

اثر سولفات مس و فرمالین بر پارامترهای خونی ماهی بنی

یادگار، ن.^{۱*}، جواهری بابلی، م.^۱، ستاری، ا.^۲، سلاطی، ا.پ.^۳

دریافت: ۱۳۸۹/۰۳/۰۸ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۰۵

خلاصه

در این مطالعه تغییرات پارامترهای خونی ۱۶۰ ماهی بنی *Barbus sharpeyi* یک هفته پس از تماس با غلظت های ۱/۷۵، ۳/۳۳، ۵/۵، ۳۷/۴ و ۷۵/۸ ppm فرمالدهید و ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ ppm سولفات مس در مقایسه با گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت. در تیمار سولفات مس تعداد گلبول های قرمز و سفید، درصد لنفوسیت ها و مونوسیت ها، هماتوکریت و هموگلوبین با افزایش غلظت سولفات مس یک روند کاهشی نشان داد، در حالی که درصد نوتروفیل ها، میانگین حجم گلبول های قرمز و میانگین غلظت هموگلوبین روند افزایشی داشت ($P < 0.05$). پس از تماس با فرمالین تمام این پارامترها، بجز مونوسیت ها و هموگلوبین که افزایش معنی داری ($P < 0.05$) پیدا کردند، تغییرات مشابهی نشان دادند.

واژه های کلیدی: سولفات مس، فرمالین، پارامترهای خونی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*)، خوزستان، ایران.

۱. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان، اهواز، ایران.

۲. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

*نویسنده مسؤؤل: yadegar_n@yahoo.com

تعداد ۱۶۰ قطعه بچه ماهی بنی (با میانگین وزن 1 ± 5 گرم و طول کل 1 ± 6 سانتی متر) از مزارع پرورش ماهی تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور سازگاری با محیط برای یک هفته در مخازن ۷۰ لیتری آب شیرین نگهداری شدند. در طی این مدت هوادهی قوی و تعویض آب روزانه معادل ۲۵ لیتر در روز صورت پذیرفت. محلول فرمالین ۳۷ درصد و بلورهای سولفات مس تجاری تهیه و در شرایط مناسب دور از نور تا موعد انجام آزمایش نگهداری شدند. آکواریوم های نگهداری ماهیان در دو ردیف شش تایی قرار داده شده و غلظت های پیش بینی شده برای سولفات مس و فرمالین بر روی آنها یادداشت گردید. چیدمان آکواریوم ها به صورت کاملاً تصادفی انجام گرفت. سولفات مس، تهیه شده به وسیلهٔ ترازوی دقیق، با دقت هزارم گرم توزین و بسته های ۱۰۰ میلی گرمی برای استفاده و ساخت محلول ذخیره تهیه و توزین گردید. برای هر کدام از گروه های تحت تیمار، یک آکواریوم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد، که هیچ ماده ای به آب آن اضافه نگردید. برای تهیه این محلول ها ابتدا یک محلول ذخیره با غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر از سولفات مس تهیه شد. به این منظور $4/1666$ گرم سولفات مس ۲۴٪ در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. برای ساختن غلظت های ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ قسمت در میلیون در آکواریوم های ۳۵ لیتری مقادیر مناسب از این محلول ذخیره در آب حل گردید. برای تهیهٔ رقت های مختلف فرمالین هم، از فرمالین مرکب ۳۷٪ استفاده شد. برای ساختن محلول ذخیرهٔ فرمالین نیز ۲/۷ میلی لیتر از محلول فرمالدهید ۳۷٪ در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد تا غلظت های ۱/۷۵، ۲/۳۳، ۳/۵، ۴/۳۷ و ۵۷ ppm را فرمالدهید با اضافه کردن مقادیر متناسب از این محلول ساخته شود. در روز آغاز تیمار نمودن آکواریوم ها، سه چهارم آب آنها با آب تازه و تمیز جایگزین شد و پس از یک ساعت، اقدام به محاسبه مقادیر مورد نیاز از محلول های ذخیرهٔ از پیش تهیه شده برای هر آکواریوم به آب اضافه گردید. سپس ۱۵ ماهی به هر آکواریوم معرفی شد. در حضور هوادهی قوی هر یک از آکواریوم های تیمار و شاهد در ساعات ۱ و ۶ و ۱۲ و ۱۸ و ۲۴ مورد بازرسی و اقدام به جمع آوری تلفات، در صورت وجود، از آکواریوم ها صورت پذیرفت. ماهیان به مدت یک هفته در معرض غلظت های مورد نظر از این ترکیبات قرار گرفتند. در پایان دوره، خونگیری از طریق قطع ساقهٔ دمی انجام پذیرفت.

