

بررسی غلظت کشنده حاد (LC₅₀96h) و حداکثر غلظت مجاز (M.A.C. value) ماده شیمیایی مالاشیت گرین در ماهی گورخری (*Danio rerio*)

چکیده

میزان غلظت کشنده حاد (LC₅₀96h) و حداکثر غلظت مجاز (M.A.C. value) ماده شیمیایی مالاشیت گرین در ماهیان گورخری (*Danio rerio* Hamilton, 1822) بررسی شد. هدف از انجام این پژوهش تعیین غلظت مجاز استفاده از این دارو برای مصارف بهداشتی در ماهیان مذکور در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان زینتی بود. برای این منظور، تعداد ۴۲۰ ماهی گورخری با میانگین وزن 5 ± 0.5 گرم و طول 2.5 ± 0.1 سانتی‌متر در قالب ۲۱ گروه ۲۰ تایی (شامل یک گروه شاهد و ۶ گروه تیمار، هر یک با ۳ تکرار) با غلظت‌های (صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) مالاشیت گرین به مدت ۹۶ ساعت نگهداری شدند. میزان تلفات ماهیان در زمان‌های ۱، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت‌شده و درصد تلفات نسبت به تعداد اولیه محاسبه شد. همچنین حداکثر غلظت مجاز (M.A.C. value) مالاشیت گرین برای ماهیان موردبررسی بر اساس نسبت ۱/۱۰ مقدار غلظت کشنده حاد محاسبه شد. نتایج نشان داد که میزان غلظت کشنده حاد (LC₅₀96h) مالاشیت گرین گورخری به میزان ۰/۱۷۳ میلی‌گرم در لیتر و حداکثر غلظت مجاز (M.A.C. value) آن برای ماهیان مذکور ۰/۱۷ میلی‌گرم در لیتر بود. مقایسه این مقادیر با حدود استاندارد تعیین میزان سمیت مواد شیمیایی برای موجودات زنده، بیانگر آن بود که مالاشیت گرین برای ماهیان گورخری در محدوده "سمیت زیاد" قرار دارد.

واژگان کلیدی: ماهی گورخری، غلظت کشنده حاد، مالاشیت گرین، LC₅₀96h.

محمدامین ترابی^{۱*}

سینا نظرزاده دینار^۲

محمد مهدی رستمی^۳

بابک مقدسی^۴

۱، ۲، ۳. گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴. گروه منابع طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران

*مسئول مکاتبات:

amintorabi97@yahoo.com

کد مقاله: ۱۳۹۹۰۲۰۸۰۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۳۰

این مقاله پژوهشی و برگرفته از طرح

پژوهشی است.

مقدمه

صنعت تکثیر و پرورش ماهیان زینتی ازجمله مواردی است که با استفاده از مبانی علمی رشته‌های (زیست‌شناسی، شیلات، دامپزشکی) و صنعتی (ابزار، ادوات و تجهیزات) و همچنین زیبایی‌شناسی استوار است و در سراسر جهان علاقه‌مندان زیادی را به خود جلب کرده است. این صنعت ظرف چند دهه اخیر در ایران توسعه چشم‌گیری داشته و نقش مهمی در ایجاد اشتغال و تجارت داخلی و خارجی دارد (Hampton et al., 2019). هرساله گونه‌های جدید و تجاری جهت تکثیر و پرورش وارد کشور ایران می‌شود و بخش اعظم پرورش ماهیان زینتی در ایران به گونه‌های آب شیرین اختصاص یافته است، هرچند که طرفداران آکواریوم‌های دریایی (آب‌شور) نیز به سرعت رو به فزونی است (Aura et al., 2019) ازجمله بااهمیت‌ترین گونه‌های ماهیان آب شیرین در صنعت تجارت ماهیان آکواریومی ماهی گورخری است. ماهی گورخری دانیو از ماهیان زینتی بسیار زیبای آب شیرین و مناطق گرمسیری می‌باشد که زیستگاه آن شرق هند، بنگلادش، پاکستان، میانمار و نپال است طول عمر آن حدود ۵ سال و در دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد به راحتی زندگی می‌کند و دارای رژیم غذایی همه‌چیزخوار است (Quigley and Parichy, 2002; Hill et al., 2011; Sarvaiya et al., 2014) این ماهی (zebrafish) با نام علمی (*Danio rerio* Hamilton, 1822) که در منابع قدیمی‌تر

