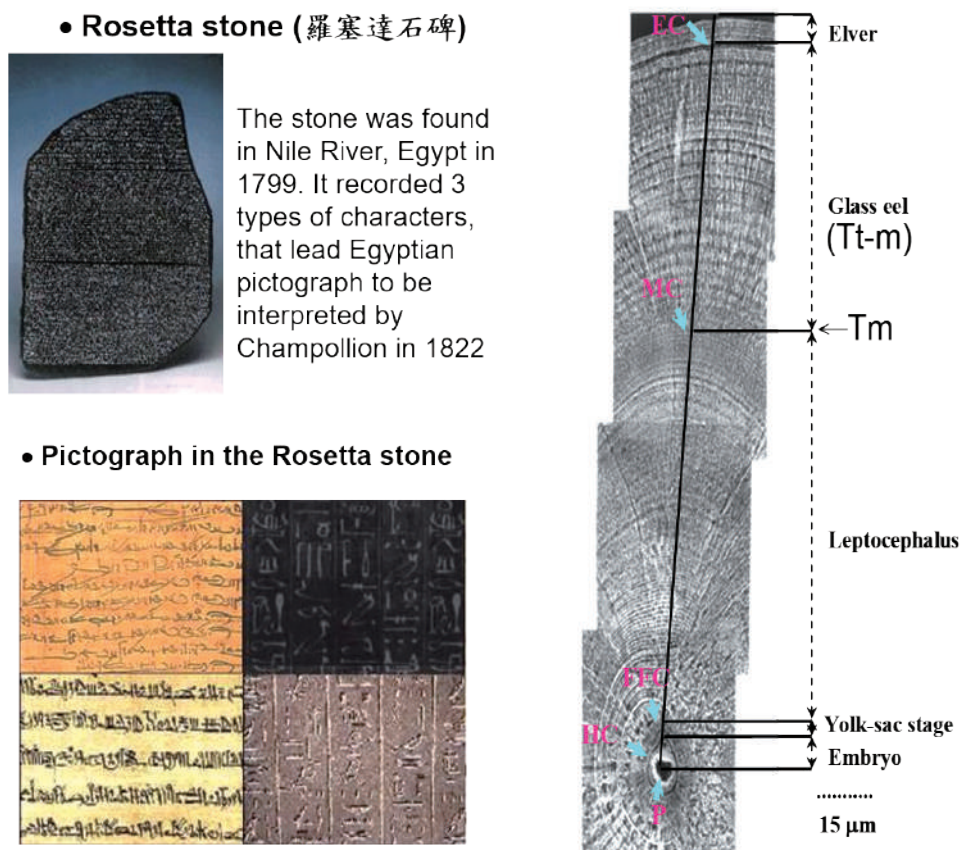


圖2：（右）在河口捕獲的一尾體長約5公分的鰻線（elver），其耳石剖面經電顯放大2K後的日週輪。從日週輪構造可定地標點（primordium P, hatching check HC, first feeding check FFC, metamorphosis check MC and elver check EC）和各發育階段（embryo, yolk-sac larva, leptocephalus, and glass eel）的日齡（Tm, Tt-m等），重建日本鰻從產卵場誕生後到河口的海洋浮游期的生活史（Cheng and Tzeng 1996）。因此，有人把耳石比喻為「羅塞達石碑」（左），如同從碑上刻的三種文字，可以解讀已經失傳千餘年的古埃及象形文一樣。

耳石銣鈣比技術和國際合作研究

耳石主要是由生物礦化作用（Biom mineralization）所形成的碳酸鈣結晶（占96%），和少量的有機物（3%）以及微量元素（1%）所組成，總共可以檢測出47種元素。耳石的化學元素組成隨魚類的洄游環境而改變，凡走過的必留下痕跡，因此由耳石化學元素組成的時序列變化可以重建魚類的洄游環境史（Campana 1999）。1990年代耳石的微量元素測量技術突飛猛進，魚類耳石的生態應用更寬廣，而不再局限於年輪和日週輪的應用（Begg et al. 2005, Campana 2005）。

