

氯化汞對文蛤 *Meretrix lusoria* 濾食率之影響

陳弘成¹· 秦宗顯²

(1994年8月3日收件；1994年12月21日接受)

摘 要

本研究使用中性紅活性染料作為指示劑，探討氯化汞對文蛤 *Meretrix lusoria* 濾食率的毒性影響。實驗結果顯示，文蛤在汞溶液中（水溫21.5—24.5°C，鹽度20ppt），其濾食率隨著水中汞濃度與暴露時間的增加而下降。對照組文蛤的濾食率為 1.75 ml/min/clam，在200 µg/l Hg 汞濃度組降為0.5 ml/min/clam。文蛤濾食率在2.5小時下降為對照組50%的汞作用濃度（median effective concentration），即2.5-h EC50及其95%信賴區間，分別為39及30—50 µg/l Hg。

文蛤暴露於不致死濃度（sublethal concentration）的汞溶液中，然後定時取樣放入乾淨的過濾海水中測定濾食率。結果發現在低濃度汞的情形下（10 µg/l Hg），文蛤的濾食率於第6天之後有回升的情形，這可能與氯化汞的揮發、鰓的防衛能力及金屬蛋白的合成有關，但是到了實驗結束時（第12天），濾食率仍然低於第3天。第3天與第12天使濾食率降為對照組50%的汞作用濃度（3-d EC50與12-d EC50）及其95%信賴區間，分別為69(43—110)和10(6—19) µg/l Hg。

關鍵詞：氯化汞，文蛤，濾食率。

前 言

工業廢水及家庭污水的排放，已經引起沿岸海域的污染，其中汞污染是很受重視的金屬污染項目之一（Miyahara et al., 1988；Bacci, 1989；Sanzgiry et al., 1988；Peerzada et al., 1993）。在本省沿岸海域的污染也日益嚴重（陳·林，1988；Duo et al., 1989；Hung and Tsai, 1991），一樣有汞污染的潛在危險（Hung and Lin, 1976）。爲了了解海洋與沿岸環境的污染狀況，以及評

估污染所造成的危害，應選擇原地區合適的生物來監測水域污染（Foe and Knight, 1987；Sindermann, 1988），以保護沿海的養殖環境（Chua et al., 1989），進而確保人類的健康。

文蛤在台灣分布於淡水、台中、彰化、雲林、嘉義、台南、高雄及東港等地區（郭，1964；巫，1980），爲本省重要的食用經濟貝類之一，1992年產量約30000噸（台灣省漁業局，1992）。自1969年以來，於每年的4—5月常發生大量死亡，死亡率高達70~90%，據調查的結果顯示，主要

¹ 國立台灣大學動物學系，臺北，臺灣 106。

² 國立嘉義農專水產養殖科，嘉義，臺灣 600。

是受附近工業廢水流入河川與河口的影響，以及水質因子如溫度、鹽度等的急遽變化所致 (Tseng, 1976)。

文蛤靠過濾攝食而生長，移動範圍很小，即使短暫地曝露在污染水域中也會迅速吸收重金屬 (陳・邱, 1991; 陳等, 1992; Chin and Chen, 1993b)，而且又很容易繁殖培育 (Chen, 1984)，更是本省相當重要的經濟生物，故很適合做為反映本省沿岸水域重金屬含量的指標生物。

汞為IIB族金屬，對水生生物的毒性很強 (Watling and Watling, 1982; Chen and Chin, 1983; Chin and Chen, 1993a)，對人類健康的威脅也很大，世界各地已經發生過許多著名的汞污染事件，例如：1953年末，日本九州西南部水俣灣發生的汞中毒事件，即是有名的水俣病 (Minamata Disease)，得病的人，體力減弱、視力喪失、腦功能損壞、麻痺，最後昏迷致死 (Kurland et al., 1960)。

二枚貝鰓部的纖毛具有打水以及去除、運輸與分類食物顆粒的功能 (Morton, 1983)，直接與水接觸，易受污染物的影響，因此在監測水污染時，貝類的濾食率是常用的一種生理指標 (Watling and Watling, 1982; Prabhudeva and Menon, 1990; Hartwell et al., 1991)。本試驗是使用中性紅的方法 (Cole and Hepper, 1954; Badman, 1975)，探討氯化汞對濾食率的影響。