ماهی بنی، یک گونهٔ بومی ایران است که پرورش آن در خوزستان مورد توجه قرار گرفته است و کارگاه های تکثیر به تولید بچه ماهی پرداخته، در اختیار کارگاه ها قرار می دهند. از این رو ضروری به نظر می رسد تا اطلاعات پایه در مورد آثار داروها و ترکیبات مختلف مورد استفاده در آبی پروری در این گونه در دسترس باشد تا در صورت نیاز به استفادهٔ بهترین ترکیب با مقدار مناسب و حداکثر کارایی انتخاب شود. یکی از مشکلاتی که در پرورش ماهیان بومی با آن برخورد می شود، عدم وجود اطلاعات کافی دربارهٔ این گونه هاست که پرورش دهنده را مجبور می سازد از اطلاعات مربوط به گونه های مشابه استفاده کند. مشکلی که استفاده از این اطلاعات ایجاد می کند بالاتر یا پایین تر بودن حساسیت گونه ای، بویژه در مقابل سموم، است که می تواند منجر به تلفات و مرگ و میر ماهیان گردد. سولفات مس از جمله داروهایی است که به طور متداول در درمان بیماری های باکتریایی، قارچی و انگلی ماهی و حذف جلبک ها در آبی پروری مورد استفاده قرار می گیرد (Noga و همکاران، ۲۰۱۰). با وجود استفادهٔ گسترده از سولفات مس، این ترکیب برای ماهیان بسیار سمی است و در استفاده از آن باید دقت زیادی کرد (Stoskopf، ۱۹۹۳). اثرات پاتولوژیک این ماده بر اندام های مختلف ماهی، بویژه بافت های در معرض محیط خارجی مانند آبشش، نشان داده شده است.

محلول فرمالدهید ۴۰-۳۷٪ تحت عنوان فرمالین تجاری در بازار موجود است. فرمالین در شاخه های مختلف صنعت و علوم مصارف متعددی دارد. در صنعت پرورش ماهی از این ترکیب به عنوان ضد عفونی کنندهٔ سطوح و تجهیزات استفاده می شود؛ همچنین بتنهایی و یا همراه با مالاشیت گرین در پیشگیری و درمان آلودگی های قارچی و انگل های خارجی نیز مورد استفاده قرار می گیرد (پیغان، ۱۳۸۴).

این ترکیبات می توانند با اثر گذاشتن بر بافت های مختلف بدن ضایعات مختلفی ایجاد و عملکرد آنها مختل کنند (بابا، ۱۳۸۵). یکی از این بافت ها کلیه است که به عنوان محل تولید سلول های خونی در ماهی عمل می کند. لذا این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات سمی این ترکیبات بر سلول های خونی انجام گرفت، که می تواند برای ارزیابی آثار سمی آلاینده ها مورد استفاده قرار گیرد.

در پاسخ به افزایش غلظت فرمالین کاهش نشان دادند ($P < 0.05$). در مورد هر دو تیمار مورد مطالعه شمارش تفریقی گلبول های سفید درصد لنفوسیت ها در پاسخ به افزایش غلظت هر دو ماده افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0.05$).

بحث:

غلظت های تحت کشنده از مواد آلاینده در بوم زیست های آبی الزاماً منجر به مرگ و میر نمی گردد اما آثار چشمگیری دارد که منجر به تغییرات فیزیولوژیک قابل توجهی می شود. مقایسه مستقیم بین داده های دو مطالعه مشکل است، چراکه عوامل مختلفی نظیر گونه، مرحله زندگی، کیفیت آب و مدت زمان در تماس بودن می تواند نتایج مطالعه را تحت تأثیر قرار دهند.