以銣鈣比（Sr/Ca）的應用為例，魚類經由鰓呼吸從水中吸取鈣離子，經由血液輸送，通過耳石囊細胞，進入耳石囊內的淋巴液中與碳酸氫根結合，變成碳酸鈣（ CaCO_3 ）沉積到耳石上。鈣離子與碳酸氫根結合過程中會被離子半徑和化學性質相似的銣離子所取代。海水中的銣離子濃度是淡水的100倍。當魚類從海水進入淡水環境時，耳石銣鈣比

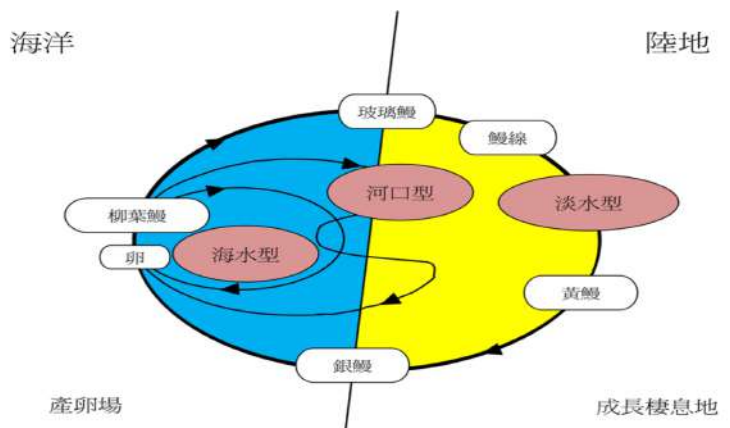
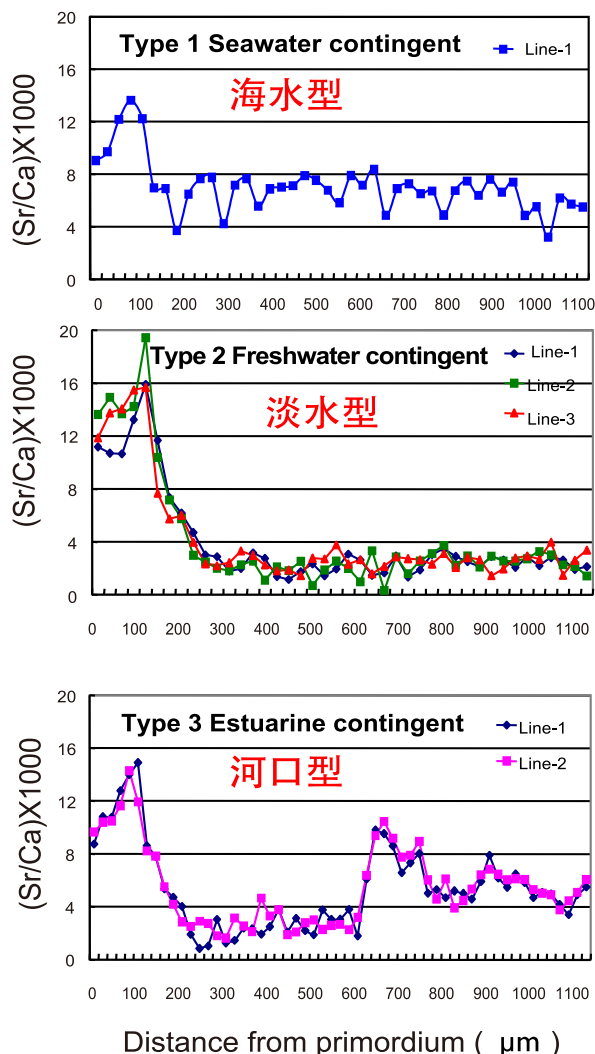


