

甲基藍與孔雀綠對鰻池生物之毒性研究

陳弘成 張金豐*

Studies on the Toxicity of Methylene Blue and Malachite Green to Some Aquatic Organisms in Eel Ponds

Hon-Cheng Chen and Chin-Feng Chang

Abstract

Methylene blue and malachite green were generally used to control and to cure the protozoa and parasitic diseases found in eel-cultured ponds. Therefore, it is necessary to study the acute toxicity and chronic effects of both chemicals on the eel (*Anguilla japonica*) and some other aquatic organisms which were found abundant in eel ponds, such as mud loach (*Misgurnus anguillicaudatus*), cladocera (*Daphnia* sp.) and green algae (*Scenedesmus* sp.) for safe treatment. The results were summarized as follows:

1. Toxicity of methylene blue and malachite green to juvenile eel, mud loach fry and *Daphnia* increased with an increase in concentration. In all cases, malachite green was found to be more toxic than methylene blue.
2. Toxicity of methylene blue to above mentioned aquatic animals differed from that of malachite green. Juvenile eel and *Daphnia* were the most tolerant to the toxic action of methylene blue and of malachite green respectively, with the mud loach fry being the least.
3. 0.5 ppm methylene blue was found to have an inhibiting effect on growth and a decreasing effect on food consumption of juvenile eel. Moreover, it could also increase the oxygen consumption and elevate the incipient limiting tension (I.L.T.) of dissolved oxygen.
4. For the long-term treatment of eel diseases in growing out ponds, it was suggested that the concentration of methylene blue used be less than 0.5 ppm. However, in the short-term treatment the concentration must be kept below 10 ppm.
5. High concentrations of methylene blue and malachite green had significant inhibition effects on growth of green algae, *Scenedesmus* sp. However, at low concentrations (0.1 ppm methylene blue, 0.1 and 0.3 ppm malachite green) it was of interest to find that the algal growth was increased.
6. Methylene blue and malachite green also showed significant effects on fecundity and reproduction of *Daphnia* sp. The higher the concentrations,

* 國立台灣大學動物學研究所

Institute of Zoology, National Taiwan University.

the less the fecundity and the reproduction.

7. It is suggested that the dissolved oxygen of methylene blue-containing water be maintained to a high level for the purpose of safe, while in medicated bath.

緒 言

水產養殖業者時常在養殖期間及分池放養時使用甲基藍、孔雀綠、福馬林等治療藥劑 (Therapeutic compounds) 來治療魚體的水黴病、白點病或其他寄生蟲性疾病。同時亦常使用此類的藥劑來防止疾病的發生 (Cross, 1972)。但是欲有效的利用這些治療藥劑時，必先認識藥劑對魚體本身的毒性，同時藥物對於水質的影響及對有關生物之毒性，亦需要了解。藥物的毒性一般隨著暴露時間、生物種類、水質及濃度的不同而有差異 (Chen et al., 1979)。鰻的養殖在臺灣水產業上佔有重要的地位，養殖業者常常使用甲基藍與孔雀綠來藥浴以預防疾病的發生或者治療疾病。然而這些藥浴的實施與使用對於鰻魚 (*Anguilla japonica*) 和鰻池其他生物 (如泥鰍, *Migurnus anguillicaudatus*, 水蚤, *Daphnia sp.*) 與水質的影響，尚缺乏明確資料與數據。因此本文乃研究及探討這些藥物之毒性，如此才可保障池魚安全及節省藥物之使用量。

材 料 與 方 法

A. 急速毒性試驗

1. 甲基藍與孔雀綠對鰻苗的急速致死

因係急速毒性故所用藥劑的濃度都較高。甲基藍與孔雀綠所使用的濃度分別為 1000, 330, 100, 33, 10, 3.3 和 100, 33, 10, 3.3, 1, 0.33 ppm。鰻苗購於宜蘭民間養殖場，體長為 10~16 cm 之間，試驗前先在室中馴育 2 個星期，試驗時將不同濃度的甲基藍與孔雀綠溶液配製成 1L 並置於 2L 燒杯中，每組放入鰻苗 12 尾。試驗期間溫度維持在 24~27°C 之間，試驗時隨時觀察及清除死亡的鰻苗，並記錄死亡情形。

2. 甲基藍與孔雀綠對泥鰍苗的急速致死

甲基藍與孔雀綠使用濃度各為 100, 33, 10, 3.3, 1, 0.33 ppm。配製不同濃度的甲基藍與孔雀綠溶液 200 ml 置於 500 ml 燒杯中。每組放入卵黃剛回收泥鰍苗 12 尾。泥鰍苗為在實驗室中以人工催產孵化所得，實驗期間溫度控制在 24°C，觀察與記錄情形和鰻苗者相同。

