

بررسی تأثیر فرمالین و سولفات مس بر بافت پوست

بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*)

مسعود فرخ روز^۱، عباسعلی زمینی^۱، الهه مظفری^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران. elahe_222444@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۵

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. در این پژوهش به بررسی بروز ضایعات احتمالی بافت پوست بچه ماهی سفید دریای خزر تحت تأثیر فرمالین و سولفات مس پرداخته شده است.

روش کار: در پژوهش حاضر به بررسی بروز ضایعات احتمالی بافت های آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر با میانگین وزنی ۴۲۸ میلی گرم و میانگین طول ۳/۵ سانتی متر پس از قرارگیری در معرض غلظت های مختلف سولفات مس (در دو تیمار کوتاه مدت ۲۰ دقیقه ای و بلند مدت ۲۴ ساعته، ۱۰۰ ppm، ۱ ppm) و فرمالین (در دو تیمار کوتاه مدت و بلند مدت، ۲۵۰ ppm و ۲۵ ppm) پرداخته شد. بعد از پایدار کردن بافت ها در فرمالین ۱۰ درصد و ایجاد برش ۵ میکرومتری به روش هماتوکسیلین رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مطالعه گردید.

یافته ها: در بررسی های بافت شناسی پوست، تغییرات خاصی در سلول های پوست که در معرض پایین ترین غلظت مس بودند، مشاهده نشد، اما در غلظت ۱۰۰ ppm جدا شدن لایه اپیدرم از لایه بازال بیشتر بود. لایه کراتینه موجود در پوست بدون تغییر باقی مانده و آثار خونریزی مشاهده نشد. در بررسی های پوست جداشدگی لایه ها تا حدودی مشاهده گردید و در تیمار بلند مدت در سلول های مالپیگی و جداشدن لایه های اپیدرم از لایه بازال دیده شده و آثاری از پُرخونی مشاهده شده است.

واژه های کلیدی: مس، فرمالین، پوست، ماهی سفید، تغییرات هیستوپاتولوژیکی.

مقدمه

آبزیان می شوند. تجمع بعضی از مواد آلاینده همانند مس باعث تجمع در بافت آبزیان می گردد و خطرات ناشی از آن در بافت آلوده منجر به تغییر در ساختار و عملکرد دستگاه های حیاتی مثل پوست می شود. 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 (۲). پوست به دلیل بروز سریع تغییرات هیستوپاتولوژیک، بافتی مناسب جهت بررسی آلاینده ها می باشد. ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) یکی از گونه های موجود در دریای خزر است که بیشترین پراکنش آن در حوضه جنوبی دریای خزر می باشد (۶). ماهی سفید دریای خزر یکی از ماهیان پرارزش شیلاتی است و در میان ایرانیان به خصوص ساکنین نواحی شمالی ایران طرفداران بی-

آبزیان که منبع غذایی انسان را تشکیل می دهند، عناصر سنگین شیمیایی رها شده در آب ها را در بدن خود جمع نموده 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 می باشد. بسیاری از این فلزات به طور طبیعی از اجزای تشکیل دهنده اکوسیستم های آبی به حساب می آیند و حتی تعدادی از آن ها در بقای موجودات زنده نقش حائز اهمیتی را ایفا می کنند (۱۱). چنانچه میزان این عناصر به دلایل گوناگون از حدود معین فراتر رود باعث به مخاطره انداختن حیات

که با پارافرمالدئید آلودگی نداشته باشد. ترکیب اخیر رسوب سفیدرنگی در ته بطری بوجود آورده و برای ماهیان بسیار سمی است. فرمالین اثر تحریک کننده بر روی مخاط تنفسی انسان همانند ماهی دارد. بنابراین به منظور حفظ سلامتی عامل باید با دقت و احتیاط دستکاری شده و با دقت فوق العاده برای درمان به کار برده شود. قبل از انجام درمان باید بررسی ریزینی انگل به عمل آید و وجود انگل محرز گردد. قبل از پیش بینی هر نوع درمان اضافی آبشش های ماهیان درمان شده باید آزمایش شود. فرمالین اکسیژن را از محلول ها دور می کند و اثر یاد شده پس از ۲۴ ساعت از افزوده شدن به یک استخر به اوج خود می رسد. اگر برطرف کردن کامل فرمالین از آب یک استخر پرورش ماهی بلافاصله پس از درمان مقدور نباشد، باید دقت و مواظبت شود تا از حدوث کاهش اکسیژن مثلاً با بکار بردن دستگاه تهویه یا پمپ هوا جلوگیری گردد (۱۷). اشکال تجارتي مورد تأیید فرمالین برای مصرف در ماهیان خوراکی در آمریکا عبارتند از: فرمالین-F، پاراساید-F، پاراسایت-S برای درمان ضد انگلی در دمای کمتر از ۵۰ درجه فارنهایت ۲۵۰ Ppm و در دمای بیشتر از آن ۱۷۰ Ppm به مدت یک ساعت، در استخرهای حاکی ۲۵-۱۵ Ppm، برای کنترل قارچ زدگی و تخم ماهیان آزاد و اردک ماهیان ۲۰۰۰ Ppm به مدت ۱۵ دقیقه در مخازن درمان تخم است. محلول فرمالدئید (فرمالین) یک ماده ضد عفونی کننده عمومی به صورت کشنده میکروب، کشنده قارچ یا پیشگیری کننده در صنایع مختلف می باشد. طرز عمل و فعالیت آن تشکیل گروه های یک ظرفیت مشابه با گروه های اصلی پروتئین است. در زمینه آبری پروری، فرمالین می تواند به حجم استخر وارد شود اما به طور معمول درمان به چاله های آب در کف استخر محدود می شود. هم چنین فرمالین به عنوان ضد عفونی کننده در هجری ها استفاده می شود. فرمالدئید قبل از این

