

5 种常用水产药物对胭脂鱼幼鱼的急性毒性研究

陈昕, 胡石柳 (厦门海洋职业技术学院, 福建厦门361012)

摘要 [目的] 研究常用水产药物对胭脂鱼幼鱼的急性毒性。[方法] 在室内常温、半静水条件下, 采用硫酸铜、甲醛、氰戊菊酯、三唑磷和敌百虫开展对胭脂鱼幼鱼的急性毒性试验, 分别在试验24、48、72 和96 h 后记录胭脂鱼幼鱼死亡数和试验药液的安全质量浓度。[结果] 硫酸铜、甲醛、氰戊菊酯、三唑磷和敌百虫对胭脂鱼幼鱼96 h 的 LC_{50} 值分别为1.96、80.0、0.002、0.049 和16.0 ng/L。胭脂鱼幼鱼对硫酸铜、甲醛、氰戊菊酯、三唑磷和敌百虫96h 安全质量浓度分别为0.57、27.2、0.009、0.013 和6.9 ng/L, 5 种药物对胭脂鱼幼鱼的毒性大小依次为氰戊菊酯、三唑磷、硫酸铜、敌百虫、甲醛, 胭脂鱼幼鱼对氰戊菊酯、三唑磷、敌百虫具有一定的耐受性。[结论] 该研究为胭脂鱼人工苗种繁育过程中合理用药防治病害提供了理论依据。

关键词 胭脂鱼; 急性毒性; 半致死浓度; 安全浓度

中图分类号 S941 文献标识码 A 文章编号 0517 - 6611(2008) 22 - 09569 - 03

Study on Acute Toxicity of Five Common Drugs on *Myxocyprinus asiaticus* Juvenile

CHEN Xin et al (Xianen Ocean Vocational College, Xianen, Fujian 361012)

Abstract [Objective] The aim was to study the acute toxicity of 5 common drugs on *Myxocyprinus asiaticus* juvenile. [Method] In the lab at normal temperature, the acute toxicity of *M. asiaticus* juvenile were measured by using copper sulfate, formalin, fenvalerate, triazophos, thichlorfon under the semi-static water condition and the death number of *M. asiaticus* juvenile and the safe mass concn. of drugs in tested solution were recorded after testing for 24, 48, 72 and 96 h. [Result] The 96 h LC_{50} value of copper sulfate, formalin, fenvalerate, triazophos, thichlorfon was 1.96, 80.0, 0.002, 0.049 and 16.0 ng/L, resp. The safe concentrations in 96 h of these five drugs were 0.57, 27.2, 0.009, 0.013 and 6.9 ng/L resp., and the toxicity of these five drugs was fenvalerate > triazophos > copper sulfate > thichlorfon > formalin in turn indicating that *M. asiaticus* juvenile had some tolerance to fenvalerate, triazophos and thichlorfon. [Conclusion] This study provides the theoretical basis for rational drug application in controlling the disease during the artificial fingerling breeding of *M. asiaticus*.

Key words *Myxocyprinus asiaticus* Juvenile; Acute toxicity; Median lethal concentration; Safe concentration

在鱼类增养殖过程中, 为了进行池塘消毒、疾病防治等工作, 经常使用硫酸铜等水产药物。同时, 随着工业和农业生产的发展, 三唑磷等农药的用量不断增加, 但这些农药在施用过程中仅有1%左右作用于目标生物, 大量残余的农药留于土壤中并通过雨水冲刷等途径进入水体^[1-2], 特别是鱼类养殖水域。由于水产药物剂量使用不当和农药残余而导致养殖鱼类中毒死亡, 对水产养殖业和休闲渔业造成了严重的危害。

胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus* Juvenile) 是一种价值极高的大型观赏鱼, 在国内外具有良好的市场前景, 同时, 胭脂鱼对水质的敏感度较高, 水质的好坏特别是水中有毒物质的存在会影响其生理生长指标和死亡率。目前, 关于水产药物对胭脂鱼幼鱼的急性毒性试验尚未见报道, 因此, 该研究采用常温半静态急性毒性试验, 开展硫酸铜、甲醛、氰戊菊酯、三唑磷、敌百虫等常用水产药物对胭脂鱼幼鱼的毒性研究, 旨在为胭脂鱼人工苗种繁育过程中养殖水域的水质毒性检测和病害防治中的合理用药提供了理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 试验用鱼。取自厦门海洋职业技术学院胭脂鱼育苗专养池塘当年繁育的胭脂鱼幼鱼。规格为体长(3.3 ± 0.3) cm, 体重(0.88 ± 0.15) g。试验鱼起捕后立即移入该塘2 m × 2 m × 1 m 的简易网箱内暂养12 d 后, 挑选无伤病的健壮个体作为试验对象, 放入与试验相同理化条件的环境下驯养7 d, 备用。

1.1.2 试剂。硫酸铜(蓝色粉末或晶体), 购自安徽省淮南

市化学试剂厂; 甲醛(液体, 31% ~ 40%), 购自上海华东试剂公司; 氰戊菊酯(乳油), 购自上海农药厂; 三唑磷(20% 乳油), 购自武汉汉南同心化工有限公司; 敌百虫, 购自上海亚泰农贸有限公司。将受试农药的贮备液稀释成一定浓度的试验液, 试验时现用现配。

1.1.3 试验用水 经24 h 以上自然曝气的自来水, 水温(23 ± 1) °C, pH 值为7.1 ~ 7.4, 试验期间连续充气。

1.2 试验方法 采用常温半静态停食试验法, 开展急性毒性试验。参考已报道的其他相关资料^[3-5], 经预试验, 确定各试验药物的浓度范围(使胭脂鱼幼鱼全部死亡的最低浓度和96 h 全部存活最高浓度)后, 按等差间距法设置若干质量浓度梯度组, 每个浓度组设3 个平行组, 以自然状态组为空白对照^[6]。每个质量浓度梯度组及空白对照组均随机放入胭脂鱼幼鱼10 尾, 以规格60 cm × 60 cm × 60 cm 的白色泡沫箱为试验容器, 试验液体积为20 L (按2 L 试验液1 g 鱼)。为减少试验容器对试验药物的吸附, 试验前用相应的试验药物浓度浸泡试验容器12 h。试验光暗比12 h/12 h。

试验开始前24 h 停止喂食, 试验期间不喂食。试验开始后, 每24 h 更换1 次试验液。连续观察受试对象的活动状况, 及时取出死亡个体(没有任何肉眼可见的运动, 触碰鱼体无反应), 分别在24、48、72 和96 h 后记录死亡数, 计算平均死亡率, 再转换成概率单位, 计算出试验液质量浓度对数^[7]。鱼中毒死亡的标准是呼吸停止并对外界刺激无反应, 即中毒后鳃盖完全停止活动且鱼体对外物(如玻璃棒或镊子)刺激30 s 内没有产生反应确定为死亡^[8]。

1.3 数据处理 根据试验药物对胭脂鱼幼鱼的急性毒性试验结果, 采用直线内插法, 以浓度的常用对数为横坐标, 死亡率的概率单位为纵坐标, 求出概率单位与试验液质量浓度对数的回归方程, 分别求出5 种药物作用下胭脂鱼幼鱼24、48、72 和96 h 的半致死浓度 LC_{50} ^[9], 并计算各种药物对胭脂

基金项目 厦门市科技创新项目(3502Z2006302); 福建省海洋与渔业局科技项目(闽海渔科(2007) 001 号)。

作者简介 陈昕(1978 -), 男, 江西上饶人, 硕士, 助教, 从事环境科学、水产养殖研究。

收稿日期 2008-07-11

鱼幼鱼的安全浓度^[10],安全浓度的常用计算公式:

$$SC = 0.3 \times 48 \text{ h } LC_{50} / (24 \text{ h } LC_{50} / 48 \text{ h } LC_{50})^2$$