3. 甲基藍與孔雀綠對水蚤的急速致死

甲基藍使用濃度為 330, 100, 33, 10, 3.3, 1 ppm 孔雀綠濃度為 33, 10, 3.3, 1, 0.33, 0.1 ppm，試驗時先配製不同濃度的甲基藍與孔雀綠溶液 200 ml 置於 500 ml 燒杯中，每組放入水蚤 12 隻。水蚤是在實驗室中培養的 *Daphnia sp.*，培養期間則餵以綠藻 (*Chlorella sp.*)。

上述急速毒性試驗期間因試驗生物體甚小，溶液中溶氧足夠需要，故不打氣，同時亦不予餵食，每組並以二重覆試驗之。由觀察所得數據做出一條累積曲線 (Cumulative curve)，然後依照 Brown & Ashanullah (1971) 的方法，在半對數紙上求出 LT_{50} 值 (在某種濃度下，生物因毒物之作用而引起半數死亡所需之時間之謂也)。

B. 慢性毒性試驗

1. 甲基藍對鰻苗生長影響

將購於民間養殖場的鰻苗，其體長在 16.5~17.6 cm 先放在實驗室中馴育二星期，後將其分組

分別飼育於甲基藍濃度為 0, 0.5, 2, 8 ppm 的水溶液中，每組放入鰻苗 25 尾，使用水量為 600，裝置打氣設備，開始時餵以紅虫，視情形以鰻粉和紅虫混合餵食，每隔五天更新溶液一次，每十天測量鰻苗體重、體長，試驗期間為 40 天，試驗時溫度在 25.8~29°C。

2. 甲基藍對鰻苗呼吸量影響

將鰻苗放入各種甲基藍濃度為 0, 1, 3, 6 及 10 ppm 的溶液中，利用 Delta, D.O. meter 測定其氧氣消耗量，並同時記錄其開始限制濃度 (Incipient Limiting Tension)，試驗期間溫度在 22°C 左右。

3. 甲基藍對鰻苗攝食量影響

分別飼育鰻苗在甲基藍濃度為 0, 0.5, 2.5, 5 及 8 ppm 溶液中，其體長在 16.5~17.6 cm 之間，先在實驗室馴育餵食紅虫二星期，試驗時將每組鰻苗 10 隻分別放入，每組放入等量的紅虫餵食，經過 12 小時取出鰻苗過濾稱量剩餘紅虫之重量，同時以相同步驟做一不放鰻苗的對照試驗，兩者相差求得鰻苗的攝食量，各濃度下之攝食量則以在控制組的百分比攝食量表示之。

4. 甲基藍與孔雀綠對藻類 (*Scenedesmus* sp.) 生長影響。

配製不同的甲基藍與孔雀綠濃度為 0, 0.1, 0.33, 1, 3.3, 10 ppm 各 300 ml，然後置於 500 ml 錐形瓶中，加入培養基和綠藻藻種開始培養，照度維持在 3000 Lux，並給予打氣，水溫約為 24°C，試驗期間以血球計算器 (Hemocytometer) 測定其個體數。

5. 甲基藍與孔雀綠對水蚤孕卵數之影響

將甲基藍與孔雀綠濃度為 0, 0.033, 0.1 及 0.33 ppm 的溶液 200 ml 放入 500 ml 燒杯中，每組放入未成熟水蚤 10 隻，同時放入足夠量的綠藻類，每隔 3 天更新溶液一次，經過 10 天採捕已成熟的水蚤，並用 3% 福馬林固定，再解剖計算孵卵囊中未孵出幼體個數，試驗期間溫度在 20~22°C。

6. 甲基藍與孔雀綠對水蚤生產量影響

配製甲基藍與孔雀綠濃度各為 0, 0.033, 0.1 及 0.33 ppm。溶液 10 置於 20 燒杯中，加入足夠量的綠藻類，每組放入成熟水蚤 10 隻，每 3 天換水一次，換水時利用浮游生物網 (50 μ) 過濾，經過 14 天後計算各組內水蚤個體數，溫度維持在 20~22°C。

結 果

A. 急速毒性

1. 甲基藍與孔雀綠對鰻苗的急速毒性

圖 1 顯示甲基藍與孔雀綠對鰻苗之毒性隨著甲基藍與孔雀綠濃度的增加而增加，即其 LT_{50} 值隨著濃度增加而減少。甲基藍的 LT_{50} 值在 100 ppm 為 100 小時，1000 ppm 為 20 小時，而孔雀綠 LT_{50} 值在 100 ppm 為 1 小時，0.33 ppm 為 20 小時，故甲基藍之毒性約為孔雀綠毒性的 $1/100 \sim 1/1000$ 。凡甲基藍濃度低於 33 ppm 時，對鰻苗即無急性致死之影響，然而孔雀綠即使低至 0.33 ppm 亦可使鰻苗在 20 小時內死亡一半。

