

廿三、文蛤血液的滲透壓與其受重金屬影響之研究

陳 弘 成 邱 南 威

國立臺灣大學動物研究所

摘 要

以 3 種水溫 (15、23 及 30°C) 及 5 種鹽度 (6、15、24、33 及 42‰) 探討溫度與鹽度對文蛤血液滲透壓之影響，結果顯示文蛤圍心腔血液滲透壓受鹽度的影響較顯著，而水溫及個體大小的影響則不顯著 ($p > 0.05$)。在 15°C 及 6‰ 的環境下 7 天，其滲透壓為 304 ± 35 mOsm/kg，而在 30°C 及 42‰ 的環境下 7 天，其滲透壓則為 789 ± 53 mOsm/kg，顯示水溫與鹽度愈高，血液滲透壓有愈高的傾向，而且在低鹽度 (6‰) 下呈高滲透調節狀態，鹽度在 15‰ 以上則呈現低滲透調節狀態。一般言之，文蛤仍具有良好的滲透壓調節能力者。

在 15、23 及 30°C 水溫下，文蛤從 6‰ 急速移至 33‰ 鹽度，其血液滲透壓達到穩定所需的時間分別為 1、4 及 42 小時。在同樣的水溫下，文蛤從 33‰ 急速移至 6‰ 鹽度中，血液滲透壓達到穩定所需的時間皆超過 24 小時，顯示文蛤棲息的環境由高鹽度急劇降至低鹽度，對文蛤的滲透壓調節較不利。

在 20°C 及 15‰ 的環境中 4 天，文蛤血液滲透壓有隨著銅或鋅濃度的增加而上升的傾向，而且開始有顯著影響的金屬濃度分別是 0.1 mg/l Cu 及 0.5 mg/l Zn，由此也顯示出銅的毒性影響較鋅大。

1. 前 言

文蛤，*Meretrix lusoria*，為臺灣重要的養殖貝類之一，養殖地點以有少量淡水注入或鹽度較低的河口海域最佳，生長最為迅速 (陳及呂，1983)。但在鹽度變動太大或急劇變化的環境下，亦有死亡的情形出現 (Chen, 1984)，這可能與體內滲透壓的調節有關，故實有瞭解的必要。因此，探討文蛤在各種鹽度及溫度下的血液滲透壓調節機能可作為池塘管理的依據與其大量死亡原因的研究參考，進而帶動此業的成長。

再者，本省西南部沿海或河口域，有些地區已受重金屬污染，尤其銅、鋅者為最，因此文蛤體內亦將或多或少吸收這些重金屬，其情況嚴重者可能會累積過多的重金屬導致死亡 (陳，1988)，輕微者或許會引起滲透壓調節能力的減低而導致生理機能的失調 (Chen and Slinn, 1980; Bjerregaard and Vislie, 1986)。因此，綜合臺灣的複雜情形，其滲透壓受重金屬，特別是銅與鋅的影響，亦屬有趣的課題，且此等資料亦可作為訂定水產用水水質基準的參考。因此，其在鹽度與重金屬交互影響下的滲透壓變化，亦為本文探討的內容。

2. 材 料 與 方 法

本試驗是在 1987 年至 1988 年之間所進行。試驗所使用的海水來自石門的跳石，稀釋用的淡水為自來水經三天充分的曝氣後備用。試驗所需的鹽度是由上述的海水與淡水調配而成。

(一)文蛤的來源：

本試驗所使用的文蛤，平均殼長在 4~5 cm 之間，分別來自雲林地區不受污染的養殖場，從中選擇未經淡水泡浸，品質優良者養蓄備用。

(二)溫度與鹽度對文蛤滲透壓的影響：

以三種溫度 (15、23 與 30°C) 及五種鹽度 (6、15、24、33 與 42‰) 進行交叉試驗，共分爲 15 個處理組，每個處理組隨機取樣放入 15 個文蛤。馴養一個星期後，將體型大小分成三級，抽取其心臟血液，以 Vapor Pressure Osmometer (WESCOR 5130C 型) 測定體內滲透壓，所得結果則以變方分析法分析其影響因子的顯著性。

