



هیستوپاتولوژی کلیه، کبد و آبشش بچه ماهیان کپور (*Cyprinus carpio*) در مواجهه حاد با سولفات مس

محمد مازندرانی^{۱*}، محمد سوداگر^۱، سمیه نمرودی^۲

^۱ گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
^۲ گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست - دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	در این تحقیق اثرات بافت‌شناسی مواجهه حاد با سولفات مس در ۱۸۰ بچه ماهیان انگشت قد کپور مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور ماهیان گروه تیمار با دوزهای ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی گرم در لیتر در معرض سولفات مس به مدت ۴ روز قرار گرفتند. در طی این مدت علائم رفتاری و کلینیکی ماهیان ثبت گردید و به منظور بررسی‌های هیستوپاتولوژی از بافتهای کلیه، کبد و آبشش ماهیان در حال مرگ و تازه تلف شده نمونه برداری صورت پذیرفت و پس از تهیه مقطع و رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان LC ₅₀ در این بررسی در طی ۴۸ و ۹۶ ساعت به ترتیب ۶/۳ mg/l و ۴/۹ mg/l برای بچه ماهیان کپور محاسبه گردید. در این بررسی در بافتهای کلیه، کبد و آبشش تمام ماهیان گروه تیمار علائم آسیب بافتی ملاحظه شد تا شدید مشاهده گردید. شدت آسیب‌های بافتی مشاهده شده در تمام بافت‌ها با افزایش دوز و زمان سولفات مس افزایش یافت. بر اساس نتایج این تحقیق درمان با سولفات مس در دوزهای بالاتر از ۲ mg/l در مزارع بچه ماهیان کپور معمولی پیشنهاد نمی‌شود.
تاریخچه مقاله: دریافت: ۹۳/۰۸/۲۴ اصلاح: ۹۳/۰۹/۲۰ پذیرش: ۹۳/۰۹/۲۵	
کلمات کلیدی: LC ₅₀ مواجهه حاد علائم کلینیکی سولفات مس	

مقدمه

پرورش ماهیان گرمابی در ایران عمدتاً به صورت چند گونه‌ای و شامل کپور ماهیان چینی و کپور معمولی است که در این میان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از محبوبیت و قیمت بالایی برخوردار است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۲). محیط پرورش استخر محیطی کاملاً متفاوت از محیط طبیعی ماهیان بوده و در نتیجه استرس‌زا می‌باشد. به همین دلیل همواره احتمال بروز آلودگی‌ها و بیماری‌ها در استخرهای پرورش به ویژه در استخرهای پرورش متراکم محتمل است. یکی از مشکلاتی که در مزارع پرورش ماهیان گرمابی به ویژه کپور ماهیان در ماه‌های گرم تابستان ممکن است پیش بیاید شکوفایی جلبکی در استخرهای پرورش است که در صورت بروز منجر به تلفات بالای ماهیان می‌شود، این امر حتی در برخی از دریاچه‌های آب شیرین نیز در فصول گرم سال مشکل‌ساز می‌شود (Rose et al., 1954). معمولاً یکی از داروهای مناسب در کنترل گیاهان و جلبک‌ها و ماکروفیت‌های مزارع آب شیرین سولفات مس است (Havens, 1994; Rowe and Prince, 1983; Bartley, 1967). این ماده توسط سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (USEPA) در آبی‌پروری برای کنترل جلبک‌ها و فیتوپلانکتون‌های آبی مورد تأیید قرار گرفته است (Straus and Tucker, 1993). به همین دلیل به صورت گسترده در آبی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد، در عین حال ترکیبات مس به صورت گسترده برای کنترل حلزون‌های آب شیرین (که عمدتاً به عنوان میزبان واسط بسیاری از بیماری‌ها و انگل‌های زئونوز بوده) به خصوص در مناطقی که گزارش آلودگی بالا است، مورد استفاده قرار