圖3：（左）日本鰻三種洄游型的耳石銣鈣比的時序列變化和（右）日本鰻三種洄游型的示意圖。耳石銣鈣比的時序列變化可以將日本鰻的洄游環境史分為海水、淡水和河口三種洄游型（contingent）（Tzeng et al. 2003）。Contingent是population以下的單位，是phenotype而非genotype的表現。海水洄游型鰻魚（Seawater contingent）的發現，改變了教科書中淡水鰻（*Anguilla* spp）一定要進入淡水生長的刻板印象。因此，降海洄游型（Catadromous migration）的淡水鰻被修正為Semi-catadromous migration（Tzeng et al. 1999）或Facultative catadromous migration（Tsukamoto and Arai 2001）。

就下降。反之，則升高。1994年我們利用臺大地質系的電子微探儀（Electron Probe Micro-Analyzer, EPMA）測定日本鰻玻璃鰻的耳石鋇鈣比，重建其過去的洄游環境史，發表了第一篇日本鰻在太平洋馬里亞納海溝西側產卵後，其柳葉鰻洄游到臺灣沿近海的奇幻旅程（Tzeng and Tsai 1994）。並且發現日本鰻的三種洄游類型，有一部分族群不必溯河，在海水環境也能完成其生活史，改變了鰻魚必須從海洋洄游到河川中生長刻板印象（Tzeng 1996, Tzeng et al. 2000, 2002, 2003）（圖3）。

我們的耳石鋇鈣比應用技術受到國外學者的青睞，國際合作紛沓而來。合作的故事，要從1987年4月13-16日我參加在英國Bristol大學舉行的「歐洲內陸漁業諮詢委員會-鰻魚工作小組會議EIFAC/FAO」說起，因緣際會認識了來自瑞典的Dr. H Wickström，開起了歐洲鰻洄游環境史的合作研究（Tzeng et al. 1997）。打開了國際知名度後，先是與加拿大合作研究美洲鰻（Cairns et al. 2004, Jessop et al. 2002, 2004, 2006, 2007, 2008a,b, 2011, 2013; Lamson et al. 2006, 2009; Thibault et al. 2007）和鮭魚（Thibault et al. 2010）的洄游環境史。接著與法國（Daverat et al. 2006, Panfili et al. 2012）、立陶宛和拉脫維亞（Lin et al. 2007, 2009, 2011; Shiao et al. 2006; Tzeng et al. 2007）、義大利（李2011, Capoccioni et al. 2014）和土耳其（Lin et al. 2011）等國家再度合作研究歐洲鰻。此外，也與日本合作研究日本鰻（Tzeng et al. 2003），與澳洲合作研究洞穴盲魚（Humphreys et al. 2006），與菲律賓合作研究鱸鰻（Briones et al. 2007），與墨西哥合作研究烏魚（Ibanez et al. 2012），與南非合作研究馬達加斯加的莫三鼻克鰻（Lin et al. 2012, 2014）等魚類的洄游環境史。上述國際合作研究中，有兩項是透過國科會（今科技部）研提的計畫：

（1）2004-2006年臺灣-拉脫維亞-立陶宛共同合作研究的魚類族群管理計畫（Application of Genetic and Microchemical Markers as Implements for Diadromous and Endangered Commercial Fish Species Populations Management, 簡稱 GMM project）。族群遺傳和洄游環境史是資源管理的首要工作，我們利用耳石鋇鈣比建立了區別天然鰻和放流鰻的準則（圖4），也共同發表耳石和DNA的論文（Shiao et al. 2006, Tzeng et al. 2007, Lin 2007, 2009, Sruoga et al. 2007, Dalius et al. 2009, Ragauskas et al. 2014）。因彼此合作有成就感，2009-2011年又延續了一個核能發電廠對河鱸族群影響的計畫（Evaluation of impact of Nuclear Power Plant on perch population by means of genetic and otolith based analysis, 簡稱 ENPP project）（Ložys et al. 2017）。執行期間的雙方互訪和學術交流，讓我們有機會飽覽