(三)鹽度的急劇變化對文蛤滲透壓調節的影響：

在 15、23 與 30°C 下及低鹽度 (6‰) 中，每組放入 30 個體型大小相近的文蛤 (4 cm 左右)，馴養一星期後，立即移入高鹽度 (33‰) 的海水中。或將高鹽度 (33‰) 中的每組 30 個文蛤，馴養一星期後，亦同樣立即移入低鹽度 (6‰) 的海水中，然後於 1、4、7、15、24、48、72 及 96 小時採樣吸取文蛤的心臟血液，以 Vapor Pressure Osmometer (WESCOR 5130C 型)，測定血液滲透壓的變化。

(四)銅與鋅兩種重金屬對文蛤滲透壓的影響：

在定溫 23°C，定鹽 15‰ 下將文蛤各 15 個分別暴露於銅與鋅溶液中，濃度分別爲 0、0.1、0.5、3 及 10 ppm，經過四天後，分別測定心臟血液滲透壓的變化情形。並以 Duncan's New Multiple Range Test 檢定其不同重金屬濃度影響的差異顯著性。

3. 結 果

文蛤在不同溫度與不同鹽度之下，馴養 7 天後所測得的血液滲透壓數值列於表 1，數值經變方分

Table 1. Blood osmoconcentration of different sized clam in various salinity and temperature

Osmoconcentration mOsm		Temperature °C		
		15	23	30
Salinity 6‰	Body length >4.6 cm	264	274	245
	3.3~4.6 cm	329	265	238
	<3.3 cm	318	257	213
15‰	>4.6 cm	366	401	390
	3.3~4.6 cm	398	378	347
	<3.3 cm	420	356	339
24‰	>4.6 cm	485	525	504
	3.3~4.6 cm	562	516	491
	<3.3 cm	535	510	486
33‰	>4.6 cm	645	632	610
	3.3~4.6 cm	625	590	587
	<3.3 cm	530	603	540
42‰	>4.6 cm	710	698	731
	3.3~4.6 cm	760	778	801
	<3.3 cm	709	816	835

Table 2. Anova table for testing the effect of body size, temperature and salinity on blood osmolarity of hard shell clam

	df	SS	MS	FS	P
Tem. (T)	2	3,268	1,634	0.8793	
Salinity (S)	4	1,318,375	329,593	81.0096	***
Size (L)	2	1,733	866	0.5662	
T*S	8	15,529	1,941	2.33	
T*L	4	3,456	864	1.03	
S*L	8	17,101	2,137	2.56	
T*S*L	16	13,325	833		
Total	44	1,372,789			

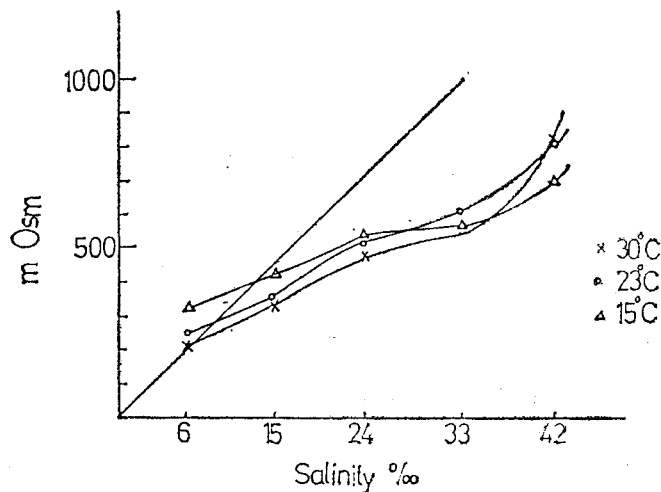


Fig. 1. Blood osmoconcentration of hard clam *Meretrix lusoria* in different salinities and temperatures.