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: mazandarani@gau.ac.ir

می‌گیرند (Al-Sabri, 1993; Winger *et al.*, 1984; Rowe and Prince, 1983; NAS, 1977; Hasler, 1949). اگر چه مس به عنوان یکی از عناصر کمیاب ضروری در متابولیسم سلولی و عملکرد بسیاری از آنزیم‌ها نقش کاربردی دارد (Li *et al.*, 1998; Baker, 1969)، اما در دوزهای بالاتر از نیاز بدن می‌تواند ایجاد مسمومیت کند، که میزان مسمومیت و علائم کلینیکی آن تحت تأثیر عواملی مانند سن ماهی، گونه ماهی، دمای آب، pH، سختی آب، شرایط پرورش ماهی و میزان اکسیژن محلول می‌باشد (Perschbacher and Wurts, 1999; Eisler, 1998). معمولاً سولفات مس در دوزهایی که جلبک‌ها و حلزون‌های آبی را از بین می‌برد باعث تلفات ماهیان نمی‌شود (Eisler, 1998)، اما تعیین دوز دقیق درمانی بسیار مهم است به عنوان مثال این دارو در آب‌های باسختی پایین‌تر از ۵۰ mg/l بسیار سمی است و باید با احتیاط استفاده شود. مسمومیت با این فلز سنگین زمانی رخ می‌دهد که میزان مس موجود در آب پرورش بیشتر از ظرفیت فیزیولوژیکی خنثی‌کنندگی سم توسط ماهی باشد که منجر به اثرات نامطلوب و تغییرات بافت‌شناسی و رفتاری ماهی می‌شود (Pelgrom *et al.*, 1995). در بسیاری از موارد به ویژه در مسمومیت تحت کشنده لزوماً علائم کلینیکی و رفتاری غیرطبیعی واضح ممکن است در ماهیان مشاهده نشود، که در چنین مواردی بررسی‌های پاراکلینیکی قادر است میزان آسیب‌های وارده را شناسایی کند. یکی از این روش‌های پاراکلینیکی بررسی‌های آسیب‌شناسی بافتی است که در بسیاری موارد می‌توان با پایش بافت‌هایی که در مسمومیت‌ها بیشتر در معرض آسیب قرار دارند وضعیت سلامت ماهی را چه در موارد مواجهه با مسمومیت کشنده و چه در موارد مسمومیت تحت کشنده مورد بررسی قرار داد. معمولاً میزان تغییرات و آسیب‌های بافتی در مسمومیت با مس بسته به دوز مواجهه، گونه ماهی، زمان مواجهه و شرایط فیزیکی شیمیایی آب متفاوت است (Paris-Palacios *et al.*, 2000). با بررسی‌های پاراکلینیکی می‌توان میزان سمیت و آسیب‌رسانی داروها را تا حد زیادی ارزیابی نمود، لذا در این بررسی اثرات آسیب‌شناسی بافت‌های کلیه، کبد و آبشش در مسمومیت حاد سولفات مس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط پرورش

به منظور انجام آزمایش، تعداد ۱۸۰ عدد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزنی 8 ± 3 گرم از مراکز تکثیر و پرورش استان گلستان تهیه شده و انتقال آنها با روش استاندارد به محل انجام آزمایش صورت پذیرفت. ماهیان به ۱۸ آکواریوم با حجم آب ۵۰ لیتر منتقل شدند (در هر آکواریوم ۱۰ ماهی). بچه ماهیان به مدت ده روز به منظور سازگاری مورد پرورش قرار گرفتند. غذادهی در طی دوره پرورش دوبار در روز به میزان ۳٪ وزن بدن با غذای بیومار فرانسه (BioMare Co, France) صورت گرفت. در طی دوره پرورش دمای آب 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد، $pH = 7.4 \pm 0.3$ و سختی تام برابر ۲۸۵ (میلی‌گرم در لیتر) ثبت گردید.

مواجهه دوز حاد سولفات مس و تعیین LC₅₀

به منظور تعیین میزان حساسیت ماهیان به سولفات مس یک گروه شاهد و ۵ گروه تیمار در سه تکرار در نظر گرفته شد. ماهیان گروه تیمار با دوزهای ۲ (تیمار ۱)، ۴ (تیمار ۲)، ۶ (تیمار ۳)، ۸ (تیمار ۴) و ۱۰ (تیمار ۵) پی‌پی‌ام (mg/l) سولفات مس به مدت ۴ روز مواجهه داده شدند. به این منظور پس از محاسبه دوز مورد نظر دارو ابتدا سولفات مس ($CuSO_4$; Merck, Co, Germany) در ۴ لیتر آب حل شده و استوک اولیه تهیه گردید. سپس به آرامی به هر یک از آکواریوم‌های مورد مطالعه اضافه شد. در تمام گروه‌های مورد بررسی ۱۸ ساعت قبل از مواجهه و در طی زمان آزمایش غذادهی صورت نگرفت پس از مواجهه ماهیان تیمار و شاهد حداقل هر ۸ ساعت پایش شدند و تلفات گروه‌های مختلف ثبت گردید و بر اساس میزان تلفات در تیمارهای یاد شده میزان LC₅₀ با کمک نرم افزار PROBIT برای زمان‌های مختلف مواجهه تعیین گردید.