بانام‌های *Brachy danio* و *Danio frankei* نام‌برده شده یکی از ماهیان زینتی متعلق به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) است که به راسته کپورمانی سانان (Cypriniformes)، از رده پرتو بالگان (Actinopterygii) در فوق رده ماهیان استخوانی (Osteichthyes) تعلق دارد (Hamilton, 1822؛ Froese and Pauly, 2000). که در سال‌های اخیر به‌عنوان مدلی جهت آنالیز سریع عملکرد ژن‌ها و فعالیت بیولوژیک مولکول‌های آلی مطرح‌شده و به علت شباهت‌های زیاد ژنتیکی، فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی با انسان، به‌عنوان ماهی مدل در پژوهش‌های زیستی استفاده می‌شود (Ma et al., 2020). دلایل اولیه که سبب گسترش این مدل شده است، عبارت‌اند از اندازه کوچک لارو و جنین مورد آزمایش (تا ۵ میلی‌متر بسته به مراحل رشد)، قدرت باروری بالای ماهی بالغ (صدها بچه ماهی در یک‌بار جفت‌گیری طی یک هفته)، شفافیت جنین و لارو این ماهی (راحتی مشاهده اندام‌های داخلی) و سرعت رشد خارج رحمی (تمام مراحل رشد از تخم تک‌سلولی تا لارو در خارج از رحم صورت می‌گیرد) و به‌این‌ترتیب امکان ردگیری اثرات مختلف ترکیبات مورد آزمایش امکان‌پذیر است (Lawrence, 2007; Crawford et al., 2008).

ماده شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش مالاشیت گرین (با فرمول شیمیایی C₂₃H₂₅ClN₂) بود که به‌صورت کریستال‌های جامدی است که با حل شدن در آب رنگ سبزرنگی ایجاد می‌کند (Kwan et al., 2020). این ماده یک ترکیب شیمیایی با ساختار شیمیایی تری فنیل متان است که به‌صورت گسترده علیه انگل‌های خارجی، قارچ‌ها و باکتری‌ها در صنعت تکثیر و پرورش ماهیان و سخت‌پوستان استفاده می‌شود. همچنین از آن در صنایع رنگی برای رنگ‌آمیزی موادی چون پشم، چرم، کف، کاغذ و ابریشم استفاده می‌شود. مالاشیت‌گرین به‌طور مؤثری عفونت‌های ناشی از آغازیان، کرم‌های نواری، کرم‌های گرد، کرم‌های پهن و سخت‌پوستان را در آبی‌پروری کنترل می‌کند اما دارای آثار سمی است و موجب بروز تومور در کبد پستانداران می‌شود (Gavrilenko et al., 2019).

به علت آثار تراتوژنیک و سرطان‌زایی مصرف این ماده در ماهیان خوراکی فاقد مجوز است ولی مصرف آن در ماهیان زینتی به دلیل این که مصرف خوراکی ندارند دارای چنین محدودیتی نیست از طرف دیگر به دلیل عدم جایگزینی توسط داروی مناسب دیگر، هنوز استفاده از این ماده در بسیاری از کشورها تحت شرایطی خاص متداول است (Roberts and Shepherd, 1974; Meyer and Jorgenson, 1983; Alderman., 1985).

شالویی و همکاران (۱۳۹۶) در پژوهش خود روی ماهی گورخری چهارمحال و بختیاری (*Aphanius vladykovi*) انجام شد، میزان (LC₅₀96h) برای سموم دلتامترین (Deltamethrin) و فن‌والریت (Fenvalerate) به ترتیب ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲۱ میکروگرم در لیتر گزارش کردند همچنین جوهری (۱۳۹۵) در تحقیق دیگری میزان (LC₅₀96h) کلرید جیوه (Hgcl) را در ماهی گورخری (*Danio rerio*) ترا ریخته ۱۳۵ میلی‌گرم در لیتر و رنجبر و همکاران (۱۳۹۷) در پژوهش مشابه دیگری میزان (LC₅₀96h) گیاه سدابی (*Haplophyllum virgatum*) را بر روی این ماهی ۵۷/۹۹۶ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند.

همچنین Varusai و همکاران (۲۰۱۲) میزان (LC₅₀96h) ماده شیمیایی فرمالین (Formaldehyde) بر روی زبرا دانیو به میزان ۳۰۰ ppm گزارش کردند. مزارعی و همکاران (۱۳۹۴) نیز در تحقیق خود میزان (LC₅₀96h) برای نانو ذرات نقره بر روی ماهی گورخری معمولی (*Aphanius dispar*) را به میزان ۱۰/۶۳۱ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند. علاوه بر این در پژوهش دیگری Bilberg و همکاران (۲۰۱۲) میزان غلظت میانی (LC₅₀48h) نانو ذرات نقره و یون را بر روی زبرا دانیو به ترتیب ۸۴ و ۲۵ میکروگرم در لیتر اندازه‌گیری کردند. در پژوهشی دیگر حسن‌زاده (۱۳۹۵) تغییرات هیستولوژیک تخمدانی در ماهی گورخری (*Aphanius dispar*) را در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده متیل پارابن بررسی کرد که نتایج بیانگر کاهش میزان فولیکول‌های تخمدانی و کاهش زادآوری بود. در تحقیق مشابه دیگر درویشی و صفری (۱۳۹۹) تأثیر سم دیازینون را بر بافت بیضه ماهی گورخری بررسی کردند که کاهش اندازه گنادها و دژنره و آتروفی آن‌ها از مهم‌ترین نتایج آن بود.