شماری دارد (۷). سولفات مس و فرمالین اکسید کننده هایی است که می توانند برای ضد عفونی سطوح خارجی ماهیان به کار روند. این مواد به طور موثری بیشتر انگل های خارجی، باکتری ها و قارچ ها را از بین می برند. (۱۰). ساپروولگنیا و سایر اوومسیت ها بطور طبیعی در اکثر منابع آبی موجود بوده و در صورت حضور عوامل زمینه ساز مانند هرگونه استرس فیزیکی و شیمیایی به آسانی گسترش و تکثیر می یابند (۱۶). بچه ماهیان به عنوان گروهی از موجودات زنده خونسرد که بسیاری از اعمال فیزیولوژیک و دفاعی آنان به محیط وابسته است در شرایط نامناسب پرورشی استعداد زیادی برای ابتلا به عفونت های قارچی دارند. این عفونت های قارچی در کلیه مراحل زندگی شامل (تخم، بچه ماهی و مولدین) به اشکال مختلف جلدی و احشایی و نیز مسمومیت با سموم قارچی موجود در مواد غذایی بروز یافته و موجب بروز تلفات می شود (۶). از جمله تغییراتی را که ممکن است در اثر استفاده از سولفات مس و فرمالین در بچه ماهیان به وجود آید می تواند تغییرات بافتی نظیر هیپرتروفی، هیپرپلازی، افزایش سلول های مخاطی و ترشحات آن ها و پرخونی، خونریزی، آئوریسیم، فیوژن، آماس، نکروز بافتی باشد (۵). پوست ماهی به عنوان نخستین سد دفاعی، نقش مهمی را در تنظیم رابطه بین ماهی و محیط آن ایفا می کند و پوست ماهی در مقابل عفونت های زیادی محافظت می نماید و از لحاظ فیزیولوژیک نیز برای ماهی مهم می باشد. محیط آبی و کوتیکول پوست دارای تعداد زیادی ارگانسیم های بالقوه بیماری زا می باشند، لذا سلامت پوست ماهی یکی از شاخص های اصلی بررسی سلامت بهداشت ماهی می باشد (۸). فرمالین برای درمان عفونت های انگلی خارجی پوست، آبشش ها به ویژه باکاسیتا و سایر تک یاخته ای ها و هم چنین کرم های برگی شکل تک میزبانی فوق العاده مفید می باشد. فرمالین محلول ۴۰ درصد فرمالدئید بوده و باید دقت شود

زیاد تغییر می کند. مشخص شده است که این ترکیب سبب نکروز کلیه، تخریب بافت خونساز، افزایش چربی کبد و مهار برخی از آنزیم های گوارشی می شود (۷). سولفات مس، برای کنترل جلبک ها در استخر و 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. غلظت LC50 حاد سولفات مس برای ماهی آبشش آبی، در ۴۸ ساعت بین ۳/۱ میلی گرم در لیتر در آب هایی که میزان کربنات آن کم است، تا ۴۴ میلی گرم در لیتر در آب های با کربنات زیاد تغییر می کند. مشخص شده است که این ترکیب، سبب نکروز کلیه، تخریب بافت خونساز، افزایش چربی کبد و مهار برخی از آنزیم های گوارشی می شود. حضور مس بیش از میزان طبیعی آن در آبی که برای پرورش ماهی استفاده می شود به احتمال زیاد ناشی از آلودگی حاصله از فعالیت های انسانی است. زیرا در حالت طبیعی به ندرت میزان آن از ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر فراتر می رود. مس به صورت محلول به سه طریق به منابع آبی وارد می شود. وجود مس در فاضلاب های صنعتی و خانگی یکی از منابع ورود مس به اکوسیستم های آبی، می باشد که اغلب به صورت نمک های سولفات و کلر محلول به عنوان پساب تخلیه می شوند. منبع بالقوه دیگر در مراکز تکثیر، مس آزاد شده از مواد برنجی و مسی می باشد که در ساخت شیرآلات، توری ها و لوله های مورد استفاده قرار می گیرد. وارد شدن مس به منابع آبی از این طریق در مناطقی که دارای آب های نرم می باشد بیشتر است. استفاده از برخی ترکیبات حاوی مس، مانند اسپری های سولفات مس تحت عنوان جلبک کش و قارچ کش، از راه های دیگر ورود این فلز به صنایع پرورشی عنوان شده است (۹، ۴). با توجه به این موارد در پژوهش حاضر تأثیر غلظت های سولفات مس و فرمالین بر روی هیستوپاتولوژی بافت پوست بچه ماهی سفید دریای خزر