بررسی‌های رفتاری و بافت‌شناسی

در طی زمان مواجهه، تلفات و علائم رفتاری و کلینیکی ماهیان مورد مطالعه به صورت روزانه ثبت گردید. به منظور بررسی‌های بافت‌شناسی، از آبشش، کلیه و کبد ماهیان در حال مرگ و یا تازه تلف شده نمونه برداری صورت گرفت. به این منظور نمونه‌های آبشش از دومین کمان آبششی، نمونه‌های کلیوی از دو سوم انتهایی کلیه و نمونه‌های کبدی از تمام بافت

کبد صورت پذیرفت. نمونه‌ها در فرمالین ۴٪ فیکس شده و پس از ۱۲ ساعت دوباره فرمالین نمونه‌ها تعویض شده و به آزمایشگاه ارسال گردید. در آزمایشگاه آماده سازی بافت‌های نمونه برداری شده با کمک دستگاه پروسسور بافتی (Shandon Duplex Processor ساخت کشور انگلستان) انجام گرفت. نمونه‌ها پس از آبیگری در الکل اتانول پارافینه شده و مقاطع ۵ میکرونی از بافت‌ها تهیه گردید. پس از چسباندن مقاطع بر روی لام به روش استاندارد هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری $\times 1000$ بر اساس کلیدهای شناسایی آسیب‌های بافتی مورد مطالعه قرار گرفتند (Roberts, 2012).

بررسی‌های آماری

نتایج حاصل از آزمایش در نرم افزار Excel دسته بندی شده و نتایج به صورت $\pm SD$ میانگین بیان گردید. میزان کشندگی و LC_{50} با نرم افزار PROBIT (Statistical Analysis System Institute Inc. 1985) برای ۴۸ و ۹۶ ساعت محاسبه گردید.

نتایج

علایم کلینیکی و رفتار شناسی

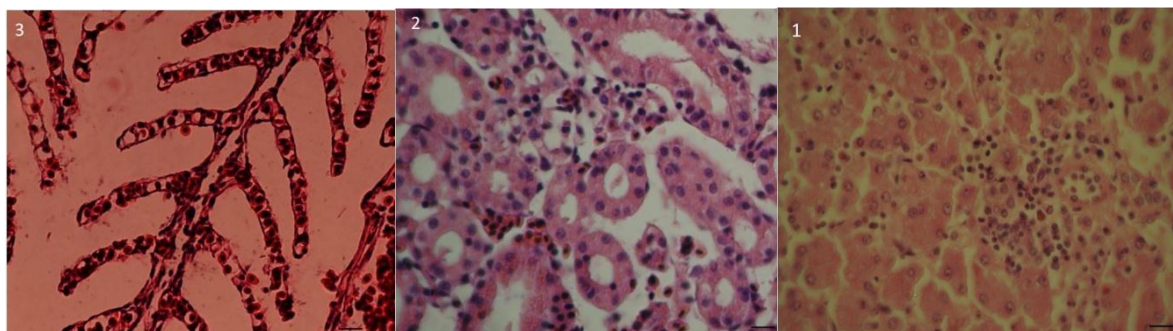
تمام ماهیان گروه تیمار پس از مواجهه با سولفات مس در ابتدا شروع به شنای فعال کرده و افزایش حساسیت به محرک‌های خارجی و افزایش محسوس حرکات آبششی در تمام تیمارها در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید. ۶ ساعت پس از مواجهه، ترشح موکوس پوست ماهیان مواجه شده با سولفات مس نسبت به گروه شاهد افزایش داشت. در دوزهای مواجهه شده با ۶، ۸ و ۱۰ (mg/l) سولفات مس پس از ۲۴ ساعت ماهیان بیشتر تمایل به کف نشینی و حرکت کمتر داشتند. اولین تلفات ۱۲ ساعت پس از مواجهه در تیمار مواجهه شده با غلظت ۱۰ mg/l سولفات مس ثبت گردید پس از آن تلفات در تمامی تیمارها به جز تیمار مواجهه شده با ۲ mg/l در طی روند ۹۶ ساعته مشاهده شد. در طی زمان آزمایش هیچ گونه تلفاتی در گروه شاهد رخ نداد. در نهایت بر اساس نتایج حاصل از بررسی با نرم افزار PROBIT میزان LC_{50} سولفات مس در طی ۴۸ و ۹۶ ساعت برای بچه ماهیان کپور به ترتیب ۶/۳ mg/l و ۴/۹ mg/l ثبت گردید.