析的統計結果列於表 2，另外，不同溫度、鹽度與血液滲透壓的關係顯示於圖 1。由表 1 及表 2 得知，文蛤圍心腔血液的滲透壓受鹽度的影響較顯著，而水溫及文蛤大小的影響則不顯著 ($p > 0.05$)。由表 1 及圖 1 得知，在 15°C 及 6‰ 的環境下，7 天後文蛤圍心腔血液滲透壓為 304 ± 35 mOsm/kg，在 30°C 及 42‰ 的環境下則為 789 ± 53 mOsm/kg，顯示水溫與鹽度愈高，血液滲透壓有愈高的趨勢。在溫度 23°C 及 15°C，鹽度 15‰~33‰ 之間，文蛤具有良好的調節能力，但仍以 18~28‰ 之間的調節能力最佳，正表示在此鹽度與溫度範圍內為最適文蛤的生長。

文蛤在高鹽度 (42‰)、低溫度 (15°C) 或低鹽度 (6‰)、高溫度 (30°C) 下，都比高鹽度、高溫度或低鹽度、低溫度下更具滲透壓的調節能力。配合其他的資料如，耗氧、攝食等的研究結果，得知鹽度在 6‰ 或 42‰ 都已不適合文蛤的正常生活。

在 15, 23 及 30°C 三種水溫之下，文蛤從 6‰ 鹽度急速移入 33‰ 鹽度後，血液滲透壓隨時間的變動情形顯示於圖 2。由圖 2 可知，在 15, 23 及 30°C 水溫下，文蛤血液滲透壓達到穩定平衡 (由 200 mOsm/kg 升到 600 m Osm/kg 左右) 的時間分別約為 1 小時、4 小時及 24 小時，顯示文蛤從低鹽度環境移到高鹽度環境時，水溫愈高，血液滲透壓達到穩定的時間愈長，故知 33‰ 及 30°C 已不適合文蛤之生活。在同樣的三種水溫之下，文蛤從 33‰ 鹽度急劇移入 6‰ 鹽度後，血液滲透壓隨時間的變動情形顯示於圖 3。由圖 3 可知，在 15, 23 及 30°C 水溫下，文蛤血液滲透壓達到

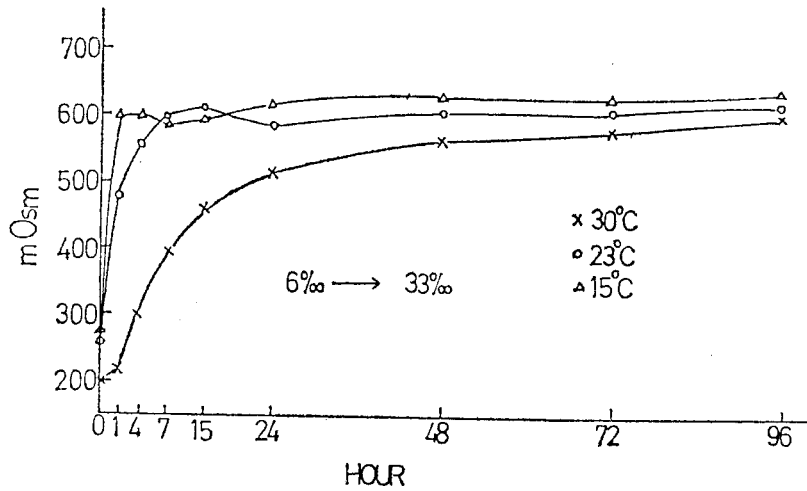


Fig. 2. Changes of blood osmoconcentration of hard clam *Meretrix lusoria* transferred from 6 ppt to 33 ppt salinity.