که میگوها برای پرورش بعدی، ذخیره شوند، توسط فرآیندهای طبیعی تجزیه می گردند. خطر ایمنی غذایی با استفاده از محلول فرمالدئید وجود ندارد (۱۴). در یک تحقیق گزارش گردید که فرمالین می تواند به میزان ۲۵ mg/l به مدت یک طول زمانی نامحدود به صورت حمام استفاده شود. بسیاری از مواد شیمیایی استفاده شده در درمان آلودگی های خارجی ماهیان، اثرات نامطلوبی روی ماهیان دارند (۱). سولفات مس در رنگرزی پارچه های نخی و ابریشمی، در تولید رنگ های آبی و سبز، معادن، آبکاری، ساخت مرکب برای ورق های حلیبی، رنگ مو، تولید سموم قارچ کش و باکتری کش، حفاظت چوب، رنگرزی چرم، باطری سازی، گارورسازی، از بین بردن خزه در استخرها، مکمل غذای دام و طیور، تولید شعله سبز در مواد آتش بازی مورد استفاده قرار می گیرند. سولفات مس به طور گسترده ای برای جلوگیری از پوسیدگی باله ها و آسیب های پوست ماهیان آب شیرین، انگل های خارجی ماهی ها در آکواریوم های دریایی مورد استفاده قرار می گیرد (۱۵). سطح درمانی و زمان مورد نیاز برای درمان که برای ماهیان جوان بزرگ و بالغ در آکواریوم های دریایی مورد استفاده قرار می گیرد، نمی تواند برای لارو ماهی در آبی پروری مناسب باشد. Daoust در سال ۱۹۸۴ پیشنهاد کردند که حمام سولفات مس به مدت یک ساعت یا بیشتر از آن می تواند برای درمان عفونت های خارجی باس مخطط که از طریق *Aeromonas spp.* و *Pseudomonas spp.* و *Flavo bacterium columnare* در آب شیرین و *Vibrio spp.* در آب شور ایجاد می شود مؤثر باشد (۱۳). این ماده برای ماهیان بسیار سمی است و غلظت کشنده آن به قلیائیت آب بستگی دارد. غلظت LC50 حاد سولفات مس برای ماهی آبشش آبی، در ۴۸ ساعت بین ۳/۱ mg/lit در آب هایی که میزان کربنات کم است تا ۴۴ mg/lit در آب های با کربنات

با توجه به حساسیت بیشتر آن‌ها نسبت به ماهیان بالغ، مورد بررسی و سنجش قرار گرفت. این پژوهش با هدف تعیین تأثیر فرمالین و سولفات مس در ناهنجاری‌های پوست در نتیجه کارایی آن در رشد و نمو بچه ماهی سفید دریای خزر و مشخص کردن تأثیرات فیزیولوژیک بافت پس از قرار گرفتن در برابر مواد ضد عفونی کننده فرمالین و سولفات مس به دنبال پاسخ به پرسش‌هایی نظیر دوز مناسب فرمالین و سولفات مس در کنترل آلودگی قارچی بچه ماهی سفید چقدر است؟ و آیا فرمالین و سولفات مس در ناهنجاری‌های پوست بچه ماهی سفید دریای خزر تأثیری دارند؟ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق ۳۰۰ بچه ماهی سفید دریای خزر با میانگین وزنی ۴۲۸ میلی گرم و میانگین طولی ۳/۵ سانتی متر در گستره زمانی ۴۰ روزه در تابستان سال ۱۳۹۰ مورد بررسی قرار گرفت. این پژوهش در قدم اول در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجائی ساری واقع در ۲۰ کیلومتری شهر ساری صورت گرفت و بچه ماهیان مورد نیاز در هنگام رهاسازی بچه ماهیان به دریا از این مرکز تأمین شد. آزمایش به مدت ۴۰ روز از نیمه دوم خرداد ماه لغایت نیمه سوم تیرماه ادامه داشت. در قدم دوم نمونه‌های بافت پوست در آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی شهرستان بابل صورت گرفت. به منظور انجام مراحل تحقیق، تعداد ۱۰ عدد آکواریوم در آزمایشگاه کنترل بیماری مرکز شهید رجائی ساری با شرایط نوری کنترل شده و یکسان تهیه گردید. آب مورد نیاز جهت آزمایش با استفاده از آب استخرهایی که بچه ماهیان در آن رشد نمودند به طور یکسان بکارگیری شد. جهت صید بچه ماهی سفید با استفاده از تور محاصره‌ای استفاده شد که تعداد ۵۰۰ بچه ماهی سفید جهت سازگاری و عملیات زیست‌سنجی انتخاب شدند. ماهیان صید شده بلافاصله با کمک یک سطل آب به آزمایشگاه

