

四種常用水產藥物對鰻魚之急毒性試驗

黃世鈴·劉志仁·余廷基

Acute Toxicity of Four Chemicals to Eel *Anguilla japonica*

Shyh-Ling Hwang, Gee-Ren Liu and Ting-Chi Yu

The purpose of this experiment is to test the acute toxicity of the four chemicals (A) Furazolidone (C-20); (B) Nitrofurazone; (C) Hyamine; (D) Methylene blue that are usually used in aquaculture industry in Taiwan.

As the result of 48hrs TLM in the eel (*Anguilla japonica*) the former three chemicals were 294.24ppm, 4.92ppm, 13.69ppm respectively, and D was 84.41ppm in 72 hours TLM.

The histopathological studies of eel (*Anguilla japonica*) exposed to the toxic solution were also observed and discussed.

前 言

本省水產養殖業的繁榮與發展，逐漸將養殖漁業帶入集約式完全養殖的境界，從而產生了病害防治與藥物施用等等的問題。由於業者罔知於病害鑑定防治的知識與藥物特性及施用的常識而濫施以藥物，不但對於養殖生物的健康造成極大的危害，進而導致養殖生物的衛生安全顧慮，故此將藥物施用的技術引以為重要課題。本試驗即在於究明 Furazolidone、Nitrofurazone、Hyamine 及 Methylene blue 等 4 種水產常用藥物在 48 小時對鰻魚的急性毒性之研究，並製成切片，觀察其組織病理變化情形，以為爾後養殖鰻魚施用藥物之參考。

材料與方法

本試驗所使用之鰻苗 (*Anguilla japonica*) 均為本分所飼養，平均體長 6.5 cm，平均體重 0.2 g，試驗前在室內馴養一星期，試驗前三天即開始停餌，試驗採雙重試驗，並設對照組進行試驗以為比較，所使用之試水為地下水經雙重砂層過濾，pH 值為 8 左右，D.O. 為 8.5 左右。

試驗係在直徑 40cm，高 35cm 之圓型水族缸進行，每缸置 10 升試水，放 10 尾鰻苗，進行各種藥物試驗，試驗期間以 CORNING pH meter 130 測定 pH 值，以 DELTA D.O. meter 測定 D.O. 鰻魚死亡之判定係以玻璃棒觸擊，若無反應即判定為死亡。

半數致死濃度計算係以 Vander waerden 法計算。

Nitrofurazone : 5 - Nitro-2 - furaldehyde

semicarbazone 黃色粉末，不易溶於水，使用時以 SAUTER 電動天秤稱取定量，以乳鉢加水研磨攪拌後倒入試驗魚缸。

Furazolidone (NF-ウエ/C20) 上野製藥株式會社，含 20% 之 Furazolidone 黃色粉末，不易溶於水，使用方法同於 Nitrofurazone。

Methylene blue : STUTTGART-UNTERT URKHEIM 製，深藍色試藥粉劑，易溶於水，使用前先配製成 10,000 ppm 之貯備母液。

Hyamine : 爲 50 % 之 alkyl aryl trimethyl ammonium chloride soln. 溶於 47% 的水及 3 % 的 isopropanol.

ABM chemicals limited 製，爲無色透明之粘稠性液體，使用前配製成 10000 ppm 之貯備母液。

試驗進行同時，採取試驗過之鰻魚，以 Bouin's solution 固定，經酒精脫水，石臘包埋等步驟，製成約 5 ~ 7 μ 厚的切片，用 Haematoxylin-Eosin 染色，用光學顯微鏡觀察其組織病變。

結果與討論

Furazolidone 試驗期間水溫變化範圍爲 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ，試驗期間，pH 值並沒有很大的變動 (表 1)，溶氧量變化稍大，但最低在 6.5 ppm，所以並非導致鰻苗死亡的主要原因，Furazolidone 爲黃色粉末不易溶於水，藥劑使用以後，有大量的沈澱產生。

表 1 富來頓對鰻魚之毒性

Table 1 The toxicity of furazolidon to eel (*Anguilla japonica*).