در مطالعه آزادی و همکاران (۱۳۹۴) که به بررسی اثر ترکیبی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و فلز نیکل بر بافت آب‌شش ماهی گورخری (*Danio rerio*) پرداختند، نتایج بیانگر خمیدگی تیغه‌های ثانویه، هیپرتروفی تیغه‌های ثانویه، افزایش ترشح موکوس، افزایش به هم چسبیدگی لاملاهای ثانویه، هیپرپلازی و در نهایت افزایش نکروز بود. در تحقیق حامدی و همکاران (۱۳۹۴) که جهت بررسی غلظت کشندگی و خواص نفروتوکسیک مخاط شقایق دریایی *Stichodactyla.sp* در ماهی گورخری انجام شد، بروز آسیب‌های توبولی از جمله خونریزی و پرخونی کلافه مویرگی، اتساع و افزایش فشار کپسول بومن و نکروز سلول‌های توبولی در کمتر از دو ساعت مشاهده شد. همچنین آریایی و همکاران (۱۳۹۳) پژوهشی برای بررسی تغییرات هیستولوژیک کبد ماهی گورخری (*Aphanius dispar*) در اثر آرسنیک و کادمیوم انجام دادند که نتایج حاصلشان داد که در تمامی غلظت‌های کادمیوم و آرسنیک افزایش غلظت فلز سبب افزایش نکروزه شدن هپاتوسیتی و آتروفی می‌شود.

Omoregie و همکاران (۱۹۹۸) در پژوهشی مشابه جهت تعیین (LC₅₀96h) مالاشیت‌گرین تیلایلا نیل (*Oreochromis niloticus*) این میزان را ۰/۴۷۳ میلی‌گرم در لیتر و (Clemens and Sneed, 1959) در تحقیق دیگری میزان غلظت کشنده (LD₅₀96h) مالاشیت‌گرین بر روی کت‌فیش کانالی (*Ictalurus punctatus*) به میزان ۰/۱۴ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری کردند.

Limsuwan (۱۹۸۷) در پژوهشی دیگر میزان (LC₅₀96h) مالاشیت‌گرین در ماهی کپور نقره‌ای (*Puntius gonionotus*)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ماهی سرمایی (*Ophicephalus striatus*) به ترتیب ۰/۲۱ و ۰/۱۳۵ و ۰/۰۶۹ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری کرد. همچنین Kovrižnych و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهشی دیگر میزان (LC₅₀96h) نانو ذرات کلسیم اکسید (Cao)، مس اکسید (CuO) و نیکل اکسید (NiO) بر روی زبرا دانیو به ترتیب ۱۰۰، ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم لیتر گزارش کردند.

تحقیقات دیگری نیز برای بررسی آثار ترانژنیک مالاشیت‌گرین بر روی فزل‌آلای رنگین‌کمان و موش‌ها (Meyer and Jorgenson., 1983) و پژوهش‌های مشابهی نیز جهت بررسی اثرات پاتولوژیک مالاشیت‌گرین روی رت‌ها و تأثیرات سمیت آن بر بافت آب‌شش و کلیه پستانداران و آبزیان انجام شده (Clifton- Hadley and Alderman, 1987; Program, 2005; El-Neweshy and Srag, 2011).

با توجه به فقدان منابع دقیق برای تعیین میزان مصرف مجاز مالاشیت‌گرین در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان زینتی و همچنین تعیین دز درمانی این ماده برای گونه‌های مختلف ماهیان زینتی و کاربرد بالای این ماده (که تأثیرات بیماری‌زایی و آلاینده‌گی محیط‌زیست نیز دارد)، پژوهش حاضر به منظور تعیین حداکثر غلظت مجاز مالاشیت‌گرین در مصارف بهداشتی و درمانی ماهیان گورخری با بهترین بازده و کمترین میزان تلفات و عوارض جانبی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این طرح پژوهشی، تعداد ۴۲۰ ماهی گورخری با میانگین وزن 5 ± 0.5 گرم و طول 2.5 ± 0.1 سانتی‌متر در غالب ۲۱ گروه ۲۰ تایی (شامل یک گروه شاهد و ۶ گروه تیمار، هر یک با ۳ تکرار) با غلظت‌های مختلف مالاشیت‌گرین به مدت ۹۶ ساعت نگهداری شدند. ماهیان مذکور از بازار ماهیان زینتی شهر تهران خریداری شده و به مخازن ۱۵۰ لیتری حاوی آب شهری کلرزدایی شده با دمای ۲۴-۲۶ درجه سانتی‌گراد در کارگاه خصوصی (مرکز پژوهش‌های زیستی پارس) منتقل شدند. پس از یک هفته دوره ادپتاسیون (به منظور سازگار شدن با شرایط محیط کارگاه) و ۲۴ ساعت قطع غذادهی (بر اساس استاندارد (O.E.C.D, NO:423) (TRC., 1984))، در قالب ۲۱ گروه ۲۰ تایی در غلظت‌های (صفر، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) مالاشیت‌گرین نگهداری شده و تعداد تلفات ماهیان هر مخزن در زمان‌های ۱، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت شد و درصد تلفات نسبت به تعداد اولیه هر گروه محاسبه شد. در نهایت میزان سمیت حاد (LC₅₀96h) مالاشیت‌گرین با استفاده از نرم‌افزار