از آنجا که مطالعات خون شناختی برای ارزیابی وضعیت سلامت بیشتر حیوانات مورد استفاده قرار می گیرد، مطالعات مختلف تغییرات خون شناختی در ماهیان در معرض استرس های مختلف از جمله اثر فلزات سنگین انجام شده است. در دوزهای مختلف مورد استفاده در این مطالعه اثر کاهشی مس بر گلبول های قرمز خون نشان داده شد به صورتی که منجر به کم خونی شده و به دنبال آن منجر به کاهش هماتوکریت و هموگلوبین خون گردید. روند مشابهی در اثر تماس گربه ماهی با سولفات مس گزارش شده که منجر به کم خونی گردیده است (James و Sampath، ۱۹۹۵). آمی می تواند در اثر افزایش تخریب گلبول های قرمز خون و/یا مهار ساخته شدن گلبول های قرمز خون رخ دهد (Wintrobe، ۱۹۷۸). البته در بعضی مطالعات، وضعیتی برعکس گزارش شده است. برای مثال در Prochildus scrofa چالش با مس منجر به افزایش تعداد گلبول های قرمز خون و به دنبال آن هماتوکریت و محتوای هموگلوبین خون گردیده است (Fernandes و Carvalho، ۲۰۰۶). آنها تخلیه گلبول های قرمز از مخازن ذخیره ای نظیر طحال را عامل این افزایش ذکر کردند، زیرا حجم متوسط سلول ها تغییری نشان نداده بود. سمیت مس عمدتاً ناشی از اثر آن در به هم زدن تعادل تنظیم یونی در آبشش است (Grosell و همکاران، ۲۰۰۲) وضعیت مشابهی در اثر تماس ماهیان با فلزات گزارش شده است.

Goel و همکاران (۱۹۸۵) کاهش چشمگیر تعداد گلبول های

پس از برداشتن سوزن خون به ویال های هپارینه منتقل و برای انجام آزمایش های خون شناسی به آزمایشگاه منتقل گردیدند. برای شمارش گلبول های سفید و قرمز ابتدا خون با محلول نات هریکس رقیق شد و سپس سلول ها با استفاده از لام هموسیتومتر نئوبار شمارش شدند. برای تعیین مقادیر هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت و هموگلوبین از سیانومت هموگلوبین استفاده شد. برای شمارش افتراقی گلبول های سفید در زمان خون گیری از ماهیان، گسترش خونی بر روی لام تهیه و توسط متانول فیکس گردید. آنگاه لام های مذکور توسط محلول رنگ گیمسا، تهیه شده با نسبت یک قسمت رنگ به ده قسمت آب، به مدت بیست دقیقه رنگ آمیزی شده و به وسیله عدسی شماره ۱۰۰ میکروسکوپ نوری به منظور شمارش تفریقی گلبول های سفید مورد بررسی قرار گرفتند. به این منظور با استفاده از شمارشگر دستی تعداد صد عدد سلول به صورت تفریقی شمرده و همزمان مورد تفکیک قرار گرفتند (Srivastava و Shashikala، ۱۹۹۰) اندیس های خونی هم بر اساس فرمول های استاندارد محاسبه شدند. برای آنالیز آماری داده ها ابتدا از آنالیز واریانس یک طرفه، برای مقایسه میانگین نمونه ها استفاده شد و در مواردی که بین میانگین ها اختلاف معنی داری وجود داشت برای مقایسه دوجه دو داده ها، از آزمون Tukey استفاده شد. میانگین ها در سطح اعتماد بیش از ۹۵٪ از لحاظ آماری متفاوت قلمداد شدند. برای تجزیه و تحلیل داده ها از برنامه sigma-stat 3.5 استفاده شد.