材料與方法

一、短期試驗

文蛤帶殼濕重17.75—24.51 g，殼長4.1—4.4 cm，購自台西地區的養殖場。

運回實驗室在水溫21.5—24.5 °C與20 ppt鹽度下馴養7天後進行試驗，馴養期間隨意投餵少量的等邊金藻 *Isochrysis* sp.，於進行試驗的前一天停止投餵。試驗濃度分為對照組、5、25、50、100、200 $\mu\text{g/l}$ Hg及不放文蛤的空白組，每個汞濃度組設三重複，每個重複組放4粒文蛤。試驗容器為500 ml的塑膠免洗杯，內裝400 ml含2 ppm中性紅 ($\text{Cl}_5\text{H}_{16}\text{N}_4 \cdot \text{HCl}$) 的汞試驗溶液，汞試驗溶液是將汞儲備溶液加入過濾海水配製而成 (100 Circles, Glass Microfibre Filters, GF/C, Whatman 出品)。取1.36g HgCl_2 (Merck公司出品) 放入1000 ml定容瓶，先用500 ml含1 ml HNO_3 的蒸餾水溶解，再用蒸餾水稀釋至標線，即成為1000 mg/l Hg的汞儲備溶液。進行試驗時的溫鹽條件與馴養條件相同，沒有餵食。試驗開始前與試驗開始後，每隔三十分鐘小心用吸管吸取10 ml中性紅汞溶液，用分光光度計 (Philips Scientific and Analytical Equipment, PU8700) 測定中性紅的濃度，直到對照組的水色澄清為止，測定的波長為453 nm。

二、長期試驗

文蛤的大小與馴養條件同短期試驗。長期試驗的汞濃度分為對照組、10、100及200 $\mu\text{g/l}$ Hg。文蛤暴露於上述的汞溶液，沒有餵食，於第3、6、9及12天取出文蛤放入乾淨的過濾海水 (鹽度20ppt) 測定濾食率。濾食率的測定與短期試驗的情形相同。

濾食率的計算公式為 $m = (M/nt) \times \log_e(C_0/C_t)$ ， m = 濾食速率 (ml/min/Clam)， M = 試驗溶液體積 (ml)， n = 文蛤數量， C_0 = 試驗開始時的中性紅濃度， C_t = 經過 t 時間後的中性紅濃度， t

=經過的時間 (Abel, 1976; Coughlan, 1969)。另外，使用個人電腦及BASIC套裝程式 (Trevors and Lusty, 1985)，以Probit方法 (Finney, 1971) 估算汞使文蛤濾食率降為對照組50%的作用濃度 (EC50) 及其95%信賴區間。

結果與討論

使用中性紅活性染料作為研究瓣鰓類的濾食率指標，已有研究顯示二枚貝暴露在中性紅溶液中，於24小時內對其生理沒有明顯的影響 (Cole and Happe, 1954)。但是也有研究指出，在短時間內，中性紅染料可能會刺激二枚貝貝殼的開閉活動，而試驗過的二枚貝若重複使用，其濾食有輕微下降的現象，故建議試驗生物不可重複使用 (Badnabm 1975)。本研究文蛤不重複使用，且在中性紅溶液的時間並未超過5個小時，因此使用中性紅活性染料來探討汞對文蛤濾食率的影響是可行又簡便的方法。

Abel (1976) 的研究是採用15分鐘測得的濾食率作為實驗數據，但本試驗發現文蛤在含汞的溶液中，短時間內不易開殼，因此需延長測定時間，每隔30分鐘取樣測定一次濾食率，直到對照組溶液的紅色消失為止。本研究以對照組文蛤的濾食活動最強時的濾食率作為實驗數值，實驗結果顯示，於150分鐘測得的濾食率最大。由Fig. 1得知，文蛤暴露於汞溶液中的短期影響 (水溫 21.5 – 24.5 °C，鹽度 20ppt)，其濾食率隨著水中汞濃度的增加而下降，對照組文蛤的濾食率為1.75 ml/min/clam，在200 µg/l Hg汞濃度組則降為0.5 ml/min/clam。依據Fig. 1的結果，估算汞對文蛤濾食率的半有效濃度

