فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۲۳، جلد ۶، شماره ۴، پائیز ۹۲، صفحه ۲۷ تا ۳۵

بررسی تأثیرات فرمالین و سولفات مس بر بافت های آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*)

مسعود فرخ روز[۱]، عباسعلی زمینی[۱]، **الهه مظفری**[۲]
۱–دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، استادیار گروه آبزیان و شیلات، لاهیجان.ایران.
۲–دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، کارشناسی ارشد گروه آبزیان و شیلات، لاهیجان.ایران.Elahe_222444@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۹۲/٤/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۱۷

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 می‌گیرند. آبشش ماهی به عنوان ارگان هایی که مدام در معرض محیط خارجی قرار دارند و به دلیل نقش آن‌ها 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 ٤۲۸ 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 ۲٤ ساعته، ppm ۱۰۰ ، ppm ۱) و فرمالین (در دو تیمار کوتاه مدت و بلند مدت، ppm ۲۵۰ و ppm ۲۵) 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.
یافته‌ها: نتایج نشان داد که قرار گرفتن آبشش در مجاورت با ppm ۱ در لیتر سولفات مس می تواند منجر به شروع هایپرپلازی خفیفی در تیغه‌های ثانویهٔ آبششی شد. در غلظت ppm ۱۰۰ این ضایعات شدیدتر و منجر به بروز پدیدهایی همانند هایپرپلازی در لاملاهای اولیه و ثانویهٔ آبششی و پُرخونی بسیار زیادی مشهود بودند. نتایج حاصل از قرار گرفتن آبشش در مجاورت ppm ۲۵ فرمالین، اندکی پُرخونی مشهود بوده است و در بلند مدت حضور بسیار زیاد گلبول های قرمز می باشد.
واژه‌های کلیدی: مس، فرمالین، آبشش، ماهی سفید، 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 می‌دهند، 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 واسطهٔ 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(۱۳). با توجه به عدم تجزیه زیستی و بزرگنمایی و تجمع زیستی تهدید جدی برای اکوسیستم می‌باشد. 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 ۷۳ کارگاه پرورش ماهی در کشور، ۲۳ کارگاه دچار مسمومیت با این ماده بوده، و ماهیان فوراً یا پس از مدتی دچار تلفات

می شوند. سولفات مس، برای کنترل جلبک ها در استخر و هم چنین به عنوان باکتری کش و انگل کش استفاده می‌شود. این ماده برای ماهیان بسیار سمی بوده و غلظت کشندهٔ آن به قلیائیت آب بستگی دارد. از آن جایی که مس برای میکروارگانیسم ها نیز سمی است، از این رو به عنوان یک مادهٔ درمانی برای درمان عفونت‌های میکروبی، آلودگی‌های انگلی و قارچی خارجی کاربرد داشته و به طور گسترده برای کنترل جلبک و گیاهان آبی نیز مورد استفاده قرار می گیرد (۶). داست و همکاران در سال ۱۹۸۴ با بررسی اثرات هیستوپاتولوژیکی دوزهای حاد مس بر روی آبشش ماهی قزل آلای رنگین کمان ضایعاتی منجمله هایپرپلازی و تلانژکتاری را در لاملای ثانویه آبشش را گزارش نمودند(۸،۱۲). در تحقیقات مشابهی گاراسل و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثرات هیستوپاتولوژیکی فلز مس بر روی آبشش قزل‌آلای رنگین کمان ضایعاتی هم چون پرخونی هایپرپلازی و تلانژکتاری در لاملای ثانویه آبشش را گزارش نمودند(۱۱). 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 ضدعفونی کننده فرمالین و سولفات مس بر روی آبشش اختلال ایجاد می‌کنند. 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؟ انجام شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق ۳۰۰ قطعه بچه ماهی سفید دریای خزر با میانگین وزنی ۴۲۸ میلی گرم و میانگین طولی ۳/۵ سانتی متر در گسترهٔ 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. آزمایش به مدت ۴۰ روز از نیمهٔ دوم خرداد ماه لغایت نیمهٔ 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 ۱۰ 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 به‌کارگیری شد(جدول ۱). بعد از کسب سلامت بچه ماهیان و ثبت اطلاعات بیومتری، آن ها را به داخل آکواریوم هایی که از قبل ۱۵ لیتر آبگیری شدند و مجهز به سیستم هوادهی بوده و ۲۶ درجه ثابت شده بود، انتقال یافتند. بچه ماهیان به مدت یک هفته در داخل آکوآریوم ها قبل از شروع آزمایش قرار گرفتند.

