مقاله علمی – ترویجی

تعیین غلظت کشنده (LC_{50}) فرمالین بر ماهی دانیوی گورخری (*Danio rerio*)

سهیل علی‌نژاد*[۱]، بابک تیزکار[۲]، افشار ذوقی شلمانی[۲]

*soheilalinezhad47@gmail.com

۱- موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران ، صندوق پستی: ۳۳۹٤-۰٤۱٦۳۵

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: تیر ۱٤۰۰

چکیده

فرمالین محلول شیمیایی موثر برای ضدعفونی سطوح و تجهیزات و نیز مبارزه با تعدادی از عوامل عفونی در صنعت آبزی‌پروری می‌باشد. از آن‌جایی‌که گونه‌های مختلف آبزیان حساسیت‌های متفاوت نسبت به این ترکیب دارند، تعیین مقدار دقیق این ماده برای درمان ماهیان پرورشی و تجاری بسیار مهم است. به دلیل تنوع زیاد گونه‌ای در ماهیان زینتی این مساله اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. در ایـن تحقیق از روش استاندارد سازمان همکاری اقتصادی و توسعه (OECD) برای تعیین غلظت کشندگی (LC_{50}) فرمالین ۳۷ درصد برای ماهی دانیوی گورخری استفاده شد. ۶ غلظت ۲۰۰، ۲۱۳/۹۸، ۲۲۸/۹۴، ۲۴۴/۹۹ و ۲۶۲/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر به همراه یک گروه شاهد (بدون مواجهه) و ۳ تکرار برای هر غلظت مورد آزمایش قرار گرفت. تلفـات هر ۲۴ ساعت ثبت و در پایان ۹۶ ساعت با استفاده از آنـالیز Probit مقـادیر LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} محاسبه شد نتایج به‌دست آمده برای مقادیر آزمایش شده به‌ترتیب ۱۹۹/۲۱، ۲۵۵/۵۷ و ۳۲۷/۸۹ میلی‌گرم در لیتر تعیین شد. مقادیر حداکثر غلظت مجاز، حداقل غلظت مؤثر و غلظت غیرمؤثر فرمـالین بـرای ماهی دانیوی گورخری به‌ترتیب ۲۵/۵۶، ۱۹۹/۲۱ و ۲۵/۵۶ محاسبه شد. ماهی دانیوی گورخری از مقاومت خوبی نسبت بر فرمالین برخوردار است.

کلمات کلیدی: فرمالین، غلظت کشنده، دانیوی گورخری، ماهیان زینتی

مقدمه

سازمان خواروبار جهانی (FAO) در سال ۱۹۸۸ آبزی‌پروری را به‌صورت پرورش موجودات آبزی شامل ماهیان، سخت‌پوستان، نرم‌تنان و گیاهان آبزی به اشکال مختلف با دخالت انسان در روند تولید و پرورش آبزیان خوراکی و نیز به منظور رهاسازی، ورزشی، تفریحی، تجاری، پرورش آبزیان زینتی و سایر تولیدات غیر خوراکی تعریف نمود (برقی و همکاران، ۱۳۹۴). پرورش ماهیان زینتی را می‌توان یکی از پرسودترین زیربخش‌های صنعت شیلات در دهه‌های اخیر نام برد. این ماهیان به‌علت داشتن رنگ‌های درخشان، شکل و رفتار مانند جواهرات زنده می‌باشند. آنها معمولاً آرام، کوچک و دارای رنگ‌های جذاب هستند و در گونه‌های مختلف دسته‌بندی شده‌اند (MacFarlene *et al*., 1993). تجارت ماهیان زینتی در آسیا و در سراسر جهان در حال رشد و توسعه است. صنعت ماهیان زینتی از نظر جهانی رو به توسعه و شکوفایی اقتصادی است و در بسیاری از کشورهای جهان یکی از مشاغل و تجارت‌های مردمی، محبوب و از نظر مالی رو به رشد محسوب می شود (حاجی میررحیمی و دادگر، ۱۳۹۵). ارزش صادرات گونه‌هایی از ماهیان زینتی بیشتر از ماهیان خوراکی است. با افزایش تقاضا در این صنعت، تکثیر و پرورش این ماهیان رشد و توسعه یافته و برای کشورهای تولید کننده (به‌ویژه کشورهای در حال توسعه) تکثیر ماهیان زینتی یک فرصت فوق‌العاده برای درآمدزایی بیشتر به‌خصوص در جوامع روستایی به‌شمار می‌آید (شعیبی عمرانی، ۱۳۹۸). در کشور ما نیز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی از اقبال خوبی برخوردار بوده و میزان تولید از ۱۵ میلیون قطعه در سال ۱۳۸۷ به ۲۰۰ میلیون قطعه در سال ۱۳۹۳ و ۲۷۰ میلیون قطعه در سال ۱۳۹۸ رسیده است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۳و ۱۳۹۸). به طور کلی، در این صنعت با توجه به محدودیت ذخایر و پاسخگو نبودن صید، توجه به افزایش تولید از طریق آبزی‌پروری بیشتر شده است. در اینجا نیز همانند ماهیان خوراکی این افزایش تولید یا باید از طریق افزایش سطح زیر کشت یا افزایش تراکم انجام شود که با توجه به محدودیت‌های منابع، افزایش تراکم تنها راه باقیمانده است. طبیعی است که این افزایش تراکم با افزایش بروز بیماری‌های مختلف همراه خواهد بود (شعیبی عمرانی، ۱۳۹۸). به همین جهت یکی از شرایط اصلی تولید مناسب آبزیان زینتی، حفظ بهداشت و جلوگیری از بروز بیماری‌هاست. در اماکن پرورش ماهی و آبزیان به‌واسطه تراکم بالا و شرایط کم و بیش نامناسب محیطی، بروز بیماری و سرعت انتشار آنها بیشتر است و در صورت عدم کنترل ممکن است همه‌گیر شده و منجر به مرگ آنها شود. بیماری‌های مختلف نه تنها سبب تلفات و کاهش چشمگیر تولید می‌شوند بلکه تماس با آبزیان بیمار برای انسان خالی از خطر نمی‌باشد (خارا و همکاران ۱۳۸۴). امروزه با توجه به گسترش تمایل مردم به نگهداری ماهیان زینتی در ایران و جهان، توجه به بهداشت و بیماری‌های ماهیان آکواریومی نیز گسترش یافته است. با وجود کنترل بهداشتی و اقدامات پیشگیری کننده از وقوع بیماری، همواره در پرورش ماهیان آکواریومی امکان بروز بیماری‌های مختلف وجود دارد (سید مرتضایی و همکاران، ۱۳۸۶). در آبزی‌پروری، عواملی مانند آب نامناسب، تراکم بیش از حد، مصرف مکرر دارو، استرس ناشی از جابه‌جایی و حمل و نقل موجب بروز بیماری‌های متعدد و مرگ و میر دسته جمعی ماهیان می‌شود. برای پیشگیری و درمان بیماری‌های ماهی، تعداد زیادی ترکیبات ضد عفونی کننده، بیهوشی، آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر داروها استفاده می‌شوند (Varusai *et al*., 2012). بیماری‌های ماهی ممکن است باعث ایجاد خسارات زیادی در مزارع ماهی مانند کاهش رشد و تولید، افزایش هزینه‌های تغذیه‌ای ناشی از عدم اشتها، افزایش حساسیت به کاهش کیفیت محیط زندگی و ایجاد تلفات شوند. جلوگیری از بیماری‌های ماهی به طور کامل کاری دشوار است. بنابراین، بهتر است با جلوگیری از وقوع آنها، فرصت توسعه به بیماری داده نشود. درمان ماهی بیمار نیز کاری بسیار مشکل است و نیاز به متخصص دارد. در بعضی موارد ماهی بیمار بسیار ضعیف می‌شود و انجام درمان مؤثر کاری دشوار است، ضمن اینکه تا انجام درمان ممکن است بیماری جدی‌تر شود. اما چندین درمان ساده و موثر می‌تواند برای پیشگیری و برای کنترل بیماری قبل از آنکه بیماری به شکل جدی تبدیل شود نیز موثر واقع گردد. بنابراین، تمام تلاش‌ها باید در جهت اعمال روش‌های مدیریتی مناسب صورت گیرد (FAO, 1997).