(median effective concentration)，結果顯示於Fig. 2。由此得知，使文蛤濾食率在150分鐘時下降為對照組50%的汞作用濃度，即2.5-h EC50及其95%信賴區間，分別為39及30–50 µg/l Hg。

長期試驗是將文蛤暴露於不致死的汞濃度 (sublethal concentration) 中，然後分別於第3、6、9及12天取樣將文蛤放入乾淨的過濾海水中測定濾食率，探討其甦醒情況。由Fig. 3得知，在100及200 µg/l Hg濃度組的文蛤，經過6天以後，置於乾淨海水中，濾食率下降為對照組的20%以下，因此濾食能力也是隨著汞濃度及暴露時間的增加而下降。但是在10 µg/l Hg濃度組的文蛤，經過6天之後到12天為止，濾食率則有增高的傾向，由對照組的30%回升到對照組的50%，這可能與氯化汞的揮發 (Corner and Rigler, 1975)、鰓的防衛能力及金屬蛋白的合成有關 (Engle and Fowler, 1979)，但是到實驗結束時 (第12天)，濾食率仍然低於第3天。Corner and Rigler (1975) 指出含0.1 mg/l $\text{HgCl}_2\text{-Hg}$ 的海水，於6天後的汞濃度消失55%。第3天與第12天使濾食率降為對照組50%的汞作用濃度 (3-d EC50與12-d EC50) 及其95%信賴區間，分別為69 (43–110) 和10 (6–9) µg/l Hg，由於50%的汞作用濃度隨著暴露時間的增加而下降，這顯示處在汞污染水域中的時間越長，對文蛤生理機能的影響可能越大。

汞對其他二枚貝的影響，也是使其濾食率下降。無機汞 (mercury chloride) 使紫貽貝 *Mytilus edulis* 的濾食率降為對照組50%的汞作用濃度 (10-min EC50) 為0.04 mg/l Hg (Abel, 1976)。綠貽貝 *Perna viridis* 暴露於25 µg/l Hg 汞

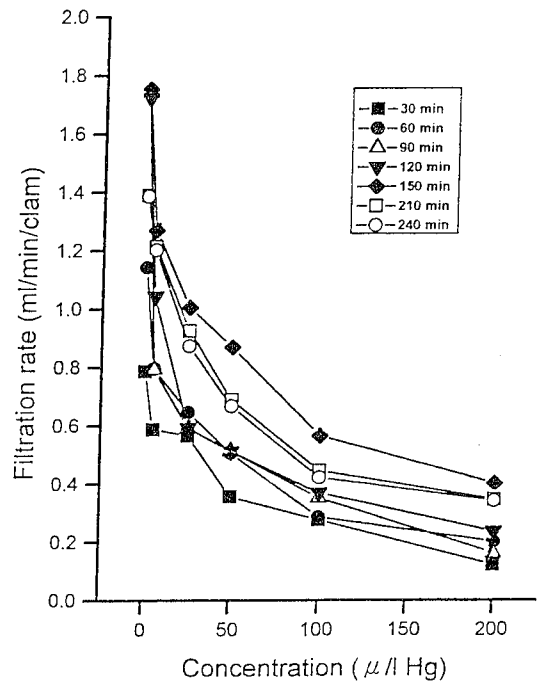


Fig. 1. Filtration rate of *Meretrix lusoria* when the animals were exposed to mercury at sampling time.