منتقل گردیدند. جهت بیماری‌یابی در بچه ماهیان، تعداد ۶۰ عدد بچه ماهی به طور تصادفی از کلیه نمونه‌ها جدا و از پوست، چشم، آبشش و روده بچه ماهیان گسترش تهیه و در زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در این بررسی‌ها مشاهده شد که تمامی ماهیان سالم و عاری از هر گونه انگلی یا پارازیت‌ها بوده‌اند. برای انجام عملیات زیست‌سنجی در این پژوهش، تعداد ۱۲۰ عدد بچه ماهی را از نمونه‌های دریافتی به طور تصادفی برداشت نموده و مورد زیست‌سنجی قرار دادند. برای انجام عملیات زیست‌سنجی یا بیومتری ابتدا با بیهوش کردن آن‌ها به صورت قطع نخاعی، طول کل، وزن و سن بچه ماهیان یادداشت گردید. طول بچه ماهیان با استفاده از خط کش، و وزن بچه ماهیان با استفاده از ترازوی دیجیتال با حساسیت ۰/۰۱ مورد بررسی قرار گرفتند. سن بچه ماهیان با توجه به تاریخ رهاسازی لاروها از سوی بخش تکثیر مرکز شهید رجائی ۵۳ روزه ثبت گردید.

بعد از کسب سلامت بچه ماهیان و ثبت اطلاعات بیومتری، آن‌ها را به داخل آکواریوم‌هایی که از قبل ۱۵ لیتر آبگیری شده و مجهز به سیستم هوادهی بوده و درجه حرارت آب نیز ۲۶ درجه سانتی‌گراد ثابت شده بود، انتقال یافتند. بچه ماهیان به مدت یک هفته در داخل آکواریوم‌ها شدند. در روند اجرای این پژوهش یک گروه شاهد (فاقد سولفات مس و فرمالین)، یک تیمار مربوط به فرمالین و تیمار دوم مربوط به سولفات مس و هر کدام با سه تکرار و انتخاب شدند. استفاده از محلول‌های ضد عفونی در دو غلظت و زمان مختلف استفاده شد. سولفات مس ساخت کارخانه صنایع شیمیایی و دارویی کیان کاو ایران، به وسیله آونگ کریستال سولفات مس به صورت پودری در آورده سپس در آب مقطر حل شد و فرمالین ۳۷ درصد از شرکت کیان کاوه آزما ایران استفاده شد که درصدی از فرمالین برای استفاده در مخازن با آب مقطر محلول گشت. تیمار اول که از

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 ۱).

فرمالین استفاده گردید دارای یک مرحله کوتاه مدت به میزان ۲۵۰ ppm در لیتر و مرحله بلند مدت آن به میزان ۲۵ ppm بوده است. تیمار دوم که از سولفات مس استفاده شد نیز در مرحله کوتاه مدت به میزان ۵۰ ppm در لیتر و در مرحله بلند مدت ۱ ppm در لیتر در هر آکواریوم اضافه شد. با توجه به اهمیت فاکتورهای مختلف محیطی در پرورش بچه ماهیان و تأثیر متغیرهای

جدول ۱- پارامترهای اندازه گیری در انجام پژوهش

پارامترهای کیفی آب	میانگین اندازه گیری شده
درجه حرارت آب	۲۷/۳ درجه سانتی گراد
pH	۸/۴ میلی گرم در لیتر
اکسیژن محلول	۶/۴ - ۷/۶ میلی گرم در لیتر
سختی کل	۱۷۰ میلی گرم در لیتر

بزرگنمایی ۱۰۰ جهت بررسی تغییرات پاتولوژیک مطالعات مقایسه ای با نمونه شاهد صورت گرفت (۳).