48 hrs TLM = 294.24 ppm

Concentration (ppm)	pH Ini-fin	D.O. Ini-fin	Mortality Dead/total
Control	8.3-8.5	8.2-6.5	0/10
128	8.4-8.6	8.2-6.8	0/10
256	8.4-8.6	8.3-6.9	4/10
512	8.5-8.8	8.3-7.0	9/10
1024	8.6-8.9	8.2-7.1	10/10

此劑對鰻苗之刺激性較小，低濃度藥浴，僅在短暫的時間內呈現不安的游泳狀態，高濃度 1024 ppm 鰻魚浸浴即呈現極度不安定狀態，隨之陸續沈於缸底，軀體彎曲，有時呈直角彎曲沈於水底，或半浮沈於水中，512 ppm、256 ppm，亦有這種現象，只是所需的時間，隨著濃度的變低而延長，發生軀體外觀顯現不正常彎曲後，鰻苗不久即死亡，表一顯示，Furazolidone 藥劑試驗對鰻魚的上限及下限的範圍相當大，上限爲 1024 ppm，下限爲 128 ppm，48 小時之半數致死濃度爲 294.24 ppm。

Furazolidone 浸浴以後，主要發生的病變爲出血、充血現象，32 ppm 有脾臟充血出血 (圖 1)、64 ppm 鰓部充血 (圖 2)、128 ppm 腦部充血、256 ppm、肝臟充血出血 (圖 3) 512 ppm、腎臟出血、細尿管上皮細胞萎縮 (圖 4)。

Nitrofurazone 與 Furazolidone 同屬呋喃劑，黃色粉末，但是毒性較強，不易溶於水，使用時亦有沈澱產生，試驗期間水溫變化範圍 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，高濃度 16 ppm 浸浴以後，迅即產生狂奔，痙攣，鰓蓋運動快速，有攀爬魚缸壁欲逃離的現象，死亡前一段時間，無力的沈於缸底，這種現象有隨著 Nitrofurazone 濃度的增高而加劇的現象，在低濃度浸浴中之鰻魚尚有神經較爲敏感，易受驚嚇的現象。

本劑浸浴時期，pH 值變化不大，D.O. 值變化則比 Furazolidone 稍大，但最低值 5.3 ppm 也在鰻魚存活適當溶氧範圍之內，Nitrofurazone 浸浴 48 小時對鰻魚半數致死濃度爲 4.92 ppm。(表 2)。

Nitrofurazone 浸浴鰻魚以後，組織器官發生之病變類似於 Furazolidone，主要之病變亦爲充血出血，4 ppm 有脾臟色素沈積、出血 (圖 5)、腎臟出血充血、細尿管萎縮 (圖 6)、4.76 ppm 鰓薄