یکی از مشکلات عدیده در نگهداری ماهیان زینتی، آلودگی به انگل‌های خارجی است که باعث کاهش وزن، لاغری، رفتارهای غیرطبیعی، زخم‌های جلدی و نیز ایجاد زمینه مساعد برای بروز و گسترش سایر عوامل بیماری‌زا و در نهایت تلفات می‌شود

(سلیمی، ۱۳۹۱). انگل‌ها می‌توانند در همه جا و در هر موجود زنده‌ای یافت شوند. شدت همه‌گیری بیماری‌های انگلی به چندین عامل از جمله شرایط میزبان، سن، اندازه و تراکم جمعیت بستگی دارد (Khan, 2009). استفاده از مواد شیمیایی یکی از راه‌های مؤثر برای کنترل بیماری‌های عفونی و انگل‌های ماهی در آبزی‌پروری است (شعیبی عمرانی، ۱۳۹۸). اکثر مواد شیمیایی که برای کنترل بیماری‌های ناشی از ارگانیزم‌ها استفاده می‌شوند، سمی یا برای پوست و دستگاه تنفسی محرک هستند. بسیاری از ترکیبات شیمیایی در صورت بلعیده شدن یا جذب از طریق پوست می‌توانند باعث مشکلات جدی برای سلامتی شوند. از سویی، درمان با استفاده از مواد شیمیایی گران است و می‌توانند در صورت استفاده با غلظت اشتباه برای ماهی سمی شوند. بنابراین، ضروری است که اطلاعات لازم در مورد غلظت خطرناک و قدرت کشندگی این مواد شیمیایی در دسترس باشد تا محاسبه میزان اثربخش آن بر انگل‌های خارجی به‌درستی انجام گیرد (FAO, 1997). سازمان غذا و دارو در کشور آمریکا ۵ دارو و ترکیبات شیمیایی اکسی تتراسایکلین، سولفامرازین، اورمتوپریم، فرمالین و تری‌کائین متان سولفونات را در آبزی‌پروری این کشور قانونی اعلام کرده است (Chanda *et al*., 2011). فرمالین یکی از رایج‌ترین مواد شیمیایی است که به طور گسترده برای کنترل انگل‌های خارجی و بیماری‌های قارچی در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Fajer-Avila *et al*., 2003). فرمالین، محلول مایع ۴۰-۳۷٪ گاز فرمالدیید (که معادل ۱۰۰ درصد در نظر گرفته می‌شود) می‌باشد. فرمالین یک ماده فرار و محرک است. این ماده باعث ایجاد سرطان در موش خرماهای آزمایشگاهی شده و می‌تواند باعث ایجاد ازدیاد حساسیت پوستی و آسیب ریوی در انسان گردد. این محلول بایستی در حین انبار کردن خوب مهروموم شده و از تماس آن با پوست انسان خوداری گردد. فرمالین را بایستی تنها در اماکن با تهویه مناسب استفاده کرد (عبدی، ۱۳۸۵). محلول فرمالدیید ۴۰-۳۷٪ تحت عنوان فرمالین تجاری در بازار موجود است. در صنعت پرورش ماهی از این ترکیب به عنوان ضدعفونی کننده سطوح و تجهیزات و نیز در پیشگیری و درمان آلودگی‌های قارچی و انگل‌های خارجی استفاده می‌شود (پیغان، ۱۳۸۴). این ترکیب در ضد عفونی تخم‌های ماهیان نیز کاربرد زیادی دارد و جهت درمان انگل‌های خارجی و تخم‌های قارچ زده بسیار مناسب است (ابراهیم‌زاده موسوی و همکاران، ۱۳۹۲). فرمالین ترکیب شیمیایی موثر برای مبارزه با چندین عامل عفونی در ماهیان پرورشی مهم و زینتی به‌حساب می‌آید و به صور مختلف حمام، شستشو و اضافه کردن در جریان آب استخر به‌کار می‌رود (Varusai *et al*., 2012). در اغلب موارد غلظت‌های درمانی بر مبنای تجربه و نتیجه‌گیری است، به همین جهت مسمومیت ناشی از مصرف دارو می‌تواند رخ دهد. اطلاعات فارماکوکینتیک به‌ندرت برای موارد استفاده شده جهت درمان ماهیان زینتی در دسترس هستند. تجویز نادرست ترکیبات شیمیایی می‌تواند منجر به مسمومیت در ماهیان آکواریومی شود. حساسیت به سمیت ناشی از ترکیبات شیمیایی درمانی با توجه به گونه، کیفیت آب و داروی استفاده شده متفاوت است (Roberts and Palmeiro, 2008). برای مثال، غلظت درمانی برای قزل‌آلای رنگین‌کمان در درمان ساپرولگنیوز ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر (شمس قهفرخی و همکاران، ۱۳۸۴) و LC_{50} آن طی مدت ۴۸ ساعت ۶/۱ میلی‌گرم در لیتر تعیین شده است که این عدد برای *Bluespotted corydora*، بالاتر و برابر ۵۰/۷۶ میلی‌گرم در لیتر است (Tisler and Koncan, 1997). تمامی موارد مذکور نشانگر آن است که تعیین غلظت دقیق در مورد ماهیان گران‌قیمت و با اهمیت بسیار مهم است و برای هر کدام باید به طور مجزا تعیین شود (تیزکار و همکاران، ۱۳۹۸). ماهیان زینتی از تنوع بسیار زیادی برخوردارند و باید این بررسی حداقل در مورد انواع مهم آن انجام شود. البته در این زمینه مطالعاتی صورت گرفته است اما با توجه به گستردگی و تنوع زیاد ماهیان زینتی نیاز به تحقیقات بسیار بیشتری است.

