

汞對淡水魚毒害之組織學研究

The Histological Study of Toxicity of Mercury Against Fresh Water Fish

林 瑞 萍

Ruey-Ping Lin

Abstract

This paper deals with toxicity of mercury in tissue of fresh water fish. Several different concentrations of mercury are used and divided in long-term and short-term toxicity in this study. The concentrations of long-term studies are 0.005 ppm, 0.05 ppm, 0.5 ppm and 1 ppm and the short-term studies are 3.3 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm. and 50 ppm. The gills and scales of experimental fish are observed under the scanning electron microscope and light microscope. The results are summarized as follows:

(1) The morphology of scale under the observation of the scanning microscope has clearly change, the microridges of scales disappear and form rough. In long-term study, the longer contamination, the change more clearly. In short-term study, the change more seriously in higher concentration.

(2) The morphology of gill surface epithelial cells under the observation of the scanning microscope, the clearly change just like the scales.

(3) The Histology study of the gill, under the observation of the light microscope, the cartilage of the gill bar has been broken, the degree of broken more seriously in higher concentration of mercury and in long time treatment, blood vessel enlarge and filled with blood. These are clearly pathological change.

一、緒 言

汞對水中生物之毒害，間接的會影響到人體的健康，在國內工廠廢水廢物的排除尚未受到嚴格的限制，因此魚類受到汞的污染，能在愈快速有效的檢定方法下確定，應是我們努力的方向，在已見的文獻資料中，多注重在致死量及蓄積量之研究，多為數字性的報導，本文以鱗片與鰓部在掃描電子顯微鏡下觀察，瞭解其形態上的改變，再配合光學顯微鏡觀察組織的病變情況，以說明汞對魚類毒害之狀況。

二、材料與方法

本實驗所用之淡水魚為朱文錦，購自水族館，平均體長為 77.21 mm，平均體重為 17.75 公克，以玻璃水族箱 (60×30×30cm) 先馴養二星期後再分組進行實驗，以氯化汞 (Hg Cl₂) 作為含汞的物質。根據自來水廠的水質標準表內，有毒物質中汞的最大容許量是 0.005 mg/公升，也就是 0.005 ppm，

分組實驗之含汞濃度以此為基礎，分為長期與短期，長期者是含汞之濃度低，包括 0.005 ppm、0.05 ppm、0.5 ppm 及 1 ppm，短期者是含汞之濃度高，包括 3.3 ppm，5 ppm，10 ppm，20 ppm 及 50 ppm，另外一組是清水對照組，每一組水族箱中平均放 10 尾朱文錦。

短期實驗的部份，在放入氯化汞 (Hg Cl_2) 後，即仔細觀察魚之反應，在它翻滾、平躺，垂死前即取出犧牲，為判斷它是否瀕臨死亡，以玻璃棒碰觸魚體，反應遲緩，即為垂死之判斷。長期實驗者，在放入氯化汞後，飼養於水族箱裏，只給予打氣而不過濾，每日餵食一次，每隔五天取 1 尾魚犧牲之。

魚被犧牲後，先測量體長，體重後，迅速取鱗片、鰓部及內臟等，分別以 Bouin's fluid 及 80% 酒精固定之，固定後均以酒精脫水、透明、石蠟包埋、切片等步驟完成切片，再分別染色，前者固定以 Hematoxylin and Eosin 染色，後者固定以 Diephenylthiocarbazide 作汞的組織化學染色，完成組織切片後，以光學顯微鏡觀察。

鱗片和鰓另作 Formaldehyde 和 Osmic acid 雙重固定，經酒精脫水、C. P. D. (Critical Point Drying) 乾燥、Gold coating 後，以掃描電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope) 觀察。

三、觀察與結果

短期實驗：在 3.3 ppm 之水中，水溫 23°C ，魚在 30 分鐘後就全部浮上水面，呈呼吸困難狀，2 小時 20 分鐘開始死亡，至 2 小時 50 分鐘，死亡數達百分之五十，4 小時 5 分鐘全部死亡。

在 5 ppm 之水中，水溫 23°C ，魚在 1 小時 30 分鐘開始死亡，至 2 小時 20 分鐘死亡數達百分之五十，2 小時 50 分鐘全部死亡。水呈混濁，有白色之分泌物在水中漂浮。