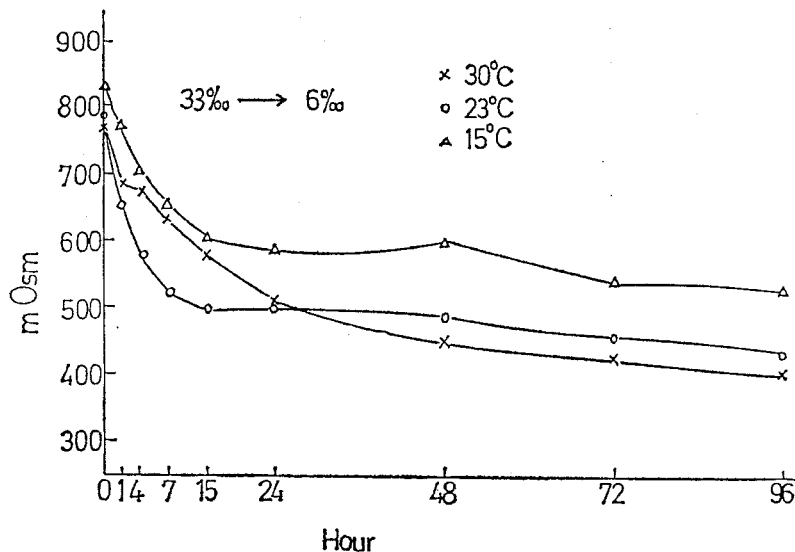


Fig. 3. Changes of blood osmoconcentration of hard clam *Meretrix lusoria* transferred from 33 ppt to 6 ppt salinity.

穩定 (由 800 mOsm 降到 450 mOsm 左右) 的時間皆超過 24 小時，欲達完全適應，至少仍在 48~72 小時之後，顯示文蛤從高鹽度環境移到低鹽度環境時，特別是鹽度 6‰ 左右時，其滲透壓調節能力已大為減低。故知文蛤不喜歡在 6‰ 以下之鹽度生長。

銅與鋅對於文蛤血液滲透壓的影響顯示於圖 4 及圖 5。在 20°C 及 15‰ 的環境下，文蛤在各種濃度的銅與鋅溶液中 4 天後的血液滲透壓，有隨著銅或鋅濃度的增加而增加的傾向。在銅方面，0.1 ppm Cu 濃度組以上的文蛤血液滲透壓開始顯著地高於 0.05 ppm Cu 以下的濃度組；在鋅方面，0.5 ppm Zn 濃度組以上的血液滲透壓也開始顯著地高於 0.1 ppm Zn 以下的濃度組。且使其從低張壓 360 mOsm 變成高張壓 493 mOsm，顯示其已完全失去滲透調節能力，因此，在長時期的暴露於重金屬中，將會因滲透壓的失調而導致死亡。

另一試驗為研究文蛤對於銅的累積與排除情形，其結果示如圖 6。由此圖得知，其鰓的累積量有隨著溶液中銅濃度的增加而增加，而且亦隨著暴露於銅的時間延長而加大。0.3 ppm 組由於在鰓的

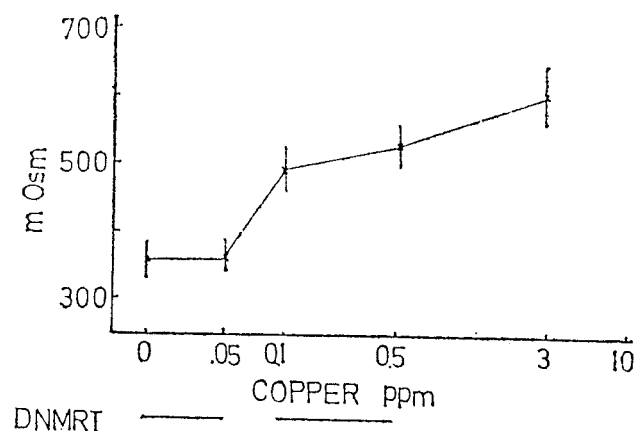


Fig. 4. Effect of copper on blood osmoconcentration of hard clam *Meretrix lusoria*.