برای مثال، در یک مطالعه دامنه تحمل نسبت به چندین ضد عفونی کننده در ماهیان معمول آکواریومی ارزیابی شد. در این تحقیق مشخص شد که ماهی طلایی (*Carassius auratus*) نسبت به ماهی دانیوی گورخری (*Danio rerio*) در برابر اثرات فرمالین حساس‌تر است. وقتی این دو ماهی در معرض فرمالین با غلظت درمانی گزارش شده (غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر طی مدت یک ساعت) قرار گرفتند، اثرات مسمومیت در ماهی طلایی مشاهده شد اما در ماهی دانیوی گورخری مشاهده نگردید. علایم مسمومیت در ماهی طلایی با افزایش زمان در معرض فرمالین بودن بیشتر شد اما همچنان در ماهی دانیوی

گورخری علائمی دیده نشد. طبق نتایج، میانگین غلظت کشنده (LD_{50}) در ماهی دانیوی گورخری ۶۴۸ و در ماهی طلایی ۲۷۲ میلی‌گرم در لیتر طی یک ساعت بود (Intorre *et al*., 2007). تاثیرات فرمالین بر ماهی زینتی آمازون (*Corydoras melanistius*) Bluespotted coridora نیز آزمایش شد. این ماهی به مدت ۹۶ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف ۲۵۰-۰ میلی‌گرم در لیتر فرمالین قرار گرفت. در غلظت‌های ۰، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر تلفاتی مشاهده نشد. اما در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب ۶۵، ۸۶، ۱۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد تلفات مشاهده گردید. میزان LC_{50} برای این ماهی در ۹۶ ساعت ۵۰/۷۶ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. در غلظت‌های بالاتر تغییرات ریختی در آبشش، به‌هم ریختگی نظم سلول کبدی و نکروز کلیوی مشاهده شد. در این مطالعه اثرات سمی خفیف فرمالین بر ماهی زینتی آمازون و نیز تغییرات مورفولوژیک زیاد در مواجه با غلظت‌های بالا مشخص شد (Santos *et al*., 2012). ماهی کوی نیز از نظر میزان حساسیت به فرمالین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که دامنه حداقل و حداکثر غلظت کشندگی فرمالین برای ماهی کوی ۲۲۰-۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بوده به‌طوری‌که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هیچ تلفاتی در ماهیان تحت آزمایش مشاهده نشد و در غلظت ۲۲۰ میلی‌گرم در لیتر تمامی ماهیان طی ۷۲ ساعت تلف شدند. اثر ماده فرمالین ۳۷ درصد در غلظت‌های مختلف در فواصل زمانی ۱۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بر ماهی کوی مورد آزمایش نشان می‌دهد که مصرف غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این ماده هیچ اثر کشندگی بر ماهیان نداشته است و تا پایان ۹۶ ساعت هیچ ماهی تلف نشد. در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، بعد از ۲۴ ساعت ۱۴ درصد ماهیان تلف شدند، ولی تا پایان ۹۶ ساعت این تلفات از ۳۶ درصد تجاوز نکرد. در غلظت ۲۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۲۹ درصد ماهیان در همان ۱۰ ساعت اول تلف شدند و پس از ۷۲ ساعت همه ماهیان از بین رفتند (تیزکار و همکاران، ۱۳۹۸). به طور کلی، استفاده از ترکیبات شیمیایی جهت درمان می‌تواند به بیوفیلتر، ماهی و سایر موجودات زنده ساکن آکواریوم آسیب بزند. ترکیبات شیمیایی معمول که می‌توانند در ماهیان زینتی موجب مسمومیت شوند شامل مس، فرمالین، پرمنگنات پتاسیم، مالاشیت گرین، ترکیبات آمونیوم چهارتایی، ارگانوفسفره‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها مانند جنتامایسین، سولفونامیده‌ها و اکسی تتراسایکلین هستند (Roberts and Palmeiro, 2008). ضمن اینکه سایر ترکیبات دارویی نیز در صورت استفاده نادرست برای سلامتی ماهی خطرناک هستند و می‌توانند منجر به تلفات شوند. به همین جهت باید بر گونه‌های باارزش و پرطرفدار به طور جداگانه مطالعات لازم صورت گیرد. این تحقیق جهت تعیین مقدار مناسب فرمالین در ماهی زبرا (*Danio rerio* Hamilton, 1822) صورت گرفته است. ماهی دانیوی کورخری که به نام‌های زبرا دانیو، زبرا فیش یا ماهی گورخری نیز خوانده می‌شود، یکی از ارزشمندترین ماهیان گرمسیری آب شیرین جهان است که در راسته کپور ماهی شکلان، خانواده دانیو ماهیان (Danionidae)، زیر خانواده دانیوها و جنس دانیو قرار دارد. این ماهی پیش‌تر در خانواده بزرگ کپور ماهیان طبقه‌بندی می‌گردید که با توجه به تغییرات تاکسونومی سالیان اخیر، در خانواده دانیو ماهیان (با ۳۹ جنس و ۳۶۳ گونه) جای گرفته است (Prasad *et al*., 2020; Fishbase, 2021). جنس دانیو قریب به ۳۰ گونه مختلف را شامل می‌شود که هیچ‌یک از گونه‌ها به اندازه ماهی دانیوی گورخری برای علاقمندان صنعت آکواریوم و ماهیان زینتی شناخته شده نیستند. دانیور گورخری همواره سهم قابل توجهی در صادرات ماهیان زینتی آب شیرین جهان داشته و به‌خوبی در صنعت آکواریوم و ماهیان زینتی اقصی نقاط جهان وارد شده است (خیابانی و استقلالیان، ۱۴۰۰). زیستگاه طبیعی این نوع از ماهیان، آبهای شیرین مناطق گرمسیری گزارش شده است. شکل بدن ماهی دانیوی خاکستری باریک و دراز بوده و دارای نوارهای طلایی و آبی رنگ است که در طول بدن و دم جاندار کشیده می‌شود. جنس‌های نر و ماده از هم جدا بوده و به‌راحتی قابل تشخیص هستند. بدن جنس ماده چاق‌تر و دارای برجستگی مشخص در ناحیه شکم است و نرها دارای بدنی دوکی شکل می‌باشند. این ماهیان در محدوده دمایی ۲۶-۲۲ درجه سانتی‌گراد و در بازه pH ۷/۵-۶/۸ زندگی می‌کنند. اندازه تقریبی آنها ۵ سانتی‌متر است. ماهی دانیوی گورخری به علت عادت‌پذیری خوب از جمله ماهیان زینتی و آکواریومی به‌حساب می‌آید که نگهداری آنها آسان است (Spence *et al* 2008).