یافته‌های بافت شناسی

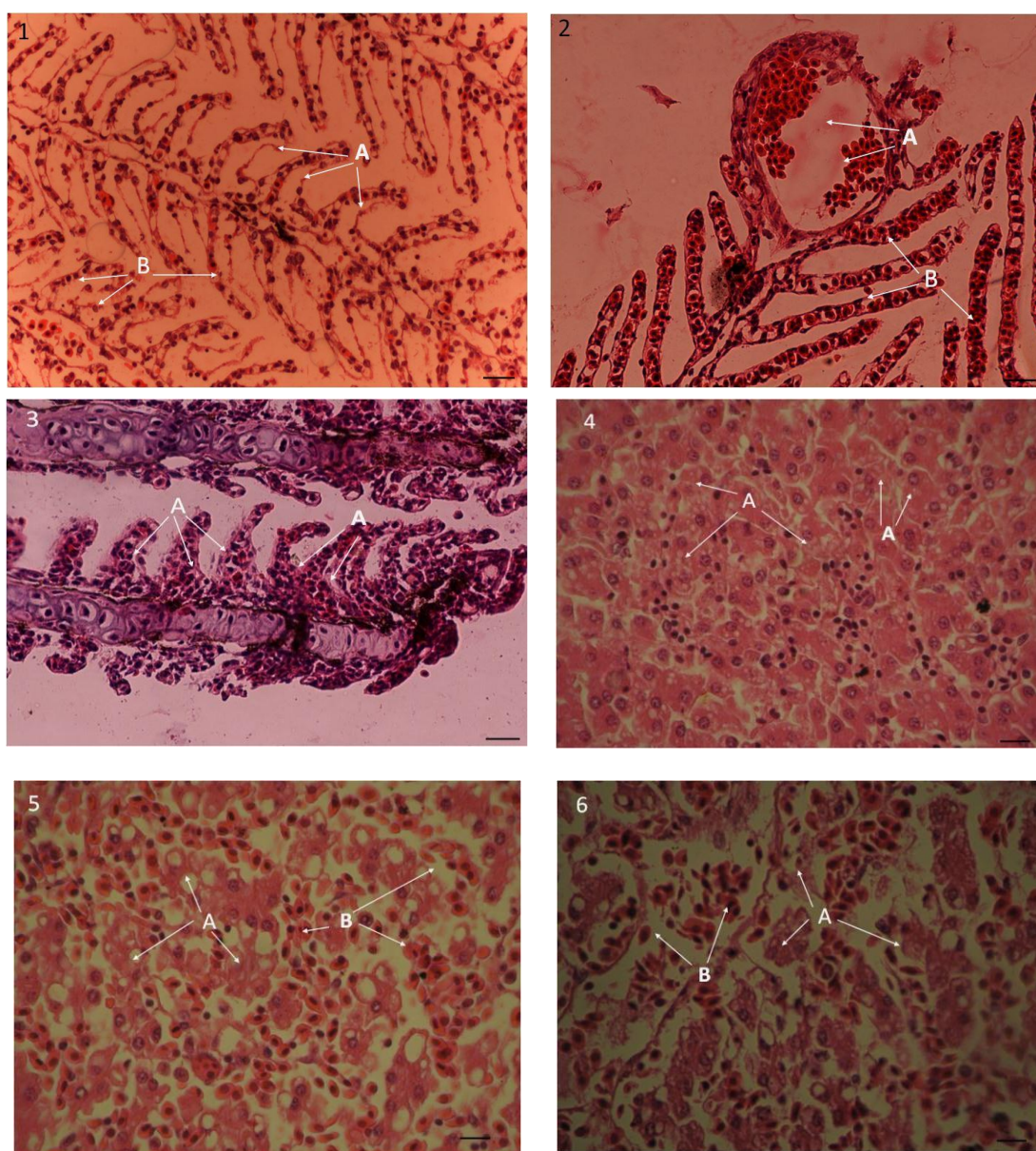
در بررسی مقاطع بافتی هیچ گونه عارضه ای در ماهیان گروه شاهد مشاهده نگردید. اما در ماهیان گروه‌های تیمار مواجه شده با سولفات مس درجات متفاوتی از التهاب و نکروز آبشش قابل مشاهده بود. علایم شایع در بافت آبشش گروه‌های تیمار شامل پرخونی در لاملاهای ثانویه در تمامی ماهیانی که در ۲۴ ساعت اول تلف شدند. در عین حال درجات مختلفی از جداشدگی اپیتلیوم (Epithelial lifting) و نکروز در لاملاهای ثانویه در ماهیانی که در ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مواجهه تلف شدند مشاهده گردید. از جمله علایم دیگر قابل مشاهده هایپرپلازی (Hyperplasia) و مواردی از تلانژیکتازی (Telangiectasia) در لاملاهای ثانویه بود. در تیمار ۲ mg/l درجات خفیف تری از جداشدگی اپیتلیوم و هایپرپلازی نسبت به سایر گروه‌های تیمار ثبت شد. همچنین عارضه‌های یاد شده با افزایش دوز مواجهه سولفات مس از شدت بیشتری برخوردار بودند، به گونه ای که در تیمار مواجهه شده با ۸ و ۱۰ (mg/l) سولفات مس عملاً کل اپیتلیوم آبشش جدا شده و لاملاهای ثانویه کاملاً روند نکروز را نشان دادند. در بررسی مقاطع بافتی کبد در تیمار مواجهه شده با ۲ mg/l سولفات مس علایم خفیف واکنوله شدن هپاتوسیت ها و پر خونی سینوزوئیدهای کبدی مشاهده گردید. اما در سایر تیمارهای مواجهه شده با دوزهای بالاتر، این روند شدیدتر بود به گونه ای که در تیمار ۴ و ۵ نکروز وسیع هپاتوسیت‌های کبدی به همراه تجمع مراکز ملانوماکروفاژها و نیز در برخی نمونه‌ها تجمع سلول‌های گرانولار ائوزینوفیلیک (EGC) از علایم شایع قابل مشاهده بود. در بررسی مقاطع بافتی کلیه در گروه شاهد و تیمار ۱ علایم پاتولوژیک خاصی مشاهده نگردید، اما در تیمار ۲ تا ۴ نکروز ملایم تا شدید توبول‌های کلیوی از علایم شایع قابل مشاهده بود به گونه ای که با افزایش دوز شدت نکروز توبول‌های کلیوی از شدت بالاتری برخوردار بود. از علایم دیگر تجمع اکسودا^۱ در لومن توبول‌های کلیوی به همراه نفوذ سلول‌های آماسی در بافت بینابینی کلیه ها از علایم قابل مشاهده در