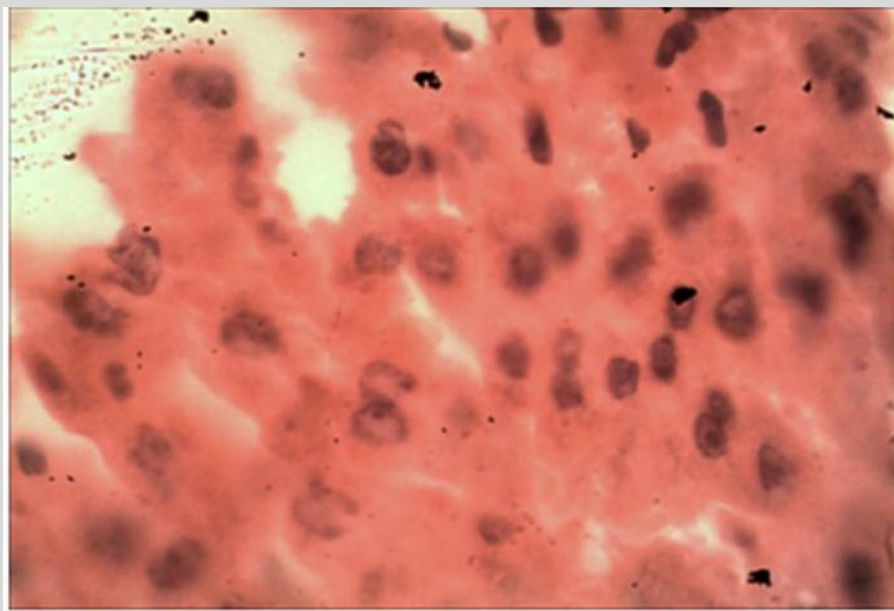
نتایج

در غلظت ۱۰۰ ppm در تیمار کوتاه مدت سولفات مس تأثیرات بر روی پوست بررسی شده است. وضعیت پوست طبیعی بوده و با گروه شاهد تفاوتی دیده نمی شود (جدول ۲ و شکل ۱). در غلظت ۱ ppm در تیمار ۲۴ ساعته سولفات مس تأثیرات بر روی پوست بررسی و آثاری از پرخونی دیده شد. تورم سلولی تا حدودی دیده می شود. واکوئوله شدن برخی از سلول های اپیدرم دیده گردید (شکل ۲). در طی بررسی تأثیرات فرمالین در تیمار کوتاه مدت ۲۰ دقیقه ای با دوز ۲۵۰ ppm بررسی های میکروسکوپی انجام شده حاکی از بروز ضایعات از قبیل پرخونی در لاملاهای ثانویه دیده می شود. هموراژی دیده نمی شود و ساختارهای بافت شناسی کاملاً حفظ شده است (جدول ۳، شکل ۳).

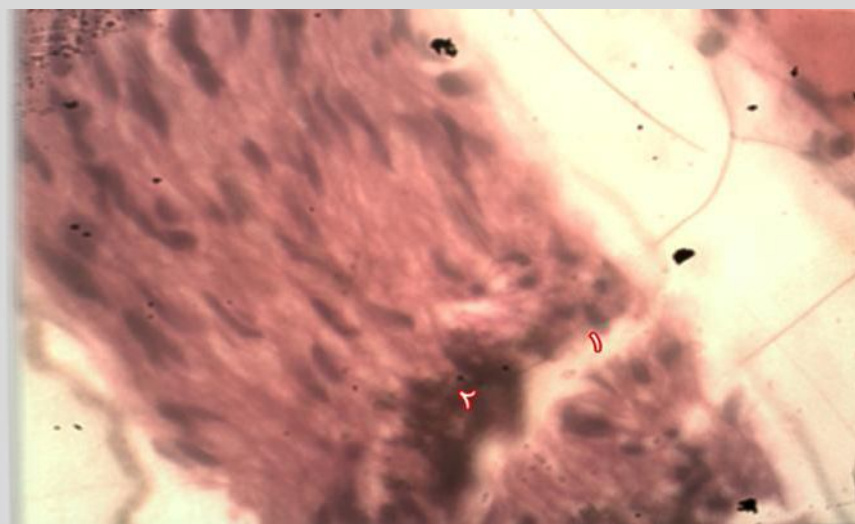
پس از پایان دوره آزمایش از ماهیان به طور تصادفی نمونه گیری صورت گرفت. برای انجام بررسی های بافت شناسی ابتدا از بافت مورد نظر که در این مطالعه پوست ماهیان فوق بود، تکه های کوچک ۱ تا ۲ میلی متری برداشته و در ظروف حاوی فرمالین بافر فسفات ۱۰ درصد تثبیت گردیدند. پس از طی مراحل تثبیت، آبگیری، شفاف سازی، آغستگی به پارافین، قالب گیری و برش بافت ها از آن ها مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی انجام گرفت (۳). 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 عکس برداری به عمل آمد. این عمل با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مدل Nikon ESOO مجهز به نمایشگر و دوربین عکاسی و فیلم برداری با

جدول ۲- نتایج بررسی اثر سولفات مس در پوست

نوع تغییرات	مدت زمان بررسی
وضعیت طبیعی بوده و با گروه شاهد تفاوتی دیده نشد	کوتاه مدت ۲۰ دقیقه ای غلظت ۱۰۰ ppm
پرخونی، تورم سلولی تا حدودی، واکوئوله شدن برخی از سلول های اپیتلیوم	بلند مدت (۲۴ ساعته) غلظت ۱ ppm



شکل ۱- وضعیت طبیعی پوست در تیمار کوتاه مدت سولفات مس و ساختار های بافت شناسی حفظ شده



شکل ۲- ۱) جدانشدگی لایه اپیدرم از لایه پایه ای، ۲) خونریزی در بافت پوست تیمار بلند مدت سولفات مس در بچه ماهی سفید دریای خزر (H&E × ۱۰۰)