نتایج:

اثر سولفات مس و فرمالین بر پارامترهای خونی ماهی بنی (*B. sharpe*) در جدول های ۱ و ۲ نشان داده شده است. آنالیز پارامترهای خونی نشان داد که مقادیر Hb، RBC و Hct در پاسخ به افزایش غلظت سولفات مس در محیط کاهش نشان می دهند ($P < 0.05$). MCHC هم در غلظت های افزایش یافته مس در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0.05$). مقادیر گلبول های سفید هم روند مشابهی نشان دادند به صورتی که کمترین مقادیر گلبول های سفید در غلظت ۰۲ ppm سولفات مس مشاهده گردید ($P < 0.05$). در تماس هماتوکریت و هموگلوبین

RBC×10 ⁻⁵	Hb (g/dL)	Hct%	WBC	Lymphocyte%	Neutrophil%	Monocyte%	MCV (fL)	MCHC (g/dL)	کنترل
۷/۹۲±۰/۸۴	۸/۱۳±۱/۲۴	۴۱/۱۳±۳/۸۱		۸۷/۷۲±۱۰/۶۸	۲/۱۰±۰/۵۸	۳/۲۲±۱/۱	۵۲۲±۵۹/۷۹	۹۱۱۹/۸۴±۲/	کنترل
۷/۴۷±۰/۷۸	۸/۸۶±۱/۲	۳۹/۱۳±۴/۸۰	۸۳۳±۸۶۳	۸۶/۹۶±۴	۱/۸±۰/۵	۲/۵۰±۰/۰۵	۵۳۲±۱۰۰/۷	۲۳/۰۸±۴/۸۴*	5/0 (ppm)
۷/۵۳±۰/۸۲	۸/۴۰±۱/۴۵	۴۰/۲۶±۴/۴۳	۷۱۵±۷۴۶	۸۴/۰۹±۵/۷۰	۲/۴۰±۰/۶۴	۲/۷۰±۰/۵۸	۵۳۹±۷۰/۵	۲۱/۰۴±۴/۴۴	1 (ppm)
۷/۰۸±۰/۶۹	۸/۳۳±۱/۴۴	۳۸/۳۳±۳/۲۳		۷۸/۳۰±۱۲/۱۴	۲/۲۰±۰/۵۷	۲/۶۰±۰/۸۶*	۵۴۶±۷۹/۵	۲۲/۰۸±۴/۹۱	5 (ppm)
۴/۷۲±۰/۷۹*	۶/۶۰±۱/۳۵*	۲۶/۰۸±۲/۷۸*		۷۳/۵۰±۹/۸۴*	۲/۷۰±۰/۷۵*	۲/۷۰±۰/۷۴*	۶۱۱±۱۳۳/۷*	۲۳/۸۶±۶/۰۸*	10 (ppm)
۲/۹۳±۱/۱*	۶/۳۳±۱/۱۷*	۲۶/۶۶±۳/۱۰*		۷۱/۵۰±۹/۸۶*	۴/۵۰±۱/۵۸*	۴/۵۰±۱/۵۸*	۱۱۴۰±۷۵۵/۸*	۲۴/۱۸±۵/۸۲*	20 (ppm)

جدول ۱. اثر غلظت های مختلف سولفات مس بر پارامترهای خونی ماهی نی.

RBC×10 ⁻⁵	Hb (g/dL)	Hct%	WBC	Lymphocyte%	Neutrophil%	Monocyte%	MCV (fL)	MCHC (g/dL)	کنترل
۷/۷۳±۰/۷۲	۸/۰۶±۲/۰۸	۴۰/۶۶±۳/۸۲	۱۲۸۲±۱۱۳۰	۵۸/۷۷±۸/۸۵	۲/۱۳±۰/۵۹	۲/۱۳±۰/۵۹	۵۳۱±۷۵	۱۹/۹۳±۵/۱۹	کنترل
۷/۱۰±۰/۸۲	۸/۳۹±۱/۲۲	۳۹/۷۳±۴/۱۳	۷۷۶۸±۱۳۳۵	۸۳/۹۰±۷/۰۴	۲/۴±۰/۶	۲/۳±۰/۵	۵۷۰±۱۱۱	۲۰/۹۶±۵/۰۷	75/1 (ppm)
۷/۱۴±۰/۵۸	۹/۲۶±۱/۹۴	۴۰/۰۶±۴/۰۳	۷۵۳۲±۱۲۱۸	۸۱/۹۵±۵/۶	۲/۳±۰/۳	۲/۱±۰/۷	۵۶۶±۹۰	۲۳/۲۳±۴/۹۸	33/2 (ppm)
۶/۰۳±۰/۹۷*	۸/۹۳±۱/۳۸	۳۲/۸۶±۵/۰۱*	۵۳۷۸±۹۲۲*	۸۱/۴۵±۵/۵	۲/۸±۰/۶*	۲/۲±۰/۹*	۵۶۴±۱۶۳	۲۸/۰۴±۷/۵۴*	5/3 (ppm)
۵/۶±۰/۸۰*	۹/۹۲±۱/۵۷*	۳۹/۸۶±۴/۹۹*	۵۰۸۰±۱۳۵۷*	۷۷/۹±۶/۷*	۲/۳±۰/۶*	۳/۲۷±۱/۶۱*	۵۳۷±۸۹	۳۳/۹۶±۷/۱۲	37/4 (ppm)
۴/۷۴±۰/۷۳*	۱۰/۳۳±۱/۶*	۲۸/۴±۴/۶*	۵۱۶۰±۱۵۳۷*	۷۶/۲±۸/۲*	۲/۷±۰/۸*	۲/۵±۱/۳	۶۱۵±۱۴۴*	۳۷/۴۸±۹/۴۴	75/8 (ppm)