بررسی غلظت کشنده حاد ($LC_{50/96h}$) و حداکثر غلظت مجاز (M.A.C. value) ماده شیمیایی مالاشریت گرین در ... / ترابی و همکاران

probit analysis (Russell et al., 1977) و حداکثر غلظت مجاز (M.A.C. value) ماده شیمیایی فوق برای ماهیان مورد بررسی بر اساس نسبت ۱/۱۰ مقدار غلظت کشنده حاد محاسبه شد همچنین میزان سمیت این ماده برای ماهیان مورد بررسی با مقایسه مقدار به دست آمده آن در این پژوهش با مقادیر بیان شده در جدول سمیت مواد شیمیایی تعیین شد. جدول ۱ میزان سمیت مواد شیمیایی را نشان می دهد.

جدول ۱: جدول تعیین سمیت مواد شیمیایی برای ماهیان گورخری (*Danio rerio*) (Bassleer, 1998)

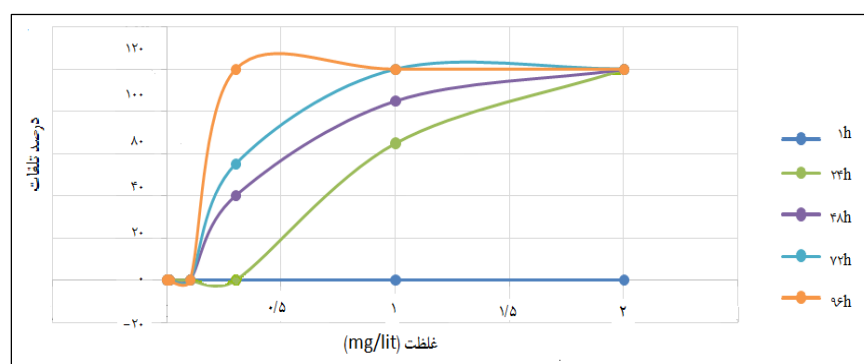
درجه سمیت	$LC_{50}(mg/l)$
تقریباً غیر سمی	>100
سمیت کم	$10-100$
سمیت متوسط	$1-10$
سمیت زیاد	$0.1-1$
سمیت خیلی زیاد	<0.1

نتایج

در گروه شاهد و تیمار یک تا سه در تمام طول دوره ۹۶ ساعته تلفاتی ثبت نشد. اولین گزارش تلفات برای تیمار چهارم (۰/۳ میلی گرم در لیتر) و پس از گذشت ۴۸ ساعت مشاهده شد. همچنین شروع تلفات برای تیمار پنجم و ششم پس از ده ساعت مشاهده شد که در تیمار پنجم تلفات به میزان ۱۰ درصد بود، اما در تیمار ششم تمام (۱۰۰ درصد) ماهیان در ده ساعت اول تلف شدند. با گذشت زمان میزان تلفات در تیمارهای چهارم و پنجم همچنان ادامه داشت به طوری که در تیمار چهارم پس از گذشت ۹۶ ساعت و در تیمار پنجم پس از گذشت ۷۲ ساعت تمام ماهیان تلف شدند. در نهایت با توجه به داده های به دست آمده و با استفاده از نرم افزار پروبیت آنالیز میزان غلظت کشنده حاد زمان های مختلف به این صورت به دست آمد که غلظت کشنده حاد ۲۴ ساعت ($LC_{50/24h}$) ۰/۹۲۴ میلی گرم در لیتر، غلظت کشنده حاد ۴۸ ساعت ($LC_{50/48h}$) ۰/۳۷۹ میلی گرم در لیتر، غلظت کشنده حاد ۷۲ ساعت ($LC_{50/72h}$) ۰/۲۹۴ میلی گرم در لیتر و نهایتاً غلظت کشنده حاد ۹۶ ساعت ($LC_{50/96h}$)، ۰/۱۷۳ میلی گرم در لیتر اندازه گیری شده همچنین حداکثر غلظت مجاز (M.A.C value) ماده شیمیایی مالاشریت گرین (تقسیم بر ۱۰) به میزان ۰/۰۱۷ میلی گرم در لیتر اندازه گیری شد، مقایسه حدود مشخص شده با جدول تعیین سمیت مواد شیمیایی برای ماهیان مشخص کرد که این ماده برای ماهیان در محدوده "سمیت زیاد" طبقه بندی می شود. جدول شماره ۲ بیانگر درصد تلفات ماهیان تیمار شده با مالاشریت گرین و شکل ۱ بیانگر نمودار روند تغییرات تلفات ماهیان مورد بررسی در غلظت های مختلف مالاشریت گرین می باشد که در ادامه آمده است.

