

## بررسی تأثیرات فرمالین و سولفات مس بر بافت های آبشش

### بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*)

مسعود فرخ روز<sup>1</sup>، عباسعلی زمینی<sup>1</sup>، الهه مظفری<sup>2</sup>

1- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، استادیار گروه آبزیان و شیلات، لاهیجان، ایران.

2- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، کارشناسی ارشد گروه آبزیان و شیلات، لاهیجان، ایران. Elahe\_222444@yahoo.com

تاریخ دریافت: 92/4/29 تاریخ پذیرش: 92/9/17

#### چکیده

زمینه و هدف: فرمالین و سولفات مس از دسته ترکیباتی هستند که دائماً در مزارع پرورش ماهی جهت درمان عفونت های انگلی و قارچی باکتریایی مورد استفاده قرار می گیرند. آبشش ماهی به عنوان ارگان هایی که مدام در معرض محیط خارجی قرار دارند و به دلیل نقش آن ها در تنفس و تعادل اسمزی اولین هدف این مواد شیمیایی و فلز سنگین هستند. هدف از این مطالعه بررسی هیستوپاتولوژی تأثیر غلظت های سولفات مس و فرمالین بر روی بافت آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر می باشد.

روش کار: در پژوهش حاضر به بررسی بروز ضایعات احتمالی بافت های آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر با میانگین وزنی 428 میلی گرم و میانگین طول 3/5 سانتی متر پس از قرارگیری در معرض غلظت های مختلف سولفات مس (در دو تیمار کوتاه مدت 20 دقیقه ای و بلند مدت 24 ساعته، 100 ppm، 1 ppm) و فرمالین (در دو تیمار کوتاه مدت و بلند مدت، 250 ppm و 25 ppm) پرداخته شد. بعد از پایدار کردن بافت ها در فرمالین 10 درصد و ایجاد برش 5 میکرومتری به روش هماتوکسیلین رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مطالعه گردید.

یافته ها: نتایج نشان داد که قرار گرفتن آبشش در مجاورت با 1 ppm در لیتر سولفات مس می تواند منجر به شروع هایپرپلازی خفیفی در تیغه های ثانویه آبششی شد. در غلظت 100 ppm این ضایعات شدیدتر و منجر به بروز پدیده های همانند هایپرپلازی در لاملاهای اولیه و ثانویه آبششی و پرخونی بسیار زیادی مشهود بودند. نتایج حاصل از قرار گرفتن آبشش در مجاورت 25 ppm فرمالین، اندکی پرخونی مشهود بوده است و در بلند مدت حضور بسیار زیاد گلبول های قرمز می باشد.

واژه های کلیدی: مس، فرمالین، آبشش، *Rutilus kutum*، تغییرات هیستوپاتولوژیکی.

#### مقدمه

در سال های اخیر به منظور تأمین نیازهای غذایی بشر توجه بیشتری به منابع آبی معطوف گشته است. آبزیان که منبع غذایی انسان را تشکیل می دهند، عناصر سنگین شیمیایی رها شده در آب ها را در بدن خود جمع نموده و یا به عبارتی تغلیظ کرده (تجمع زیستی) و در جریان چرخه های زیستی این مواد را به سطح غذایی بالاتر از خود و در نهایت به انسان منتقل می نمایند. ورود مواد آلوده کننده به آب ها و تجمع آن ها در آبزیان به واسطه خطراتی که برای انسان و موجودات دیگر ایجاد می کند از دیدگاه بهداشتی، اقتصادی، اکولوژیکی بسیار حائز اهمیت است. فرمالین و سولفات مس از دسته ترکیباتی هستند که دائماً در مزارع پرورش ماهی جهت درمان

عفونت های انگلی و قارچی باکتریایی مورد استفاده قرار می گیرند. با توجه به عدم تجزیه زیستی و بزرگنمایی و تجمع زیستی تهدید جدی برای اکوسیستم می باشد. آبشش ماهی به عنوان ارگان هایی که مدام در معرض محیط خارجی قرار دارند و به دلیل نقش آن ها در تنفس و تعادل اسمزی اولین هدف این مواد شیمیایی و فلز سنگین هستند. آبشش به دلیل بروز سریع تغییرات هیستوپاتولوژیک، بافتی مناسب جهت بررسی آلاینده ها هستند. فرمالین برای بعضی از گونه ها مخصوصاً قزل آلای ایالت متحده انجام شده نشان داد که از 73 کارگاه پرورش ماهی در کشور، 23 کارگاه دچار مسمومیت با این ماده بوده، و ماهیان فوراً یا پس از مدتی دچار تلفات