2. 甲基藍與孔雀綠對泥鰍苗的急速毒性

甲基藍與孔雀綠對泥鰍苗之毒性，隨著濃度增加而增加，其 LT_{50} 值亦隨濃度之增加而減少 (圖二)。甲基藍 100 ppm 之 LT_{50} 值為 1 小時內，0.33 ppm 為 100 小時，而孔雀綠之 LT_{50} 值都在 5 小時內，故在高濃度時兩種藥劑之 LT_{50} 值相差較小，低濃度時相差較大，即隨著濃度的增加甲基藍對泥鰍苗的毒性急劇加大，從圖中可知二種藥劑毒性相差約為 10~33 倍。泥鰍苗比鰻苗更易受藥劑之毒害所作用。

3. 甲基藍與孔雀綠對水蚤急速毒性。

甲基藍與孔雀綠對水蚤的毒性亦與對鰻苗及泥鰍苗一樣，隨著濃度增加而增大，即水蚤的 LT_{50} 值隨濃度增加而減短（圖三）。二種藥劑之毒性仍以孔雀綠較毒，但相差不大，約在10倍以內。比較孔雀綠對三種生物的急速毒性，可發現孔雀綠在 33ppm 以下時，鰻苗及泥鰍苗比水蚤更易受此藥劑之毒性。

B. 慢性毒性

1. 甲基藍對鰻苗生長影響

甲基藍對鰻苗生長的影響和急速毒性一樣，濃度愈高毒性愈大，抑制生長的作用也愈大，尤以開始的10天內差別最大；在控制組增長 1.3cm, 0.5 ppm 組為 0.6cm, 8 ppm 組則不增長。飼育40天後體長增加在控制組為 2.78cm, 0.5ppm 組為 1.2cm, 2ppm 組為 0.99cm, 8ppm. 組為 0.8 cm, 故初期較後期影響為大。甲基藍對體重影響和對體長之影響一樣，在開始 10 天內影響最大，尤其 8ppm 組，體重未增加反而有減少現象，40天後體重之增加在控制組為 3.63g, 2ppm 組為 1.43g 而 8ppm 組則減少 0.2g（圖四）。同時 8ppm 組鰻苗有逐漸死亡的現象。

2. 甲基藍與孔雀綠對綠藻 (*Scenedesmus sp.*) 生長影響

綠藻培養在不同濃度的甲基藍與孔雀綠溶液中，七天後生長之情形如圖五所示。抑制生長之作用隨著藥劑濃度增加而加劇。在培養初期藻類生長都受抑制，然經過七天後培養於低濃度甲基藍 (0.1 ppm) 及孔雀綠 (0.1, 0.33 ppm) 的綠藻竟超過了對照組。由圖五可知在培養初期孔雀綠仍比甲基藍更具毒性，但甲基藍之抑制作用較長久，故在後期則甲基藍之毒性較孔雀綠為大。

3. 甲基藍對鰻苗耗氧量影響

鰻苗在不同溶氧及不同甲基藍濃度下，其氧氣消耗量如圖六所示。一般言之，氧氣消耗量隨著甲基藍濃度之增加而增加。鰻苗在甲基藍 3ppm 溶液下，即已明顯感覺到藥劑的毒害作用。濃度在 10 ppm 時，因其毒性甚大，已嚴重的影響到鰻苗的呼吸系統，故氧氣消耗量才開始減低，此可由鰻苗之生長在 8ppm 時即完全受到抑制而得知。至於氧氣的開始限制濃度 (I. L. T) 即是欲維持正常生活之耗氧量亦隨著甲基藍的濃度之增加而提高，在控制組為 2ppm 之溶氧，在 3ppm 組為 3.5ppm 之溶氧，在 6ppm 組則為 4.5ppm 之溶氧，因此鰻苗在甲基藍藥物存在下，環境水質要愈好才可生存。

4. 甲基藍對鰻苗攝食量影響

甲基藍亦能影響鰻苗的攝食量，鰻苗在12小時內的攝食量隨著甲基藍濃度之增加而減少（圖七）。甲基藍濃度為 0.5ppm 時攝食量為控制組的68%，甲基藍濃度升高為 2ppm 時攝食量降為50%。在生長試驗中，2 ppm 之甲基藍只能致使鰻苗微量的生長，故維持鰻苗之最低攝食量為一般正常量的50%而已。8ppm 之攝食量約接近於零，故鰻苗在生長試驗中其體重會減輕。

5. 甲基藍與孔雀綠對水蚤孕卵數影響

甲基藍與孔雀綠對水蚤孕卵數影響，除孔雀綠 0.33ppm 在 10 天內無法採捕到成熟水蚤外，其它各組都或多或少可發現成熟水蚤（表一）。將表一之結果利用變方分析得知水蚤孕卵數因藥劑濃度之不同而有顯著差異（表二及三）。但甲基藍濃度 0.033 和 0.1ppm 間無顯著差異，即甲基藍與孔雀綠會影響水蚤孕卵數，其影響受濃度高低所左右。