جدول ۲: درصد تلفات ماهیان گورخری (*Danio rerio*) تیمار شده با مالاشریت گرین.

	Time(hour)	۱h	۲۴h	۴۸h	۷۲h	۹۶h
Concentration(mg/lit)						
C	.	.	.	.	.	.
T۱	۰/۰۰۱	.	.	.	.	.
T۲	۰/۰۱	.	.	.	.	.
T۳	۰/۱	.	.	.	.	.
T۴	۰/۳	.	.	۴۰	۵۵	۱۰۰
T۵	۱	.	۶۵	۸۵	۱۰۰	۱۰۰
T۶	۲	.	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
LC(mg/lit)	-----	.	۰/۹۲۴	۰/۳۷۹	۰/۲۹۴	۰/۱۷۳



شکل ۱: نمودار روند تغییرات تلفات ماهیان گورخری (*Danio rerio*) مورد بررسی در غلظت‌های مختلف مالاشریت‌گرین.

بحث و نتیجه‌گیری

بخش ماهیان زینتی جزئی از تجارت جهانی و یکی از مهم‌ترین عرصه‌های اقتصادی و سودآور فعالیت پرورش ماهی است زیرا علاوه بر زیبایی، دارای آورده نقدی بسیار مناسبی نیز می‌باشد در میان ماهیان زینتی ماهی گورخری که از زیبایی ظاهری و همچنین ویژگی‌های خاص بیولوژیک برخوردار است جایگاه ویژه‌تری پیدا کرده و هدف انجام مطالعات گسترده‌ای قرار گرفته است (Husen, 2019). از طرفی ماده شیمیایی مالاشریت‌گرین با توجه به کاربرد بسیار بالا و خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد انگلی، در صنعت ماهیان زینتی بیش از ماهیان پرورشی کاربرد دارد؛ زیرا مالاشریت‌گرین با داشتن اثرات تراتوژنیک و سمی مختلف بر بافت‌های بدن در ماهیان خوراکی ممنوعیت مصرف دارد (Gavrilenko et al., 2019). در این پژوهش با توجه به اینکه تا غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر تلفاتی مشاهده نشد می‌توان نتیجه گرفت ماهی زبرا دانیو تا این غلظت نسبت به ماده شیمیایی مالاشریت‌گرین مقاوم است و اثراتی از مسمومیت در ماهیان مشاهده نگردید. با افزایش میزان غلظت، بعد از گذشت دو روز (۴۸ ساعت) تلفات شروع و افزایش تدریجی میزان مرگ‌ومیر تا روز چهارم (۹۶ ساعت) ادامه داشت. همچنین اثرات خفیف مسمومیت با مالاشریت‌گرین نظیر چرخش به دور خود، افتادن به پهلو در کف و شنای نامتقارن مشاهده شد. با افزایش میزان غلظت سم تلفات در ساعات اولیه شروع شد همچنین آثار مسمومیت شدیدتر و حتی تغییر رنگ آبشش‌ها از حالت طبیعی به سبز متمایل به آبی نیز مشاهده شد که با نتایج Alderman (۱۹۸۵) و Sneed و Clemens (۱۹۵۹) که در تحقیقات خود مشاهده کردند مطابقت دارد. همچنین با مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر با تحقیقات رنجبر و همکاران (۱۳۹۷)؛ مزارعی و همکاران (۱۳۹۴)؛ Kovrižnych و همکاران (۲۰۱۳) و