1390 مورد بررسی قرار گرفت. این پژوهش در قدم اول در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجائی ساری واقع در 20 کیلومتری شهر ساری صورت گرفت. آزمایش به مدت 40 روز از نیمه دوم خرداد ماه لغایت نیمه سوم تیرماه ادامه داشت. در قدم دوم نمونه های بافت آبشش در آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی شهرستان بابل صورت گرفت. به منظور انجام مراحل تحقیق، تعداد 10 عدد آکواریوم تهیه گردید که در آزمایشگاه کنترل بیماری مرکز شهید رجائی ساری با شرایط نوری کنترل شده و یکسان انتخاب شدند. آب مورد نیاز جهت آزمایش با استفاده از آب استخرهایی که بچه ماهیان در آن رشد نمودند به طور یکسان به کارگیری شد (جدول 1). بعد از کسب سلامت بچه ماهیان و ثبت اطلاعات بیومتری، آن ها را به داخل آکواریوم هایی که از قبل 15 لیتر آبگیری شدند و مجهز به سیستم هوادهی بوده و 26 درجه ثابت شده بود، انتقال یافتند. بچه ماهیان به مدت یک هفته در داخل آکواریوم ها قبل از شروع آزمایش قرار گرفتند.

#### شیوه به کارگیری محلول های ضد عفونی

در روند اجرای این پروژه یک تیمار مربوط به فرمالین و تیمار دوم مربوط به سولفات مس در کوتاه مدت با دوز 250 ppm در لیتر و در بلند مدت به میزان 25 ppm در لیتر با دوزهای 1 ppm در لیتر در بلند مدت و 50 ppm در لیتر در مرحله کوتاه مدت و هر کدام با سه تکرار و یک گروه شاهد فاقد سولفات مس و فرمالین انتخاب شدند. با توجه به اهمیت فاکتورهای مختلف محیطی در پرورش بچه ماهیان و تأثیر متغیرهای محیطی بر میزان سمیت فلزات سنگین، پارامترهای فیزیکی تغییر دما، pH، سختی و میزان اکسیژن محلول در آب توسط دستگاه WTW مدل Multi340I ساخت کشور فرانسه به صورت روزانه اندازه گیری و جهت ثابت نگه داشتن شرایط محیطی برای تمامی مخازن کنترل گردید (جدول 2).

می شوند. سولفات مس، برای کنترل جلبک ها در استخر و هم چنین به عنوان باکتری کش و انگل کش استفاده می شود. این ماده برای ماهیان بسیار سمی است و غلظت کشنده آن به قلیائیت آب بستگی دارد. از آن جایی که مس برای میکروارگانیزم ها نیز سمی است، از این رو به عنوان یک ماده درمانی برای درمان عفونت های میکروبی، آلودگی های انگلی و قارچی خارجی کاربرد داشته و به طور گسترده برای کنترل جلبک و گیاهان آبی نیز مورد استفاده قرار می گیرد (6). داست و همکاران در سال 1984 با بررسی اثرات هیستوپاتولوژیکی دوزهای حاد مس بر روی آبشش ماهی قزل آلائی رنگین کمان ضایعاتی منجمله هایپرپلاژی و تلاترکتاری در لاملائی ثانویه آبشش را گزارش نمودند (8). در تحقیقات مشابهی گاراسل و همکاران (2010) با بررسی اثرات هیستوپاتولوژیکی فلز مس بر روی آبشش قزل آلائی رنگین کمان ضایعاتی هم چون پرخونی هایپرپلاژی و تلاترکتاری در لاملائی ثانویه آبشش را گزارش نمودند (11). در پژوهش حاضر تأثیر غلظت های سولفات مس و فرمالین بر روی هیستوپاتولوژی بافت آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر با توجه به حساسیت بیشتر آن ها نسبت به ماهیان بالغ، مورد بررسی و سنجش قرار گرفت. این مقاله با این هدف که مواد ضد عفونی کننده فرمالین و سولفات مس بر روی آبشش اختلال ایجاد می کنند. به دنبال پاسخ پرسش هایی نظیر فرمالین و سولفات مس چه تأثیری در رشد و بازماندگی بچه ماهی سفید دریای خزر خواهند داشت؟ و آیا اثر فرمالین و سولفات مس در ناهنجاری های بچه ماهی سفید دریای خزر موثر می باشند؟ است.