جدول ۲. اثر غلظت های مختلف فرمابین بر پارامترهای خونی ماهی نی.

ستاره بیانگر اختلاف معنی دار می باشد (P<۰.۰۵).

قرمز خون و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت را که منجر به کم خونی ماکروسیتیک در *Heteropeustes fossilis* در اثر تماس با روی می شود، گزارش کرده اند. افزایش تعداد گلبول های سفید خون یک واکنش معمول ماهی علیه تهاجم مواد خارجی نظیر مس است که می تواند عملکرد فیزیولوژیک طبیعی ماهی را دچار اختلال کند. در این مطالعه، تعداد کل گلبول های سفید خون کاهش یافت. همچنین در شمارش تفریقی نسبت لنفوسیت ها کاهش معنی داری را نشان داد. نسبت نوتروفیل ها هم در این مطالعه کاهش نشان داد که از طریق فعالیت فاگوسیتی خود نقش مهمی در حفاظت از بدن ایفا می کنند. در مطالعات انجام شده نسبت نوتروفیل ها پس از چالش کوتاه مدت با مس کاهش می یابد (Nussey و همکاران، ۱۹۹۵؛ Svobodova و همکاران، ۱۹۹۴). اما مشاهده شده است که چالش بلندمدت با مس موجب افزایش نسبت نوتروفیل ها می شود. به نظر می رسد این افزایش نسبت، ناشی از آسیب های وارد شده به آبشش در اثر تماس طولانی مدت با مس باشد (Dick و Dickson، ۱۹۸۵). نسبت مونوسیت ها در این مطالعه افزایش نشان داد که با یافته های Nussey و همکاران (۱۹۹۵) که کاهش نسبت مونوسیت ها را گزارش کردند، همخوانی دارد؛ اما برخلاف گزارش mazon و همکاران (۲۰۰۴) است که در آن، نسبت مونوسیت ها در مواجهه با سولفات مس تغییری نشان نداده است. در واحد های درمانی مختلف مورد استفاده در این مطالعه، اثر کاهشی فرمالین بر گلبول های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و گلبول های سفید نشان داده شد. در ماهی تیلاپیا *Oreochromis niloticus* تماس با غلظت های تحت کشنده از فرمالین به کاهش تعداد گلبول های قرمز خون منجر می گردد (Omoregie و همکاران، ۱۹۹۴). این کاهش تعداد گلبول های قرمز منجر به بروز کم خونی می شود که بنا به گزارش Wedemeyer و همکاران (۱۹۸۴) این کم خونی ناشی از رقیق شدن پلاسما به علت اختلال در مکانیسم های تنظیم اسمزی آبشش رخ می دهد. البته گزارش هایی هم وجود دارد که فرمالین در غلظت های تحت کشنده به تخریب گلبول های قرمز منجر می گردد (Piper و Smith، ۱۹۷۲). در این مطالعه هماتوکریت