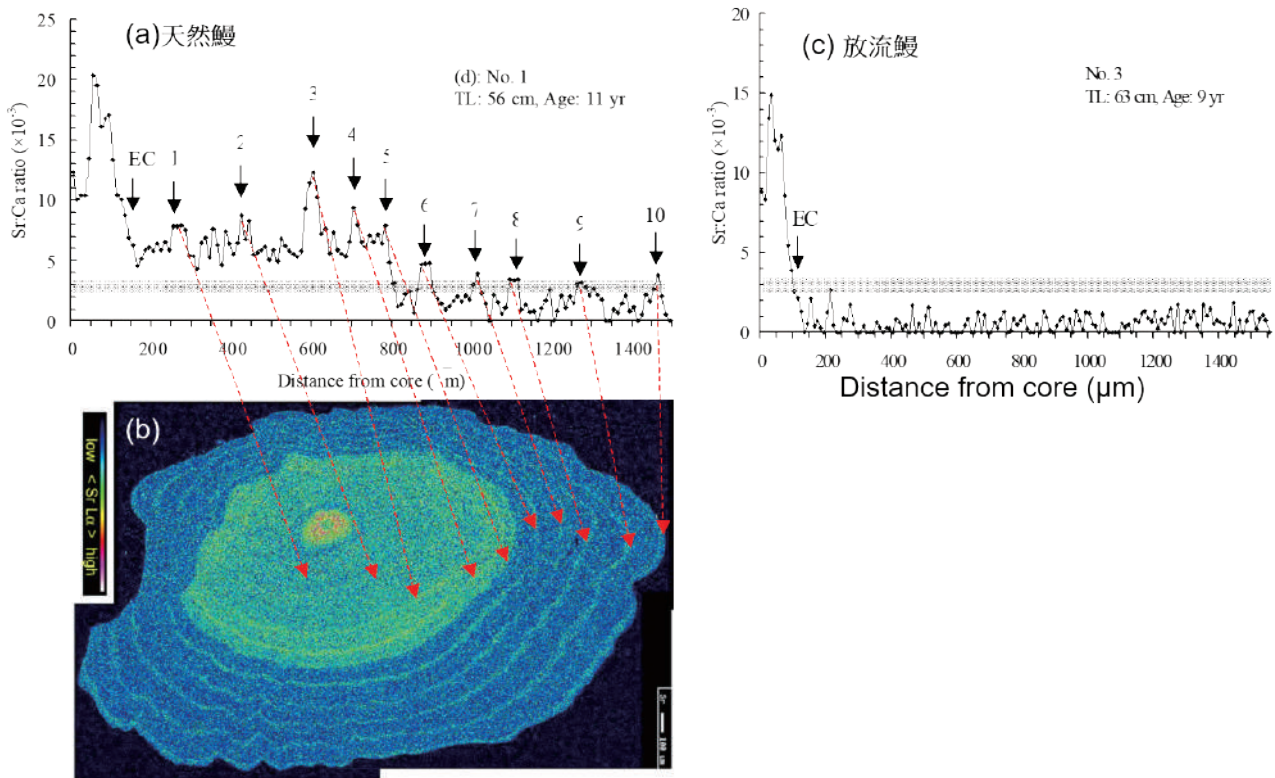


圖4：天然鰻和放流鰻耳石鋇鈣比的時序列變化之差異性，EC為鰻線輪位置，數字表示年齡。（a）天然鰻的耳石鋇鈣比從核心至邊緣的時序列變化顯示圖示的天然鰻在波羅的海生活五年後才進入立陶宛的淡水環境，六歲以後鋇鈣比的高值表示冬季天然鰻會從淡水潟湖Curonian Lagoon 洄游到波羅的海越冬。（b）是（a）圖耳石鋇濃度的二維掃描圖，不同顏色表示鋇濃度的高低。（c）放流鰻的耳石鋇鈣比從鰻線輪（EC）之後就低於淡水和海水的分界值 4×10^{-3} ，表示鰻線從英國或法國空運到立陶宛境內的淡水潟湖Curonian Lagoon放流後就一直生活在淡水，且沒有像上述天然鰻的越冬洄游行為。（Shiao and Tzeng et al. 2006）。