#### مواد و روش ها

برای انجام این تحقیق 300 قطعه بچه ماهی سفید دریای خزر با میانگین وزنی 428 میلی گرم و میانگین طولی 3/5 سانتی متر در گستره زمانی 40 روزه در تابستان سال

جدول 1- میانگین زیست سنجی های انجام شده در کل بچه ماهی سفید

میانگین وزن بچه ماهی ها	میانگین طول بچه ماهی ها		
	طول استاندارد (cm)	طول فورک (cm)	طول کل (cm)
428 میلی گرم	2/8 ± 0/1	3 ± 0/1	3/3 ± 0/1
دامنه وزنی	320-644mgr		

جدول 2- پارامترهای زیستی

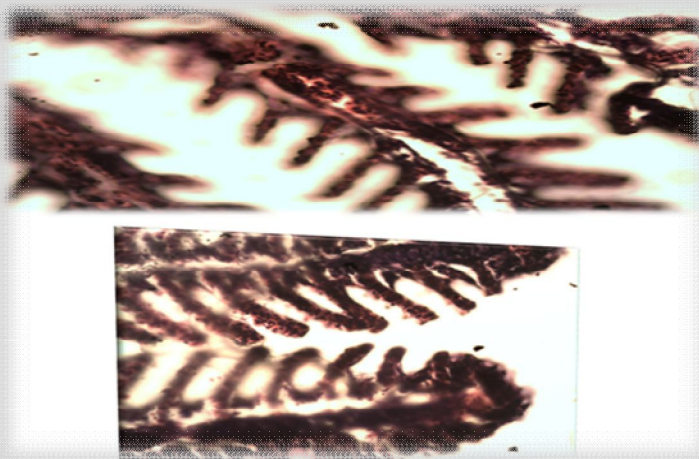
پارامترهای کیفی آب	میانگین اندازه گیری شده
درجه حرارت آب	27/3 درجه سانتی گراد
pH	8/4 میلی گرم در لیتر
اکسیژن محلول	6/4 - 7/6 میلی گرم در لیتر
سختی کل	170 میلی گرم در لیتر

های آبششی ثانویه در طرفین تیغه های آبششی اولیه قرار گرفته و آثاری از تغییرات آسیب شناسی در آن ها مشاهده نگردید (شکل 1). تیغه های آبششی اولیه و ثانویه در شرایط کاملاً نرمال دیده شدند و هیچ گونه تغییری در ضخامت و شکل این تیغه ها حادث نشده است. تیغه های آبششی اولیه از غضروف، رگ های خونی و بافت پوششی چند لایه تشکیل شده است (شکل 1). در میان لاملاها، تیغه اولیه از چند لایه با انواع مختلفی سلول تشکیل شده که شامل سلول های کلراید، موکوسی و سنگفرشی می باشند. سلول های پهن سنگفرشی خارجی ترین لایه تیغه آبششی را شکل می دهند که نشان دهنده عدم وجود تغییرات در سطح سلولی در این گروه می باشد. اگر چه در غلظت 100ppm در تیمار کوتاه مدت سولفات مس پرخونی تبدیل به هموراژی شده است و در برخی از لاملاهای اولیه در قسمت های رأسی لاملاهای ثانویه از بین رفته است. فضاهاى تنفسى طبیعى بوده و وضعیت غضروف های آبششی نرمال است (شکل 2 و 3، جدول 2).