在 10 ppm 之水中，水溫是 21°C ，1 小時 30 分鐘後，魚開始上浮水面，呈呼吸困難狀，2 小時 30 分鐘開始死亡，至 3 小時死亡達百分之五十，4 小時 30 分鐘全部死亡。水也呈混濁狀，有白色之分泌物漂浮水中。

在 20 ppm 之水中，水溫亦是 21°C ，在半小時後魚呈不自主之漂游狀，上浮水面，1 分時 30 分鐘開始死亡，2 小時 20 分鐘死亡達百分之五十，2 小時 50 分鐘全部死亡。水更呈混濁，白色分泌物多到可用魚網撈起。

在 50 ppm 之水中，水溫 21°C ，10 分鐘後，魚開始呈漂浮狀，呼吸困難，45 分鐘開始死亡，50 分鐘死亡達百分之五十，70 分鐘全部死亡。水更形混濁，不但水中有大塊狀的分泌物漂浮，連撈起之魚體表面全是黏液附着。

長期實驗：在所有實驗水族箱中，僅 1 ppm 之水族箱在第 22 天有 1 尾魚死亡外，其他各水族箱中均未有死亡情況發生，在實驗當天 4 小時 30 分鐘取 1 ppm 水中之朱文錦 1 尾犧牲外，其他各組均每隔 5 天取 1 尾犧牲，因此除 1 ppm 之水中第 40 天取最後 1 尾魚，其他各組之魚均能活至第 50 天乃未有自然死亡之現象發生。水在未過濾而僅有充氣的情況下，略呈混濁。但無白色之分泌物漂浮。

在短期實驗中，魚之存活與溫度有密切關係，水溫高，魚較易中毒，死亡快，反之則死亡慢。

掃描電子顯微鏡對鱗片之觀察，對照組亦即正常未經汞處理的朱文錦之鱗片（見圖一），表面有清晰的微嵴 (Microridge) 突起，每一細胞有圍繞一圈的 marginal microridge，其內有長條狀之微嵴，互相平行，在部份微嵴上附有小形泡狀物 (belb)。鱗片之表面平整，細胞緊密。

實驗組之鱗片，0.005 ppm 之鱗片，是取自處理第 44 天之魚體，鱗片表面平整，僅少數細胞內部的微嵴略有改變，但不顯著。0.5 ppm 及 0.05 ppm 之鱗片均取自處理第 21 天的魚體，在 0.5 ppm 之鱗片（見圖三）上尚可見細胞邊緣之 marginal microridge，但細胞內部長條狀平行之微嵴消失，且呈凹凸不平狀。0.05 ppm 之鱗片，細胞邊緣之微嵴亦不甚清晰，細胞中央凹凸不平。1 ppm 之鱗片（見圖二）取自處理 4 小時 30 分鐘之魚體，鱗片之微嵴仍完好清晰可見，但表面略呈皺褶狀，但也有少部份之細胞在中央部位的微嵴消失呈扁平狀。由此可見，其濃度雖然較前二者為大，但由於時間短，所以變化不如前二者大。10 ppm 及 20 ppm 之鱗片，前者取自處理 3 小時 10 分鐘之魚體，後者取自處

理 2 小時 20 分鐘之魚體（見圖四），鱗片之表面幾乎全部黏液性之物質覆蓋，這是由於含汞量高，毒性大，以致魚分泌物多。

鰓部的掃描電子顯微鏡觀察：對照組，亦即是正常的鰓部，在 Gill racker 表皮細胞的表面如同鱗片的表面有微峭的結構一樣，每一細胞邊緣有 marginal microridge，在細胞內部有彎曲平行狀的微峭，如同人體指端指紋的構造，在鰓部此一構造顯然是增加表皮和外界的接觸面積，以利物質交換（見圖五）。在微峭上亦附有泡狀物。

實驗組之鰓部：0.005 ppm 的鰓部是取自處理第 44 天的魚體，其細胞邊緣之 marginal microridge 雖可分辨，但內部之微峭則呈零亂不齊，且少數細胞內部中央之微峭消失呈扁平。由此可見，含汞量雖在最大許可量之範圍內，但長期生活其中，乃見其毒害性。