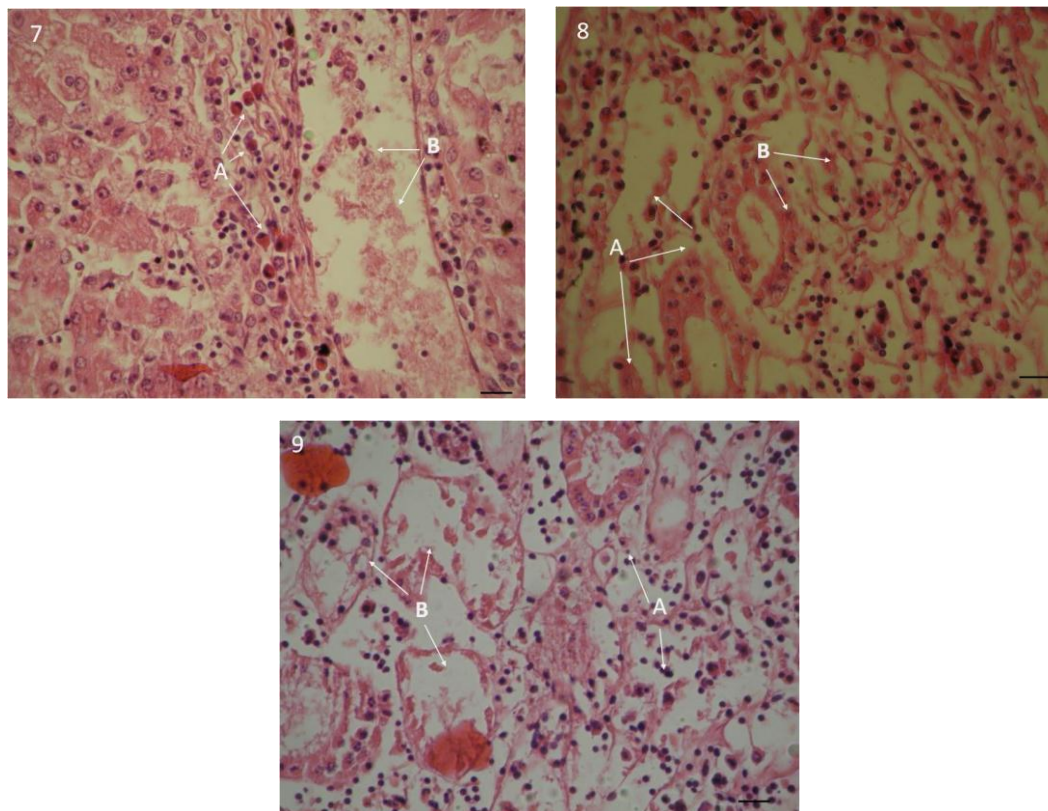
¹. Exudate

تیمارهای ۴ و ۵ بودند. در بررسی مقاطع بافتی نمونه‌های گروه شاهد عوارض آسیب شناسی بافتی تیپیک مشاهده نگردید (شکل ۱).



شکل ۱. مقاطع بافتی گروه شاهد (تصاویر ۱-۳). تصویر ۱: بافت کبد نمونه شاهد- تصویر ۲: بافت کلیه نمونه شاهد- تصویر ۳: بافت آبشش نمونه شاهد. Bar = 40µm





شکل ۲. تصاویر مقاطع بافتی مواجهه شده با سولفات مس در بچه ماهیان کپور معمولی در سختی (mg/l) ۲۸۵ و دمای $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. بافت آبشش (تصاویر ۱-۳). تصویر ۱: ادم و جداشدگی بافت اپیتلیوم لاملاهای ثانویه (A). آغاز روند نکروز در لاملاهای ثانویه (B). تصویر ۲: تلائیکتازی (A)، پرخونی لاملاهای ثانویه (B). تصویر ۳: هایپرپلازی گسترده در لاملاهای ثانویه (A). بافت کبد (تصاویر ۴-۷). تصویر ۴: واکتولیزاسیون خفیف در هیپاتوسیت‌های کبدی (A). تصویر ۵: واکتولیزاسیون هیپاتوسیت‌های کبدی (A) به همراه پرخونی سینوزوئیدهای کبدی (B). تصویر ۶: نکروز گسترده در هیپاتوسیت‌های کبدی (A) به همراه پرخونی در بافت کبد و سینوزوئیدهای کبدی (B). تصویر ۷: نفوذ سلولهای ائوزینوفیلیک گرانولار EGC (A)، تجمع اکسودا در عروق خونی (B). بافت کلیه (تصاویر ۸-۹). تصویر ۸: نکروز توبولهای کلیوی (A) و نکروز بافت بینابینی (B). تصویر ۹: نکروز گسترده توبولهای کلیوی (B) و نکروز شدید بافت بینابینی به همراه نفوذ سلولهای آماسی (A). Bar = 40 μm .