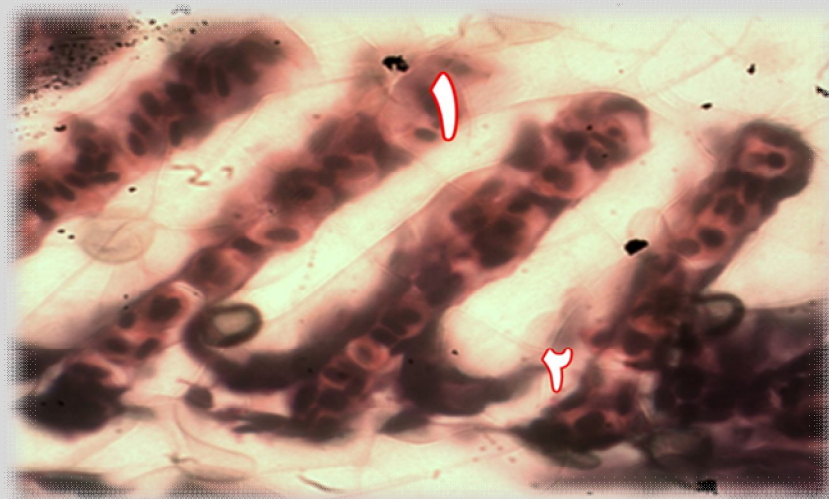
پس از پایان دوره آزمایش از ماهیان به طور تصادفی نمونه گیری شد. برای انجام بررسی های بافت شناسی ابتدا از بافت مورد نظر که در این مطالعه آبشش ماهیان فوق بود، تکه های کوچک 1 تا 2 میلی متری برداشته شد. سپس نمونه های بافتی در ظروف حاوی فرمالین بافر فسفات 10 درصد تثبیت گردید. پس از طی مراحل ثبوت، آگیری، شفاف سازی، آغستگی به پارافین، قالب گیری و برش بافت ها از آن ها مقاطعی به ضخامت 5 میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین-آئوزین رنگ آمیزی انجام گرفت. کلیه مراحل تهیه مقاطع بافتی و رنگ آمیزی در آزمایشگاه بافت شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهرستان بابل انجام شد. در نهایت لام های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند و با استفاده از دوربین دیجیتالی متصل به میکروسکوپ از مقاطع مورد نظر عکسبرداری به عمل آمد. این عمل با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مدل Nikon ESOO مجهز به نمایشگر و دوربین عکاسی و فیلم برداری با تر 100 جهت بررسی تغییرات پاتولوژیک مطالعات مقایسه ای با نمونه شاهد صورت گرفت.

### نتایج

در مطالعه بافت شناسی آبشش ها، نمونه شاهد آبشش کاملاً سالم ترین بافت را نشان می دهد. تعداد زیادی تیغه



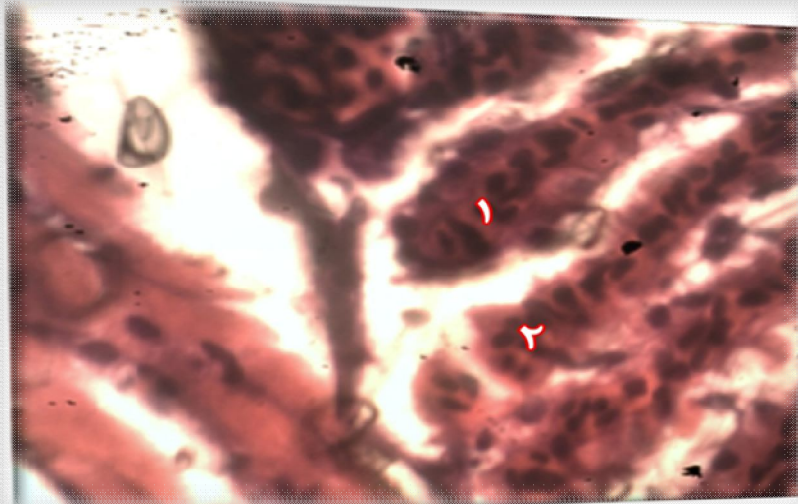
شکل 1- نمایی از بافت آبشش در ماهیان شاهد



شکل 2- پرخونی (1) و از بین رفتن لاملاهای ثانویه آبشش (2) در تیمار کوتاه مدت سولفات مس بجه ماهیان سفید دریای خزر (100 \* (H&E

طی بررسی تأثیرات فرمالین در تیمار کوتاه مدت 20 دقیقه ای با دوز 250 ppm بررسی های میکروسکوپی انجام شده حاکی از بروز ضایعات از قبیل پرخونی در لاملاهای ثانویه دیده و هموراژی دیده نمی شود و ساختار های بافت شناسی کاملاً حفظ شده است (جدول 3).