6. 甲基藍與孔雀綠對水蚤生產量影響

水蚤因能生殖增產，故14天後在控制組從10隻增加到 790隻。而水蚤的總數在甲基藍與孔雀綠之溶液中各組之生產量即與對照組則有相當的差別。隨著濃度之增加水蚤的生產量顯著地減少（表四）。二種藥劑不僅對總數有影響，且對於成熟與未成熟者之數目亦有相同的作用。表中亦可發現孔雀綠濃度為 0.033ppm 與 0.1ppm 時之個體總數分別與甲基藍濃度在 0.1 與 0.33ppm 之個體總數相

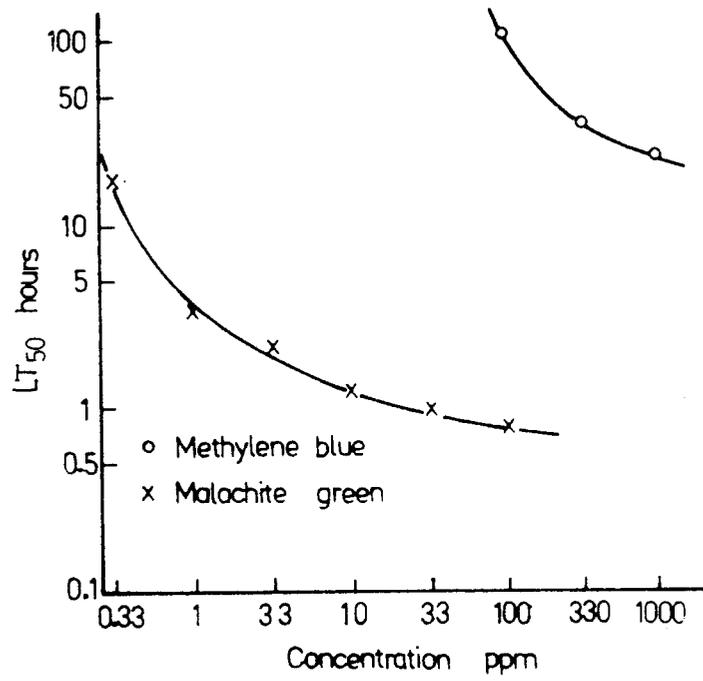


Fig. 1. Acute toxicity of methylene blue and malachite green to the juvenile eels (*Anguilla japonicus*).

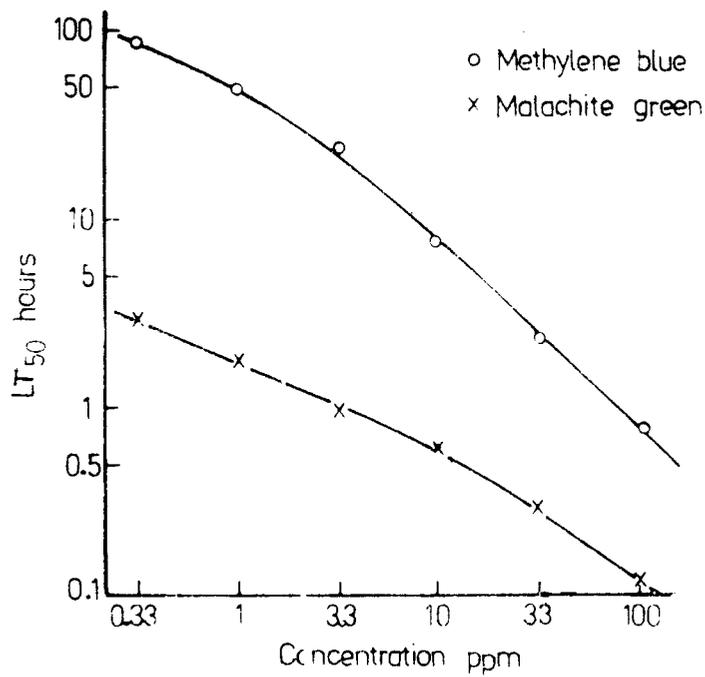


Fig. 2. Acute toxicity of methylene blue and malachite green to the larvae of mud loach (*Misgurnus anguillicaudatus*).