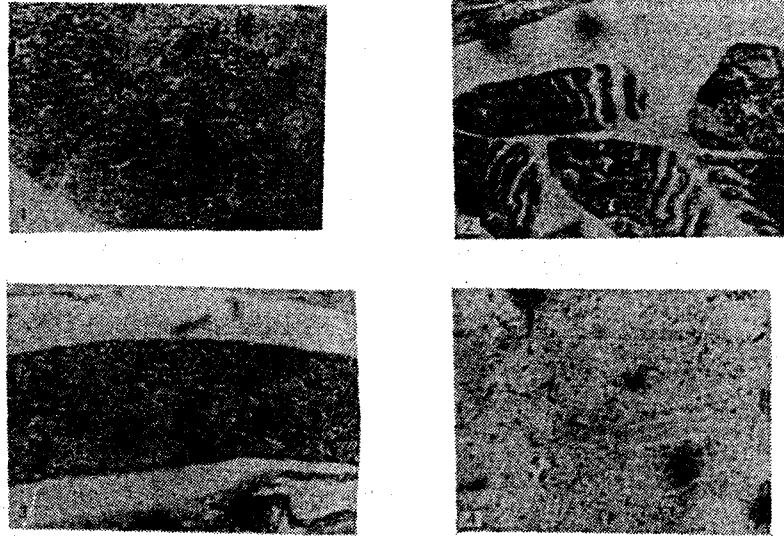


圖1 32 ppm 48 hrs. 脾臟出血 H-E stain 50x

Fig.1 Hemorrhage occurred in the spleen pulp. H-E stain 50x

圖2 64 ppm 48 hrs. 鰓薄板嚴重充血 H-E stain 50x

Fig.2 This fish has congested gill filaments. H-E stain 50x

圖3 256 ppm 48 hrs. 脾臟充血出血 H-E stain 50x

Fig.3 Causing hemorrhage and congested liver. H-E stain 50x

圖4 512 ppm 48 hrs. 腎臟出血、腎元萎縮 H-E stain 50x

Fig.4 Causing hemorrhage in the hematopoietic tissue, Nephrons undergoes atrophy. H-E stain 50x

表2 尼多羅對鰻魚之毒性

Table 2 The toxicity of nitrofurazone to eel (*Anguilla japonica*)
48 hrs. TLM= 4.92 ppm

Concentration (ppm)	PH Ini-fin	D.O. Ini-fin	Mortality Dead/total
Control	8.3-8.1	8.0-5.7	0/10
4.00	8.3-8.2	8.2-5.4	0/10
4.76	8.3-8.1	8.2-5.6	5/10
5.66	8.3-8.1	8.2-5.5	9/10
6.73	8.3-8.2	8.1-5.3	9/10
8.00	8.3-8.2	8.1-5.7	10/10

板嚴重充血(圖7), 肝臟充血(圖8)。

Hyamine 為透明粘稠的液體, 使用前須先配製成 10000 ppm 之母液, 試驗期間水溫變化為 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 低濃度的 Hyamine 試液 8 ppm 以下, 鰻魚浸浴以後外觀症狀較不顯著, 有狂奔、粘液分泌過度對外界的刺激較為敏感, 在 16 ppm 以上, 則顯現極度不安定的狀態, 痙攣、鰓蓋運動加快, 粘液脫落

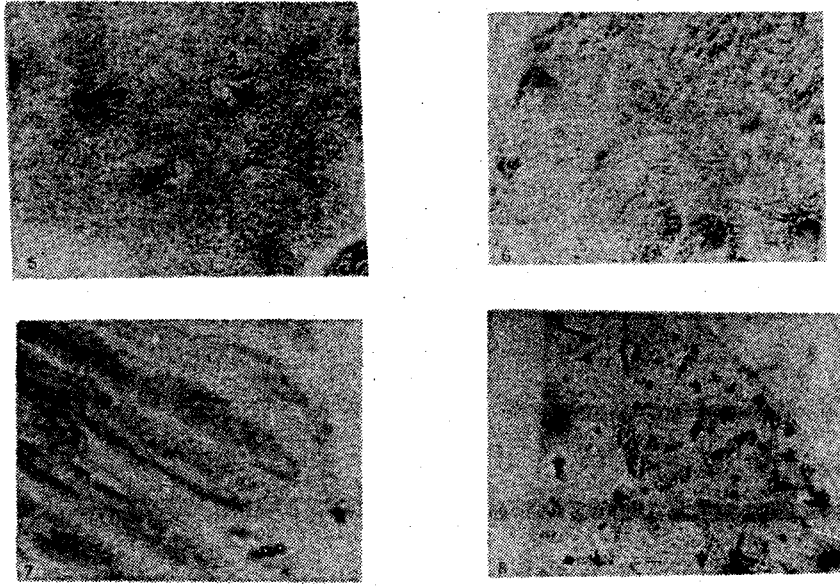


圖5 4 ppm 48hrs. 脾臟色素沉積、出血 H-E stain 50x

Fig.5 Has congested spleen and pigment deposit within splenocytes. H-E stain 50x

圖6 4 ppm 48hrs. 腎臟出血、腎元萎縮 H-E stain 50x

Fig.6 Causing hemorrhage in the hematopoietic tissue Nephrons undergoes atrophy. H-E stain 50x