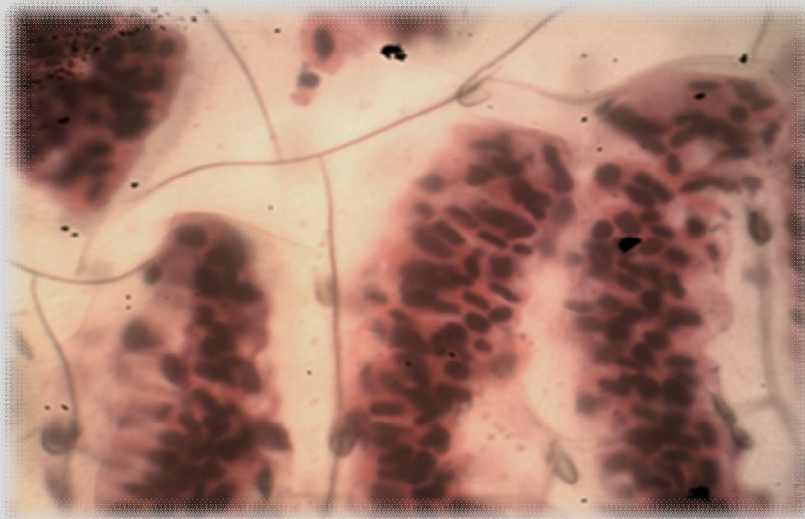
با افزایش مدت تیمار سولفات مس به 24 ساعت با دوز 1 ppm سلول های آبشش به شدت تحت تأثیر قرار گرفتند، با این حال در بررسی های صورت گرفته در آبشش ماهیان این گروه علائم پاتولوژیکی هایپر پلازی ملاحظه نگردیده است. در این لاملاها آن چه بیشترین توجه را به خود جلب می کند حضور بسیار زیاد گلبول های قرمز در قسمت های انتهایی فیلامان های ثانویه می باشد و پرخونی بسیار زیادی مشهود است (شکل 4). در



شکل 3- پرخونی (1) و از بین رفتن قسمت های رأسی لاملاهای ثانویه (2) در تیمار کوتاه مدت سولفات مس در بافت آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر (H&E \* 100)

جدول 2- نتایج بررسی اثر سولفات مس در آبشش ماهی

نوع تغییرات	اندام	مدت زمان بررسی
پرخونی تبدیل به هموراژی شده است. در برخی از لاملاهای اولیه در قسمت رأسی لاملاهای ثانویه از بین رفته است. فضاهای تنفسی طبیعی بوده و وضعیت غضروف های آبششی نرمال است.	آبشش	کوتاه مدت 20 دقیقه ای غلظت 100ppm
هایپرپلازی ملاحظه نگردیده است. حضور بسیار زیاد گلبول های قرمز در قسمت های انتهایی فیلامان های ثانویه است. پرخونی بسیار زیادی مشهود است.	آبشش	بلند مدت (24 ساعته) غلظت 1 ppm



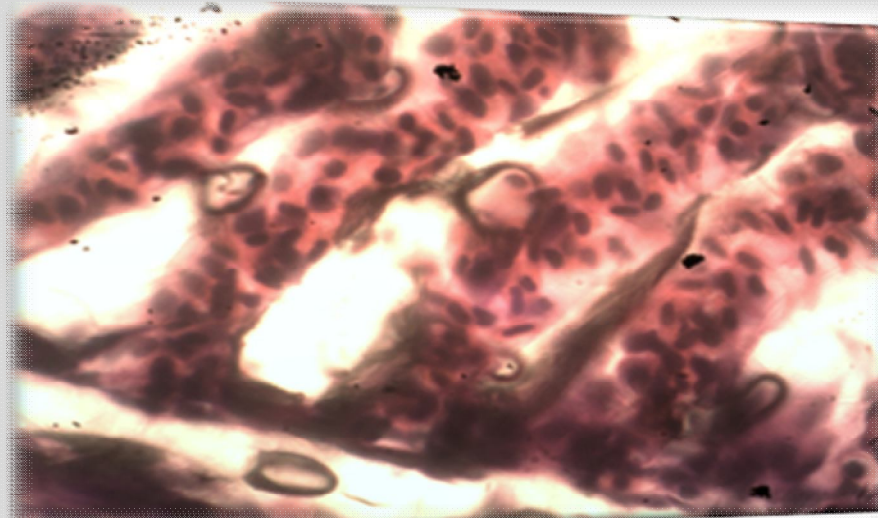
شکل 4- پرخونی در بافت آبشش در تیمار بلند مدت سولفات مس بچه ماهی سفید دریای خزر (H&E \* 100)