بحث

مطالعات بافت شناسی یکی از راه‌های مؤثر در بررسی آسیب‌های وارد شده در مسمومیت‌ها می‌باشد. در رابطه با مسمومیت با مس مطالعات متعددی در گونه‌های مختلف ماهیان صورت گرفته است (Fernandes *et al.*, 2007; Baker, 1969; Li *et al.*, 1998; Patel and Bahadur 2010). معمولاً آبشش اولین بافت در مواجهه با مسمومیت توسط فلزات سنگین و آلودگی‌ها است و مواجهه طولانی مدت منجر به جذب این آلاینده‌ها از طریق آبشش شده و اثرات آسیبی قابل مشاهده در این بافت را سبب خواهد شد (Perry and Laurent, 1993). در مطالعه حاضر در آبشش ماهیان مواجهه شده با سولفات مس جداشدگی لایه اپیتلیوم لاملاهای ثانویه و هایپرپلازی از واضح‌ترین علائم بافتی بود. نتایج مشابهی در برخی بررسی‌ها در مواجهه با سولفات مس در بافت آبشش در ماهی کپور و قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش شده است (Van *et al.*, 2004; Deboeckm *et al.*, 2001). ادم در آبشش ماهیان به حالتی اطلاق می‌شود که لایه اپیتلیوم از سطح لاملاهای ثانویه جدا می‌شود؛ در این حالت بین اپیتلیوم و عروق خونی فاصله می‌افتد در حقیقت این واکنش یک عمل دفاعی بوده و به این طریق ماهی سعی می‌کند تا از مسمومیت بیشتر در امان بماند (Arellano *et al.*, 1999). هایپرپلازی نیز مانند ادم در آبشش ماهیان یکی از واکنش‌های دفاعی بدن در پاسخ به مسمومیت‌ها و آلاینده‌های مضر است که در بررسی‌های مختلف قابل مشاهده بوده است (Laurèn and McDonald 1985, Van *et al.*, 2004). با افزایش مدت زمان مواجهه و یا افزایش دوز عامل مسمومیت

جداشدگی کامل بافت اپیتلیوم و نکروز در این بافت اتفاق می‌افتد. در بررسی حاضر نیز در بافت آبشش ماهیان در مواجهه با دوزهای بالاتر از ۲ ppm سولفات مس عملاً روند نکروز بسیار شدید بود. از طرفی هایپریپلازی و نکروز بافت آبشش روند تبدلات اکسیژنی بین خون و آب محیط پرورش را دچار اختلال می‌کند، بنابراین شاید بتوان علت مرگ ماهیان با دهان باز در مطالعه حاضر را تا حدی به این امر نسبت داد.

هیپاتوسیت‌های کبدی و سلول‌های کلیوی در متابولیسم و غیرفعال سازی سموم نقش اساسی دارند در عین حال به دلیل خون‌رسانی بالای این بافت‌ها در صورت مسمومیت با فلزات سنگین بیشتر در معرض مواجهه با سموم قرار می‌گیرند و در نهایت اثرات آسیب‌شناسی در سلولهای این بافت‌ها نسبت به سایر بافت‌های داخلی سریع‌تر قابل مشاهده است. میزان این آسیب بسته به نوع مسمومیت، دوز مواجهه، گونه و سن ماهی، زمان مواجهه و شرایط فیزیکیوشیمیایی آب پرورش متفاوت است (Paris-Palacios, 2000). لذا پایش و بررسی وضعیت آسیب سلول‌های کبدی و کلیوی یکی از روش‌های مناسب با حساسیت بالا برای شناسایی مسمومیت ماهیان و شرایط نامناسب محیط آبی زندگی آنها است که می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی برای شناسایی اولیه در مسمومیت آبزیان مورد استفاده قرار گیرد.