حد ملایمی دیده می شود. وضعیت لایه کراتینه طبیعی می باشد. آثاری از پرخونی دیده نمی شود. Detachment لایه بازال به خوبی ملاحظه می گردد. در بررسی بافت شناسی پوست در تیمار بلندمدت با دوز

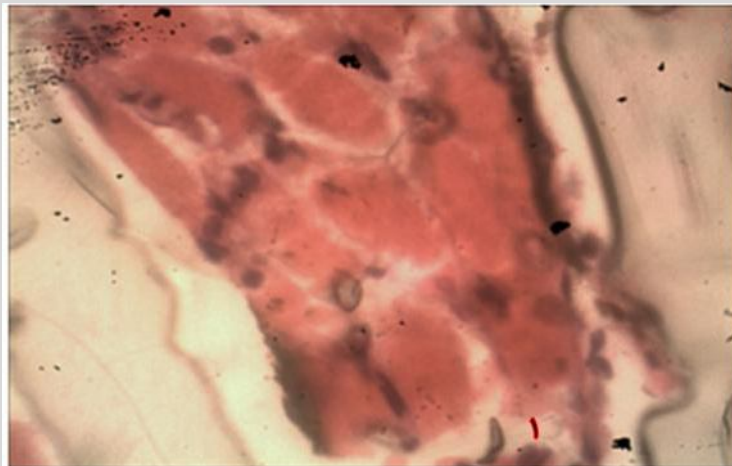
مشاهداتی بر روی بافت پوست که در معرض فرمالین با تیمار کوتاه مدت ۲۰ دقیقه ای با دوز ۲۵۰ ppm صورت گرفته تورم سلولی در برخی از سلول های اپیدرمی را نشان می دهد و جدانشدگی لایه اپیدرم از لایه بازال در

دارد اما ضایعات به صورت برگشت پذیر می باشند. لایه کراتینه بدون تغییر مانده و آثاری از خون ریزی دیده نمی شود (شکل ۴).

۲۵ppm در مدت ۲۴ ساعت اتصال لایه اپیدرم با لایه بازال از بین رفته است. Detachment دیده می شود. به نظر می رسد اندکی در سلول های مالپیگی تورم وجود

جدول ۳- نتایج بررسی اثر فرمالین در پوست

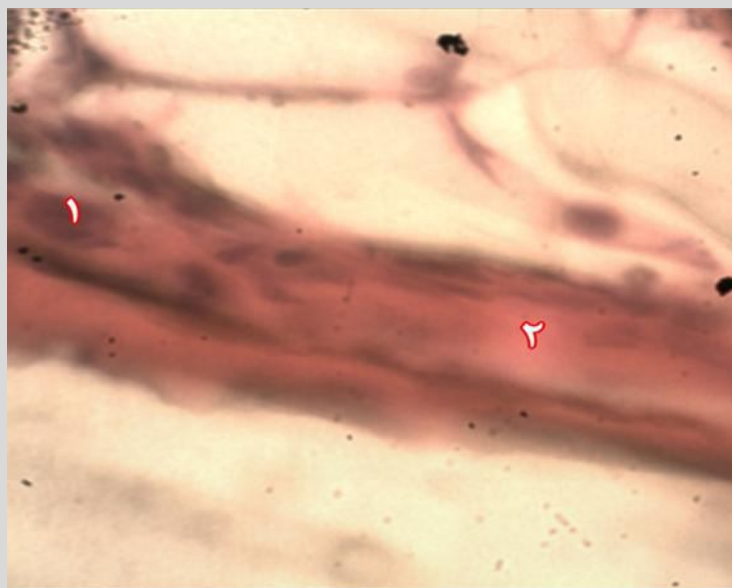
مدت زمان بررسی	نوع تغییرات
کوتاه مدت ۲۰ دقیقه ای غلظت ۲۵۰ppm	تورم سلولی در برخی از سلول های اپیدرمی، جداشدگی لایه اپیدرم از لایه بازال، وضعیت لایه کراتینه طبیعی، آثاری از پرخونی دیده نمی شود. Detachment لایه بازال به خوبی ملاحظه می گردد
بلند مدت (۲۴ ساعته) غلظت ۲۵ ppm	اتصال اپیدرم با لایه بازال از بین رفته، Detachment دیده می شود. اندکی تورم سلول های مالپیگی، ضایعات به صورت برگشت پذیر، لایه کراتینه بدون تغییر، آثاری از خونریزی



شکل ۳- جداشدگی لایه اپیدرم از لایه بازال در تیمار کوتاه مدت فرمالین بافت پوست بچه ماهی سفید دریای خزر (۱۰۰ * H&E)

کوتاه مدت در طی ۲۰ دقیقه و ۱ ppm در بلند مدت در طی ۲۴ ساعت و محلول فرمالین در غلظت ۲۵۰ppm در کوتاه مدت و ۲۵ ppm در بلند مدت قرار داشتند، در غلظت های بالاتر نقاط اتصال لایه اپیدرم با لایه بازال از بین رفته است و پرخونی شدیدی در آبشش ها دیده می شود.