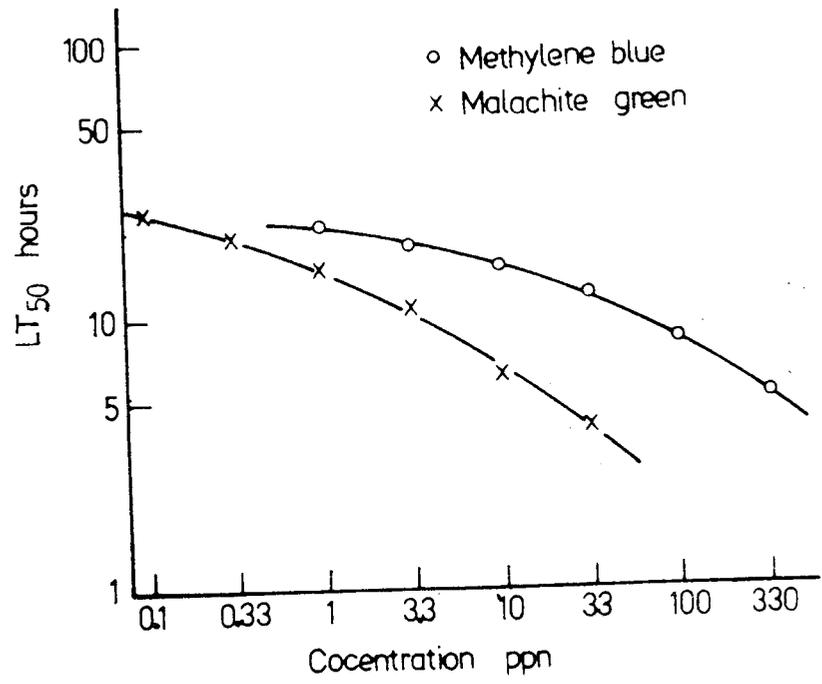


Fig. 3. Acute toxicity of methylene blue and malachite green to the cladocera (*Daphnia* sp.).

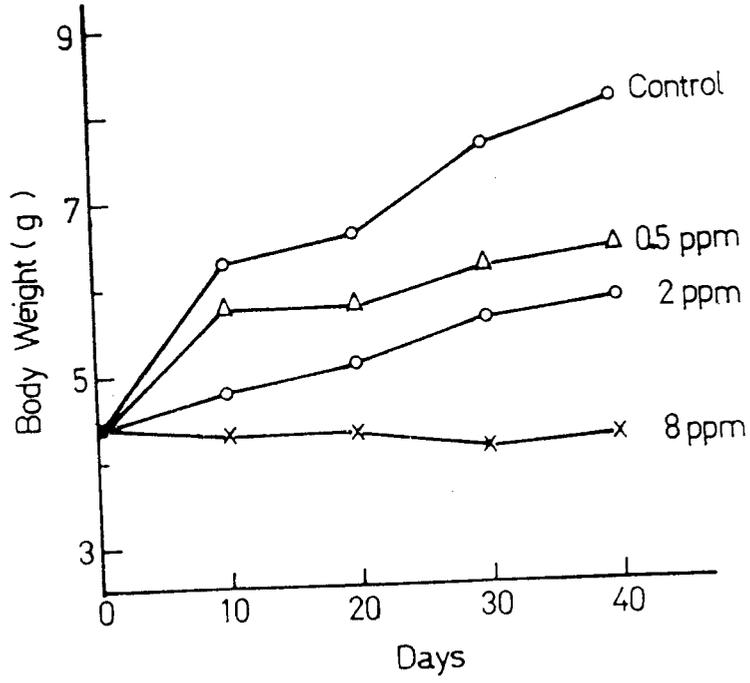


Fig. 4. Effect of methylene blue on the growth of juvenile eels.

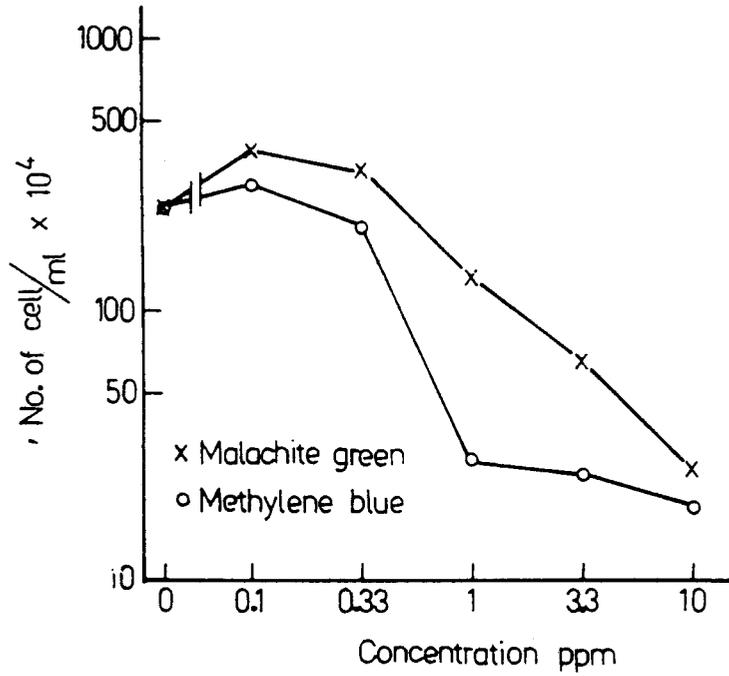


Fig. 5. Growth of the green algae (*Scenedesmus* sp.) after 7-day exposure to different concentrations of methylene blue and malachite green.