جدول 3- نتایج بررسی اثر فرمالین در آبشش ماهی

مدت زمان بررسی	اندام	نوع تغییرات
کوتاه مدت 20 دقیقه ای غلظت 250ppm	آبشش	پرخونی در لاملاهای ثانویه همورژی دیده نمی شود و ساختار بافت شناسی کاملاً حفظ شده است.
بلند مدت (24 ساعته) غلظت 25 ppm	آبشش	در قسمت های رأسی لاملاهای ثانویه آثار Congestim ملاحظه می شود. فضاهای تنفسی بین رشته های آبششی بدون آسیب بوده اند.

نمونه ها در قسمت های رأسی لاملاهای ثانویه آثار Congestim ملاحظه می شود. فضاهای تنفسی بین رشته های آبششی بدون آسیب بوده اند (شکل 5).

در آزمایشات بافت شناسی و بررسی های آسیب شناسی سلولی آبشش در معرض فرمالین طی تیمار 24 ساعته طولانی مدت با دوز 25 ppm نتایج ذیل مشاهده گردید. عوارض پاتولوژیکی خاص مشاهده شده اما در برخی



شکل 5- ساختارهای بافت شناسی حفظ شده در تیمار کوتاه مدت فرمالین بافت آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر (H&E \* 100)

سلول های مویرگی، خون ریزی در تیغه های ثانویه آبششی، هم چنین در غلظت های بالاتر نقاط اتصال لایه اپیدرم با لایه بازال از بین رفته است و پرخونی شدیدی در آبشش ها دیده شد.

### بحث و نتیجه گیری

#### سولفات مس

سولفات مس در غلظت های معینی در حدود 0/3 تا 2 میلی گرم در لیتر مورد استفاده قرار می گیرد که دامنه مصرف آن بسته به شرایط فیزیکی و شیمیایی آب متغیر می باشد (5). یکی از مهم ترین فاکتورها در تعیین سمیت مس، سختی آب بوده و نباید قبل از مشخص نمودن آن

در پژوهش حاضر تأثیر غلظت های مختلف سولفات مس و فرمالین بر روی بافت آبشش در دوره زمانی 40 روزه بر روی 300 عدد بچه ماهی سفید دریای خزر را مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه های بافتی تهیه شده از آبشش ماهیان شاهد و مقایسه آن ها با بافت آبشش ماهیانی که تحت تأثیر غلظت های سولفات مس با دوز 100 ppm در کوتاه مدت در طی 20 دقیقه و 1 ppm در بلند مدت در طی 24 ساعت و محلول فرمالین در غلظت 250ppm در کوتاه مدت و 25 ppm در بلند مدت قرار داشتند، نشان دهنده ضایعات هیستوپاتولوژیکی در آبشش ها همانند هایپرپلازی در تیغه های اولیه و ثانویه آبشش، آسیب به

گردد که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد (7). اگر چه آرلانو و همکاران (1999) معتقدند که ادم و تورم رشته‌های آبخشی یکی از عمده ترین آسیب های مشاهده شده در آبخش ماهیان مورد مطالعه می باشد (5)، اما در پژوهش حاضر این ضایعه در هیچ کدام از غلظت ها مشاهده نشد، که البته این امر می تواند به دلیل گذرا بودن این ضایعات باشد که نهایتاً منجر به هموراژی می گردد. در بررسی های انجام شده توسط داست و همکاران در سال 1984 نیز همانند پژوهش حاضر هایپرپلاژی در لاملاهای آبخشی و خون ریزی در تیغه های ثانویه آبخشی در ماهیان سفید که در معرض مس بودند مشاهده گردید (8). نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان می دهد که در غلظت های بالا آسیب به شکل پرولیفراسیون سلولی در اپیتلیوم آبخشی بروز می کند. با این حال از دیگر ضایعات مشاهده شده در این بررسی تلانژیکتاری در لاملاهای ثانویه آبخشی به عنوان یک پاسخ حاد بود که در مطالعه حاضر این آسیب مشاهده نشد. از سوی دیگر گارسیا سانتز و همکاران در سال 2002 با مطالعاتی که بر روی ماهی تیلایا انجام دادند دریافتند که در اثر آلودگی با کادمیوم نیز تلانژیکتاری در لاملاهای ثانویه آبخشی در نتیجه از بین رفتن سلول های پشتیبان لاملاهای ثانویه ایجاد می گردد (7)، مالات نیز در سال 1985 پیشنهاد کرد که این مطالعه بندرت مجاورت با فلزات سنگین در آبخش بروز خواهد کرد (11، 13). در بررسی حاضر نیز تخریب آبخش در تیمار کوتاه مدت با مس (1/6 میلی گرم در لیتر) محسوس بود. در قسمت های رأسی لاملاها پرخونی تبدیل به هموراژی شده است. در برخی از لاملاهای اولیه در قسمت های رأسی لاملاهای ثانویه از بین رفته است (حدود 30 درصد لاملاهای اولیه) هم چنین نتایج بدست آمده در تیمار بلند مدت به غلظت 16 میلی گرم در لیتر علایم پاتولوژیکی مثل هایپرپلاژی یا کوتاه شدن فیلامان