在计算氰戊菊酯和三唑磷的浓度时,先将其乳油换算成有效的实际含量,再乘以密度得到通常使用的 mg/L 单位。

2 结果与分析

2.1 胭脂鱼幼鱼对 5 种药物的中毒症状及致死情况 胭脂鱼幼鱼在 5 种药物试验液的不同试验质量浓度下均表现出不同程度的中毒反应。试验初期,5 种药物低质量浓度组的幼鱼在容器底部水层集群缓慢游动,与对照组基本相似,无异常行为;而高质量浓度组幼鱼放入容器后即表现得急躁不安,呼吸频率加快且不规则,跳跃撞壁,快速游动并上浮,集群现象立即消失。随着时间的延长试验鱼活力逐渐减弱,出现侧躺现象,对外界刺激反应也变得较为迟钝。试验期间,随着中毒程度的提高,试验幼鱼开始出现鱼体出血,鳃盖外翘,呼吸频率降低,体色变黑等中毒症状,最终沉入容器底部,直至死亡。具体表现为:硫酸铜的浓度为 11.2 mg/L 时,30 min 后试验鱼出现明显中毒现象,幼鱼急剧狂游,撞击器壁,逐渐游动缓慢,身体扭曲变形,1 h 后开始死亡,10 h 后死亡率达 100%;浓度为 5.6 mg/L 时,1 h 后试验鱼游动缓慢,并开始上浮,19 h 后死亡率达 100%;浓度为 2.8 mg/L 时,8 h 后试验鱼有轻微的中毒现象,22 h 后开始死亡;浓度为 1.4 mg/L 时,40 h 后开始死亡;浓度为 0.7 mg/L 时,69 h 后开始死亡。

甲醛浓度为 160 mg/L 时,2 h 后出现中毒症状,试验鱼呈现不安,呼吸困难,游动缓慢,6 h 后开始死亡,18 h 死亡率达 100%;浓度为 80 mg/L 时,32 h 开始死亡;浓度为 40 mg/L 时,46 h 开始死亡;浓度为 20 mg/L 时,68 h 开始死亡,96 h 死亡率为 10%;浓度为 10 mg/L 时,96 h 内试验鱼没有出现死亡。

氰戊菊酯浓度为 0.005 5 mg/L 时,10 min 后即出现中毒症状,试验鱼上下急窜,漂于水面不久即沉下水底,30 min 后出现死亡,5 h 后死亡率达 100%;浓度为 0.003 8 mg/L 时,1 h 后出现死亡;浓度为 0.002 6 mg/L 时,80 min 开始出现中毒症状,呼吸变缓,100 min 出现死亡;浓度为 0.001 8 mg/L 时,6 h 出现死亡;浓度为 0.001 2 mg/L 时,56 h 出现死亡,96 h 死亡率为 20%。

三唑磷浓度为 0.10 mg/L 时,15 h 出现死亡,96 h 死亡率为 90%;浓度为 0.08 mg/L 时,20 h 出现死亡;浓度为 0.05 mg/L 时,22 h 出现死亡;浓度为 0.03 mg/L 时,32 h 出现死亡;浓度为 0.01 mg/L 时,64 h 出现死亡。

敌百虫溶液浓度为 64 mg/L 时,4 h 后出现中毒症状,试验鱼狂游,行动变缓,7 h 后出现死亡,96 h 死亡率为 100%;浓度为 32 mg/L 时,17 h 出现死亡;浓度为 16 mg/L 时,20 h 出现死亡;浓度为 8 mg/L 时,70 h 出现死亡;浓度为 4 mg/L 时,96 h 内试验鱼没有出现死亡。中毒鱼死前数小时呼吸频率明显加快,达 100 次/min。