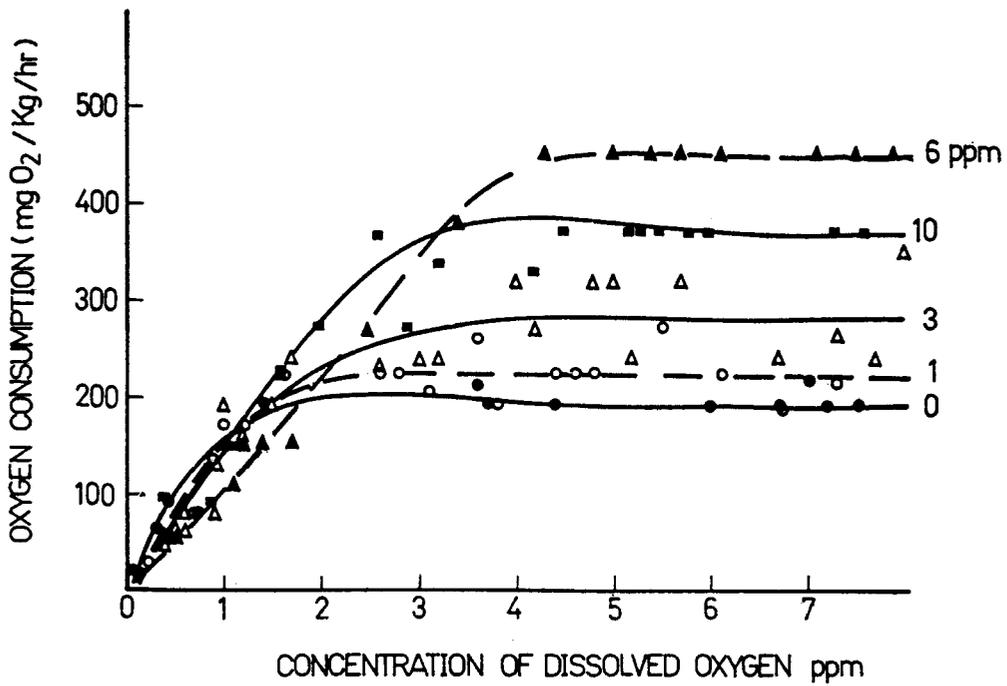


Fig. 6. Effect of methylene blue on the oxygen consumption of the eels.

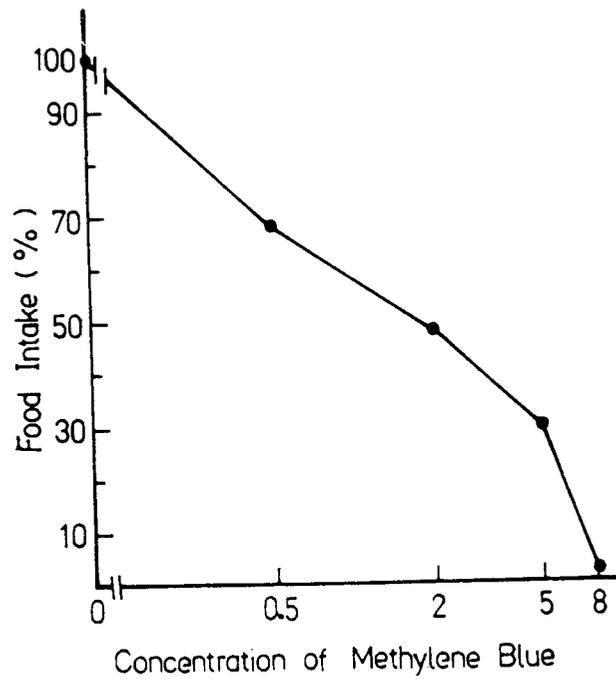


Fig. 7. Effect of methylene blue on the food consumption of the eels (*A. japonicus*).

Table 1. Effects of methylene blue and malachite green on the fecundity of *Daphnia* sp.

Treatments	Control	Methylene blue			Malachite green		
Concentrations (ppm)	0	0.033	0.1	0.33	0.033	0.1	
Number of eggs /individual	21	19	18	11	18	12	
	20	17	19	11	18	11	
	20	20	19	11	19	13	
	21	21	18	13	18	12	
	22	18	16	12	18	13	
	21	17	17	11	18	12	
	21	18	20	12	19	12	
			18		13	18	11
			17		12		
					11		

Table 2. An analysis of variance to test the significant difference in the fecundity of *Daphnia* sp. between different concentrations of methylene blue.

Source of variances	df	SS	MS	FS
Without groups	3	409	136.33	110.1**
Within groups	29	35.9	1.238	
Total	32	444.9		

** P<0.01

Table 3. An analysis of variance to test the significant difference in the fecundity of *Daphnia* sp. between different concentrations of malachite green.

Source of variances	df	SS	MS	FS
Without groups	2	316.21	158.1	376.42**
Within groups	20	8.4	0.42	
Total	22	324.61		

** P<0.01

Table 4. Effects of methylene blue and malachite green on the total number of *Daphnia* sp. produced during 14-day exposed to methylene blue and malachite green.