Varusai و همکاران (۲۰۱۳) مشخص شد که حساسیت ماهی زبرا نسبت به مالاشیت گرین در مقایسه با گیاه سدایی، فرمالین، نانو ذرات نقره، نانو ذرات کلسیم اکسید، نقره اکسید و نیکل اکسید بسیار بیشتر می باشد. از طرفی با مقایسه نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج Limsuwan و همکاران (۱۹۸۷) و Omoregie و همکاران (۱۹۸۷) مشخص شد میزان حساسیت ماهی زبرا دانیو در مقایسه با تیلاپای نیل و کپور نقره‌ای در برابر مالاشیت گرین بیشتر است ولی در مقایسه با کت فیش کانالی و کپور معمولی و ماهی سرمایی از مقاومت بیشتری نسبت به این ماده شیمیایی برخوردار است. که با مطالعه تحقیقات Varusai و همکاران (۲۰۱۲) مشخص شد این تغییر در رفتار در اثر مواد شیمیایی به دلیل شرایط فیزیولوژیک گونه‌های مختلف ماهی می باشد. به طوری که در مقایسه تأثیر فرمالین بر ماهی زبرا و کپور ماهیان، به دلیل حساسیت بیشتر ماهیان زینتی به کمبود اکسیژن و نظر به اینکه فرمالین اثر کاهنده بر میزان اکسیژن آب دارد، ماهی زبرا نسبت به آن حساس تر است که این نتیجه قابل تمییم به مالاشیت گرین نیز است. همچنین با مطالعه نتایج به دست آمده از این پژوهش و تحقیقات یزدان پرست و همکاران (۱۳۹۶) و Gavrilenko و همکاران (۲۰۱۹) می توان گفت علت حساسیت شدیدتر بیشتر گونه‌ها به مالاشیت گرین در مقایسه با سایر مواد از جمله نانوذره‌ها مثل نانو ذرات نقره این است که این مواد بیشتر اثر تجمع زیستی داشته و در بررسی اثر سمیت آن‌ها در ماهیان کوچک، نانو ذرات نسبت سطح به حجم بیشتری را در مقایسه جثه ماهی احاطه کرده و اختلال در تبادل یون‌ها و متابولیت‌های سلولی را سبب می شوند ولی مالاشیت گرین علاوه بر تجمع زیستی تأثیرات وسیعی را عملکرد سلول‌ها به می گذارد. در تحقیقات رحیم و همکاران (۱۳۸۱) که بر روی میزان تأثیر مالاشیت گرین بر تخم گشایی ماهی کپور نقره‌ای صورت گرفت مشخص شد علاوه بر کاهش میزان تفریخ تخم‌ها، ماهیان متولد شده در ادامه زندگی خود هم از لحاظ رشد طولی و وزنی دچار مشکل بوده و زایایی کمتری در مقایسه با گروه کنترل از خود بروز دادند. با مقایسه این تحقیق با پژوهش یزدان پرست و همکاران (۱۳۹۶) مشخص شد که در میزان سمیت مالاشیت گرین برای این ماهی بیش تر بوده و از طرف دیگر آثار نکروز و خونریزی بافتی در اثر مصرف نانو ذرات نقره مشاهده نشده و تغییرات آب ششی شامل هایپرپلازی سلول‌های سنگفرشی و چماغی شدن لاملای اولیه می باشد، در حالی که در مطالعه Culp و همکاران (۲۰۰۶) که به بررسی مقاطع هیستولوژیک تأثیر مالاشیت پرداخته نکروز های وسیع و سراسری و خونریزی‌های گسترده در اثر استفاده از مالاشیت گرین در بافت آب شش‌ها مشاهده شده. با مطالعه تحقیقات صفری و همکاران (۱۳۹۵) مشخص شد که می توان مقاومت ماهی زبرا را در برابر استرس‌های اکسیداتیو با تغذیه ماهی زبرا با ناپلی آرتیمیا غنی شده با مقادیر مناسب از یدید پتاسیم افزایش داد زیرا ید باعث افزایش بیان ژن‌های تولیدکننده هورمون‌های تیروئیدی شده و بهبود عملکرد ایمنی را در برابر استرس‌های اکسیداتیو سبب می شود، زیرا بیان بیشتر ژن‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) باعث بهبود وضعیت انتی اکسیدانی ماهی شده و مقاومت آنرا در برابر استرس‌های اکسیداتیو داخلی و خارجی بالا می برد.

این پژوهش نشان داد که ماده شیمیایی مالاشیت گرین تا غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر باعث تلفات نمی شود، همچنین مشخص شد که میزان غلظت کشنده حاد (LC₅₀96h) و حداکثر غلظت مجاز (M.A.C value) این ماده به ترتیب ۰/۱۷۳ و ۰/۰۱۷ میلی گرم در لیتر می باشد.

منابع

- آریایی، م.، حمیدیان، ا.، ایگدیری، س.، پورباقر، ه. و اشرفی، س.، ۱۳۹۳. تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد ماهی گورخری (*Aphanius sophiae*) در اثر آرسنیک و کادمیوم. مجله بوم‌شناسی آبزیان. ۳ (۴)، صفحات ۳۱-۴۰.
- آزادی، ن.، منصوری، ب.، جوهری، س.، ملکی، ا.، داوری، ب.، پردل، م.، ۱۳۹۴. اثر ترکیبی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و فلز نیکل بر بافت آبشش ماهی گورخری (*Danio rerio*). نشریه علمی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۳ (۱)، صفحات ۲۹-۴۷.
- جوهری، س.، ۱۳۹۵. اثر نانو ذرات نقره بر سمیت حاد حیوه در ماهی دانیو گورخری (*Danio rerio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۴ (۴)، صفحات ۲۳-۳۰.