由表 1 可知,随着试验药物质量浓度的升高和试验时间的延长,5 种试验药物对胭脂鱼幼鱼的急性毒性效应均明显增强,幼鱼死亡率也明显升高。

2.2 5 种药物对胭脂鱼不同时间段的死亡率和半致死浓度 5 种药物在相同试验时间条件下,不同试验质量浓度梯度组的致死效果存在显著差异,通过建立概率单位—质量浓

度回归方程,均显示出较好的正相关性。由表 2 可知,三唑磷与敌百虫对胭脂鱼幼鱼的半致死质量浓度 LC_{50} 值,随着时间的延长而减少,表明它们的致毒能力均随着时间的延长而增强,存在较为明显的蓄积急性致毒效果;而硫酸铜、甲醛和氰戊菊酯对胭脂鱼幼鱼的半致死质量浓度 LC_{50} 值在 48 ~ 96 h 时间段内,随试验时间的延长无显著变化(分别维持在 1.96 mg/L, 80.0 mg/L 和 0.002 mg/L),表明胭脂鱼幼鱼在 48 h 内对这 3 种药物具有一定的抗药性。各试验时间段 LC_{50} 值由高至低均依次为甲醛、敌百虫、硫酸铜、三唑磷、氰戊菊酯。

表 1 5 种药物对胭脂鱼幼鱼不同时间段的死亡率

Table 1 Mortality of *Myxocyprinus asiaticus* par at different peidd by using 5 kinds of drugs

药物名称 Drug name	浓度 ng/L Concentration	死亡率 Mortality %			
		24 h	48 h	72 h	96 h
硫酸铜 Copper sulfate	11.2	100	100	100	100
	5.6	100	100	100	100
	2.8	10	40	70	70
	1.4	0	20	30	30
	0.7	0	0	10	20
甲醛 Formaldehyde	160	100	100	100	100
	80	0	10	40	40
	40	0	10	10	30
	20	0	0	10	10
	10	0	0	0	0
氰戊菊酯 Fenvalerate	0.005 5	100	100	100	100
	0.003 8	40	60	60	80
	0.002 6	20	30	50	70
	0.001 8	10	10	30	40
	0.001 2	0	0	10	20
三唑磷 Tiazophos	0.10	40	60	80	90
	0.08	20	40	50	60
	0.05	10	20	30	50
	0.03	0	10	10	20
	0.01	0	0	10	10
敌百虫 Dipterex	64	70	100	100	100
	32	30	40	60	80
	16	10	10	30	50
	8	0	0	10	10
	4	0	0	0	0

表 2 5 种药物对胭脂鱼的半致死浓度和安全浓度

Table 2 Medianlethal concentration and safe concentration of 5 kinds of drugs to *M. asiaticus*

药物名称 Name of drugs	硫酸铜 Copper sulfate	甲醛 Formaldehyde	氰戊菊酯 Fenvalerate	三唑磷 Tiazophos	敌百虫 Dipterex
24 h LC_{50}	4.39	105.0	0.003	0.009	48.0
48 h LC_{50}	3.33	100.0	0.003	0.075	37.6
72 h LC_{50}	1.96	80.0	0.002	0.070	28.2
96 h LC_{50}	1.96	80.0	0.002	0.049	16.0
安全浓度 Safe concentration	0.57	27.2	0.000 9	0.013	6.9
毒性分级 ^[8] Toxicity grade	高毒	中毒	极高毒	极高毒	中毒

氰戊菊酯和三唑磷对胭脂鱼幼鱼的 96 h LC_{50} 值分别为 0.002 和 0.049 mg/L,均属于极高毒性药物;硫酸铜对胭脂鱼幼鱼的 96 h LC_{50} 值为 1.96 mg/L,属于高毒性药物;甲醛和敌

百虫对胭脂鱼幼鱼的毒性明显弱于其他 3 种药物,其 96 h LC_{50} 值分别为 80.0 和 16.0 ng/L,属于中毒性药物。根据表 2,按照公式计算可得,胭脂鱼幼鱼对硫酸铜、甲醛、氰戊菊酯、三唑磷和敌百虫的 96 h 安全质量浓度分别为 0.57、27.2、0.000 9、0.013 和 6.9 ng/L。5 种药物对胭脂鱼幼鱼 96 h 的 LC_{50} 值以及安全浓度的结果表明,它们对胭脂鱼幼鱼的毒性大小依次为氰戊菊酯、三唑磷、硫酸铜、敌百虫、甲醛。