در پژوهش حاضر تأثیر غلظت های مختلف سولفات مس و فرمالین بر روی بافت پوست در دوره زمانی ۴۰ روزه بر روی ۳۰۰ عدد بچه ماهی سفید دریای خزر مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه های بافتی تهیه شده از پوست ماهیان شاهد و مقایسه آن ها با بافت پوست ماهیانی که تحت تأثیر غلظت های سولفات مس با دوز ۱۰۰ ppm در



شکل ۴- ۱) پرخونی و ۲) تورم سلولی پوست در تیمار بلند مدت فرمالین در بچه ماهی سفید دریای خزر (۱۰۰ * H&E)

بحث و نتیجه گیری

سولفات مس

این عنصر در غلظت های معینی برای میکروارگانیسم های زنده سمی بوده و می توان گفت یکی از مهم ترین منابع ورود مس به مراکز تکثیر و پرورش آبزیان استفاده از ترکیبات حاوی مس همانند سولفات مس می باشد که اگر به طور صحیحی مورد استفاده قرار گیرند می توانند جهت رفع و درمان عفونت های قارچی، انگلی و باکتریای خارجی در امر پرورش ماهی موثر واقع شوند (۹). از این رو سولفات مس در غلظت های معینی در حدود ۰/۳ تا ۲ میلی گرم در لیتر مورد استفاده قرار می گیرد که دامنه مصرف آن بسته به شرایط فیزیکی و شیمیایی آب متغیر می باشد (۱۲). با توجه به این که مصرف سولفات مس در صنایع پرورش ماهی طی سال های اخیر توسعه یافته و با توجه به ویژگی پایدار بودن عناصر سنگین، که برخلاف ترکیبات آلی از طریق فرآیندهای 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. این فلز به ویژه بر روی پوست به عنوان اقدام های مورد هدف آلاینده

ها، تأثیر گذاشته و با ایجاد تغییرات مورفولوژیکی در سطح سلولی می تواند منجر به بروز سریع تغییرات هیستوپاتولوژیک در این اندام ها گردد. 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 بدست آمده برای مقدار ۲۵۰ ppm سولفات مس در تیمار کوتاه مدت (۲۰ 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 ضد عفونی لازم است. یکی از عوامل تأثیرگذار در این آزمایش فاکتور زمان می باشد. عامل سختی آب نیز بر روی نتیجه آزمایش تأثیرگذار است. افزایش سختی آب منجر به رسوب سولفات مس می گردد، از این رو برای انجام آزمایش نیاز به آب با سختی کم می باشد. با مرور زمان مقاومت ماهی که در معرض ماده ضد عفونی قرار گرفته است تحلیل می رود. ضایعات بوجود آمده در این آزمایش به حد شدید و خطرناک نبوده به طوری که بتواند موجب مرگ ماهیان در زمان کمی شود. با توجه

ندادند ولی در دومین آزمایش با افزایش غلظت خون ریزی، اگزوفتالمی و ساییدگی باله بعد از ۲۰ 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. در تیمار بلند مدت با دوز ۲۵ ppm به مدت ۲۴ ساعت بر روی بافت پوست تورم در سلول های مالپیگی و اپیدرم پوست بیشتر است اما در حدی نیست که به عنوان ضایعات برگشت ناپذیر تلقی شود. در صورتی که در تماس مداوم با مواد سمی قرار گیرد به مدت طولانی در اثر ایجاد تأثیرات شدیدتر ممکن است بافت برگشت ناپذیر باشد اما در تیمار بلند مدت ضایعات به حالت برگشت پذیر هستند و جدا شدن لایه های اپیدرم از لایه های بازال بیشتر می باشد. اما آثاری از پرخونی و خون ریزی دیده نمی شود. از آنجا که ضایعات بوجود آمده در پوستی که در معرض مواد ضدعفونی کننده قرار داشتند به حد شدید و خطرناک نبوده، بطوری که بتواند موجب مرگ ماهیان در زمان کمی شود. در نهایت چنین استنباط می شود که:

- ۱- تست فرمالین برای ماهیان آب شیرین نشان داده است که فرمالین سمیت کمتری نسبت به سولفات مس دارد، اما برای ماهیان آب شور اطلاعات دقیقی وجود ندارد.
- ۲- استفاده کوتاه مدت سولفات مس سبب ایجاد ضایعات برگشت پذیر در ماهیان سفید دریای خزر می گردد.
- ۳- استفاده مکرر از فرمالین می تواند سبب آسیب های قابل توجه در اپی تلیال آبشش گردد.

۲- اسوبودوا، ویکسوا، ب. ۱۹۹۵. تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری ها و مسمومیت های ماهی، ترجمه شریف روحانی، ۱۳۷۴، انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران، ۲۵۶ ص.