Treatments	Control	Methylene blue			Malachite green		
Concentrations (ppm)	0	0.033	0.1	0.33	0.033	0.1	0.33
Numbers	790	725	386	122	415	121	51

當。可知孔雀綠仍較甲基藍之毒性為大。相差為3倍，與急速毒性相似。

討論與結論

治療性藥劑對水生生物之毒性隨著其種類、濃度、試驗生物以及暴露時間的長短，水質情況而有所差異，正如結果所顯示。Leteux (1972) 發現孔雀綠對鯰魚 (Channel catfish) 的 96hr LC_{50} 值為 0.1ppm，而 Chandler (1979) 研究孔雀綠對亞洲蛤 (*Corbicula manilursis*) 的毒性時得知 96hr LC_{50} 值為 122 mg/l。在本試驗中孔雀綠對鰻苗、泥鰱苗及水蚤的急速毒性亦各不同；甲殼類之水蚤比鰻魚、泥鰱苗較具抵抗力，這和 Bills & Marking (1977) 認為無脊椎動物對孔雀綠的抵抗力較魚類為強相似。

甲基藍對水生生物的毒性，亦隨著試驗生物的種類而不同，如本試驗中三種動物在甲基藍溶液中的 LT_{50} 值都相差甚大。另外 Allison (1968) 發現甲基藍 3.5 和 10ppm 在 213 小時內都不會引起鯉魚的死亡，但對藍鰓魚 (*Lepomis macrochirus*)，則可引起 20% 之死亡率，故同是魚類其差別亦很大。比較二種藥劑的毒性則知甲基藍對鰻苗，泥鰱及水蚤毒性較孔雀綠為小，此結果與 Cross (1972) 認為甲基藍的毒性較孔雀綠為小者相符合。但兩者間毒性的差距則隨著生物種類及不同的濃度而有些微小的變化。

藥物的毒性不祇在於急速的致死，量微時亦會造成生物體內的損害如生殖、生長及呼吸等機能的影響，同時藥劑在生物體內有累積現象，量少時經長時間的暴露亦會造成死亡。所以其慢性影響之研究亦很重要，在本試驗中甲基藍之毒性對於生長、氧氣消耗量及攝食量都具有相同的作用。故可由攝食量或氧氣消耗量來判斷藥物之毒性及安全使用的濃度，不僅可節省長期飼育所浪費的時間，同時還有更高的可靠性。

藻類的生長常受到溫度，光度和其他因素所影響，多量的甲基藍因其毒性甚大，固然可以殺死植物 (Duijn, 1973)，但少量的孔雀綠及甲基藍因仍有毒性亦會使藻類的成長受抑制，同時甲基藍和孔雀綠呈現的顏色不同，對光度的影響有差別。甲基藍顏色較深，若施用於鰻池時其藍色仍可維持一、二星期，可知不易分解能維持較長時間，故對藻類的生長影響較大。孔雀綠之毒性可由光照而加強 (Duijn, 1973)，但在一般魚池若施用孔雀綠則幾天即不具綠色，故知易於氧化分解，使毒性減低。多種有機物，污染物或藥劑如油污、清潔劑、除油劑當分解後即可促進藻類的生長 (陳, 1979)。甲基藍 0.1ppm 及孔雀綠 0.1 與 0.33ppm 者經過分解作用後亦能供應藻類生長之用，而使藻類生長在七天後超越了對照組。至於常取代甲基藍使用的硫酸銅，只可使藍綠藻的數量在 25 天後回復到和控制組一樣而不超過 (Crane, 1963)。

水蚤的生殖，成數與繁殖受到環境因素影響很大，當環境差時會行有性生殖或產生越冬卵來維持種的生存，故其族羣大小受孕卵數的多寡、產卵間隔的長短及死亡率的高低所影響。本試驗中 0.33 ppm 孔雀綠能抑制水蚤的成熟，即表示孔雀綠對水蚤產卵間隔有顯著的影響，同時孔雀綠亦能影響水蚤的孕卵數，因此可以預見水蚤在此濃度下生長，其族羣量會愈來愈少或甚至完全絕種。在養鰻池中適量的水蚤對於池塘管理則有幫助，因它們能控制藻類的適度繁殖，而且能吸收一些水中過剩的腐敗殘餌，對於水質的維護有不可磨滅的功效，因此施用藥物的時間都不可太長。

毒物對生物影響主要在於破壞生物的表皮細胞和組織，同時可能與酶、細胞膜或其他特殊部位相結合，而使正常的生理機能受到抑制。孔雀綠進入魚體內雖能促使血紅素的增多，但同時也刺激鰓分泌使鰓葉加厚，影響魚體的呼吸 (Grizzle, 1977)。鰻苗的 I.L.T. 隨著甲基藍濃度之增加而提高，此種提高可能為鰓葉加厚或呼吸系統受到損傷所致。為了要維持生物體的正常活動必須增加代謝量，故其耗氧量增加。但藥物超過一定界限後魚體就無法調節適應，促使呼吸量減低。