3 讨论与结论

近年来福建省的闽江水系由于受工业和农业污水的污染等原因,导致胭脂鱼资源枯竭;长江水系由于建坝和渔民过度捕捞等原因,天然的胭脂鱼已极为稀少。该研究通过常温半静态急性毒性试验法开展硫酸铜、甲醛、氰戊菊酯、三唑磷、敌百虫等常用水产药物对胭脂鱼幼鱼的毒性研究,目的是为胭脂鱼人工苗种繁育过程中养殖水域的水质毒性检测以合理的用药剂量提供相关参考依据。

硫酸铜是鱼类苗种繁育过程中广泛应用的鱼病防治药物,它是重金属,能与蛋白质结合,使蛋白质沉淀,同时 Cu^{2+} 易于某些酶的巯基结合,使酶失去活性从而具有抗病原体的作用。研究表明,随着水体的不同,Cu 的三态离子浓度数值常可相差 1~2 个数量级,因而用硫酸铜来防治鱼病要根据水体的水质状况并精确计算水体容积,保证用药量的适当,防止对养殖鱼类产生毒害。该研究中硫酸铜对胭脂鱼幼鱼的 96 h LC_{50} 值为 1.96 ng/L,属于高毒性药物,建议在鱼苗放养前,可用低浓度硫酸铜浸洗鱼体 10 min。

甲醛能凝固蛋白质并溶解脂类,与蛋白质的氨基酸结合使其变性,具有广谱性杀菌和原生动物的作用,因此广泛应用于水产动物疾病防治^[11]。该研究中甲醛对胭脂鱼幼鱼的 96 h LC_{50} 值为 80 ng/L,属于中毒性药物,可作为胭脂鱼幼鱼疾病防治药物。建议在使用甲醛后再施加抗生素,会得到更好的治疗效果。

有机磷农药对淡水鱼类的致毒作用主要是通过对其乙酰胆碱酯酶(AchE)活性中心的丝氨酸进行羟基磷酸化,抑制 AchE 活性^[5],且抑制的程度随着浓度的增加或致毒时间的延长而增加,造成乙酰胆碱积累,运动神经信息传递受阻,活动障碍,最后导致死亡来实现的。在水产养殖中,三唑磷常被作为清塘杀菌和消除敌害的药物使用,对水域生物有较强

的杀灭效果。科学合理地控制有机磷农药进入水域的途径及水体农药浓度限量,为胭脂鱼养殖提供安全的生存环境,对于保障水域生态安全和胭脂鱼的正常生长与繁殖无疑具有极为重要的现实意义。该研究中三唑磷对胭脂鱼幼鱼的 96 h LC_{50} 值为 0.049 ng/L,属极高毒性药物,说明胭脂鱼幼鱼对其极为敏感,应当慎用;敌百虫对胭脂鱼幼鱼的毒性明显弱于三唑磷,其 96 h LC_{50} 值为 16.0 ng/L,属中毒性农药,表明胭脂鱼幼鱼对其较敏感。

菊酯类农药是一类人工合成与天然除虫菊素的化学结构相似的杀虫药。它通过鱼体表皮和鳃部进入鱼体,作用于鱼类的神经系统,使鱼类首先出现兴奋后又麻痹继而死亡。菊酯类农药具有速效、高效、低毒、低残留,对作物安全等特点,是我国开发的第三代新型农药,逐步取代三唑磷等高毒农药,广泛用于农业生产。但是菊酯类农药和有机磷农药一样,对鱼类仍属于高效高毒,而且作用迅速,致死率高,对渔业生产造成很大危害。该研究中氰戊菊酯对胭脂鱼幼鱼 96 h 的 LC_{50} 值为 0.002 ng/L,也属极高毒性农药,胭脂鱼幼鱼对其极为敏感,在胭脂鱼幼鱼的增养殖过程中均应予以重点监控。胭脂鱼幼鱼对氰戊菊酯、三唑磷、敌百虫的 96 h 安全质量浓度分别为 0.000 9、0.013 和 6.9 ng/L,均远高于渔业水质标准所规定的相应限量指标,表明胭脂鱼幼鱼对氰戊菊酯、三唑磷、敌百虫具有一定的耐受性。至于这 5 种常用水产药物在胭脂鱼幼鱼体内的蓄积与降减特征尚有待进一步研究。