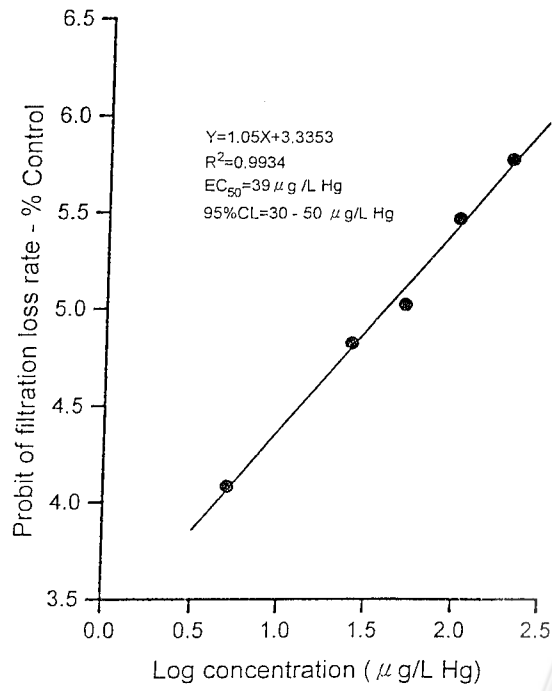


Fig. 2. Probit of filtration loss rate of *Meretrix lusoria* as a function of log concentration of mercury at 150 min sampling time.

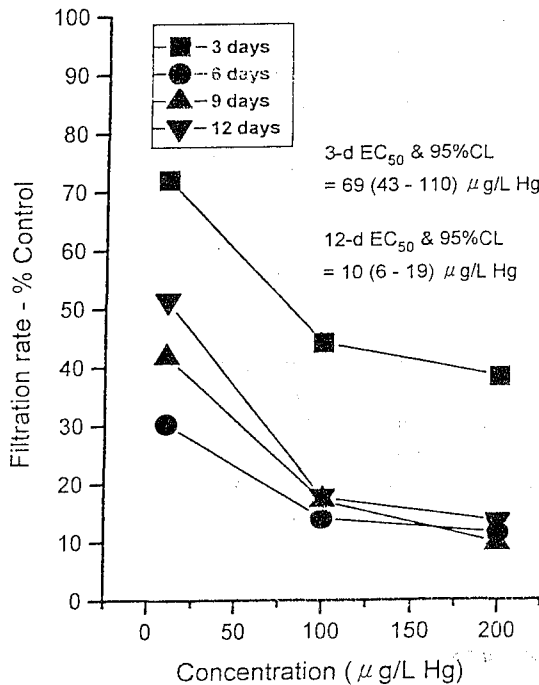


Fig. 3. Filtration rate of *Meretrix lusoria* to mercury at varying exposure times and concentrations.

溶液中14天，其濾食率大約下降一半（Krishnakumar et al., 1990）。Watling and Watling（1982）指出有機汞與無機汞對褐貽貝 *Perna perna* 濾食率的影響相差不大，由10min-EC50（mg/l Hg）得知其毒性大小依序為 phenylmercuric acetate (0.020) > mercuric chloride (0.025) > ethylmercuric chloride (0.030) > methylmercuric chloride (0.050)。另外，紫貽貝 *Mytilus edulis* 暴露於醋酸甲機汞溶液中（methylmercury acetate，試驗濃度範圍0.4–2.8 µg/l Hg），24小時後對矽藻 *Nitzschia acicularis* 的濾食率就下降了90–100%（Dorn, 1976）。

汞造成二枚貝濾食率下降的可能原因有：(1)鰓絲上的纖毛直接遭到重金屬破壞（Sunila and Lindstrom, 1985），(2)二

貝類可能存在某種化學偵測機轉，在重金屬對鰓纖毛產生直接危害之前，即可測知水中微量重金屬的威脅，立刻減緩纖毛的擺動，以緩和毒性的侵害（Howell et al, 1984），其調節機制將是未來需要探討的方向。