0.5 ppm 及 0.05 ppm 之鰓部取自處理第 21 天的魚體，0.05 ppm 之鰓在 Gill racker 表皮細胞有的正常，有的 marginal microridge 乃約略分辨，但內部之微峭呈零亂不整。0.5 ppm 的鰓（見圖七）Gill racker 有的正常，有的 marginal microridge 仍然完好，但中央之 microridge 消失而呈凸出狀。1 ppm 的鰓部（見圖六）是取自處理 4 小時 30 分鐘的魚體，Gill racker 的表皮細胞，有的 marginal ridge 仍清晰可見，但中央之 ridge 已消失，且呈凹凸不平狀，有的細胞表面附着了血液及黏液等。10 ppm 及 20 ppm 的鰓部，前者取自處理 3 小時 10 分鐘之魚體，後者取自處理 2 小時 20 分鐘之魚體，鰓部表皮細胞，呈突出狀，marginal ridge 已消失，附有黏液狀物質、血球等（見圖八）。

由於鱗片與鰓部均取自同一尾魚，綜合以上的觀察，兩者之變化相當吻合，此一結果具相當意義。

鰓部之光學顯微鏡的觀察：在長期實驗之魚體鰓部，其受汞的毒害，自 gill racker 至 gill filament 的方向，由上方組織先受到破壞，逐漸向下方移，且最明顯的是 gill bar 內部的支柱軟骨受到破壞，其受損程度與含汞濃度及處理時間之長短成正比。gill racker 及 gill filament 的表皮細胞的受損情形不嚴重，這也就是它為什麼能存活不死，因為鰓的呼吸功能仍然可以維持。但在 1 ppm 的鰓部，分泌作用比其他低濃度處理的魚較盛、充血，出血情況亦多。致於汞的反應染色則可能由於組織中所含的量不多，因此反應不顯著。

在短期實驗中，3.3 ppm 及 5 ppm 的鰓部，除了 gill bar 的支柱軟骨被破壞外，血管擴大充血，3.3 ppm 者在處理 4 小時的鰓部，在擴大的血管壁有汞存在，10 ppm 者在處理 3 小時之鰓部，在擴大充血的血管壁亦有汞存在，但相反的，在 50 ppm 的鰓部，卻沒有汞的存在，可能是由於時間太短，在鰓部包括 gill racker, gill filament 的表皮細胞完全受汞的毒害而破壞，只留下 lamina，因此不能呼吸，窒息而死。

其他在內臟如肝、腎、胃等將另文報導。

四、討 論

以掃描電子顯微鏡觀察鱗片的形態，Henderson 以 Hydrocarbon 作為污染，觀察大肚魚的鱗片，受污染之鱗片有改變，本文以汞污染的魚，鱗片和鰓部，在掃描電子顯微鏡下觀察，在形態上均發生相似的變化，此結果具相當意義，鱗片或許可成為檢定污染的一個很好的材料，在初步確定魚類是否受污染時，只需取鱗片而不必犧牲魚體，經由本實驗結果，對於鱗片表皮細胞對毒害之靈敏度，深具信心，但不同的污染物所產生的變化是否不同，由 Henderson 的實驗和本文之實驗相比較，所發生的變化顯然不同，但由於作此實驗者不多，文獻亦少，故需更進一步的研究。

摘 要

本文討論淡水魚受汞毒害之組織學研究。含汞之各種濃度分為長期實驗與短期實驗，長期實驗之濃度分別為 0.005 ppm, 0.05 ppm, 0.5 ppm 及 1 ppm。短期實驗之濃度分別為 3.3 ppm, 5 ppm,