شیوه به‌کارگیری محلول های ضدعفونی

در روند اجرای این پروژه یک تیمار مربوط به فرمالین در کوتاه مدت ppm ۲۵۰ در لیتر و در بلند مدت به میزان ppm ۲۵ در لیتر و تیمار دوم مربوط به سولفات مس با دوز ppm ۱ در لیتر در بلند مدت و ppm ۵۰ در لیتر در مرحلهٔ 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 ۲).

جدول۱- 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)	دامنه وزنی
۴۲۸ میلی گرم	۲/۸ ± ۰/۱	۳ ± ۰/۱	۳/۳ ± ۰/۱	۳۲۰-۶۴۴mgr

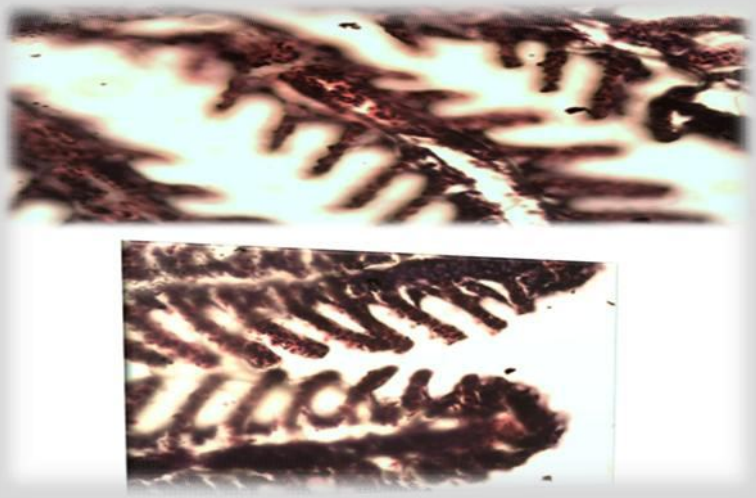
جدول۲- پارامترهای زیستی

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

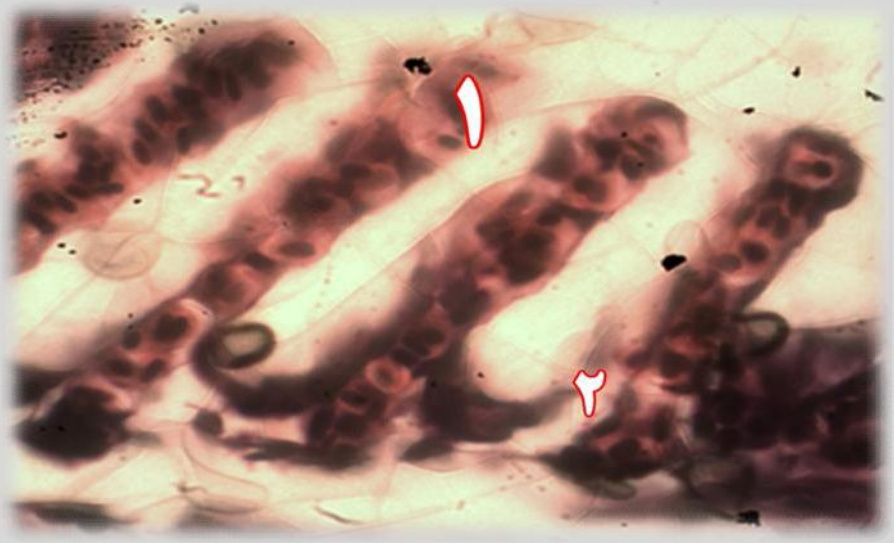
پس از پایان دورهٔ آزمایش از ماهیان به طور تصادفی نمونه گیری شد. برای انجام بررسی های بافت شناسی ابتدا از بافت مورد نظر که در این مطالعه آبشش ماهیان فوق بود، تکه های کوچک ۱ تا ۲ میلی متری برداشته شد. سپس نمونه های بافتی در ظروف حاوی فرمالین بافر فسفات ۱۰ درصد تثبیت گردید. پس از طی مراحل ثبوت، آبگیری، شفاف سازی، آغشتگی به پارافین، قالب گیری و برش بافت ها از آن ها مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی انجام گرفت. کلیهٔ مراحل تهیهٔ 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 Nicon ESOO مجهز به نمایشگر و دوربین عکاسی و فیلم برداری باتر ۱۰۰ جهت بررسی تغییرات پاتولوژیک مطالعات مقایسه ای با نمونهٔ شاهد صورت گرفت.