- حامدی، م.، خداپنده، ص.، سیف‌آبادی، ج. و همتی، ش.، ۱۳۹۴. غلظت کشندگی مخاط شقایق دریایی *Stichodactyla sp.* و خواص نفروتوکسیک آن در ماهی گورخری (*Danio rerio*). نشریه علمی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۳ (۱)، صفحات ۹۲-۷۵.
- حسن‌زاده، ن.، ۱۳۹۶. تغییرات هیستوپاتولوژی تخمدان ماهی گورخری (*Danio rerio*) در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده متیل پارابن. مجله بوم‌شناسی آبزیان، ۶ (۳)، صفحات ۸۳-۷۵.
- درویشی مجره، م. و صفری، ر.، ۱۳۹۹. تأثیر غلظت‌های تحت کشنده دیازینون بر بافت بیضه در ماهی گورخری (*Danio rerio*). فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۱۳ (۳)، صفحات ۶۷-۶۵.
- رحیم، پ.، مصباح، م.، راسخ، ع. و ده چشمه، م.، ۱۳۸۱. بررسی اثر سوء مالاشریت گرین بر میزان تخم‌گذاری در ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*). مجله دامپزشکی ایران، ۵ (۸)، صفحات ۷۴-۶۷.
- رنجبر، ح.، اسدی، م.، یوسف زادی، م.، چهارمی، س. و مزارعی، س.، ۱۳۹۷. تعیین غلظت کشنده (LC₅₀ 96h) عصاره گیاه *Haplophyllum virgatum* روی ماهی گورخری معمولی (*Aphanius dispar*). نشریه علمی بوم‌شناسی آبزیان، ۸ (۲)، صفحات ۱۵۴-۱۴۷.
- شالویی، ف.، اکرامی، م.، رحیمی، ر. و گودرز، ه.، ۱۳۹۶. تعیین غلظت‌های کشنده (LC₁₀₋₉₀) سموم دلتامترین و فن‌والریت و تأثیر آن‌ها بر علائم بالینی و تغییرات رفتاری در ماهی گورخری چهارمحال و بختیاری (*Aphanius vladkovi* (Coad, 1988) فصلنامه علمی-پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۶ (۲)، صفحات ۱۱-۱۸.
- صفری، ر.، مقدم فر، س.، ایمانیور، م.، شعبانی، ع. و جعفر نود، ع.، ۱۳۹۵. ارزیابی اثرات ناپلی غنی‌شده با ید بر بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و ایمنی در ماهی زبرا گورخری (*Danio rerio*). صفحات مجله بوم‌شناسی آبزیان، ۶ (۱)، صفحات ۱۰۱-۹۳.
- مزارعی، س.، سجادی، م.، سوری نژاد، ا.، جوهری، س. و اسدی، م.، ۱۳۹۴. تعیین غلظت کشنده نانو نقره در ماهی گورخری معمولی (*Aphanius dispar* Rüppell, 1829). بوم‌شناسی آبزیان، ۴ (۴)، صفحات ۱۱۵-۱۱۰.
- یزدان‌پرست، شریف پور، ع. و سلطانی، م.، ۱۳۹۶. مطالعه اثرات تجویز خوراکی نانو ذرات نقره بر برخی بافت‌های حیاتی ماهی زبرا (*Danio rerio*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۲ (۱)، صفحات ۳۲-۲۳.
- Alderman, D.**, 1985. Malachite green: a review. *Journal of Fish Diseases*, 8(3), 289-298.
- Aura, C. M., Nyamweya, C. S., Njiru, J. M., Odoli, C., Musa, S., Ogari, Z., Abila, R., Okeyo, R. and Oketch, R.**, 2019. Using fish landing sites and markets information towards quantification of the blue economy to enhance fisheries management. *Fisheries management and ecology*, 26(2), 141-152.
- Bassleer, G.**, 1998. Diseases in Marine Aquarium Fish: causes-symptoms-treatment. *The Journal of the Fish Veterinary Society* Issue Number 2• May 1998, 76.
- Bilberg, K., Hovgaard, M. B., Besenbacher, F. and Baatrup, E.**, 2012. In vivo toxicity of silver nanoparticles and silver ions in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of toxicology*, Volume 2012, Article ID 293784, 9 pages.
- Clemens, H. P. and Sneed, K. E.**, 1959. *Lethal doses of several commercial chemicals for fingerling channel catfish* (Vol. 316): US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.
- Clifton- Hadley, R. and Alderman, D.**, 1987. The effects of malachite green upon proliferative kidney disease. *Journal of Fish Diseases*, 10(2), 101-107.
- Crawford, A.D., Esguerra, C. V. and de Witte, P.A.**, 2008. Fishing for drugs from nature: zebrafish as a technology platform for natural product discovery. *Planta medica*, 74(06), 624-632.
- Culp, S. J., Mellick, P. W., Trotter, R. W., Greenlees, K. J., Kodell, R. L. and Beland, F. A.**, 2006. Carcinogenicity of malachite green chloride and leucomalachite green in B6C3F1 mice and F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 44(8), 1204-1212.
- El-Neweshy, M., and Srag, M. A.** (2011). Chronic malachite green toxicity in Nile tilapia: Pathological and hematological studies with special reference to quantitative histopathological assessment. *Researcher*, 3, 55-64.
- Froese, R. and Pauly, D.**, 2000. *FishBase 2000: concepts designs and data sources* (Vol. 1594): WorldFish.
- Gavrilenko, N. A., Volgina, T. N., Pugachev, E. V. and Gavrilenko, M. A.**, 2019. Visual determination of malachite green in sea fish samples. *Food chemistry*, 274, 242-245.