برای مسمومیت زایی سولفات مس در ماهیان در شرایط مختلف محیطی و گونه‌های مختلف گزارشات متعدد و پراکنده‌ای موجود است. به عنوان مثال Balambigai و Aruna در سال ۲۰۱۱ میزان LC_{50} سولفات مس را برای مدت ۷۲ ساعت در کپور معمولی ۸ ppm گزارش کردند. در بررسی دیگری میزان LC_{50} کلرید مس در ۹۶ ساعت برای ۴ گونه کپور ماهی *Cirrhinus mrigala*، *Labeo rohita*، *Catla catla* و *Ctenopharyngodon idella* بین ۵/۱۷ تا ۱۵/۷۵ ppm متغیر بود در این بررسی بیشترین حساسیت در ماهی *C. idella* و کمترین حساسیت به کلرید مس در ماهی *L. rohita* گزارش شد (Kousar and Javed, 2012). در ماهی *Chana punctatus* در یک بررسی میزان LC_{50} در ۹۶ ساعت در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد و سختی ۱۱۰ mg/l به میزان ۳/۶ mg/l ثبت گردید. در این مطالعه مواجهه با دوز مزمن تحت کشنده به کم‌خونی ماکروسیتیک هایپوکرومیک در این ماهیان منجر شد (Singh et al., 2008). در بررسی Vutukuru و همکاران (۲۰۰۵) میزان LC_{50} برای ماهی *Esomus danricus* به میزان ۵/۵ ppm در سختی آب ۲۲۰ mg/l محاسبه کردند. در بررسی حاضر میزان دوز میانه کشنده برای بچه کپورماهیان در ۹۶ ساعت مواجهه با سولفات مس ۴/۹ mg/l محاسبه گردید که با گزارشات محققین یاد شده در گونه‌های مختلف همخوانی دارد. بر اساس بررسی برخی محققین به نظر می‌رسد آزادماهیان حساسیت بیشتری به مسمومیت با سولفات مس دارند. به عنوان مثال در یک مطالعه میزان LC_{50} در طی ۲۴ ساعت در ماهی آزاد *Salmo gairdneri* به میزان ۰/۷۵ mg/l ثبت گردید (Brown and Dalton, 1970). این میزان دوز کشنده در بررسی دیگری در سختی آب ۱۳ mg/l برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی ۹۶ ساعت ۰/۰۱ mg/l محاسبه شد (Chapman and McCrady, 1977). در بررسی دیگری این میزان در طی ۹۶ ساعت در سختی آب ۲۴۹ mg/l برای بچه ماهیان ۳ گرمی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۰/۰۹ mg/l گزارش شد (Gundugdu, 2008). همچنین در مطالعه Meteleev و همکاران (۱۹۸۳) در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مواجهه داده شده با ۲۵ mg/l سولفات مس بعد از ۱۳۳ دقیقه روند تلفات آغاز شد. به نظر می‌رسد که تعیین آستانه اطمینان و آستانه مسمومیت زایی سولفات مس در شرایط اقلیمی و محیطی پرورش بسیار ضروری و مفید خواهد بود به این شرط که برای هر گونه به صورت جداگانه نتایج این بررسی در دسترس باشد. همان‌گونه که عنوان گردید بر اساس مطالعات محققین مختلف این سطح مسمومیت زایی حتی در یک گونه نیز در مواردی متفاوت گزارش شده است. آنچه بر اساس این مطالعه به دست آمد حاکی از این امر است که در درمان با سولفات مس در سختی آب ۲۸۵ mg/l و دمای پرورش ۲۵ درجه سانتیگراد برای بچه ماهیان کپور معمولی ترجیحاً دوز بالاتر از ۲ mg/l برای بیش از ۲۴ ساعت پیشنهاد نمی‌شود. با توجه آسیب‌های التهابی آبشش در تمامی تیمارها در صورت درمان اکسیژن دهی آب ضروری است.

منابع

سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۹۲. سازمان شیلات ایران، معاونت برنامه ریزی و توسعه مدیریت، دفتر برنامه و بودجه. چاپ اول. ۶۳ ص.