拉脫維亞和立陶宛的名勝古蹟和風土人情，留下深刻印象。

（2）2006-2009年利用烏魚當作沿岸環境變化指標的歐盟烏魚計畫（Main Uses of the Grey mullet as Indicator of Littoral environmental changes, 簡稱MUGIL project）。這個計畫由歐亞美非四個地區的8個國家所組成，計畫召集人是法國Dr. J Panfili。烏魚（*Mugil cephalus*, 俗名Grey mullet）是臺灣重要的產業，其烏魚子聞名全世界，過去我指導博士生做過烏魚耳石鋇鈣比（Chang et al. 2004a, b），Dr. J Panfili和我同是「國際耳石研討會」的國際委員，可能因此邀請我們參與該計畫（Panfili et al. 20 persons, 2016）。該計畫涉獵範圍很廣，包括database, life history traits, migration, genetics and bio-makers，分別在法國、希臘、臺灣、墨西哥、南非和賽內加爾等國家開過2次研討會和6次工作會議。我們動員了2位碩士、6位博士參與這個計畫，也完成了一些論文（許智傑2009, Rodoph

CN Rosel 2009, 曾明彥2009, Brian WD Jamande 2010, 楊士宏2011, Shen et al. 2011, Wang et al. 2010, 2011, Wang 2014)。這個計畫由歐盟出資，我國政府非常重視，因此國科會（今科技部）生物研究中心還特別請我到幾所國立大學宣導申請歐盟計畫的要領。

耳石微量元素——耦合電漿質譜儀的應用

耦合電漿質譜儀（Inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS）比電子微探儀更敏銳，可以測量耳石1ppm以下的微量元素，發掘更多魚類洄游環境的訊息。ICP-MS是利用高溫高壓使耳石的元素離子化，離子通過磁場時，不同元素的質荷比（質量/離子