謝 詞

本研究受行政院環保署及農委會之經費贊助，並承蒙台灣省水產試驗台西分所何分所長雲達與周昱翰先生之多方協助，由衷感激。

參考文獻



- Abel, P. D. (1976). Effect of some pollutants on the filtration rate of *Mytilus*. *Mar. Pollut. Bull.*, **7**(12): 228-231.
- Bacci, E. (1989). Mercury in the Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.*, **20**(2): 59-63.
- Badman, D. G. (1975). Filtration of neutral red by fresh water clams in aerobic and hypoxic conditions. *Comp. Biochem. Physiol.*, **51A**: 741-744.
- Chen, H. C. (1984). Recent innovations in cultivation on edible molluscs in Taiwan, with special reference to the small abalone, *Haliotis diversicolor*, and the hard clam, *Meretrix lusoria*. *Aquaculture*, **39**: 11-27.
- Chen, J. C. and T. S. Chin (1983). Studies on the accumulation and elimination of mercury in the oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Fish. Soc. Taiwan*, **10**(2): 42-47.
- Chin, T. S. and H. C. Chen (1993a). Toxic effects of mercury on hard clam, *Meretrix lusoria*, in various salinities. *Comp. Biochem. Physiol.*, **105C**(3): 501-507.
- Chin, T. S. and H. C. Chen (1993b). Bioaccumulation and distribution of mercury in the hard clam, *Meretrix lusoria*, (Bivalvia: Veneudae). *Comp. Biochem. Physiol.*, **106C**(1): 131-139.
- Chua, T. E., J. N. Paw and F. Y. Guarin (1989). The environmental impact of aquaculture and the effects of pollution on coastal aquaculture development in Southeast Asia. *Mar. Pollut. Bull.*, **20**(7): 335-343.
- Cole, H. A. and B. T. Hepper (1954). Use of Neutral Red solution for the comparative study of filtration rates of lamellibranchs. *J. Cons.*, **20**: 197-203.
- Corner, E. D. S. and F. H. Rigler (1957). The loss of mercury from stored seawater solutions of mercuric chloride. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **36**: 459-472.
- Coughlan, J. (1969). The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Mar. Biol.*, **2**: 356-358.
- Dorn P. (1976). The feeding behaviour of *Mytilus edulis* in the presence of methylmercury acetate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **15**: 714-719.
- Duo, M. J., C. H. Ke, J. Y. Yang, J. G. Lo and G. J. Yih (1989). Monitoring of the heavy metals on western coast and estuarine of Taiwan. *Chemistry* (The Chinese Chem. Soc., Taiwan China), **47**(4): 283-291.
- Engle, D. W. and B. A. Fowler (1979). Copper and cadmium induced changes in the metabolism and structure of molluscan gill tissue. In *Marine Pollution-Functional Response*. (W. B. Vernberg, A. Calabrese, F. Thurberg and F. J. Vernberg, eds). Academic Press, London and New York, 239-255.
- Finney, D. J. (1971). Probit Analysis. 3rd edition, Cambridge University Press, London, 333 pp.
- Foe, C. and A. Knight (1987). Assessment of the biological impact of point source discharges employing asiatic clams. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **16**: 39-51.
- Hartwell, S. J., D. A. Wright, R. Takacs and C. H. Hocutt (1991). Relative respiration and feeding rates of oyster and brackish water clam in variously contaminated waters. *Mar. Pollut. Bull.*, **22**(4): 191-197.
- Howell, R., A. M. Grant and N. E. J. Maccoby (1984). Effect of treatment with reserpine on the change-in filtration rate of *Mytilus edulis* subjected to dissolved copper. *Mar. Pollut. Bull.*, **15**(12): 436-439.
- Hung, T. C. and T. T. Lin (1976). Study on mercury in the waters, sediments and benthonic organisms along Chai-I coastal area. *Acta, Oceanographica Taiwanica*, **6**: 30-38.
- Hung, T. C. and C. C. H. Tsai (1991). Study of heavy metals on the western coast of Taiwan. *J. Environ. Protect. Soc. R.O.C.*, **14**(12): 11-34.
- Krishnakumar, P. K., P. K. Asokan and V. K. Pillai (1990). Physiological and cellular responses to copper and mercury in the green mussel *Perna viridis* (Linnaeus). *Aquatic Toxicology*, **18**: 163-174.
- Kurland, L. T., S. N. Faro and H. Siedler (1960). Minamata disease: the outbreak of neurological disorders in Minamata, Japan and its relationship to the ingestion of seafood contaminated by mercury. *Wld Neurol.*, **1**(5): 370-391.
- Miyahara, S., M. Schintu, T. Kauri and A. Kudo (1988). Twelve years of observations of mercury concentrations in Yatsushiro Sea (Japan). *Wat. Sci. Tech.*, **20**(6/7): 193-197.
- Morton, B. (1983). Feeding and digestion in Bivalvia. In *The Mollusca*, Vol. 5, Physiology, Part 2. (A. S. M. Saleuddin and K. M. Wilbur, eds.). Academic Press, New York, 65-147.
- Peerzada, N., D. Watson and M. Guinea (1993). Mercury concentrations in oysters from the coastline of Northern Territory, Australia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **50**: 158-163.
- Prabhudeva, K. N. and N. R. Menon (1990). Metal interaction during accumulation in *Perna indica*. II. oxygen consumption and filtration accompanying accumulation of copper. In *The Second Asian Fisheries Forum*. (R. Hirano and I. Hanyu, eds.). Asian fisheries Society, Manila,