Fig. 1. 掃描電子顯微鏡 (SEM) 下觀察之正常鱗片，箭頭所指為 Marginal microridge。



Fig. 2. 掃描電子顯微鏡下觀察之 1 ppm 處理 4 小時 20 分鐘之鱗片，箭頭所指為皺褶之表面。

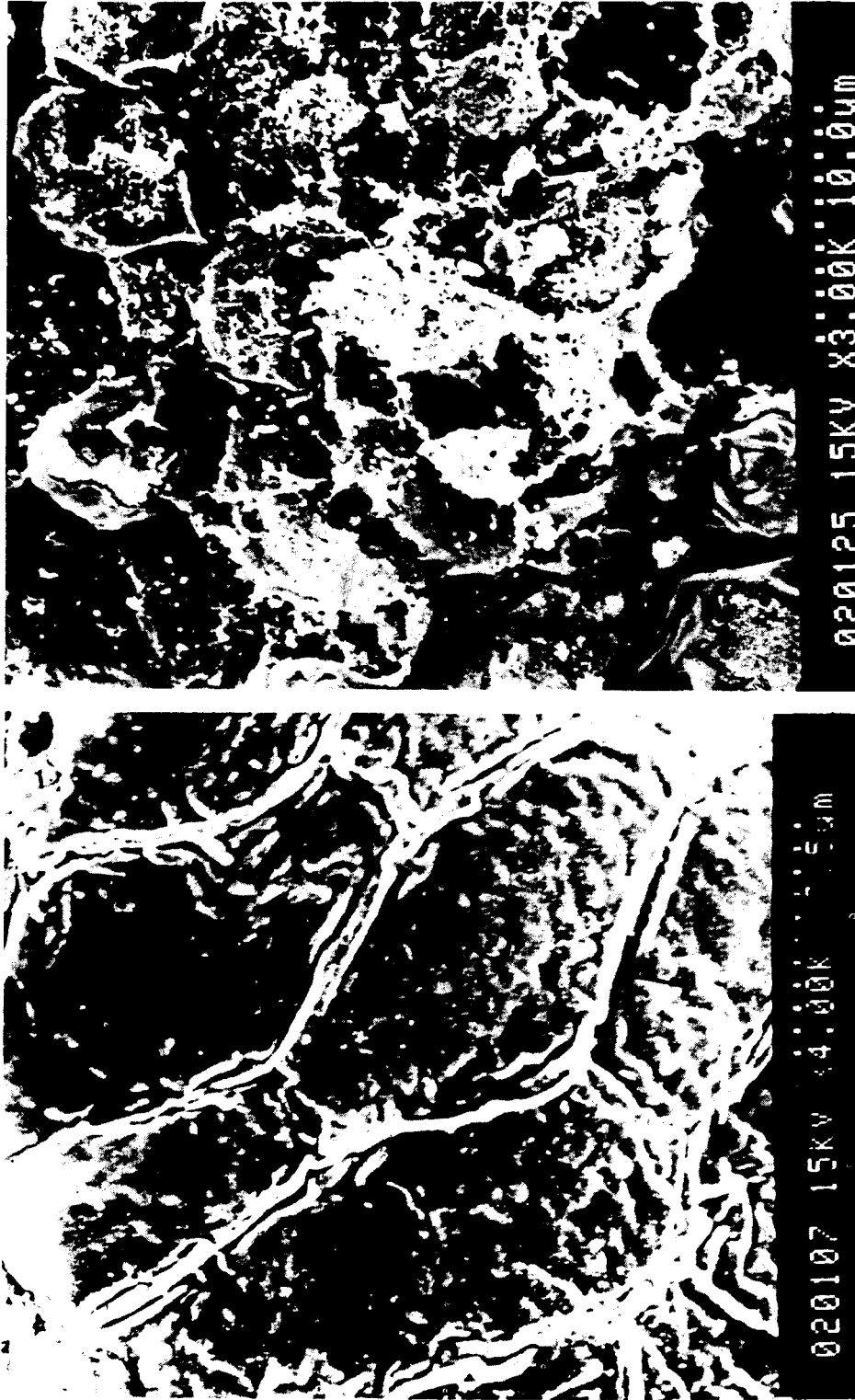


Fig. 3. 掃描電子顯微鏡下觀察之 0.5 ppm 處理第 21 天之鱗片，箭頭所指為 Marginal Microridge, C 為細胞中央之 Microridge 已消失。