- Gratzek, J.**, 1983. Control and therapy of fish diseases. *Advances in veterinary science and comparative medicine*, 27, 297-324.
- Hamilton, F.**, 1822. An account of the fishes found in the river Ganges and its branches: Bishen Singh Mahendra Pal Singh.
- Hampton, S. E., Scheuerell, M. D., Church, M. J. and Melack, J. M.**, 2019. Long- term perspectives in aquatic research. *Limnology and Oceanography*, 64(S1), S2-S10.
- Hill, J. E., Kapuscinski, A. R. and Pavlowich, T.**, 2011. Fluorescent transgenic zebra danio more vulnerable to predators than wild-type fish. *Transactions of the American Fisheries Society*, 140(4), 1001-1005.
- Husen, M. A.**, 2019. Fish Marketing System in Nepal: Present Status and Future Prospects. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 7(1), 1-5.
- Kovřížnych, J. A., Sotníková, R., Zeljenková, D., Rollerová, E., Szabová, E. and Wimmerová, S.**, 2013. Acute toxicity of 31 different nanoparticles to zebrafish (*Danio rerio*) tested in adulthood and in early life stages— comparative study. *Interdisciplinary toxicology*, 6(2), 67-7.
- Kwan, P. P., Banerjee, S., Shariff, M. and Yusoff, F. M.** (2020). Persistence of malachite green and leucomalachite green in red tilapia (*Oreochromis hybrid*) exposed to different treatment regimens. *Food Control*, 108, 106866.
- Lawrence, C.**, 2007. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): a review. *Aquaculture*, 269(1-4), 1-20.
- Limsuwan, C.**, 1987. Acute Toxicity of Malachite Green to Five Species of Freshwater Fish. *Agriculture and Natural Resources*, 21(4), 355-359.
- Ma, R., Fang, W., Zhang, H., Sun, J., Su, H., Chen, T. and Hu, K.**, 2020. Transcriptome analysis of zebra fish (*Danio rerio*) eggs following treatment with malachite green. *Aquaculture*, 514, 734500.
- Meyer, F. P. and Jorgenson, T. A.**, 1983. Teratological and other effects of malachite green on development of rainbow trout and rabbits. *Transactions of the American Fisheries Society*, 112(6), 818-824.
- Omorie, E., Ofojekwu, P., Anosike, J. and Adeleye, A.**, 1998. Acute toxicity of malachite green to the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 13(4), 233-237.
- Program, N. T.**, 2005. Toxicology and carcinogenesis studies of malachite green chloride and leucomalachite green. (CAS NOS. 569-64-2 and 129-73-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). *National Toxicology Program technical report series* (527), 1.
- Quigley, I. K. and Parichy, D. M.**, 2002. Pigment pattern formation in zebrafish: a model for developmental genetics and the evolution of form. *Microscopy research and technique*, 58(6), 442-455.
- Roberts, R. J., and Shepherd, C. J.**, 1974. *Handbook of trout and salmon diseases*: Fishing News (Books) Ltd.
- Russell, R. M., Robertson, J. L. and Savin, N.**, 1977. POLO: a new computer program for probit analysis. *Bulletin of the ESA*, 23(3), 209-213.
- Sarvaiya, V., Sadariya, K., Rana, M. and Thaker, A.**, 2014. Zebrafish as model organism for drug discovery and toxicity testing: A review. *Veterinary clinical science*, 2(3), 31-38.
- TRC, O.**, 1984. Guidelines for testing of chemicals section 2. Effects on biotic systems pp, 1-39.
- Varusai, S., Asrar, M. S., Sultan, A. and Azmathullah, N.**, 2012. Toxicity of formalin on behaviour and respiration in *Danio rerio*. *International Journal of Environmental Sciences*, 2.