و هموگلوبین نیز مانند گلبول های قرمز در مواجهه با فرمالین و سولفات مس روندی کاهشی نشان دادند، اما در بعضی مطالعات تغییرات این پارامترها مستقل از یکدیگر صورت گرفته است. برای مثال در ماهی *Sarotherodon mossambicus* تماس با فرمالین به کاهش تعداد گلبول های قرمز خون (آمی ماکروسیتیک هیپرکرومیک) منجر شده؛ اما به طور همزمان محتوای هموگلوبین خون و هماتوکریت افزایش یافته است. این افزایش هماتوکریت همزمان با کاهش تعداد گلبول های قرمز خون در اثر کاهش حجم پلاسمای خون رخ می دهد (Razia، Beevi و Radhaknishnan، ۱۹۸۷). در مطالعه انجام شده توسط Williams و Wootten (۱۹۸۱) بر روی قزل آلی رنگین کمان مشاهده شد که تیمار با فرمالین موجب افزایش هماتوکریت می شود. نتایج مشابهی در کفشک ماهی زیتونی *Paralichthys olivaceus* به دست آمده است. در این ماهی افزایش تعداد گلبول های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت متعاقب برخورد با غلظت های افزایش یابنده فرمالین ثبت شده است؛ اما تعداد گلبول های سفید خون تغییری نشان نداده است (Jung و همکاران، ۲۰۰۳).

در آزادماهیان هم محتوای هموگلوبین خون و میزان هماتوکریت پس از تماس با فرمالین افزایش نشان داده است؛ اما تعداد گلبول های قرمز خون تغییر معنی داری نشان نداده است (Nieminen و همکاران، ۱۹۸۳). این افزایش هماتوکریت و هموگلوبین مستقل از تعداد گلبول های قرمز خون بیانگر افزایش حجم میانگین گلبول های قرمز (MCV) است. در تیلاپیا *Oreochromis niloticus* تیمار با فرمالین موجب تغییر فوری در پارامترهای هماتولوژیک نگردید (Perera و Pathiratne، ۲۰۰۵). در کپور معمولی تماس با فرمالین موجب افزایش هموگلوبین و هماتوکریت شده است که این افزایش ناشی از افزایش تهویه و نیازهای اکسیژن ماهی گزارش شده است (Yamamoto، ۱۹۹۱). این افزایش تنفس و متعاقب آن، افزایش تعداد ضربان قلب ناشی از فرمالین در کپور در مطالعات دیگری هم نشان داده شده است (Kakuta و همکاران، ۱۹۹۱).



Effects of Copper sulfate and formalin on hematological parameters of *Barbus sharpeyi*

Yadgar, N.¹, Javaheri-Baboli, M.¹, Sattari, A.², Salati, A.P.³

Received: 29.05.2011

Accepted: 26.12.2011

Abstract

In the present study, hematological responses in 160 *Barbus sharpeyi* (Bennie) after one week exposure to 1.75, 2.33, 3.5, 4.37 and 8.75 ppm of formaldehyde and 0.5, 1, 2, 5 and 10 ppm of copper sulfate (CS) in comparison with control group was evaluated. In copper sulfate treatment, RBC and WBC number, Lymphocytes% and monocytes%, Hematocrit and Hemoglobin (Hb) decreased after exposure to higher concentrations while Neutrophils%, mean cell volume and mean cell hemoglobin concentration, increased in higher concentrations ($P < 0.05$). In formaldehyde treatments the parameters altered at higher concentrations in the same pattern as CS but Monocytes% and Hb tend to increase significantly ($P < 0.05$).

Keywords: Copper sulfate, Formalin, Hematologic parameters, *Barbus sharpeyi*, Khuzestan, Iran.

1. Department of Fisheries, Khuzestan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ahwaz, Iran.

2. Islamic Azad University, Ahwaz Branch, Ahwaz, Iran.

3. Department of Food hygiene and quality control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran.

4. Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr Marine Science and Technology University, Khorramshahr, Iran.

*Corresponding author: yadgar_n@yahoo.com

پیغان، ر. ۱۳۸۴. بیماری های ماهی. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، ۲۸۱.
بابا، م. ۱۳۸۵. بیماری های ماهی های پرورشی. چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران ۵۹۵.