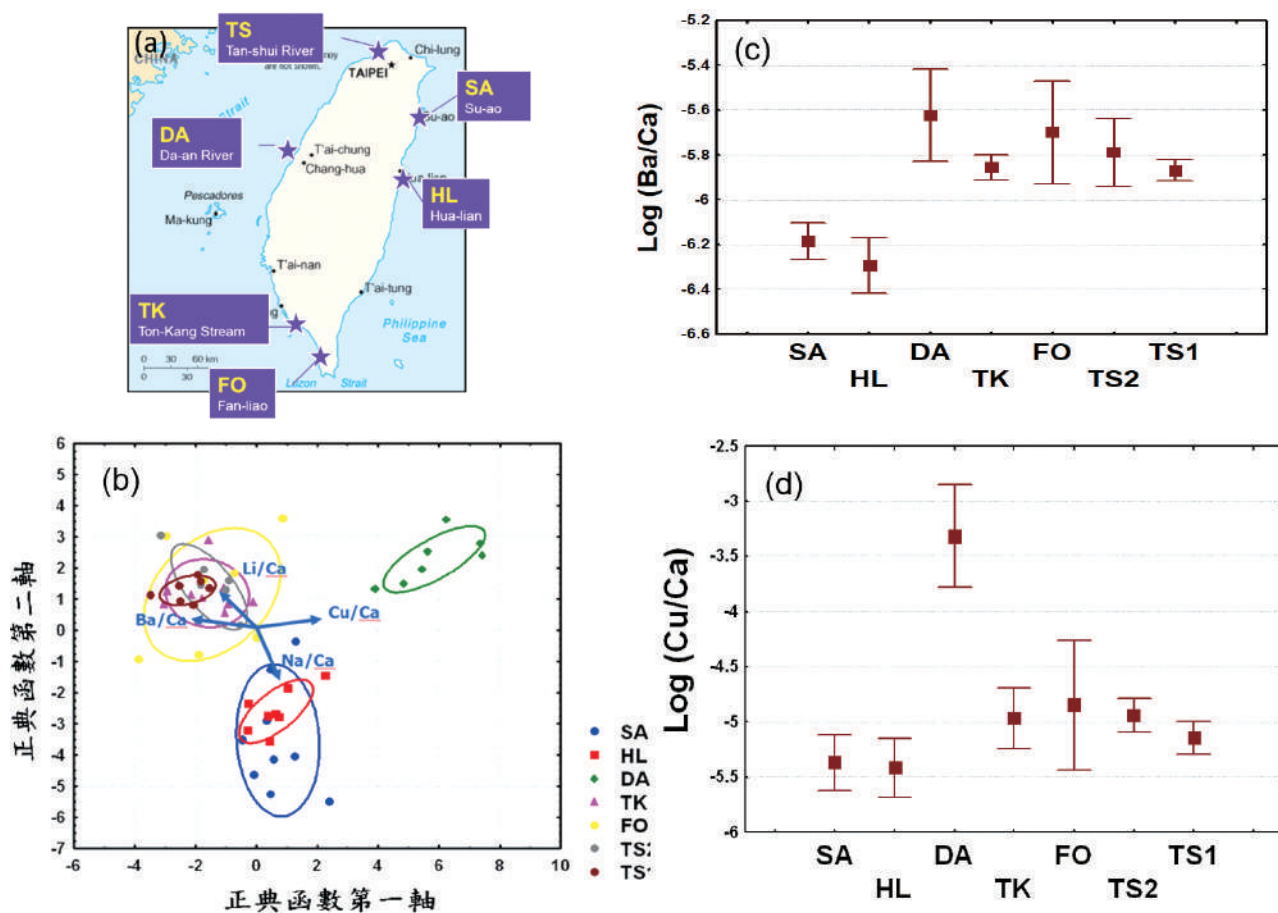


圖5：耳石化學元素組成在臺灣沿岸河口域的環境監測之應用。(a) 日本鰻鰻線標本的6個採樣點。(b) 耳石化學元素組成可以將6個採樣點的鰻線分成3群，表示每個河口水域的化學元素組成不一樣。(c) Ba是陸源性，受China Coastal Current影響的西部河口（TS、TK and FO）的鰻線的耳石Ba/Ca比，較受Kuroshio影響的東部河口（HL and SA）為高。(d) 大安（DA）受彰濱工業區污染的影響，鰻線耳石Cu/Ca比明顯高於其他河口。（Wang and Tzeng et al. unpublished）。

電價)不同，其偏轉程度不一樣，由偵測器可測定元素種類和定量。2004年起我們投入耳石微量元素的應用研究，利用液態進樣耦合電漿質譜儀(SB-ICP-MS)測量鰕虎魚和鯛科魚類的耳石微量元素組成，研究其仔魚在臺灣海峽的洄游擴散機制(張美瑜 2008, Chang et al. 2006, 2008, 2012)以及利用鰻苗耳石的微量元素組成監測臺灣的沿岸河口的環境污染(曾2018, Tzeng 2020)(圖5)。

雷射耦合電漿質譜儀(LA-ICP-MS)的解析度沒有SB-ICP-MS高，但可以知道測量的時間點。我們利用LA-ICP-MS測量烏魚(許智傑2009, 楊士弘2011, Wang et al. 2010, 2011)、日本鰻(楊竣崧2007, 江俊億2009)、歐洲鰻(Tzeng et al. 2007)、美洲鰻(Jessop et al. 2011)和印度洋南方黑鮪(林育廷 2013, Lin et al. 2012, Wang et al. 2009)等魚類的耳石微量元素，研究其更細微的洄游環境史。利用TIMS測量日本鰻耳石粉末樣本的鋇穩定同位素，研究其微棲環境(林世寰 2011)。並且與挪威Dr. H Høie 合作，利用其同位素質譜儀(Isotope Ratio Mass Spectrometry)測量印度洋南方黑鮪的耳石氧穩定同位素，重建其過去的洄游環境溫度史(曾2018, Tzeng 2020)。魚類耳石的碳、氧穩定同位素，是將來研究氣候變遷議題的重要生物指標。