نتایج

در مطالعه بافت شناسی آبشش‌ها، نمونهٔ شاهد آبشش کاملاً سالم ترین بافت را نشان داد. تعداد زیادی تیغه های آبششی ثانویه در طرفین تیغه های آبششی اولیه قرار گرفته و آثاری از تغییرات آسیب شناسی در آن ها مشاهده نگردید (شکل۱). 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 ۱). در میان لاملاها، تیغهٔ 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 لایهٔ تیغهٔ آبششی را شکل می دهند که نشان دهندهٔ عدم وجود تغییرات در سطح سلولی در این گروه می باشد. اگر چه در غلظت ۵۰ppm 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. فضاهای تنفسی طبیعی بوده و وضعیت غضروف های آبششی نرمال است(شکل ۲و۳، جدول۲).

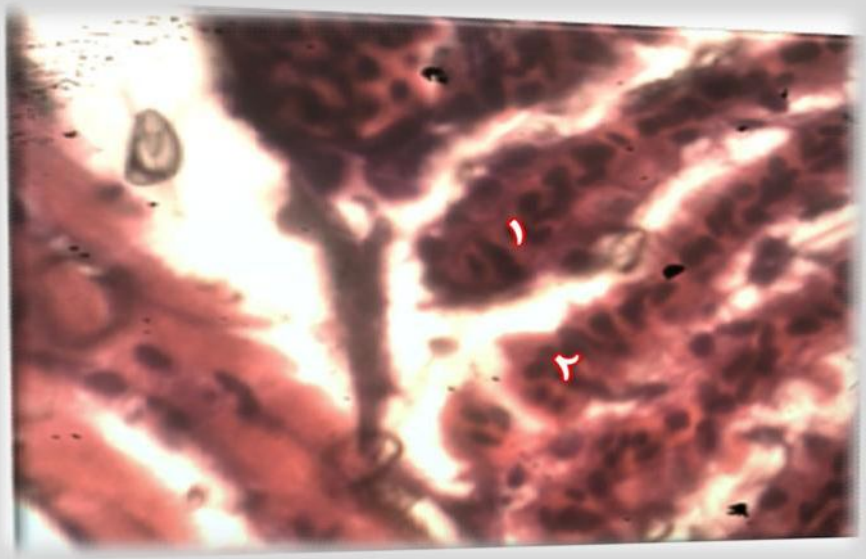


شکل۱- نمایی از بافت آبشش در ماهیان شاهد



شکل۲- پرخونی (۱)و از بین رفتن لاملاهای ثانویه آبشش (۲) در تیمار کوتاه مدت سولفات مس بچه ماهیان سفید دریای خزر (۱۰۰ * H&E)