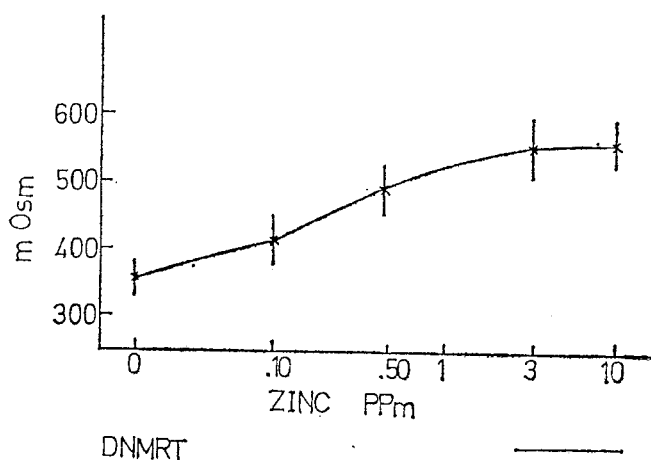


Fig. 5. Effect of zinc on blood osmoconcentration of hard clam *Meretrix lusoria*.

累積量高達 42 ppm，因而引起死亡。至於較低的二組濃度即 0.1 及 0.03 ppm 者，則分別累積 10 及 4 ppm，尚不至於使文蛤死亡，因此將其放入清淨海水後（41~80 天）其排除的速率亦相當快速。由於水中的銅離子最先與鰓接觸，故一般的含量都較其他的部位為高，而這較高的銅量即很有可能影響到文蛤的鰓部組織。

4. 討 論

大多數的海水及河口域的二枚貝都是屬於滲透順應型生物 (Osmoconformer)，即其體液滲透壓是隨周圍水的滲透壓而變化的 (Robertson, 1964; Pierce, 1970; Davenport & Wong, 1986)。當外界環境不適時可藉著閉殼行為來控制其體液的滲透壓以順應環境 (Davenport & Fletcher, 1978)。至於廣鹽性的二枚貝當外界環境鹽度改變後，其體內外的滲透壓通常在 24 小時內就可達到新的穩定平衡點 (McLachlan and Erasmus, 1974; de Villers and Allanson, 1989)。本研究的文章在 15, 23 及 30°C 水溫下，從低鹽度 (6‰) 移到高鹽度 (33‰)，其血液滲透壓也是在 24 小時內趨於穩度，但是文蛤從高鹽度環境 (33‰) 移到低鹽度環境 (6‰)，其血液滲透壓要趨於穩定則需 1 天以上的時間，在 30°C 及 33‰ 的環境下，甚至需要 4 天以上的時間，此即表 6‰ 已不適文蛤之生活。本省西南沿海的貝類常在大雨後鹽度變淡時出現大量死亡，推測可能與此滲透壓的順應或