مواد و روش‌ها

به منظور تعیین غلظت کشنده میانی (LC_{50}) فرمالین برای ماهی دانیوی گورخری، از فرمالین تجاری مرک ساخت کشور آلمان با غلظت ۳۷ درصد فرم آلدئید استفاده شد.

بدین‌منظور، تعداد ۲۵۰ قطعه ماهی دانیوی گورخری بدون تعیین جنسیت با میانگین وزنی ۰/۱۱±۱/۱ گرم و طول ۰/۳±۱/۸ سانتی‌متر از بخش خصوصی تهیه و به کارگاه آبزی پروری مرکز آموزش کشاورزی گیلان منتقل گردید. ماهیان به مدت یک هفته در مخزن پلی‌اتیلنی ۱۰۰۰ لیتری جهت سازگاری به شرایط کارگاه نگهداری و روزانه دو نوبت با غذای ویژه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان(SFT_{000}) از شرکت فرادانه با پروتئین تقریبی ۵۰ درصد، چربی ۱۲ درصد و خاکستر۱۰ درصد با قطر ۰/۳ میلی‌متر مورد تغذیه قرار گرفتند. نور محیط آزمایشگاه ۱۴ ساعت در حالت روشن و ۱۰ ساعت در حالت خاموش در نظر گرفته شده بود. طی مدت نگهداری، میزان اکسیژن محلول به کمک دستگاه هواده در حد ۵ میلی‌گرم در لیتر و دما در حد ۲۶ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته شد. ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمایش غذا دهی قطع گردید. این تحقیق بر اساس روند استاندارد O.E.C.D برنامه‌ریزی و اجرا شد(OECD, 1992). در این روش آزمایش‌ها به صورت استاتیک (ثابت) انجام می‌شود. به عبارتی، در طول دوره آزمایش، افزایشی در غلظت ماده سمی ایجاد نشد. تعداد مرگ و میر ماهیان طی ۴ شبانه‌روز و هر ۲۴ ساعت یک بار اندازه‌گیری و تلفات از مخزن خارج می‌شد. جهت تعیین غلظت‌های اصلی فرمالین برای تعیین مقدار اثرگذاری بر ماهیان، آزمایش‌های اولیه با غلظت‌های ۳۵۰-۱۰ میلی‌گرم در لیتر فرمالین بر ۲۰ قطعه ماهی در مخازن ۳۰ لیتری صورت گرفت. پس از تعیین غلظت کشنده که طی تاثیر غلظت‌های مذکور به‌دست آمد، غلظت‌های آزمایش به روش لگاریتمی برای ۶ غلظت تعیین شد.

غلظت‌های به‌دست آمده جهت آزمایش به میزان ۲۰۰، ۲۱۳/۹۸، ۲۲۸/۹۴، ۲۴۴/۹۹، ۲۶۲/۰۷، ۳۰۰ و تیمار شاهد صفر میلی‌گرم بر لیتر تعیین گردید و برای هر غلظت نیز سه تکرار در نظر گرفته شد.

مخازن آزمایشی، از نوع پلی اتیلن و با حجم آبگیری ۳۰ لیتر بودند که در ۶ تیمار به همراه یک گروه شاهد و ۳ تکرار و به صورت تصادفی در محیط آزمایشگاه چیده شدند. تعداد ۲۰ قطعه ماهی دانیوی گورخری به صورت تصادفی در هر مخزن قرار گرفتند. مقدار pH، اکسیژن محلول و دمای آب به طور روزانه اندازه گیری شد.

پس از قرار گرفتن ماهیان در مخازن، غلظت‌های تعیین شده از فرمالین محاسبه و در مخازن ریخته شدند. تعداد مرگ و میر و رفتار ظاهری ماهیان در ساعت‌های ۱۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از ریخته شدن فرمالین در مخازن ثبت گردید.

در پایان ۹۶ ساعت پس از تعیین تعداد مرگ و میر در غلظت‌های مورد آزمایش با استفاده از روش آماری Probit analysis مقدار LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} در هر ۲۴ ساعت محاسبه شد. حداکثر غلظت مجاز[1] فرمالین برای ماهی دانیوی گورخری با تقسیم عدد به‌دست آمده LC_{50} در ۹۶ ساعت بر عدد ۱۰ به‌دست آمد (TCR, 1984). سپس حداقل غلظت موثر[2] و مقدار غلظت غیر موثر[3] تعیین گردید. حداقل غلظت مؤثر را در بعضی منابع همان میزان LC_{10} ۹۶ ساعت و نیز مقدار غلظت غیر موثر را همان حداکثر غلظت مجاز در نظر می‌گیرند (حکیمی و همکاران، ۱۳۹۴).

نتایج

میانگین حداقل و حداکثر غلظت کشندگی فرمالین تجاری برای ماهی دانیوی گورخری در این تحقیق ۳۰۰-۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود به‌طوری‌که در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هیچ تلفاتی در ماهیان تحت آزمایش مشاهده نشد و در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تمامی ماهیان طی ۷۲ ساعت تلف شدند.

نتایج حاصله از این تحقیق نشان دادکه غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از ماده فرمالین ۳۷ درصد در فواصل زمانی ۱۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بر ماهی دانیوی گورخری مورد آزمایش هیچ اثر کشندگی نداشته است و تا پایان ۹۶ ساعت هیچ ماهی تلف نشد (جدول ۲). در غلظت ۲۱۳/۹۸ میلی‌گرم بر لیتر، بعد از ۴۸ ساعت ۲/۲۲ درصد از ماهیان تلف شدند و تا پایان ۹۶ ساعت این تلفات از این مقدار تجاوز نکرد. در غلظت ۲۲۸/۹۴ میلی‌گرم

[1] Maximum Allowable Concentration Value (MAC)
[2] Lowest Observed Effect Concentration (LOEC)
[3] No Observed Effect Concentration (NOEC)

بر لیتر، ۲/۲۵ درصد ماهیان در همان ۲۴ ساعت اول تلف شدند و پس از ۹۶ ساعت درصد تلفات به ۴/۴۴ درصد رسید(جدول ۲). در غلظت ۲۴۴/۹۹ میلی‌گرم بر لیتر شدت تلفات در ۲۴ ساعت اول افزایش یافته و به رقم ۱۱/۱۱ درصد رسید و درصد تلفات ماهیان در پایان ۹۶ ساعت حدود ۱۰ برابر غلظت قبلی شد. درصد تلفات در غلظت ۲۶۲/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر در ۲۴ ساعت اول نسبت به غلظت قبلی افزایش چندانی نداشت ولی در پایان ۷۲ ساعت ۸۰ درصد ماهیان تلف شدند و در ۹۶ ساعت این تلفات به ۸۲/۸۰ درصد رسید. درغلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در فاصله ۷۲ ساعت پس از قرار گرفتن ماهیان در فرمالین ۳۷ درصد همه ماهیان تلف شدند (جدول ۱).