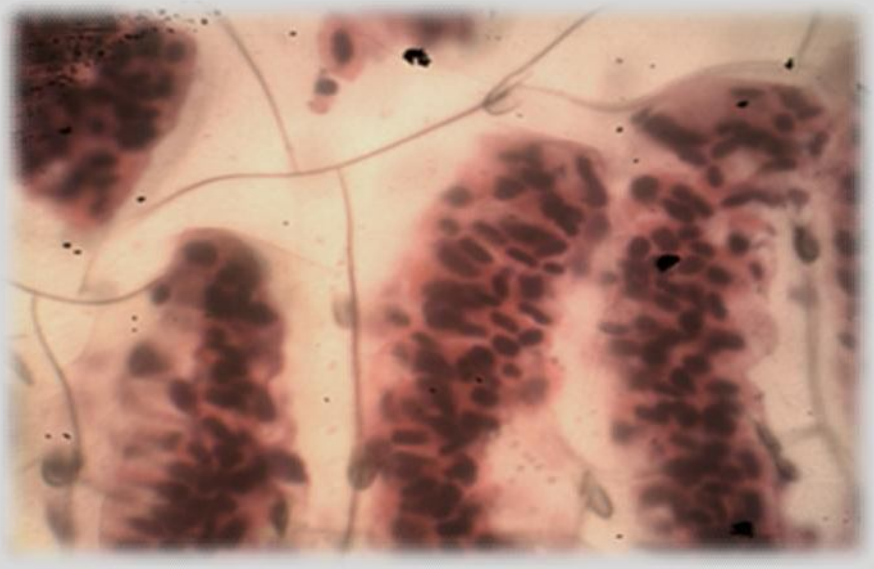
با افزایش مدت تیمار سولفات مس به ۲۴ ساعت با دوز ppm ۱ سلول های آبشش به شدت تحت تأثیر قرار گرفتند، با این حال در بررسی های صورت گرفته در آبشش ماهیان این گروه علائم پاتولوژیکی هایپر پلازی ملاحظه نگردید. در این لاملاها آن چه بیشترین توجه را به خود جلب می کند حضور بسیار زیاد گلبول های قرمز در قسمت های انتهایی فیلامان های ثانویه می باشد و پرخونی بسیار زیادی مشهود است(شکل۴). در طی بررسی تأثیرات فرمالین در تیمار کوتاه مدت ۲۰ دقیقه ای با دوز ppm ۲۵۰ بررسی های میکروسکوپی انجام شده حاکی از بروز ضایعات از قبیل پرخونی در لاملاهای ثانویه دیده، ولی هموراژی دیده نمی شود و ساختار های بافت شناسی کاملاً حفظ شده است(جدول ۳).



شکل۳-پرخونی(۱) و از بین رفتن قسمت های رأسی لاملاهای ثانویه(۲) در تیمار کوتاه مدت سولفات مس در بافت آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر (H&E * ۱۰۰)

جدول۲-نتایج بررسی اثر سولفات مس در آبشش ماهی

مدت زمان بررسی	اندام	نوع تغییرات
کوتاه مدت ۲۰ دقیقه ای غلظت ۵۰ppm	آبشش	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.
بلند مدت (۲۴ ساعته)غلظت ۱ ppm	آبشش	هایپرپلازی ملاحظه نگردیده است. حضور بسیار زیاد گلبول های قرمز در قسمت های انتهایی فیلامان های ثانویه است. پرخونی بسیار زیادی مشهود است.

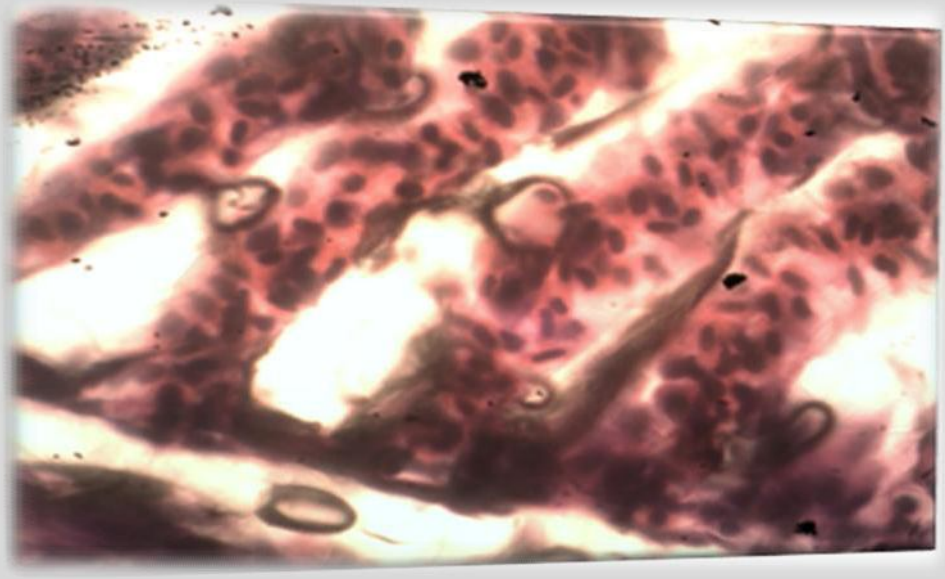


شکل٤- پرخونی در بافت آبشش در تیمار بلند مدت سولفات مس بچه ماهی سفید دریای خزر (H&E * ۱۰۰)