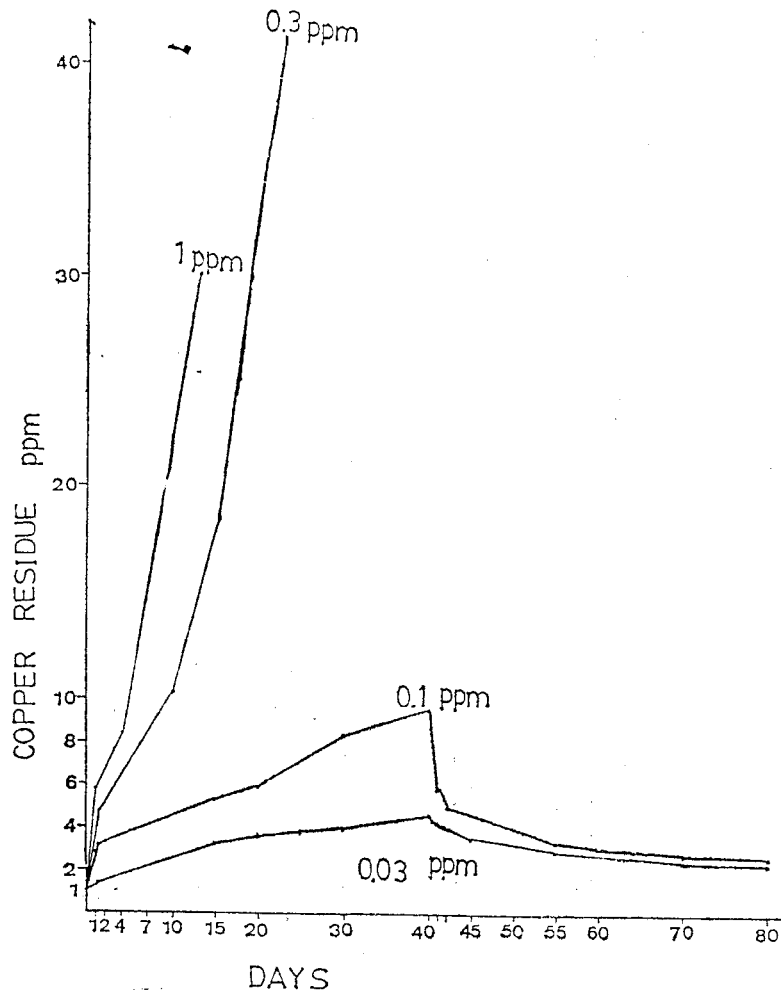


Fig. 6. Accumulation (0-40 days) and elution (41-80 days) of copper in gill tissue of hard clam.

調節多小有些關連。

Bedford 和 Anderson (1972) 研究一種河口域的二枚貝 *Rangia cuneata* 時指出, *Rangia cuneata* 在各種鹽度中馴化 4 天後, 鹽度 10‰ (293 mOsm/l) 以上的環境, 其血液滲透壓很接近等滲透壓線, 在 10‰ 以下的環境則呈輕微高滲透壓狀態 (hyperosmocity), 另外將 *Rangia* 先馴養在 11.3‰ 鹽度中 (331 mOsm/l) 7 天後, 再急速移到 19.4‰ 鹽度 (568 mOsm/l) 及自來水 (16 mOsm/l) 二種環境中, 血液滲透壓要達到穩定大約都需要 18 個小時, 而且在前 10 個小時期間是移入淡水中的血液滲透壓變動較快, 吸水的情形也較活躍, 因此 Bedford 和 Anderson 認為此種二枚貝在低鹽度 (10 ppt 以下) 環境具有調節體內滲透壓的能力, 為一滲透調節型生物, 此時需消耗能量, 當在高鹽度環境中則又成為滲透順應型生物, 可保留能量以利於生長。然而, Anderson 和 Anderson (1975) 研究美國牡蠣 *Crassostrea virginica* 時指出, *Crassostrea virginica* 在較高的鹽度 (30 ppt) 環境下, 其圍心腔血液滲透壓達到等滲透壓線或輕度的高滲透壓調節的能力, 比在低鹽度 (10 ppt) 環境下快, 這情形和 Bedford (1972) 的研究種類 *Rangia* 不一樣, 原因可能是適合 *Crassostrea virginica* 生存的鹽度較 *Rangia* 的高所致。本研究的文蛤在低鹽度 (6‰) 下, 其圍心腔血液滲透壓呈高滲透壓狀態, 鹽度在 15‰ 以上, 則呈現低滲透壓狀態 (圖 1), 而且是鹽度愈高, 血液滲透壓值愈偏離等滲透壓值, 另外在鹽度劇變的情形下 (圖 2 及圖 3), 血液滲透