圖7 4.76 ppm 48hrs. 鰓薄板嚴重充血 H-E stain 50x

Fig.7 Has congested gill filament severely. H-E stain 50x

圖8 4.76 ppm 48hrs. 脾臟出血 H-E stain 50x

Fig.8 Has congested liver. H-E stain 50x

，攀爬缸壁極欲逃離的現象，32 ppm 浸浴 鰻魚在 4 小時以內即全數死亡。

鰻魚浸浴以後，鰻魚產生之病變有：9.51 ppm 鰓薄板充血（圖 9）、肝細胞萎縮（圖 10），19 ppm 腎臟細尿管上皮細胞萎縮（圖 11）。

表 3 海亞敏對鰻魚之毒性

Table 3 The toxicity of hyamine to eel (*Anguilla japonica*).
48hrs. TLM=13.69 ppm

Concentration (ppm)	PH Ini- fin	D.O. Ini- fin	Mortality Dead/total
Control	8.5-8.5	8.2-7.0	0/10
9.51	8.8-8.4	8.3-6.6	0/10
11.31	8.6-8.5	8.2-6.5	1/10
13.45	8.6-8.3	8.5-6.3	5/10
16.00	8.5-8.3	8.3-5.8	8/10
19.03	8.6-8.2	8.3-5.3	10/10

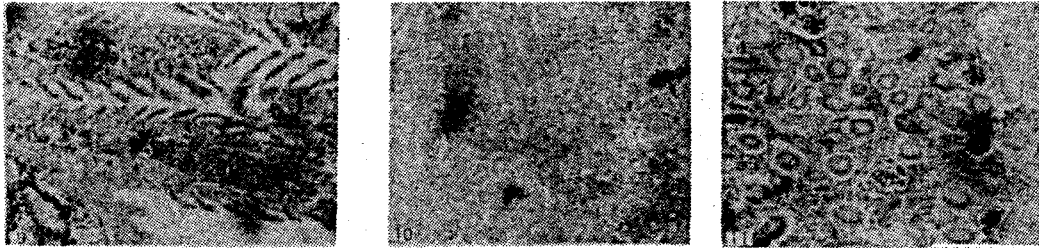


圖 9 9.51ppm 48 hrs. 鰓薄板充血 H-E stain 50x

Fig.9 Has congested gill filaments. H-E stain 50x

圖 10 9.51ppm 48hrs. 肝細胞萎縮 H-E stain 50x

Fig.10 Hepatocytes undergoes atrophy. H-E stain 50x

圖 11 19 ppm 48 hrs. 腎炎萎縮 H-E stain 50x

Fig.11 Nephrons showed atrophy. H-E stain 50x

Methylene blue 為深藍色粉末，易溶於水，使用前先配製成 10000ppm 之貯備母液，試液為深藍色，極不易觀察，試驗時水溫變化範圍為 $24 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ，鰻魚浸浴以後，有不安定而快速游泳及鰓蓋運動加快的現象，並且魚體被染成淡藍色，被染色的情形有隨著濃度的增高而加重，並且愈衰弱之魚被染色情形愈明顯，死亡後迅即被染成淡藍色。

表 4 顯示出 Methylene blue 在 48 小時對鰻魚之半致死濃度為 84.41 ppm。

表 4 甲基藍對鰻魚之毒性試驗

Table 4 The toxicity of methylene blue to eel (*Anguilla japonica*)
72hrs. TLM=84.41 ppm

Concentration (ppm)	PH Ini-fin	D.O. Ini-fin	Mortality Dead/total
Control	8.0-8.1	8.3-8.0	0/10
16	8.1-8.2	8.7-8.0	0/10
32	8.1-8.3	8.6-7.8	1/10
64	8.2-8.6	8.7-7.8	3/10
128	8.3-8.6	8.8-8.0	7/10
256	8.3-8.8	8.9-8.2	10/10

Methylene blue 浸浴以後，鰻魚主要產生之病變有 32 ppm、肝臟、腸間膜、胰臟被甲基藍染色（圖 12），腸部粘液細胞也被甲基藍染色。脾臟色素沈積（圖 13），32 ppm 則顯示腎元萎縮，造血組織減數萎縮（圖 14）。