جدول ۱: درصد تلفات ماهی زبرا طی ساعات مختلف اثر گذاری فرمالین در غلظت‌های مختلف

تیمار	غلظت فرمالین (ppm)	درصد تلفات				
		۱۰ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
شاهد	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱	۲۰۰	۰	۰	۰	۰	۰
۲	۲۱۳/۹۸	۰	۰	۲/۲۲	۲/۲۲	۲/۲۲
۳	۲۲۸/۹۴	۰	۲/۲۵	۲/۲۵	۴/۴۴	۴/۴۴
۴	۲۴۴/۹۹	۰	۱۱/۱۱	۲۶/۶۷	۴۴/۴۴	۴۶/۴۷
۵	۲۶۲/۰۷	۰	۱۱/۸۹	۴۸/۸۹	۸۰/۰۰	۸۲/۸۰
۶	۳۰۰	۰	۲۶/۶۷	۵۷/۷۰	۱۰۰	۱۰۰

رفتار ماهیان در مقابله با غلظت‌های مختلف فرمالین متفاوت بود. در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تا پایان ۹۶ ساعت، ماهیان دارای شنای معمولی بودند. در غلظت ۲۱۳/۹۸ میلی‌گرم بر لیتر، بعد از ۴۸ ساعت، شنای ماهیان کمی تندتر از حد معمول شده بود و این حالت تا پایان ۹۶ ساعت ادامه داشت. در غلظت۲۲۸/۹۴ میلی‌گرم بر لیتر تا پایان ۴۸ ساعت ماهیان شنای تند داشتند و این نوع شنا تا پایان ۹۶ ساعت ادامه داشت. در غلظت ۲۴۴/۹۹ میلی‌گرم بر لیتر تا ۴۸ ساعت، رفتار عصبی و شنای تند در ماهیان مشاهده می‌شد و این رفتار تا ۹۶ ساعت افزایش یافت. در غلظت ۲۶۲/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر بعد از ۲۴ ساعت، در بعضی از ماهیان شنای نامتعارف مشاهده می‌شد. این رفتار در ساعت ۴۸ بیشتر شده به طوری که بعضی از ماهیان هنگام شنا به دیواره‌های مخزن برخورد می‌کردند. در این غلظت در ساعت ۷۲، اکثر ماهیان حالت سکون داشتند و از تحرک آنها کاسته شد. در ساعت ۹۶ لکه‌های قرمز در ناحیه زیر باله‌ها دیده شد (مشاهده لکه های زیر باله پس پایان ساعت ۹۶ و خروج ماهیان از وان‌ها انجام گردید). در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۱۰ ساعت اول، شنای ماهیان جهشی و عصبی به‌نظر می‌رسید و بعد از ۲۴ ساعت تعدادی از ماهیان شنای نامتعادل از خود نشان دادند و قرمزی در باله‌ها و نواحی برانش در نیمی از ماهیان آشکار شد. این رفتار و عوارض تا پایان ۴۸ ساعت ادامه داشت با این تغییر که نیمی از ماهیان در کف به پهلو خوابیده و در حال تلف شدن بودند. در پایان ۷۲ ساعت تمامی ماهیان به پهلو خوابیده و حرکت چندانی نداشتند.

بر اساس نتایج به‌دست آمده از میزان تلفات بچه ماهیان دانیوی گورخری در مواجهه با غلظت‌های مختلف فرمالین و مقایسه آن با جدول Probit Value میزان LC_{10}, LC_{50}, LC_{90} در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بر حسب میلی‌گرم بر لیتر برای ماهی دانیوی گورخری بر اساس جدول ۲ تعیین گردید.

بر اساس نتایج جدول ۲، حداکثر غلظت مجاز و غلظت غیر موثر فرمالین برای ماهی دانیوی گورخری ۲۸/۵۸ میلی‌گرم بر لیتر و حداقل غلظت موثر فرمالین ۱۹۹/۲۱ میلی‌گرم بر لیتر تعیین شد.

جدول ۲: مقادیر LC_{10}, LC_{50}, LC_{90} فرمالین برای ماهی زبرا (میلی‌گرم بر لیتر)

LC	زمان			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۱۰	۲۱۱/۶۳	۱۹۴/۹۰	۱۹۹/۳۰	۱۹۹/۲۱
۵۰	۲۹۵/۵۲	۲۴۷/۳۲	۲۵۵/۷۴	۲۵۵/۵۷
۹۰	۴۱۲/۶۸	۳۸۶/۰۹	۳۲۵/۱۶	۳۲۷/۸۹

بحث

یکی از سوالات اساسی هر مزرعه‌داری در موقع بروز بیماری آن است که موثرترین دارویی که جهت مقابله با بیماری می‌توان استفاده کرد چیست، در مورد عواملی که موجب بروز بیماری‌های جلدی و خارجی می‌شوند می‌توان از ضدعفونی‌کننده‌ها استفاده نمود که برای بافت‌های زنده مانند تخم و ماهی کاربرد دارند (عبدی، ۱۳۹۷). یکی از این ترکیبات فرمالین است، با وجود موارد متعدد مصرف فرمالین، محدودیت‌هایی نیز برای آن وجود دارد. فرمالین به‌ویژه در آبهای نرم برای ماهی سمی است. فرمالین می‌تواند به آبشش‌های ماهی آسیب بزند، این سمیت در صورت بالا رفتن دمای آب افزایش می‌یابد (FAO, 1997). در آمریکا اشکال تجاری فرمالین به نام‌های Formalin-F، Paracide-F و Formacide-B جهت مصرف در ماهیان خوراکی دارای تاییدیه FDA می‌باشند (عبدی، ۱۳۹۷). شایان ذکر است، از آن‌جایی‌که فرمالین باقیمانده دارویی در بدن ماهی ایجاد نمی‌کند، زمان پرهیز از مصرف نیز ندارد (عبدی، ۱۳۸۵). در اتحادیه اروپا مصرف فرمالین به هر صورت ممنوع شده است. فرمالین محلول دارای ۴۰-۳۷ درصد گاز فرمالدئید می‌باشد که این محلول ۱۰۰ درصد در محاسبات منظور می‌گردد. فرمالین با پروتئین‌ها واکنش متقاطع داده و باعث مرگ سلولی می‌شود، به صورت حمام، یک ضد انگل موثر بوده و بر علیه بسیاری از انگل‌های تک‌یاخته‌ای خارجی و منوژن‌ها موثر است، خاصیت ضدباکتریایی خفیف تا متوسطی دارد، دارای خاصیت ضدقارچی متوسط تا قوی بر قارچ‌های تخم می‌باشد، باعث تحریک آبشش‌ها می‌شود و در زمان مصرف بایستی آب را به‌خوبی هوادهی کرد و در آبهای سبک، اسیدی و دماهای بالا بسیار سمی است. حتی تفاوت در دوزها و نیز مدت زمان مصرف فرمالین اثرات زیادی می‌تواند در سمیت آن داشته باشد. برخی از ماهیان (به‌ویژه ماهیان غضروفی) به فرمالین حساس هستند، لذا در ماهیانی که سابقه درمان قبلی با فرمالین ندارند، توصیه می‌شود که قبل از مصرف دارو اقدام به درمان آزمایشی بر تعداد محدودی ماهی شود و پس از حصول اطمینان اقدام به درمان گله گردد. در ۷۲-۱ ساعت پس از درمان ممکن است مرگ‌هایی با علل نامعلوم در گله ماهی دیده شود (عبدی، ۱۳۹۷). این نشان‌دهنده این موضوع است که استفاده از فرمالین برای جنس و حتی گونه‌های مختلف ماهی نمی‌تواند از الگوی ثابتی پیروی کند. اگر گونه‌ای از ماهی به کاهش اکسیژن حساس باشد، با توجه به اثر کاهنده فرمالین بر میزان اکسیژن آب، ماهی تحت درمان را خطر مرگ به دلیل خفگی تهدید خواهد کرد (Varusai *et al*., 2012). در این تحقیق میزان تلفات ماهی دانیوی گورخری با غلظت‌های مختلف و در ساعات مختلف قرار گرفتن در معرض فرمالین، مورد بررسی قرار گرفت. میزان تلفات و رفتار ماهی طی مدت آزمایش وابسته به مدت زمان در معرض بودن و میزان غلظت فرمالین بود. در تحقیق حاضر در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر از ماده فرمالین ۳۷ درصد در فواصل زمانی ۱۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بر ماهی دانیوی گورخری مورد آزمایش هیچ اثر کشندگی نداشت و تا پایان ۹۶ ساعت هیچ ماهی تلف نشد و در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر طی ۷۲ ساعت پس از قرار گرفتن ماهیان در فرمالین ۳۷٪ تلفات ۱۰۰ درصدی رخ داد که نسبت به ماهی کوی و *Corydoras melanistius* از مقاومت بالاتری برخوردار بود (تیزکار و همکاران، ۱۳۹۸؛ Santos *et al*., 2012). ماهی‌های کوی در غلظت ۲۲۰ میلی‌گرم بر لیتر طی مدت ۹۶ ساعت ب طور کامل تلف شدند (تیزکار و همکاران، ۱۳۹۸) در صورتی‌که ماهی دانیوی گورخری در غلظت ۲۲۸/۹۴ میلی‌گرم بر لیتر طی مدت ۹۶ ساعت، در ۲۴ ساعت اول ۲/۲۵٪ ماهیان اول تلف شدند و پس از ۹۶ ساعت درصد تلفات به ۴۴٪ رسید، این در حالی است که برای ماهی *Corydoras melanistius* تلفات ۱۰۰٪ در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (Santos *et al*., 2012).