جدول۳-نتایج بررسی اثر فرمالین در آبشش ماهی

مدت زمان بررسی	اندام	نوع تغییرات
کوتاه مدت ۲۰ دقیقه ای غلظت ۲۵۰ppm	آبشش	پرخونی در لاملاهای ثانویه هموراژی دیده نمی شود و ساختار بافت شناسی کاملاً حفظ شده است.
بلند مدت (۲۴ ساعته) غلظت ۲۵ ppm	آبشش	در قسمت‌های رأسی لاملاهای ثانویه آثار Congestim ملاحظه می‌شود. فضاهای تنفسی بین رشته های آبششی بدون آسیب بوده اند.

در آزمایشات بافت شناسی و بررسی های آسیب شناسی سلولی آبشش در معرض فرمالین طی تیمار ۲۴ ساعته طولانی مدت با دوز ۲۵ ppm نتایج ذیل مشاهده گردید. عوارض پاتولوژیکی خاص مشاهده شده اما در برخی نمونه ها در قسمت های رأسی لاملاهای ثانویه آثار Congestim ملاحظه گردید. فضاهای تنفسی بین رشته های آبششی بدون آسیب باقی مانده بودند(شکل ۵).



شکل۵-ساختارهای بافت شناسی حفظ شده در تیمار کوتاه مدت فرمالین بافت آبشش بچه ماهی سفید دریای خزر(۱۰۰ * H&E)

در پژوهش حاضر تأثیر غلظت های مختلف سولفات مس و فرمالین بر روی بافت آبشش در دورهٔ زمانی ۴۰ روزه بر روی ۳۰۰ عدد بچه ماهی سفید دریای خزر مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه های بافتی تهیه شده از آبشش ماهیان شاهد و مقایسهٔ آن ها با بافت آبشش ماهیانی که تحت تأثیر غلظت های سولفات مس با دوز ۵۰ ppm در 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، نشان دهندهٔ ضایعات هیستوپاتولوژیکی در آبشش ها همانند هایپرپلازی در تیغه های اولیه و ثانویه آبشش، آسیب به سلول های مویرگی، خون ریزی در تیغه های ثانویهٔ آبششی، هم چنین در غلظت های بالاتر نقاط اتصال لایهٔ اپیدرم با لایهٔ 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 ۰/۳ تا ۲ میلی گرم در لیتر مورد استفاده قرار می گیرد که دامنه مصرف آن بسته به شرایط فیزیکی و شیمیایی آب متغییر می باشد (۵). یکی از مهم ترین فاکتورها در تعیین سمیت مس، سختی آب بوده و نباید قبل از مشخص نمودن آن