摘 要

本試驗主要探討 Furazolidone, Nitrofurazone, Hyamine, Methylene blue，四種常用水產藥物對鰻魚之急毒性，四種藥物之毒性均隨濃度之升高而加重，四種藥物對鰻魚毒性的次序依次為 Nitrofurazone > Hyamine > Methylene blue > Furazolidone，且 Nitrofurazone 和 Furazolidone 對於

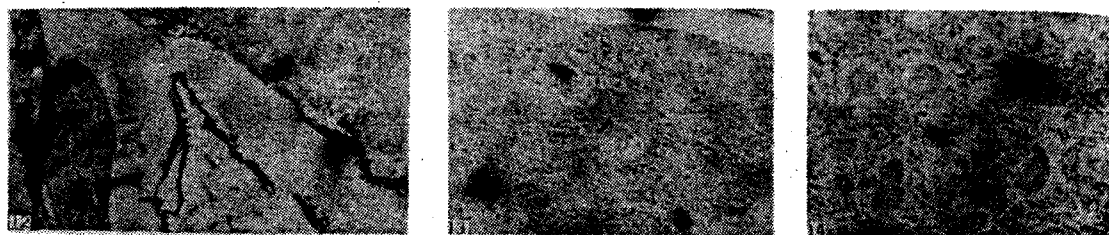


圖 12 32 ppm 48 hrs. 肝臟及腸間膜被甲基藍染色 H-E stain 50x

Fig.12 Hepatocytes and interstitial membrane within intestine would be stained by Methylene blue. H-E stain 50x

圖 13 32 ppm 48 hrs. 脾臟色素沉積 H-E stain 50x

Fig.13 Pigment deposit in the spleen pulp. H-E stain 50x

圖 14 32 ppm 48 hrs. 腎炎萎縮、細網內皮減數萎縮 H-E stain 50x

Fig.14 Nephrons showed atrophy. Hematopoietic tissue undergoes numerical atrophy. H-E stain 50x

鰻魚之毒害，不論在外觀症狀或病理觀察都很類似。

Furazolidone、Nitrofurazone 及 Hyamine 在 48 小時對鰻魚之半致死濃度依次為 294.24 ppm、4.92 ppm 及 13.69 ppm 而 Methylene blue 在 72 小時對鰻魚之半致死濃度為 84.41 ppm。

謝 辭

本試驗承蒙李所長燦然博士的鼓勵，分所同仁及黃榮君、林介屏二位先生的大力幫忙，使本試驗得以順利完成，在此一并致謝。

參考文獻

1. 劉朝鑫、王朝和 (1978). 水產藥物對於鰻魚病理學之研究, J. CRR Fisheries Series, 34, 33-44.
2. 簡肇衡、李福銓、余廷基 (1983). 幾種水產藥物及化學物對吳郭魚之毒性及病理研究 Fisheries Disease Research (5) 10-21.
3. 黃世鈴、秦宗顯、余廷基 (1983). 有機物質及亞硝酸對鰻魚、吳郭魚及牡蠣之急性毒性試驗, 台灣省水產試驗所試驗報告, 35, 125-137.
4. 簡肇衡、余廷基 (1981). 四種重金屬鹽浴鰻魚引起組織病變之研究, 台灣省水產試驗所試驗報告, 33, 587-592.
5. 窪田三朗、宮崎照雄、江草周三 (1982) ニホンウナギのメトヘモグロビン血症、魚病アトラス (上卷) 107-110.
6. Russ. R.C., C.E. Smith. And R.V. Thurston (1974). Acute Toxicity of Nitrite to Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish Res. Board Can. 31, 1653-1655.
7. William. E. Ribelin, George Migaki (1975). Pathology of fishes Wisconsin, PP1004, U.S.A.
8. R.W. Soderberg (1985). Histopathology of rainbow trout. *Salmo gairdneri* Richardson, exposed to diurnally fluctuating un-ionized ammonia levels in static-water ponds. Journal of fish Diseases 8, 57-64.