ماهیان دانیوی گورخری که در معرض تیمارهای مختلف فرمالین قرار داشتند، دو الگوی کلی رفتاری از خود نشان دادند. در تیمارهایی که مواجه با غلظت‌های کم‌تر بودند، در مراحل اولیه شنای عادی و سپس شنای عصبی و تند از خود نشان می‌دادند. برای مثال، در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تا پایان شنای معمولی و طبیعی داشتند. در غلظت ۲۱۳/۹۸ میلی‌گرم بر لیتر بعد از گذشت ۴۸ ساعت، شنای ماهیان تندتر از حد معمول شد که این حالت تا پایان ۹۶ ساعت ادامه داشت در غلظت‌های بالاتر مانند ۲۲۸/۹۴ میلی‌گرم بر لیتر و بیش از آن علایم شنای تند و عصبی از همان ابتدا دیده شد و بعد از آن عدم تعادل و شنای نامتعادل مشاهده شد که نشان از ایجاد استرس ناشی از غلظت بالای فرمالین از همان لحظات اولیه در معرض قرار گرفتن بود. این نتایج با کار مشابه صورت گرفته بر ماهی کوی (تیزکار و همکاران، ۱۳۹۸) و تا حدودی با یافته‌های Santoz و همکاران (۲۰۱۲) بر ماهی *Bluespotted corydora* مطابقت دارد.

در تحقیق مشابه Varusai و همکاران (۲۰۱۲) بر ماهی دانیوی گورخری، تغییرات رفتاری غیر طبیعی مانند شنای نامتعادل، افزایش ترشحات موکوسی، کاهش حرکات سرپوش آبششی دیده شد که دلیل آن اختلالات داخلی بدن مانند مهار آنزیم‌ها، اختلال در انتقال عصبی، اختلال در مسیرهای متابولیک و اختلال تنفسی ذکر گردید (Varusai *et al.*, 2012) که می‌تواند در تحقیق حاضر نیز صادق باشد. به همین جهت است که از سم‌شناسی رفتاری به عنوان ابزاری مهم برای ارزیابی خطرات آلودگی آب و کمک در درک اثرات استرس‌های محیطی بر ماهی استفاده می‌شود (Rao and Rao, 1987). LC_{50} به‌دست آمده برای ماهی دانیوی گورخری در تحقیق حاضر در ساعات ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به‌ترتیب برابر با ۲۹۵/۵۲، ۲۴۷/۳۲، ۲۵۵/۷۴ و ۲۵۵/۵۷ میلی‌گرم بر لیتر بود که در مقایسه با ماهی کوی (۱۷۲/۸۱ در ۹۶ ساعت)، *Bluespotted corydora* (۵۰/۷۵ در ۹۶ ساعت)، لارو *H. lacerdae* (۲/۰۲ در ۹۶ ساعت) (تیزکار و همکاران، ۱۳۹۸) مقاوم‌تر است. ضمن اینکه نسبت به ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) که LC_{50} آن برای فرمالین در ۹۶ ساعت ۴۲۹/۶۸ میلی‌گرم در لیتر است (Macniven and Little, 2001)، از حساسیت بیشتری برخوردار است. نتیجه به‌دست آمده با تحقیق Varusai و همکاران (۲۰۱۲) همخوانی ندارد. در آن تحقیق همه ماهی‌های دانیوی گورخری در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر فرمالین طی ۹۶ ساعت تلف شدند. البته فاکتورهای زیستی مانند وضعیت فیزیولوژیک، شرایط تغذیه و مرحله زندگی ممکن است در میزان جذب شیمیایی دخالت کند. دلیل حساسیت بیشتر لاروهای ماهی نسبت به بچه‌ماهیان و بالغین نیز همین موضوع است. به‌هرحال، واکنش هر یک از گونه‌ها در پاسخ به ماده شیمیایی متفاوت است و این آزمایش‌ها باید با موجودات مختلف انجام شود (Santos *et al.*, 2012). برای مثال، فرمالین برای ماهیان مناطق معتدل خاصیت سمی بودن بیشتری در دامنه ۳۰-۱۵ میلی‌گرم بر لیتر دارد و برای قزل‌آلای رنگین کمان LC_{50} طی مدت ۴۸ ساعت غلظت ۶/۱ میلی‌گرم در لیتر بود (Tisler and Koncan, 1997).