- Carvalho**, C.S., Fernandes, M.N. 2006. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. *Aquaculture* **251**, 109-117.
- Dick**, P.T., Dixon, D.G. 1985. Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, following acute and chronic exposure to copper. *Journal of Fish Biology* **26**, 475-484.
- Goel**, K.A., Mishra, B.P., Gupta, K., Wadhwa, S. 1985. A comparative haematological study on a few fresh water teleosts. *Indian Journal of Fisheries* **31**, 108-112.
- Grosell**, M., Mc Geer, J.C., Wood, C.M. 2002. Plasma copper. clearance and biliary copper excretion are stimulated in copper acclimated trout. *American Journal of Physiology* **280**, 796- 806.
- James**, R., Sampath, k. 1995. Sparameters and biliary coublethal effects of mixtures copper and ammonia on selected biochemical and physiological parameters in the catfish *Heteropneustes fossilis*. *Bulletin of Environment, Contaminant and Toxicology* **55**, 188-194.
- Jung**, S.H., Sim, D.S., Park, M.S., Jo, Q.T., Kim, Y. 2003. Effects of formalin on haematological and blood chemistry in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schl ege). *Aquaculture Research* **34**, 1269-1275.
- Kakuta**, I., Namba, K., Uematsu, K., Murachi, S. 1991. Physiological response of the fish, *Cyprinus carpio*, to formalin exposure—I. Effects of formalin on urine flow, heart rate, respiration. *Comparative Biochemistry and Physiology* **100**, 405-411.
- Mazon**, A.F., Nolan, D.T., Lock, R.A.C., Fernandes, M.N., Wendelaar Bonga, S.E. 2004. A short-term in vitro gill culture system to study the effects of toxic (copper) and non-toxic (cortisol) stressors on the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Toxicology In Vitro* **18**, 691- 701.
- Nieminen**, M., Pasanen, P., Laitinen, M. 1983. Effects of formalin treatment on the blood composition of salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology C* **76**, 265-269.
- Noga**, E.J. 2010. Fish disease: diagnosis and treatment. 2nded, Wiley-Blackwell, pp 538.
- Nussey**, G., Van Vuren, J.H.J., Du Preez, H.H. 1995. Effect of copper on the hematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comparative Biochemistry and Physiology C* **111**, 369-380.
- Omorgie**, E., Eseyin, T.G., Ofojekweu, P.C. 1994. Chronic effects of formaline on erythrocyte counts and plasma glucose of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Asian Fisheries Science* **7**, 1-6.
- Perera**, H. A. C. C., Pathiratne, A. 2005 Enhancement of immune responses in Indian carp, *Catla catla* following administration of levamisole by immersion. In Bondad-Reantaso, M.G., Mohan, C.V., Crumlish, M. and Subasinghe, R.P. (Eds.). Diseases in Asian Aquaculture VI. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines Sixth, 130-142.

- Razia Beevi**, M., Radhakrishnan, S. 1987. Haematological effects of sublethal concentration of formalin on *Sarotherodon mossambicus* (Peters). Proceeding of Indian Academy of Science **96**, 721-725.
- Smith**, C.E., Piper, G. 1972. Histopathological effects of formaline treated Rainbow trout *Salmo gairdneri*. Journal of Fisheries Research Board of Canada **29**, 328-329.
- Srivastava**, A.K., Shashikala, M. 1979. Blood dyscrasia in a teleost, *Colisa fasiata* after exposure to sublethal concentration of lead. Journal of Fish Biology **14**, 199-203.
- Stoskopf**, M.K. 1993. Fish Medicine. W.S. Saunders Company. London, UK.
- Svobodova**, Z., Vykusova, B., Machova, J. 1994. The effects of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish. In: Müller, R., Lloyd, R. (Eds.) Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. Fishing News Books, London, UK.
- Wedemeyer**, G.A., McLeay, D.J., Goodyear, C.P. 1984. Assessing tolerance of fish and fish population to environmental stress. In: Cairns, V.W., Hodson, P.V., Nriagu, J.O. (Eds). Contaminant effects on fisheries. Wiley and Sons, New York, USA, 164-195.
- Williams**, H.A., Wootten, R. 1981. Some effects of therapeutic levels of formalin and copper sulphate on blood parameters in rainbow trout. Aquaculture **24**, 341-353.
- Wintrobe**, M.M. 1978. Clinical haematology, London, kimpton: 448.
- Yamamoto**, K. 1991. Effects of formalin on gas exchange in the gills of carp *Cyprinus carpio*. Comparative Biochemistry and Physiology B **98**, 463-465.