國際耳石研討會和科普教育

國際耳石研討會(International Otolith Symposium, IOS)是耳石研究的重要訊息交換平台，從研討會中可以得到最新的研究資訊，因此吸引很多學者參加。IOS每4-5年召開一次，至今已經舉辦了6屆，第一屆IOS於1993年在美國南卡萊納州召開，臺灣只有我一個人參加，第二屆起我受邀擔任研討會的國際委員，於是積極帶領研究生參與論文發表，讓世界看到臺灣。2018年我們爭取到第六屆IOS在臺灣召開，這是IOS首度從歐美澳移師到亞洲舉行由臺灣主辦，其意義非凡。隨著IOS的舉辦，耳石研究進展非常快速，尤其是耳石微化學的論文發表數量(圖6)。

為了讓耳石研究在國內生根，2010年我從臺大退休後，出版兩本中文的科普書籍《2012鰻魚傳奇》和《2018魚類耳石——探索魚類的神秘生活史》。同時，也到過幾所大學和農委會水產試驗所及其研究中心巡迴演講，希望耳石研究能普遍化不致於曲高和寡。也在臺大開授「魚類耳石的生態應用」課程，繼續培養人才，讓耳石研究薪火相傳。

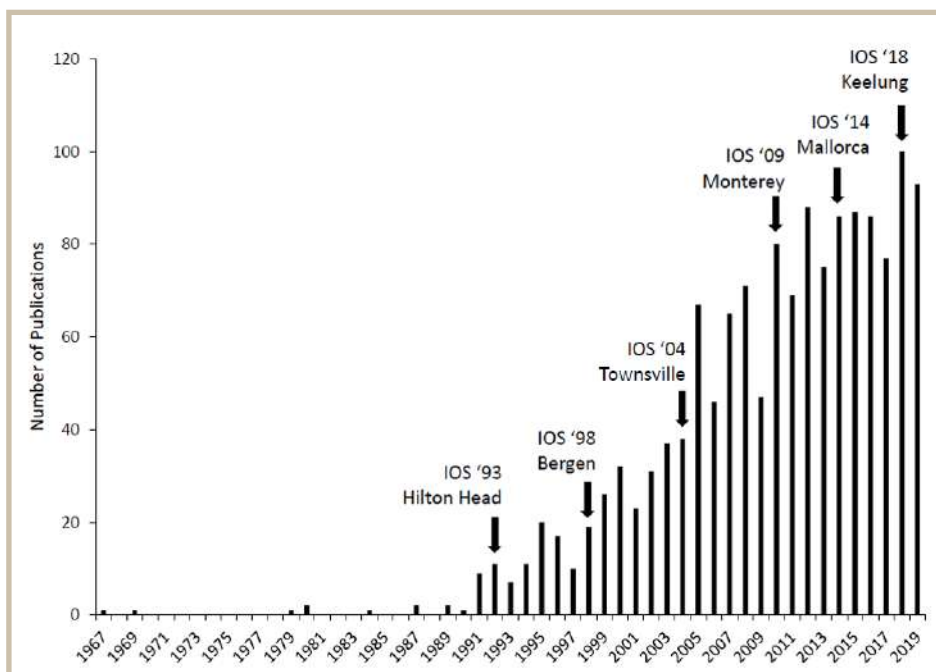


圖 6：國際耳石研討會（IOS）和耳石微化學論文發表數的成長。第一篇耳石微化學論文於1967年發表，到了2019年已經累計達1,439篇。歷屆IOS的都在歐美和澳洲舉行，（箭頭）指舉辦的城市和年份。2018年第六屆IOS首度移師到亞洲舉行，由臺灣主辦，其意義非凡，總共有來自37個國家300多位代表與會，讓世界看到臺灣。（資料提供:Prof. Benjamin Walther）。