壓達到穩定時的值，亦偏離等滲透壓值，這種現象明白的表示文蛤此種二枚貝在鹽度 15%到 33%之間，是一種調節能力較強的滲透調節型生物。

重金屬對於水生生物的毒性影響之一，就是對滲透壓調節能力之干擾，例如鎘、銅及汞等金屬對於岩蟹 *Carcinus maenas* 的滲透壓及離子濃度的改變都有顯著的影響 (Bjerregaard and Visle, 1985a, b & 1986)。關於銅對硬骨魚類的影響則是增加離子在鰓部的被動性 (passive) 半通透力，並且抑制離子的主動 (active) 運輸，結果導致高滲透調節的淡水魚流失鹽類，而低滲透調節的海水魚則增加血漿中的電解度 (Lorz and McPherson 1976; Stagg and Shuttleworth, 1982a, b; Lauren and McDonald, 1985)。至於海產無脊椎動物方面，例如岩蟹 *Carcinus maenas* 在全海水中時，銅對其血液離子濃度的影響甚小，但在低鹽度馴化過而呈高滲透調節狀態的岩蟹，銅會使其血淋巴滲透壓，氯及鈉的離子濃度顯著下降 (Bjerregaard and Vislie, 1986)。但是銅濃度大於 1 mg/l 時，血淋巴的氯及鈉則又有輕微逐漸上升的傾向 (Boitel and Truchot, 1989)。糠蝦 *Praunus flexuosus* 在 16 mg/l Zn 溶液中 24 小時，其血液滲透壓的變化介於對照組與等滲透壓線之間，而且與對照組部份有顯著差異，另外在 5°C、9%環境下添加 16 mg/l 或 32 mg/l Zn，其血液滲透壓會逐漸下降而靠近各自的半活存時間 (LT₅₀) 時的滲透壓 (McLusky and Hagerman, 1987)。本研究文蛤 *Meretrix lusoria* 在 23°C、15%環境下，曝露於各種濃度的銅或鋅溶液中 4 天後，其血液滲透壓皆隨金屬濃度的增加而上升 (圖 4 及圖 5)，都與上述的研究相符合，其可能的解釋和機轉應與其鰓部組織受到破壞及重金屬與蛋白質結合，塞滿鰓絲空間，致離子交換失去調節的能力所致，故與 ATPase 的活性與細胞膜的通透性有關 Chen and Slinn (1980)。研究重金屬對蝦類滲透壓影響時，亦從相似的論點。

關於污染物質對於水生貝類滲透壓影響之研究非常有限，且所得的論點不一，例如 TBT (抗附着劑中的有效成分) 對美國牡蠣 *Crassostrea virginica* 血液滲透壓之影響 (Bokman and Langhin, 1989)，美國牡蠣曝露於 0.5 μg/l~2.0 μg/l TBT 中 11 天，在 5%鹽度下血液滲透壓呈輕微的高滲透調節傾向，在 40%鹽度下則是呈輕微的低滲透調節傾向，若是從 25%急速移至 5%或 40%時，含 TBT 的處理組的牡蠣滲透壓調節速率較慢。另外，美國牡蠣置於 1%的 2 號燃料油或原油 (South louisana crude oil) 中 10 天，對其血液滲透壓並無影響 (Anderson and Anderson, 1975)。血蚶 *Anadara granosa* 置於 5~15 μg/l N 的萘 (Naphthalene) 溶液中 4 天，對其血液滲透壓亦無顯著影響 (對照組：600 mOsm/kg，處理組：580~600 mOsm/kg) (Eapen and Patel, 1989)。由於重金屬方面對貝類滲透壓的影響似乎尚缺可供參考之資料，加上本研究結果初步顯示出重金屬對文蛤血液滲透壓有明顯的影響，因此這方面的研究並以牡蠣為材料，配合各急速變化的鹽度所引起滲透壓之改變，可能有助於了解本省貝類大量死亡之原因。

銅的毒性比鋅者一般都高 (McLusky and Hagerman, 1987)，所以銅在 0.1 ppm 而鋅在 0.5 ppm 才影響文蛤的滲透壓。因此若以此生理影響的基礎而言，則易引起顯著的滲透壓變化的濃度，亦即生物的安全濃度 (Biological safe concentration) 應為 0.05 ppm Cu 及 0.1 ppm Zn。此基準與一般的水產用水的水質基準已甚相近。