Fig. 4. 掃描電子顯微鏡下觀察之 20 ppm 處理 2 小時 20 分鐘之鱗片，圖中白色處均為附着之 mucus。

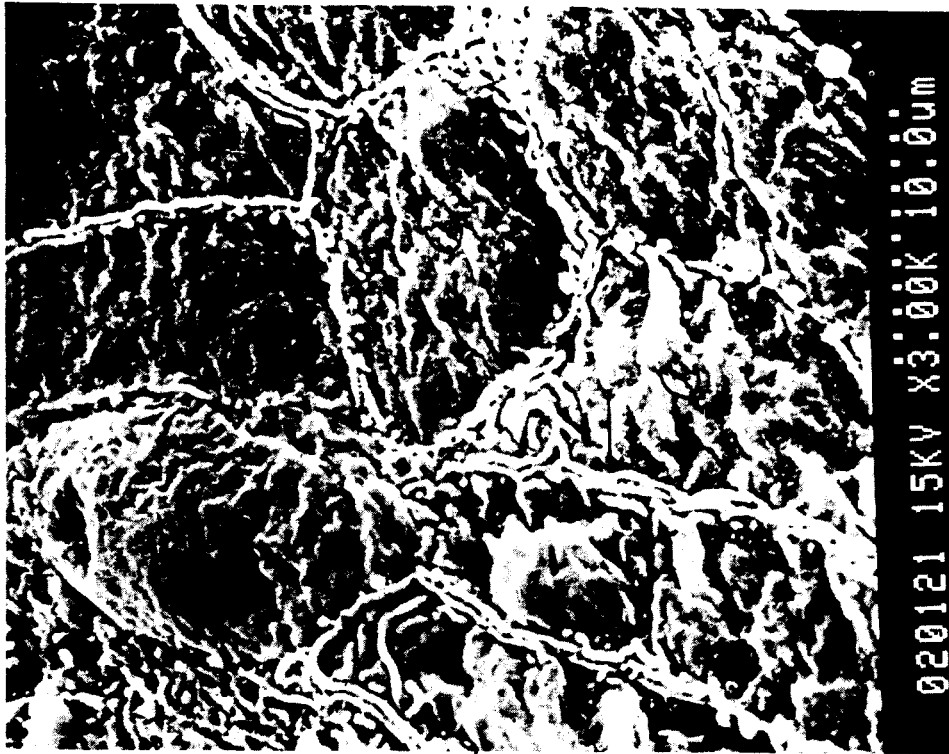


Fig. 6. 掃描電子顯微鏡下觀察之含汞 1 ppm 處理 4 小時 30 分鐘之鰓部表皮細胞，箭頭所指為 Marginal microridge, C 為細胞中央 microridge 消失，且凹凸不平。



Fig. 5. 掃描電子顯微鏡下觀察之正常鰓部，Gill racker 的表皮細胞，箭頭所指為 Marginal microridge, C 為細胞中央之 microridge。



Fig. 8. 掃描電子顯微鏡下觀察之含汞 10 ppm 處理 2 小時 30 分鐘之鰓部，B 為血球細胞，箭頭所指為附着之 Mucus。



Fig. 7. 掃描電子顯微鏡下觀察之含汞 0.5 ppm 處理 21 天之鰓部，箭頭所指為 Marginal microridge, C 為細胞中央之 microridge 已消失呈凹凸不平狀。



Fig. 10. 含汞 1 ppm 處理 5 天之鰓部圖中間之部份 gill filament, 已受汞破壞, 但右上角及左下角之 gill filament 乃正常。(約 90x)