結語

耳石研究是20世紀跨越生地化（Bio-Geo-Chemistry）領域的新興科學，耳石研究會讓這麼多科學家著迷，是因為耳石不再是4、50年前那樣只能測量魚類的年齡和成長。耳石研究方興未艾，日週輪的發現和耳石微量元素測量技術的開發，改變了我們對研究耳石的思維，讓我們得以進入魚類的微觀世界，發掘前所未知的魚類生活史秘密。

謝辭

感謝國科會40年來的經費補助。也要感謝陳家全副教授、Dr. Yoshiyuki Iizuka、游鎮烽教授和陳正宏教授等提供SEM、EPMA和ICP-MS儀器，國外同行 Dr. Jessop BM, Prof. L Ložys, Prof. J Panfili, Prof. K Tsukamoto, Dr. H Wickström, Dr. G Williamson and Prof. AV Yambot等提供耳石標本和促進國際合作，以及一起打拼的助理和學生，很慶幸有5個學生分別擔任教授和系所主任繼承衣鉢。更要感謝家人讓我無後顧之憂專心研究。[圖章]（本期專題策劃 / 生命科學系鄭貽生教授）

延伸閱讀

[1] Tzeng WN and Yu SY（1988）Daily growth increments in otoliths of milkfish, *Chanos chanos*

- (Forsskål) , larvae. J. Fish Biol. 32: 495-405
- [2] Tzeng WN (1990) Relationship between growth rate and age at recruitment of *Anguilla japonica* elvers in a Taiwan estuary as inferred from otolith growth increments. Mar. Biol. 107 (1) : 75-81
- [3] Tzeng WN and Tsai YC (1994) Changes in otolith microchemistry of the Japanese eel, *Anguilla japonica*, during its migration from the ocean to the rivers of Taiwan. J. Fish Biol. 45: 671-684
- [4] Tzeng WN (1996) Effects of salinity and ontogenetic movements on strontium: calcium ratios in the otoliths of the Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck and Schlegel. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 199: 111-122
- [5] Tzeng WN, Severin KP and Wickström H (1997) Use of otolith microchemistry to investigate the environmental history of European eel *Anguilla japonica*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 149:73-81
- [6] Tzeng WN, Chang CW, Wang CH, Shiao JC, Iizuka Y, Yang YJ, You CF and Ložys L (2007) Misidentification of the migratory history of anguillid eels by Sr/Ca ratios of vaterite otoliths. Mar. Ecol. Prog. Ser. 348:285-295
- [7] Tzeng WN (2020) Otoliths as a chronometer and environmental recorder in fish. J. Fish. Soc. Taiwan 47 (3) : 169-190.



曾萬年小檔案

現職：臺大名譽教授，屏科大終身講座教授，東亞鰻魚學會副會長。

學歷：臺大動物系理學士（1964-68），臺大海洋所碩士（1970-72），東京大學博士（1977-80）。

經歷：臺大助教、講師、副教授、教授、特聘教授、漁科所所長。東亞鰻魚資源協議會會長。海洋大學榮譽講座教授。臺灣區鰻魚發展基金會顧問。

獎項：中華民國中山學術董事會中山學術著作獎（1991）。行政院國科會（今科技部）傑出研究獎（2002-05）。行政院農委會漁業資源永續楷模海洋奧斯卡獎（2014）。

著書：海洋的科學：探索浩瀚的海洋（編譯）。動物學（上、下冊）（總校閱）。鰻魚傳奇（與韓玉山、塚本勝己、黑木真理合著）。魚類耳石：探索神秘的魚類生活史。

專長：漁業生物學、水產資源學、海洋學、魚類生態學、鰻魚生物學、耳石微化學