به نتایج بدست آمده از تأثیرات طولانی مدت فلز مس بر روی بافت پوست در حالت کوتاه مدت وضعیت پوست طبیعی بوده و تفاوتی با گروه شاهد ندارد اما در حالت بلند مدت (۲۴ ساعت) تأثیر فلز مس بر روی پوست محسوس تر بوده است. تورم اندکی در سلول های پوست دیده می شود، آرایش سلول های پوست طبیعی بوده است، تورم در سلول های مالپیگی و اپیدرم پوست بیشتر است. آثار پرخونی در برخی موارد دیده شده است اما در حدی نیست که به عنوان ضایعات برگشت پذیر تلقی شود. فرمالین یکی از مواد ضدعفونی کننده است که در درمان و کنترل بیماری های انگلی و پوستی مورد استفاده قرار می گیرد. اطلاعات کمی در مورد روش های درمانی برای جلوگیری و کنترل آلودگی های ناشی از مونوژن ها وجود 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 کاهش اکسیژن، pH، نیز ممکن است منجر به کاهش بیشتر حاشیه امنیت گردد. در طی آزمایشاتی که توسط Emmaj و همکاران در سال ۲۰۰۳ صورت گرفته شمار انگل پوست و آبشش ماهی بادکنکی (*Sphaeroides annulatus*) به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرده است (۱۴). انگل های پوست به میزان ۶۶ درصد و انگل های آبشش به میزان ۸۴ درصد بعد از ۷ ساعت در معرض قرار گیری، در آزمایش اول فرمالین در غلظت های پایین (۲۴، ۴۰ و ۵۱ میلی گرم در لیتر) خون ریزی، یا رفتار غیرطبیعی نشان

منابع

۱- ابطحی، ب.، نظری، ر.، رسولی، ع.، شفیع زاده، پ. ۱۳۸۴. مقایسه شاخص درمانی داروهای مفید قارچی فرمالین، سبزمالاشیت گرین و پرمنگنات پتاسیم در تاسماهی ایرانی، مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۶۷.

۱۱- وثوقی، غ.، مستحیر، ب. ۱۳۷۱. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ ص.

12. Are Hano, J.M., Storch, V., Sarasquete, C. (1999). Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the senegales Sole Solea Senegalensis. *Ectototology and Environmental Safety*, 44; 62-47.

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

14. Emmaj, F. A., Abdo-delaparra, Isabel., Aguilar- zarate, G., Contreras- Arce, R., Zaldivar- Ramirez, J., Betancourk Lozano, M. (2003). Toxicity of farmolin to bullseys puffer fish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1843) and its effectiveness to control ectoparasites.

15. Gtatzek, J.B, Shotts jr., E.B., Dave, D.L. (1992). In fections disenase and parasites of freshwater ornamental fish. In: Gratzek, J.B, Matthews, J.R. (Eds.), *Aquariology: The science of fish Health management*. Terra press, Morris plains, NJ, PP:227-274.

16. Nero, V., Farwell, A., Lee, L.E. (2006). Gill and liver histopatological changes-affecte water. *ECO toxocal. Environ Safety*, 63; 365-377.

17. Vinodhini, R., Norayanan, M. (2002). Heavy metal induced histopathological alterations in selected organs of the *Cyprinus carpio* L. (Common Carp) *Int. J. Environ. Res.*, 3(1); 95-100.

۳- انوری فر، ح، اسکندری کوهستانی، س. ۱۳۸۹. زیست شناسی، تشریح و بافت شناسی قزل آلای رنگین کمان. تهران: انتشارات جهاد دانشگاهی.

۴- جلالی جعفری، ب.، ورشویی، ع. ۱۳۸۷. اطلس بافت شناسی ماهی. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۲۸ ص.

۵- رستمی، م.، سلطانی، م.، ساسانی، ف. ۱۳۸۷. مطالعه اثرات برخی از نظرات نمگین (سولفات مس، سولفات روی و سولفات جیوه، کلرور کادمیوم) بر بافت های کپور معمولی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۵، شماره ۴.

۶- ستاری، م. ۱۳۸۱. ماهی شناسی، تهران: انتشارات نقش مهر. ۶۵۹ ص.

۷- ستاری، م. ۱۳۷۸. بیماری های ماهی ۲، انتشارات حق شناس.

۸- شریف پور، ع.، رضوانی، س.، کاظمی، ر. ۱۳۸۹. آسیب شناسی برخی اندام های مهم ماهیان سوف و آزاد در حوزه جنوبی دریای خزر با تأکید بر آلاینده ها. مجله علمی شیلات ایران، سال نوزدهم.

۹- مشایی، م.ع. ۱۳۸۸. فیزیولوژی ماهی در سیستم های پرورش متراکم. مولف گری آ. ودمیر. انتشارات دریاسر، ۳۰۲ ص.

۱۰- ناجی، ط.، صفائیان، ش.، رستمی، م.، صبرجو، م. ۱۳۸۵. بررسی اثرات سولفات روی بر بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی. علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره نهم، شماره ۲.