مقادیر LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} فرمالین در ۹۶ ساعت برای ماهیان انگشت‌قد تاسماهی ایرانی به‌ترتیب ۴/۸۱، ۲۴/۵۸ و ۱۲۵/۵۷ میلی‌گرم بر لیتر و برای ماهیان انگشت قد ازون برون به‌ترتیب ۱۱/۴۸، ۲۰/۳۲ و ۳۵/۹۹ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. مقادیر حداکثر غلظت مجاز فرمالین برای گونه تاسماهی ایرانی ۲/۴۶ و برای ازون برون ۲/۰۳ و حداقل غلظت موثر به‌ترتیب ۴/۸۱ و ۱۱/۴۸ میلی‌گرم بر لیتر تعیین شد (حکیمی و همکاران، ۱۳۹۴) در ماهی کوی نیز به‌ترتیب ۱۷/۲۸ و ۱۴۸/۳۹ میلی‌گرم در لیتر بود (تیزکار و همکاران، ۱۳۹۸) که در مقایسه با ماهی دانیوی گورخری (۲۸/۵۸ و ۱۹۹/۲۱) بسیار کمتر است و نشان از حساسیت بسیار بالای این ماهیان نسبت به ماهی دانیوی گورخری دارد. به طور کلی، سطح تحمل ماهیان دریایی (آب شور) در معرض فرمالین نسبت به ماهیان آب شیرین بسیار بیشتر است (حکیمی و همکاران، ۱۳۹۴). نتایج به‌دست آمده بر خامه ماهی نیز تاییدکننده این موضوع است. طی تحقیقی میزان LC_{50} ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت فرمالین برای بچه ماهیان انگشت قد خامه ماهی به‌ترتیب ۳۲۲، ۲۶۰، ۲۴۱ و ۲۳۲میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد (Cruz and Pitogo 1989). در این تحقیق حداکثر غلظت مجاز، غلظت موثر و حداقل غلظت موثر فرمالین بر ماهی دانیوی گورخری به‌دست آمد، اما از آن‌جایی‌که نمی‌توان اثرات زیانباری که این ماده به بدن ماهی مورد آزمایش ایجاد می‌کند، اندازه گیری کرد، مصرف این ماده به رغم آنکه گفته شده است، سمیت پایینی دارد، باید با احتیاط

باشد (Santos *et al*., 2012). اثرات بافتی و به دنبال آن تغییرات هیستوپاتولوژی ایجاد شده در بافت ماهی می‌تواند به عنوان یک ابزار برای شناسایی اثرات سمی مستقیم ترکیبات شیمیایی در اندام‌های هدف استفاده شود (Schwaiger *et al*., 1997). زیرا آنها منعکس‌کننده آسیب‌های ایجاد شده ناشی از برآیند زمان و شدت در معرض قرار گرفتن با ماده شیمیایی و میزان ظرفیت سازش بافت هستند (Teruel *et al*., 2001). بنابراین، تحقیقات مشابه همراه با بررسی‌های بافت‌شناسی در آینده پیشنهاد می‌گردد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق استفاده از غلظت‌های درمانی معمول فرمالین برای ماهی دانیوی گورخری بی‌خطر می‌باشد. توصیه نهایی به پرورش‌دهندگان و دوستداران ماهیان زینتی این است که هنگام استفاده از فرمالین برای کارهای درمانی ماهیان زینتی، از غلظت تعیین‌شده در منابع علمی استفاده نمایند درحالی‌که راجع به گونه‌های مورد نظر غلظت فرمالین به طور خاص ذکر نشده بود، از حداقل دوز درمانی استفاده نمایند. در ضمن، تأکید می‌گردد همانند سایر داروها و ترکیبات شیمیایی، در ابتدا عملیات درمانی بر تعداد کمی از ماهیان استفاده شود و در صورت عدم مشاهده عوارض نامناسب، برای سایر گله نیز استفاده شود.

منابع

ابراهیم‌زاده موسوی، ح.، ذبیحی محمودآبادی، ع.، قره‌باغی، ع. و منصوری دانشور، م.، ۱۳۹۲. بیماری‌های ماهی‌های زینتی. انتشارات علمی آبزیان. تهران. چاپ دوم، ۳۸۲ ص.

برقی لشکری، ا.، صالحی، ح. و رجبی اسلامی، ه.، ۱۳۹۴. تدوین راهبردهای توسعه بازار ماهیان زینتی (مطالعه موردی: استان البرز)، نشریه علوم آبزی‌پروری، سال سوم، شماره ۴، صص ۴۲-۳۱.

پیغان، ر.، ۱۳۸۴. بیماری‌های ماهی، انتشارات دانشگاه شهید چمران. اهواز چاپ دوم، ۲۸۱ ص.

تیزکار، ب. و علی‌نژاد، س.، تندرو صف سری، ر.، ۱۳۹۸. تعیین غلظت کشنده (LC_{50}) فرمالین بر ماهی کوی (*Cyprinus carpio*). مجله آبزیان زینتی، سال ششم، شماره ۱، صص ۱۷-۷.

حاجی میررحیمی، س.د. و دادگر، ش.، ۱۳۹۵. بررسی موانع و راهکارهای توسعه صنعت ماهیان زینتی در ایران « مورد مطالعه : استان مرکزی»، مجله علمی شیلات ایران، سال بیست و پنجم، شماره ۳، صص ۱۴۷-۱۳۳.

حکیمی، ب.، خارا، ح. و پژند، ذ.، ۱۳۹۴. تعیین غلظت کشنده فرمالین بر روی بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ازون برون (*Acipenser stellatus*). مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر. سال نهم، شماره دوم، صص ۶-۱.

خارا، ح.، نظامی، ش.ع.، ستاری،م.، س.ع.، موسی‌پور، و.، حاجی‌پور، ع.، ۱۳۸۴. بررسی میزان شیوع و شدت آلودگی‌های انگلی ماهی سوف حاجی طرخان در طالاب امیرکل‌یها لاهیجان. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۶۷، صص ۵۷-۴۹.

خیابانی، ع.، استقلالیان، آ. ۱۴۰۰. مروری بر زیست‌فناوری تکثیر و پرورش تجاری ماهی دانیوی گورخری (*Danio rerio*). مجله آبزیان زینتی، سال هشتم، شماره ۲، صص ۴۱-۲۷.

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران ۱۳۹۲-۱۳۸۲، ۱۳۹۳. تهیه و تدوین: دفتر برنامه و بودجه، واحد آمار و مطالعات توسعه شیلاتی، سازمان شیلات ایران. ۹۲ ص.

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران ۱۳۹۸-۱۳۹۳، ۱۳۹۸. تهیه و تدوین: دفتر برنامه و بودجه، واحد آمار و مطالعات توسعه شیلاتی، سازمان شیلات ایران. ۹۲ ص.