این ماده مورد استفاده قرار می گیرد. به گونه ای که مس در آب های نرم از حلالیت و سمیت بالایی برخوردار است اما معمولاً در آب های سخت، تمایل به رسوب دارد. از این جهت استفاده از دوزهای درمانی پیشنهاد شده از سولفات مس در سختی کمتر از 50 به شدت برای ماهیان سمی و کشنده بوده و در سختی های بالاتر از 400 میلی گرم در لیتر نیز کاملاً بی اثر بوده و توصیه نمی گردد (2). با این حال به منظور حفظ سلامتی ماهی نباید تنها به این فاکتور متکی بود. چرا که متغیرهای شیمیایی و فیزیکی دیگری نظیر بالا بودن درجه حرارت و کاهش اکسیژن و pH آب نیز ممکن است منجر به کاهش بیشتر حاشیه امنیت گردد. از این جهت آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا میزان 0/1 میلی گرم در لیتر مس، که بتواند در مدت 96 ساعت 50 درصد از ماهیان را نابود کند، به عنوان شاخص کمی جهت ارزیابی سمیت مس در آب توصیه می نماید (1). با توجه به این که مصرف سولفات مس در صنایع پرورش ماهی طی سال های اخیر توسعه یافته است و هم چنین با توجه به ویژگی پایدار بودن عناصر سنگین، که برخلاف ترکیبات آلی از طریق فرایندهای شیمیایی یا زیستی در طبیعت تجزیه نمی شوند. میزان این عنصر در محیط های آبی به مرور افزایش یافته و می تواند به صورت یون های موجود در آب توسط موجودات زنده جذب گردند. گزارش منتشر شده از آرلانو و همکاران در سال 1999 نیز حاکی از بروز ضایعاتی منجمله هایپرپلاژی در تیغه های ثانویه آبخشی، آسیب به سلول های اندوتلیال مویرگ های موجود در تیغه های ثانویه و حضور گلبول های سرخ در فضای خارجی عروق در ماهی *Solea seegalensi* در معرض 0/1 میلی گرم در لیتر از فلز مس بود (4، 5). در مطالعه دیگر سرکیو و فرناندز در سال 2002 گزارش کردند که تغییرات به وجود آمده در عروق در نهایت می تواند منجر به خون ریزی در تیغه های ثانویه آبخشی

کاهش اکسیژن، pH، نیز ممکن است منجر به کاهش بیشتر حاشیه امنیت گردد. در طی آزمایشاتی که توسط Emma. J, Fajer و همکاران در سال 2003 صورت گرفته شمار انگل آبشش ماهی بادکنکی (*Spherooides annulatus*) به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرده است (9). انگل های آبشش به میزان 84 درصد بعد از 7 ساعت در معرض قرارگیری، در آزمایش اول فرمالین در غلظت های پایین (24، 40 و 51 میلی گرم در لیتر) خون ریزی، یا رفتار غیرطبیعی نشان ندادند ولی در دومین آزمایش با افزایش غلظت خون ریزی، اگروفتالمی و ساییدگی باله بعد از 20 دقیقه ایجاد شد. نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که در غلظت های بالاتر آسیب به شکل خون ریزی و جدا شدن رشته های فیلامان های ثانویه بروز می کند. از آنجا که ضایعات بوجود آمده در آبشش که در معرض مواد ضدعفونی کننده قرار داشتند به حد شدید و خطرناک نبوده بطوری که بتواند موجب مرگ ماهیان در زمان کمی شود