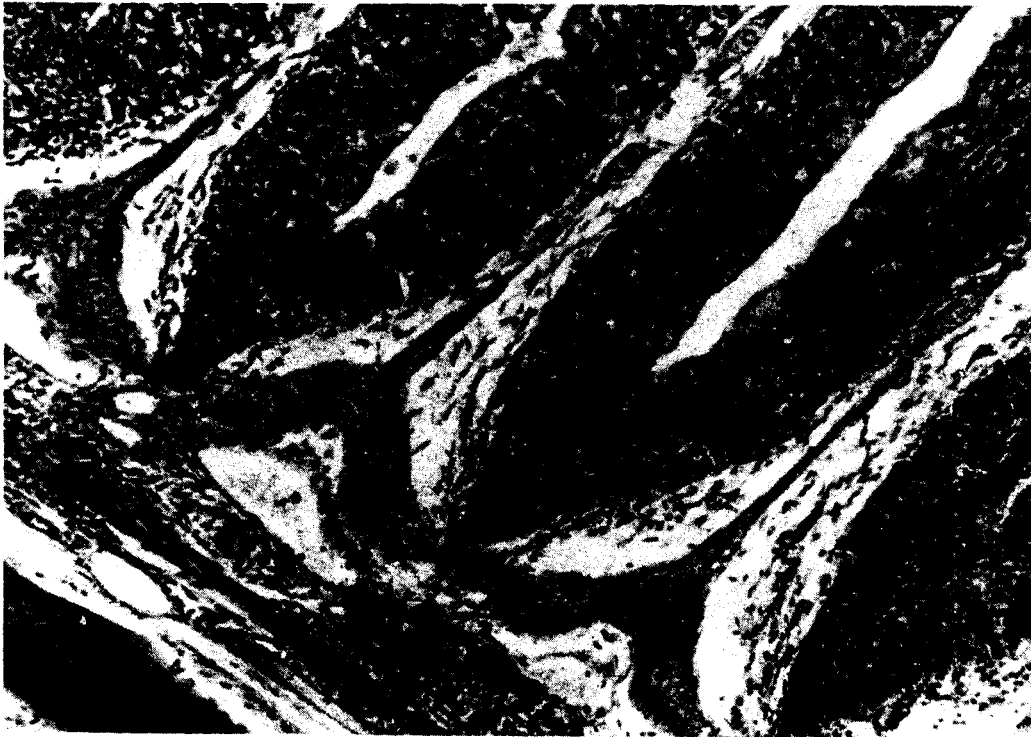


Fig. 9. 正常之鰓部組織顯微構造圖, 左上角為 Gill bar 之軟骨支柱。(約 175x)



Fig. 12. 含汞 10 ppm 處理 3 小時之鰓部，C 為被破壞之軟骨支柱，V 為血管，圖下方之 gill filament 之表皮細胞已壞死、脫落。(約 90 ×)



Fig. 11. 含汞 3.3 ppm 處理 4 小時之鰓部，C 為被破壞之軟骨支柱，V 為擴大之血管，箭頭所指為積在血管壁之汞右邊 gill filament 之細胞已壞死脫落。(約 90 ×)

10 ppm, 20 ppm 及 50 ppm。實驗魚之鱗片及鰓分別作掃描式電子顯微鏡及光學顯微鏡之觀察，其結果如下：

(1)鱗片之形態在掃描電子顯微下觀察，有顯著之改變，鱗片之微嵴消失而呈凹凸不平狀。在長期實驗中，污染時間愈長，變化愈大。在短期實驗中，濃度愈高，變化愈嚴重。

(2)鰓部表面之皮膜細胞之形態在掃描式電子顯微鏡下觀察，其顯著改變之情況與鱗片相似。

(3)鰓部組織之光學顯微鏡之觀察，鰓部內之軟骨支柱受破壞。在受污染時間愈長，與含汞濃度愈大之情況下，受破壞之程度愈嚴重，血管擴大、充血，是顯著的組織病變。

謝 辭

本實驗為國科會補助，計劃編號為 NSC 73-0201-B002-06；文中掃描式電子顯微鏡部分，承本校本系電子顯微鏡室陳家全先生及任曉旭、林錦燕二位小姐之協助，特表致謝。助理蘇淑貞小姐之協助亦致謝意。

參 考 文 獻

1. Akietaszek, John. and Terry A. Haines (1981). Mercury in the Muscle Tissue of Fish from Three Northern Maine Lakes. *Bull. Environm. Contam Toxicol.* 27: 201-208.
2. Cardeilhac, P. T., C. F. Simpson, F. H. White N. P. Thompson and W. E. Carr (1981). Evidence for Metal Poisoning in Acute Deaths of the Large Red Drum (*Sciaenops ocellata*). *Bull. Environm. Contam, Toxicol.* 27: 639-644.
3. Henderson, Vernon. (1983). Scale Morphologic Response to Aromatic Hydrocarbons. *Bull. Environm, Contam. Toxicol* 31: 315-321.
4. Sin, Y. M., Y. F. Lim and M. K. Wong (1983). Uptake and Distribution of Mercury in Mice from Ingesting Soluble and Insoluble Mercury Compounds. *Bull. Environm, Contam, Toxicol* 31: 605-612.
5. 林金盾、張麗芬、吳京一，(1983)。重金屬對魚類急性毒害的研究。生物科學：21：73-84。
6. 陳建初、莊世彪、洪文慶，(1980)。重金屬對於淡水水生動物之半致死影響：中國水產，325：5-18。
7. 蔡添財、余廷基，(1981)。重金屬對吳郭魚、鰻魚及牡蠣的毒性。Bull of Taiwan Fisheries Research Institute No. 33. 581-586.
8. 簡肇衡、余廷基，(1981)。四種重金山鹽浸浴小鰻引起組織病變之研究。Bull. of Taiwan Fisheries Research Institute No. 33 .587-592.
9. 陳建初、曠萬青、林家存，(1980)。汞在鮰魚 (*Carassius carassius*) 體內之蓄積與排出。Journal of the Fisheries of Taiwan 7 (2). vol. 7 No. 2, 21-27.