由上可知甲基藍和孔雀綠在高濃度時對於鰻苗及鰻池之其他生物都具有急速毒害，而低濃度長期

使用時，則會引起鰻苗生理機能之變化如生長的抑制及攝食量之減低。故在預防或治療鰻病時如為短期的藥浴，則甲基藍用量濃度應在 10ppm 以下，長期預防時則濃度不應超過 0.5ppm，若鰻苗已罹疾病，其抵抗藥物的能力減低，則甲基藍的用量濃度當更低，以維護鰻魚的安全。有些漁民常因劑量使用錯誤導致池鰻大量死亡，目前一般養殖業者常用濃度為 5ppm，此濃度似乎祇可用在短期藥浴，以免造成損失。至於孔雀綠本係染料用於染蚊帳等物用，雖然目前使用較少，但其毒性較甲基藍為大，使用濃度要降低至 0.1ppm 或更低，才合乎安全原則。同時在使用此二種藥劑時，因藥劑不但能增加鰻魚之耗氧量及提高急速毒性限制濃度，還能使藻類死亡，如此可能引起缺氧狀況，故投藥及藥浴時必須設法提高水中溶氧的濃度，這些是需要特別注意的。

摘 要

甲基藍和孔雀綠是養殖業者常用於治療寄生性疾病及水霉病的治療藥劑，爲了要瞭解使用這兩種藥劑時對鰻魚及鰻池內生物的毒害及其對水質之影響，而從事本研究工作。茲將所得結果列敘如下：

1. 甲基藍和孔雀綠對鰻苗、泥鰻苗及水蚤的急速毒性，隨著濃度之增高而增加，二種藥劑中孔雀綠較甲基藍更具毒性。

2. 甲基藍與孔雀綠之毒性隨著生物種類的不同而有差異。以孔雀綠而言，水蚤比鰻苗、泥鰻苗具有較高抵抗力；但對甲基藍的抵抗力則依鰻苗、水蚤、泥鰻苗之次序而遞減。

3. 0.5ppm 甲基藍能抑制鰻苗的生長，減低攝食量及增加氧氣消耗量，並提高溶氧的開始限制濃度 (Incipient Limiting Tension)。

4. 甲基藍不僅在高濃度時甚具毒性，低濃度時仍有毒性，能引起慢性影響，故甲基藍長期使用於鰻病治療時其濃度以不超過 0.5ppm 較具安全性；至於短期藥浴，則不得超過 10ppm。

5. 高濃度之甲基藍和孔雀綠對綠藻 (*Scenedesmus sp.*) 之生長有抑制之作用，但低濃度時即甲基藍 0.1ppm，孔雀綠 0.1 及 0.33ppm 在培養後期有促進綠藻生長之功效。

6. 水蚤孕卵數和生產量受甲基藍與孔雀綠影響，濃度愈高抑制情形愈大，孔雀綠對水蚤毒性約爲甲基藍的 3 倍。而二種藥劑對生物之安全濃度當在 0.033ppm 之下。

7. 藥浴使用時，必須設法提高水中的溶氧濃度，以避免鰻魚大量死亡。

謝 辭

本研究經費係由農發會魚病防治計劃下補助之。研究期間承蒙動物所郭光雄教授及農發會漁業組李媽彬技正之鼓勵與支持，本研究室之各位同仁及研究生之協助而得完成。特此致謝。

參 考 文 獻

1. Allison, R. 1968. New control methods for *Ichthyophirius* in ponds. FAO Fisheries Report, 44(5): 389-392.
2. Bills, T.D., and L.L. Marking 1977. Malachite Green: Its Toxicity to Aquatic Organisms, Persistence and Removal with Activated Carbon. Invest. Fish. Control, 75: 1-6.
3. Brown, B., and M. Ashanullah 1971. Effect of heavy metals on mortality and growth. Mar. Pollut. Bull., 3: 182-188.
4. Chandler, J. H. Jr. 1979. Toxicity of fishery chemicals to the Asiatic Clam, *Corbicula manilensis*. Prog. Fish-Culturist, 41(3): 148-151.
5. Chen, H.C., and C.F. Chang 1979. Toxic effects of some surfactants on the

- larvae of milkfish and grass shrimp. Natl. Sci. Council. Monthly, R.O.C., 7(7): 733-739.
6. Crance, J.H. 1963. The effects of copper sulfate on *Microcystis* and zooplankton in ponds. Prog. Fish-Culturist, 25: 198-202.
 7. Cross, D. G. 1972. A review of methods to control Ichthyophthiriasis. Prog. Fish-Culturist, 34(3): 165-170.
 8. Duijn, C. van Jr. 1973. Diseases of fishes, third edition. Iliffe, London. 372 p.
 9. Grizzle, J.M. 1977. Hematological changes in fingerling channel catfish exposed to malachite green. Prog. Fish-Culturist, 39(2): 90-93.
 10. Leteux, F. 1972. Mixtures of malachite green and formalin for controlling *Ichthyophthirius* and other protozoa parasites of fish. Prog. Fish-Culturist, 34(1): 21-26.
 11. 陳弘成 1979. 除油劑及油污對生物之影響. 中央研究院動物研究所專刊第五號 pp 17-43.