ها مشاهده نشده است ولی اندکی پرخونی در فیلامان های ثانویه دیده می شود. ساختارهای بافت شناسی کاملاً حفظ شده است. با توجه به آزمایشات انجام شده و نتایج بدست آمده و همچنین استناد به مطالعات انجام شده در این زمینه می توان در چند مورد خاص به یک نتیجه گیری کلی دست یافت. با توجه به نتایج به دست آمده برای مقدار 250ppm سولفات مس در تیمار کوتاه مدت (20 دقیقه) نشان می دهد که با افزایش ساعات آزمایش تأثیرات فلز مس بر روی پوست افزایش می یابد. هر چقدر ساعت آزمایش افزایش می یابد غلظت کمتری از ماده ضدعفونی لازم است. یکی از عوامل تأثیرگذار در این آزمایش فاکتور زمان می باشد. عامل سختی آب نیز بر روی نتیجه آزمایش تأثیرگذار است. با افزایش سختی آب منجر به رسوب سولفات مس می گردد، ازاینرو برای انجام آزمایش نیاز به آب با سختی کم می باشد. فرمالین دارد. میزان مورد نیاز فرمالین برای درمان بیماری های انگلی بسته به حرارت آب می باشد. اما با این حال به منظور حفظ سلامت ماهی نباید تنها به این فاکتور متکی بود چرا که متغیر های شیمیایی - فیزیکی دیگری نظیر

## منابع

5. AreHano, J.M., Storch, V., Sarasquete, C. (1999). Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the senegales. *Sole solea Senegalenis*- Ectotoxicology and Environmental Safety, 44; 62-47.

6. Alazomi, B.M., Lewis, J.W., Andrews, E.B. (1996). Gill damage in the fresh water fish *Gnathonemus petersii* exposed to selected pollutants. An ultrastructural study. *Environ. Technol*, 17; 225-238.

7. Cerqueria, C., Fernandes, M.N. (2002). Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish prochirodus *S. crofa*. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 52; 83-91.

8. Daoust. P.Y., Wobester, G., Newstend, J. D. (1984). Acyte pathological effect of inorganic eryru and capper in gill of rainbow trout, on *Corhynchus mykiss*. *Vettinary pathology*, 21(1); 93-101.

1- جلالی جعفری، ب.، ورشویی، ع. 1387. اطلس بافت شناسی ماهی، انتشارات دانشگاه تهران، 328ص.

2- جلالی جعفری، ب.، ورشویی، ح.، خمیرانی، ر.، موسوی، ه. 1376. مدیریت بهداشت و بیماری های استخرهای پرورش ماهیان گرم آبی، انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان اداره کل آموزش و ترویج، 188ص.

3- ستاری، م. 1388. ماهی شناسی، تهران: انتشارات نقش مهر، 659ص.

4- مشایی، م.ع. 1388. فیزیولوژی ماهی در سیستم های پرورش متراکم، مولف گری آ. ودمیر. انتشارات دریا سر، 302ص.



9. Emmaj, F.A., Abdo-delaparra, I., Aguilar-zarate, G., Contreras Arce, R., Betancourk Lozano, J. (2003). Toxicity of farmolin to bullseys puffer fish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1843) and its effectiveness to control ectoparasites zaldivar- Ramirez, Miguel
10. Ferguson, H.W. (1989). Systemic pathology in fish Iowa state university press publication. 429-434.
11. Gurcu. B., Yildizi, S., Koca, Y.S., Koca, S. (2010). Investig a tuin of Carpio (Linneaus, 1785) in the Golmaramara lake Turkey. Journal of Animal.
12. Lauren, D.J., Mc Donald, D.G. (1985). Effects of copper on branchial in oregulation in the *Rainbow trout*. J. comp-physiol, 13; 635-644.
13. Mallatt, J. (1985). Fish gill structural changes in duced by toxicants and other irritants: a statistical revie, can. J. Fish Aquat. Sci, 42; 630-648.
14. Olson, K.F., Fromm, P.O. (1973). Ascauning electron microscopic stidy of secondry lamella and choro ridae cells of Rainbow trut (*Salmo gairdneri*). Zellforsch. Mikrosk. An at, 143; 439-449.

---

Archive of SID