謝 辭

本報告由國科會計劃 (77-0414-13-002-04) 所補助，研究期間得林明南、秦宗顯二位先生之協助，特此致謝。

參 考 文 獻

陳弘成、呂瑞源 (1983)。文蛤人工繁殖之研究 II。精卵之誘排，胚胎發育與幼生之生長。中國文化大學海洋叢刊一生物專刊。Vol. 28: 1-6。

- 陳弘成、林明南 (1988)。污染地區水生生物體內重金屬含量之研究。198 頁，環境保護與生態保育研討會論文專集。中國文化大學理學院，臺北。
- Anderson, R.D. and J.W. Anderson (1975). Effects of salinity and selected petroleum hydrocarbons on osmotic and chloride regulation of the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Physiol. Zool.*, **48**: 420-430.
- Bedford, W.B. and Anderson, J.W. (1972). The physiological response of the estuarine clam *Rangia cuneata* (Grey), to salinity. I. Osmoregulation. *Physiol. Zool.*, **45**: 255-260.
- Bjerregaard, P. and T. Visle (1985a). Effects of mercury on ion and osmoregulation in the shore crab, *Carcinus maenas*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **82c**: 227-230.
- Bjerregaard, P. and T. Visle (1985b). Effects of cadmium on haemolymph composition in the shore crab, *Carcinus maenas*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **27**: 135-142.
- Bjerregaard, P. and T. Visle (1986). Effects of copper on ion and osmoregulation in the shore crab, *Carcinus maenas*. *Mar. Biol.*, **91**: 69-76.
- Boitel, F. and J.P. Truchut (1989). Effects of sublethal and lethal copper levels on hemolymph acid-base balance and ion concentrations in the shore crab, *Carcinus maenas*, kept in undiluted sea water. *Mar. Biol.*, **103**: 495-501.
- Bokman, E. and R.B. Laughlin, Jr. (1989). A study of steady state and kinetic regulation of chloride ion and osmotic pressure in hemolymph of oysters, *Crassostrea virginica*, exposed to tri-n-butyltin. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**: 832-838.
- Chen, H.C. (1984). Recent innovations in cultivation of edible molluscs in Taiwan, with special reference to the small abalone, *Haliotis diversicolor*, and the hard clam, *Meretrix lusoria*. *Aquaculture*, **39**: 11-27.
- Chen, H.C. and Slinn, D.J. (1980). Osmoregulation of the prawn, *Palaemon elegans*, exposed to some heavy metals. *J. Fish. Soc. Tai.*, **7**(1): 1-13.
- Davenport, J. and J.S. Fletcher (1978). The effects of simulated estuarine mantle cavity conditions upon the activity of the frontal gill cilia of *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **58**: 671-681.
- Davenport, J. and T.M. Wong (1986). Responses of the blood cockle, *Anadara granosa* (L.) (Bivalvia: Arcidae), to salinity, hypoxia and aerial exposure. *Aquaculture*, **56**: 151-162.
- Eapen, J.T. and B. Patel (1989). Haematological evaluation of naphthalene intoxication in the tropical arcid blood clam, *Anadara granosa*. *Mar. Biol.*, **100**: 223-226.
- Lauren, D.J. and D.G. McDonald (1985). Effects of copper on branchial ionoregulation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Comp. Physiol.* **155**(B): 635-644.
- Lorz, H.W. and B.P. McPherson (1976). Effects of copper or zinc in fresh water on the adaptation to sea water and ATPase activity, and the effects of copper on migratory disposition of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* **33**: 2023-2030.
- McLachlan, A. and T. Erasmus (1974). Temperature tolerances and osmoregulation in some estuarine bivalves. *Zoologica Africana*, **9**: 1-13.
- McLusky, D.S. and L. Hagerman (1987). The toxicity of chromium, nickel and zinc: effects of salinity and temperature, and the osmoregulatory consequences in the mysid, *Praunus flexuosus*. *Aquat. Toxicol.*, **10**: 225-238.
- Pierce, S.K. (1970). The water balance of *modiolus* (Mollusca: Bivalvia: Mytilidae): Osmotic concentrations in changing salinities. *Comp. Biochem. Physiol.*, **36**(A): 521-533.
- Robertson, J.D. (1964). Osmotic and ionic regulation. In: *Physiology of Mollusca*, Vol. 1, Ch. 9, (Eds. Wilbur and Young) Academic Press.
- de Villiers, C.J. and B.R. Allanson (1989). Osmotic properties of an infaunal estuarine bivalve, *Solen cylindraceus* (Hanley). *J. Moll. Stud.*, **55**: 45-51.