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 ۵۰ به شدت برای ماهیان سمی و کشنده بوده و در سختی های بالاتر از ۴۰۰ میلی گرم در لیتر نیز کاملاً بی اثر بوده و توصیه نمی گردد (۲). با این حال به منظور حفظ سلامتی ماهی نباید تنها به این فاکتور متکی بود. چرا که متغییرهای 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 ۰/۱ میلی گرم در لیتر مس، که بتواند در مدت ۹۶ ساعت ۵۰ درصد از ماهیان را نابود کند، به عنوان شاخص کمی جهت ارزیابی سمیت مس در آب توصیه می نماید (۱). 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 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(۱۲).گزارش منتشر شده از آرلانو و همکاران در سال ۱۹۹۹ نیز حاکی از بروز ضایعاتی منجمله هایپرپلازی در تیغه های ثانویه آبششی، آسیب به سلول‌های اندوتلیال مویرگ های موجود در تیغه های ثانویه و حضور گلبول های سرخ در فضای خارجی عروق در ماهی *Solea seegalensi* در معرض ۰/۱ میلی گرم در لیتر از فلز مس بود (۵، ۴). در مطالعهٔ دیگر سرکیو و فرناندز در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند که تغییرات به وجود آمده در عروق در نهایت می تواند منجر به خون ریزی در تیغه های ثانویهٔ آبششی گردد که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد (۷). اگر چه آرلانو و همکاران (۱۹۹۹) معتقدند که ادم و تورم رشتهٔ های آبششی یکی از عمده ترین آسیب های مشاهده شده در آبشش ماهیان مورد مطالعه می باشد(۵)، 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 ۱۹۸۴ نیز همانند پژوهش حاضر هایپرپلازی در لاملاهای آبششی و خون ریزی در تیغه های ثانویه آبششی در ماهیان سفید که در معرض مس بودند مشاهده گردید (۸). نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان می دهد که در غلظت های بالا آسیب به شکل پرولیفراسیون سلولی در اپیتلیوم آبششی بروز می کند. با این حال از دیگر ضایعات مشاهده شده در این بررسی تلانژکتازی در لاملای ثانویه آبششی به عنوان یک پاسخ حاد بود که درمطالعه حاضر این آسیب مشاهده نشد. از سویی دیگر گارسیا سانتز و همکاران در سال ۲۰۰۲ با مطالعاتی که بر روی ماهی تیلاپیا انجام دادند دریافتند که در اثر آلودگی با کادمیوم نیز تلانژکتازی در لاملای ثانویه آبششی در نتیجه از بین رفتن سلول های پشتیبان لاملای ثانویه ایجاد می گردد(۷،۱۴)، مالات نیز در سال ۱۹۸۵پیشنهاد کرد که این مطالعه بندرت مجاورت با فلزات سنگین در آبشش بروز خواهد کرد (۱۳، ۱۱). در بررسی حاضر نیز تخریب آبشش در تیمار کوتاه مدت با مس (۱/۶ 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 ۳۰ درصد لاملاهای اولیه) هم‌چنین نتایج بدست آمده در تیمار بلند مدت به غلظت ۱۶ میلی گرم در لیتر علایم پاتولوژیکی مثل هایپرپلازی یا کوتاه شدن فیلامان

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 ۲۵۰ppm 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 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 بیماری‌های 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(۱۰). در طی آزمایشاتی که توسط Emmaj و همکاران در سال ۲۰۰۳ صورت گرفته شمار انگل آبشش ماهی بادکنکی (*Sphoeroides annulatus*) به میزان قابل توجهی کاهش پیدا کرده است(۹). انگل های آبشش به میزان ۸۴ درصد بعد از ۷ ساعت در معرض قرارگیری، در آزمایش اول فرمالین در غلظت های پایین (۲۴، ۴۰ و ۵۱ میلی گرم در لیتر) خون ریزی، یا رفتار غیرطبیعی نشان ندادند ولی در دومین آزمایش با افزایش غلظت خون ریزی، اگزوفتالمی و سایبدگی باله بعد از ۲۰ دقیقه ایجاد شد. نتایج به دست 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 می‌کند. از آن‌جا که ضایعات بوجود آمده در آبشش که در معرض مواد ضدعفونی کننده قرار داشتند به حد شدید و خطرناک نبوده به‌طوری که بتواند موجب مرگ ماهیان در زمان کمی شود

منابع

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

۲–جلالی جعفری، ب.، ورشویی، ح.، خمیرانی، ر.، موسوی،ه. ۱۳۷۶. مدیریت بهداشت و بیماری های استخرهای پرورش ماهیان گرم آبی، انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان اداره کل آموزش و ترویج، ۱۸۸ص.

۳–ستاری، م. ۱۳۸۸. ماهی شناسی، تهران: انتشارات نقش مهر، ۶۵۹ ص.

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

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

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

7.Cerqueria, C., Fernandes, M.N. (2002). Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter respanses 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 ereury and capper in gill of rainbow trout, on *Corhynchus mykiss*. Vettinary pathology, 21(1); 93-101.

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. Fergason, H.W. (1989). Systemic pathology in fish lowa state aniversity 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 structureal 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 ekectron microscopic stidy of secondry lamella and choro ridae cells of Rainbow trut (*Salmo gairdneri*). Zellforsch. Mikrosk. An at, 143; 439-449.

.

.