- Philippines, 955-958.
- Sanzgiry, S., A. Mesquita and T. W. Kurcishy (1988). Total mercury in water, sediments, and animals along the Indian coast. *Mar. Pollut. Bull.*, **19**(7): 339-343.
- Sindermann C. J. (1988). Biological indicators and biological effects of estuarine coastal pollution. *Wat. Resources Bull.*, **24**(5): 931-939.
- Sunila, I. and R. Lindstrom (1985). The structure of the interfilamentary junction of the mussel, *Mytilus edulis* (L.), gill and its uncoupling by copper and cadmium exposures. *Comp. Biochem. Physiol.*, **81C**: 267-272.
- Trevors, J. T. and C. W. Lusty (1985). A basic microcomputer program for calculating LD50 values. *Water, Air and Soil Pollution*, **24**: 431-442.
- Tseng, W.. Y. (1976). Study on mass mortality of cultured shellfishes in the southwestern coast of Taiwan. *Bull. Taiwan Fish. Res. Inst.*, **26**: 5-35.
- Walling, H. R. and R. J. Watling (1982). Comparative effects of metals on the filtering rate of the brown mussel, *Perna perna*. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **29**: 651-657.
- 郭河 (1964)。台灣經濟貝類調查。農復會特刊, **38**: 32-50。
- 巫文隆 (1980)。台灣重要食用雙枚貝類研究。貝類學報, **7**: 101-114。
- 陳弘成・林明南 (1988)。污染地區水生生物體內重金屬含量之測定。環境保護與生態保育研討會專刊**24**號。
- 陳弘成・邱南威 (1991)。文蛤血液的滲透壓與其受重金屬影響之研究。沿岸海洋生態環境保護 (黃登福・吉田多摩夫・陳朝欽・吳明洋・鄭森雄 編輯)。農委會漁業特刊第**23**號, 251-258。
- 陳弘成・黃建發・黃玉霜 (1992)。水產物體內重金屬含量之研究。農委會漁業特刊第三十四號, 漁業環境保護專輯(六), 78-85。
- 台灣省漁業局 (1992)。中華民國台灣地區漁業年報-中華民國八十年。



Effect of Mercuric Chloride on the Filtration Rate of Hard Clam, *Meretrix lusoria*

Hon-Cheng Chen¹ and Tzong-Shean Chin²

(Received August 3, 1994; Accepted December 21, 1994)

ABSTRACT

It was the purpose of the study to measure filtration rate of hard clam, *Meretrix lusoria*, in sub-lethal concentration of mercuric chloride at 21 ~ 24°C and 20 ppt salinity. Filtration rates of clams were measured using a modification of the neutral red method. The effects of exposure to mercury treatments on the filtration rates showed a marked reduction when compared to the controls. The 2.5-hr EC50 (the concentration which cause a 50% reduction in filtration rate) and their 95% confidence limits for acute exposed clams were 39 and 30-50 $\mu\text{g/l}$ Hg, respectively.

During chronic mercury exposure, the filtration rate was always less than the control. A gradual increase filtration rate of the hard clam exposed to low concentration (10 $\mu\text{g/l}$ Hg) after 6 days, but the activity was still less than the 3rd day. This indicates the efforts taken by these clams for their survival in a less toxic environment. The loss of mercury, fortification of gill epithelium and synthesis of metal-binding proteins are some of the possible reasons for their metabolic recovery. The 12-d EC50 and their 95% confidence limits were 10 and 6 ~ 19 $\mu\text{g/l}$ Hg, respectively.

Key words: Mercury, *Meretrix lusoria*, Filtration rate.

¹ Department of Zoology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan 106.

² Department of Aquaculture, National Chiayi Institute of Agriculture, Chiayi, Taiwan 600.