- Al-Sabri, I. Y.N., Smith, J.D., Thomas, J.D. 1993. Copper molluscicides for controls of schistosomiasis. Absorption by clay suspensions. *Journal of Environmental Science and Technology*. 27: 299-303.
- Arellano, J.M., Storch, V., Sarasquete, C. 1999. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales sole, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 44: 62-72.
- Baker, J.T.P. 1969. Histological and electron microscopical observations on copper poisoning in the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 26: 2785-2793.
- Balambigai, N., Aruna, D. 2011. Impact of copper sulphate, an essential micronutrient on ACh, AChE and Na⁺ K⁺ ATP ase in various tissues of the fish (*Cyprinus carpio*). *Research journal of environmental toxicology*. 5(2): 314- 319.
- Bartley, T.R. 1967. Progress report on evaluation of copper for aquatic weed control and herbicide residues on irrigation systems. U.S. Bureau of Reclamation Report No. WC-32. 58 p.
- Brown, V.M., Dalton, R.A. 1970. The acute lethal toxicity to rainbow trout of mixtures of copper, phenol, zinc and nickel. *Journal of Fish Biology*. 2: 211-16.
- Chapman, G.A., McCrady, J.K. 1977. Copper toxicity: a question of form, In: *Recent Advances in Fish Toxicology: a Symposium*, (R.A. Tubb, Ed.), 132-151. USEPA Report No. EPA 660 / 3 -77/ 085, Washington, DC., USA.
- DeBoeck, G., Vlaeminck, A., Balm, P.H., Lock, R.A., DeWachter, B., Blust, R. 2001. Morphological and metabolic changes in common carp, *Cyprinus carpio*, during short-term copper exposure: interactions between Cu²⁺ and plasma cortisol elevation. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20: 374-381.
- Eisler, R. 1998. Copper hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report. USGS/BRD/BSR. 98 p.
- Fernandes, A.F., Cardoso, J.V.F., Garcia-Santos, S., Monteiro, S.M., Carrola, J., Matos, P., Fontainhas-Fernandes, A. 2007. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. *Pesquisa Veterinaria Brasileira (Brazilian Journal of Veterinary Research)*. 27(3): 103-109.
- Gundugdu, A. 2008. Acute toxicity of zinc and copper for rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries Sciences*. 2(5): 711-721.
- Hasler, A.D. 1949. Antibiotic aspects of copper treatment of lakes. *Transactions of the Wisconsin Academy of Sciences, Arts and Letters*. 39:97-103.
- Havens, K.E. 1994. An experimental comparison of the effects of two chemical Stressors on a freshwater zooplankton assemblage. *Environmental Pollution*. 84: 245-251
- Kousar, S., Javed, M. 2012. Evaluation of Acute Toxicity of Copper to Four Fresh Water Fish Species. *International journal of agriculture and biology*. 14(5): 802 -804.
- Li, J., Quabius, S.E., Wendelaar Bonga, S., Flick G., Lock, R.A.C. 1998. Effects of water-borne copper on branchial chloride cells and Na⁺/K⁺-ATPase activities in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquatic Toxicology*. 43:1-11.
- Laurèn, D.J., McDonald, D.G. 1985 Effects of copper on branchial ionoregulation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Comparative Physiology*. 155(5): 635-644.
- Meteliev, V.V., Kanaev, A.I., Dzsokhova, N.G. 1983. Inorganic poisons. ID: water toxicology. Amerind publishing CO. Pvt Ltd., New Dehli. pp. 67-105.
- Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S., Vernet, G. 2000. Biochemical and (ultra)structural hepatic perturbation of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sublethal concentrations of copper sulphate. *Aquatic Toxicology*. 50: 109-124.
- Patel, J.M., Bahadur, A. 2010. Histopathological alternations in *Catla catla* induced by chronic exposure of copper ions. *Journal of Cell and Tissue Research*. 10(3): 2365-2370.
- Pelgrom, S., Lamers, L., Lock, R., Balm, P., Wendelaar Bonga, S. 1995. Integrated physiological response of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sublethal copper exposure. *Aquatic Toxicology*. 32: 303-320.
- Perschbacher, P.W., Wurts, W.A. 1999. Effects of Calcium and Magnesium hardness on acute Copper toxicity to juvenile Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of Aquaculture*. 172(3-4): 275-280.
- Perry, S.F., Laurent, P. 1993. Environmental effects on fish gill structure and function. In: Rankin J.C., Jensen, F.B. (eds.). *Fish Ecophysiology*. Chapman and Hall, London. pp. 231-264.
- Roberts, R.J. 2012. *Fish pathology*. 4th edition. Wiley-Blackwell, UK. 590 p.

- Rose, E.T. 1954. Blue-green algae control at Storm Lake. Proceedings of the Iowa Academy of Science. 61: 604-614.
- Rowe, B.L., Prince, H.H. 1983. Behavioral response of mallards to contaminated drinking water. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 30: 505-510.
- Singh, D., Nath, K., Trivedi, S.P., Sharma, Y.K. 2008. Impact of copper on haematological profile of freshwater fish, *Channa punctatus*. Journal of Environmental Biology. 29(2): 253-257
- Straus, D.L., C.S. Tucker. 1993. Acute toxicity of copper sulfate and chelated copper to channel catfish *Ictalurus punctatus*. Journal of the World Aquaculture Society. 24: 390-395.
- Van, H.D., Vosloo, A., Nikinmaa, M. 2004. Effects of short-term copper exposure on gill structure, methallothionein and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology. 69: 271-280.
- Vutukuru, S.S., Suma, Ch., Radha Madhavi, K., Juveria, Smitha Pauleena, J., Venkateswara Rao, J., Anjaneyulu, Y. 2005. Studies on the development of potential biomarkers for rapid assessment of copper toxicity to freshwater fish using *Esomus danricus* as model. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2(1): 63-73.
- Winger, P.V., Imlay, M.J., McMillan, W.E., Martin, T.W., Takekawa, J., Johnson, W.W. 1984. Field and laboratory evaluation of the influence of copper-diquat on apple snails in southern Florida. Environmental Toxicology and Chemistry. 3: 409-424.