سلیمی، ب.، ۱۳۹۱. تعیین میزان آلودگی انگل‌های خارجی در ماهیان زینتی گوپی، مولی، گلدفیش و کت فیش در مراکز نگهداری و پرورش ماهی در شهرستان سنندج. مجله تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی، دوره ۴، شماره ۱، ویژه‌نامه ۱. ۲۲۶ ص.

سید مرتضایی، ر.، پازوکی، ج. و معصومیان، م.، ۱۳۸۶. انگل‌های نماتود جدا شده از چند گونه ماهیان آب شیرین استان خوزستان، پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، دوره ۲۰، شماره ۴. صص ۱۰-۲.

شعیبی عمرانی، ب.، ۱۳۹۸. مصرف پروبیوتیک در آبزیان و ماهیان زینتی، مجله پژوهش‌های بالینی دامپزشکی، دوره ۱۰، شماره ۲. صص ۲۷-۲۳.

شمس قهفرخی، م.، علی‌نژاد، س. و رزاقی ابیانه، م.، ۱۳۸۴. قارچ‌شناسی و بیماری‌های قارچی آبزیان. انتشارات موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، تهران. ۱۹۲ ص.

عبدی، ک.، ۱۳۸۵. اطلاعات و کاربرد داروهای آبزیان، انتشارات پرتو واقعه با همکاری انتشارات دانش نگار. ۴۳۰ ص.

عبدی، ک. ۱۳۹۷. راهنمای عملی مدیریت بهداشتی، تشخیص و درمان بیماری‌های ماهیان (سردابی، گرمابی، دریایی). انتشارات سازمان نظام دامپزشکی جمهوری اسلامی ایران، ۲۷۲ ص.

Chanda, M., Paul, M., Maity, J., Dash, G. and Gupta, S.S., 2011. The use of antibiotics and disinfectants in ornamental fish farms of West Bengal, India. Journal of Natural Science, Biology and Medicine, 2(2), 139-140.

Cruz, E.R. and Pitogo, C.L., 1989. Tolerance level and histopathological response of Milkfish (*Chanos chanos*) fingerlings to formalin. Aquaculture, 78, 135-145.

Fajer-Avila, E.J., Abdo-de la Para, I., Aguilar-Zarate, G., Contreras-Arce, R., ZaldivarRamirez, J. and Betancourt-Lozano, M., 2003. Toxicity of formalin to Bullseye Puffer fish (*Sphoeroides annulatus* Jernyns, 1843) and its effectiveness to control ectoparasites. Aquaculture, 223, 41-50.

Fishbase, 2021. https://www.fishbase.se/summary/FamilySummary.php?ID=749 (Accessed 14 April 14, 2021).

Intorre, L., Meucci, V., Di Bello, D., Monni, G., Soldani, G. and Pretti, C., 2007. Tolerance of benzalkonium chloride, formalin, malachite green, and potassium permanganate in goldfish and zebrafish. Journal of the American Veterinary Medical Association, 231(4), 590-5.

Khan, R.A., 2009. Parasites causing disease in wild and cultured fish in Newfoundland. Icelandic Agricultural Sciences, 22, 29-35.

MacFarlene, B. Norton, E.C., Bowers, M.J., 1993. Lipid dynamics in relation to the annual reproudction cycle in yellowtail rockfish (*Sbastes flavidus*). Fisheiries and Aquatic Science, 50: 391-401.

Macniven, A. and Little, D.C., 2001. Development and evaluation of a stress challenge testing methodology for assessment of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linn.) fry quality. Aquaculture Research, 32, 671-679.

OECD, 1992. OECD Guideline for the Testing of Chemicals Test NO.203: Fish, Acut toxicity Test Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, France.

Prasad, K.K., Younus, M. and Srinivasulu, C., 2020. Ichthyofaunal diversity of Manjeera Reservoir, Manjeera Wildlife Sanctuary, Telangana. *India Journal of Threatened Taxa*, 12(10): 16357–16367.

Rao K.R.S.S. and Rao J.C., 1987. Independent and confined action of carbaryl and phenthoate on snake head *Channa punctatus* (Bioch.). Current Science, 56(7), 331-332.

Roberts, H. and Palmeiro, B.S., 2008. Toxicology of aquarium fish. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 11, 359–374.

Santos, R.F.B., Dias, H.M. and FujimotoI, R.Y., 2012. Acute toxicity and histopathology in ornamental fish amazon bluespotted corydora (*Corydoras melanistius*) exposed to formalin. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 84 (4), 1001-1007.

Schwaiger, J., Wanke, R., Adam, S., Pawert, M., Honnen, W. and Triebskorn, R., 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery, 6, 75-86.

Spence R, Gerlach G, Lawrence C and Smith C., 2008. The behavior and ecology of the Zebrafish, *Danio rerio*. Biological Rev, 83 (1), 13-34.

TCR, 1984. OECD Guideline for the Testing of Chemicals Test. Section 2. Effects on biotic system.

Teruel, M.N.B., Millamena, O.M. and Fermin, A.C., 2001. Reproductive performance of hatchery-bred donkey's ear abalone (*Haliotis asinine*) Linne, fed natural and artificial diets. Aquaculure Research, 32, 249-254.

Tisler, T. and Koncan, J.Z., 1997. Comparative assessment of toxicity of phenol, formaldehyde, and industrial wastewater to aquatic organisms. Earth and Environmental Science, 97, 315-322.

Varusai Naina Mohammed, S., Asrar Sheriff, M., Sultan Mohideen, A.K. and Azmathullah, N.Md., 2012. Toxicity of formalin on behaviour and respiration in *Danio rerio*. International Journal of Environmental Sciences, 2(4), 1904-1908.

www.fao.org/fishery/static/FAO_Training/FAO_Training/General/x6709e/x6709e15.htm. Fish disease prevention and treatment. 1997. 220 P.

Determining the lethal concentration of formalin to zebra fish (*Danio rerio*)

Alinezhad S.[1*] Teizkar B.[2] Zoughi shalmani A.[2]

[*]soheilalinezhad47@gmail.com

1-Institute of Agricultural Education and Extension, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
2-Gilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Rasht, Iran.

Abstract

Formalin is an effective solution for surface and equipment disinfection and also for several aquaculture industry challenge. Since various aquatics have different sensitivity to this substance, determination of a precise concentration for cultured fish is important. Because of diversity in aquarium fish species, this topic more highlights. In this study, the method of The Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) were used for LC_{50} of formalin solution (%37) in Zebrafish.

Six concentrations of this solution; 200, 213.98, 228.94, 244.99 and 262.07 mg/l plus a control group and three repeats for each group were applied. Mortality was recorded daily and at the end of 96 hours, LC_{10}, LC_{50}, and LC_{90} and the results were calculated (Probit Analysis method) 199.21, 255.57 and 327.89 mg/l respectively. Maximum safe concentration, MIC and ineffective concentration of formalin were obtained 25.56, 199.21 and 25.26 respectively for zebrafish. In order to the results, zebrafish has a good resistance to formalin solution.

Keywords: Formalin, LC_{50}, Zebra, Ornamental fish