参考文献

- [1] LIUF Z. Negative effects and hazard of pesticides to natural environment and human society[J]. Shandong Environ, 1998, 85: 70.
- [2] SHENG X, YANG A, PENG J L, et al. Ecotoxicology of pesticides to algae[J]. Adv Environ Sci, 1999, 7(6): 131-139.
- [3] 王明学, 周志刚. 鱼类急性毒性实验基本要求的探讨[J]. 内陆水产, 1998, 23(9): 26-27.
- [4] 张娜. 鱼类急性毒性实验及其条件选择[J]. 水利渔业, 1999, 19(6): 6.
- [5] 王卫民, 严安生, 周立国, 等. 四种药物对黄颡鱼鱼种的毒性试验[J]. 淡水渔业, 2001, 31(6): 49-51.
- [6] 杨莺莺, 陈毕生, 陈福华, 等. 5 种常用水产药物对网纹石斑鱼的急性毒性试验[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10(1): 93-96.
- [7] 惠秀娟. 环境毒理学 M. 北京: 化学工业出版社, 2003: 266-276.
- [8] 周凤霞. 生物监测 M. 北京: 化学工业出版社, 2006: 99-112.
- [9] 熊治延. 环境生物学 M. 武汉: 武汉大学出版社, 2000: 132-137.
- [10] 戴家银, 郑微红, 王淑红. 重金属和有机磷农药对其真鲷和平鲷幼体的联合毒性研究[J]. 环境科学, 1997, 18(5): 44-46.
- [11] 黄琪琰. 水产动物疾病学 M. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 56-57.
- [12] HOKAMA Y, KOCA N, YOSHIMURA H. Purification and characterization of two forms of chicken liver cytochrome P450 induced by 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl[J]. Biochem J, 1988, 104: 355-361.
- [13] GUPTA RP, LAPADULA DM, ABOU DONIA MB. Purification and characterization of cytochrome P450 isozymes from naphthoflavone-induced adult hen liver[J]. Arch Biochem Biophys, 1990, 282: 70-182.
- [14] LORR NA, BLOOMS E, PARKS S, et al. Evidence for a PCNP450 enzyme in chickens and comparison of its development with that of other phenobarbital-inducible forms[J]. Mol Pharmacol, 1989, 35: 610-616.
- [15] JUDITH MJACOBS, CALEN NICHOLS, DOREEN MAREK. Effect of arsenite on the induction of CYP1A4 and CYP1A5 in cultured chick embryo hepatocytes[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2000, 168(3): 177-182.
- [16] WARD A M. Inactivation of chick embryo hepatic cytochrome P450 1A, 2H and 3A following in vivo administration of 5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-ethylpyridine 3-[2-(2,4,6-trimethylphenyl)thioethyl]-4-methylsulfone[J]. Biochemical Pharmacology, 1995, 49(10): 1443-1452.
- [17] HUANG Y R, WEI G L, XIAO S H, et al. Studies on pharmacodynamics and its biochemical mechanism of uracil-uracil mixture for treating children's hyperactivity syndrome by metabonomic method[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2005, 36(3): 301-305.
- [18] 唐秀梅, 熊志立, 刘惠平, 等. 代谢组学策略研究淫羊藿的药效物质基础及作用机制 Q. 第八次全国药物与化学异物代谢学术会议论文摘要, 2006.
- [19] 赵剑宇, 颜贤忠, 彭双清. 关木通肾毒性的代谢组学研究[J]. 中草药, 2006, 37(5): 725-730.
- [20] 贺福元. 中药复方药物动力学数学模型的建立及对补阳还五汤的研究 D. 成都: 成都中医药大学, 2006.
- [21] 甘洪全. 冠心 II 号的药动学-药效学研究 D. 西安: 第四军医大学, 2004.
- [22] 陈琼, 冬雪川, 师少军, 等. 蝙蝠葛苏林碱和蝙蝠葛碱犬体内药动学-药效学结合研究[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(5): 366-369.
- [23] 王宇红, 蔡光先, 张水寒, 等. 心宁缓释片在犬体内的药动学-药效学研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(2): 82-85.

(上接第 9555 页)