



دانشگاه گسترده دریایی و منابع آب شیراز

بهره‌برداری و پرورش آبزیان

جلد هفتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۷

<http://japu.gau.ac.ir>

DOI:-----

تأثیر موقعیت استخر پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* بر خصوصیات هماتولوژیک، بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیداتیو سرم ماهی

*حمیدرضا قیصری^۱، نرگس اسکندری روزبهانی^۲، عاطفه نصری^۳، سعید نظیفی^۴ و

جواد رجیبی اصلانی^۵

^۱دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شیراز، دانشجوی دکتری فارماکولوژی، گروه علوم پایه، دانشگاه شیراز،

^۲دانش آموخته دکتری بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شیراز، ^۳استاد گروه علوم درمانگاهی،

دانشگاه شیراز، ^۴دانش آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۱۳

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر موقعیت استخرهای پرورش ماهی بر سلامت ماهیان پرورشی با توجه به فاکتورهای خونی آنها بود. لذا استخرهای سه منطقه انتخاب شد که از نظر موقعیت جغرافیایی و فاصله از زمین‌های کشاورزی متفاوت بودند. منطقه یک، منبع آب استخر از رودخانه، منطقه دو از چاه و منطقه سه از آب چشمه بود. کشاورزان منطقه یک بیشترین مقدار سموم دفع آفات کشاورزی را مصرف می‌کردند و منطقه دو از این نظر کمترین مصرف را داشت. از استخرهای سه منطقه جمعاً ۶۶ نمونه ماهی جداسازی شد، از آنها خونگیری شد و مورد بررسی بیوشیمیایی، هماتولوژیکی و اکسیداتیو قرار گرفتند. سطح آنزیم‌های کبدی (آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات‌آمینوترانسفراز (AST) در منطقه دو از همه بیشتر بود و تفاوت معنادار با دو منطقه دیگر داشت ($p < 0/05$). پارامترهای هماتولوژیک هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (PCV)، در منطقه دو کمترین مقدار بود. در شمارش افتراقی سلول‌های سفید خون، درصد هتروفیل‌ها، منوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها در منطقه دو بیش از دیگر مناطق بود ($p < 0/05$). سطح آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در منطقه یک از همه بیشتر بود ($p < 0/05$). در منطقه دو، علی‌رغم مصرف کمتر سموم دفع آفات کشاورزی، به دلیل کمتر بودن فاصله استخر از زمین‌های کشاورزی، شاهد بالا بودن سطح آنزیم‌های کبدی، پائین بودن سطح فاکتورهای خونی مرتبط با کم خونی و افزایش سلول‌های خونی که از شاخص آلودگی‌های احتمالی میکروبی است، بودیم و درکل سلامت ماهیان استخر این منطقه نسبت به دو منطقه دیگر کمتر بود. بنابراین می‌توان این پیشنهاد را مطرح کرد که موقعیت ساخت استخر پرورش ماهی بر سلامت ماهیان تأثیر دارد.

واژه‌های کلیدی: موقعیت استخر پرورش ماهی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، پارامترهای بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیداتیو سرم، پارامترهای هماتولوژیک.

*مسئول مکاتبه: ghaisari@shirazu.ac.ir

مقدمه

هرچند محصولات کشاورزی نقش مهمی در عرضه غذای انسان بازی می‌کنند اما منابع آبی و دریایی هم از جمله سهل‌الوصول‌ترین محصولات قابل عرضه خوراکی می‌باشند. این بخش‌های مختلف، اثرات متفاوتی روی یکدیگر دارند که برخی از آن‌ها مطلوب نیست. مصرف آفت‌کش‌های کشاورزی، مثل سموم ارگانوفسفات، در صنعت کشاورزی اجتناب‌ناپذیر است و موجب آلودگی زمین و آب‌های سطحی می‌شود. آب آلوده شده در بخش پرورش آبزیان مشکلاتی را برای آبزیان ایجاد می‌کند. رشد جمعیت انسانی و گسترش نواحی صنعتی، معضل قرارگیری در معرض فاضلاب را به بار آورده است. فاضلاب‌های خانگی و فاضلاب‌های عمل‌آوری نشده و تا حدی عمل‌آوری شده صنعتی، که با آلوده‌کننده‌هایی مثل فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها و بسیاری ترکیبات ارگانیک همراه شده‌اند، تا حد زیادی مسئول مرگ ماهیان در اکوسیستم آبی می‌باشند. این فلزات و مواد شیمیایی می‌توانند کیفیت آبی را که ماهی و سایر ارگانسیم‌های آبی در آن زیست می‌کنند تغییر دهند (پازانیسمی، ۲۰۰۷؛ داسارتان، ۲۰۰۰). در واقع بیش از ۹۰ درصد سموم آفت‌کش مورد استفاده در مزارع کشاورزی هرگز به جانور هدف نمی‌رسد و در عوض در هوا و خاک و آب پراکنده می‌شود (موسس و همکاران، ۱۹۹۳). این حشره‌کش‌ها بعد از استفاده از طریق زهکشی مزارع کشاورزی و یا آبیاری در پی آبیاری بیش از حد و یا پس از بارش باران‌های فصلی، از سطح گیاهان و خاک شسته شده و وارد آب‌های سطحی و حتی زیرزمینی می‌شوند (سهرابی و همکاران، ۲۰۰۱).

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به طرق مختلف و در منابع آبی مختلف پرورش داده می‌شود. چشمه‌ها،

رودخانه‌ها، قنات و چاه‌های کشاورزی از مهمترین منابع پرورش این ماهی‌ها در کشور می‌باشد. میزان رشد ماهی و کیفیت گوشت آن مطابق عوامل محیطی تغییر خواهد کرد. تغییرات پروفایل شیمی خون که تا حد زیادی به وسیله آلوده‌کننده‌ها ایجاد شده است، فرایند متابولیسم و تغییرات بیوشیمیایی را، در ماهی منعکس می‌کند. آفت‌کش‌های کشاورزی غالباً از طریق تغییر سطح فعالیت برخی از آنزیم‌ها یا تغییر ساختار بیوشیمیایی آن‌ها موجب بروز اختلال در عملکرد آن‌ها در واکنش‌های بیوشیمیایی در سلول‌ها می‌شوند (بنایی، ۲۰۰۶). این سموم در غلظت‌های غیرکشنده می‌تواند باعث اختلالات بیولوژیکی و اکولوژیکی، مثل عقیم شدن، کاهش باروری، فقدان رشد مناسب و مکفی در نسل‌های بعدی ارگانسیم‌های بیمار و ناسالم شوند و سرانجام نسل ارگانسیم را از بین می‌برد. بررسی تغییرات در تابلوی خونی و سرمی ماهیان امروزه در بعضی نقاط دنیا به‌عنوان یکی از راه‌های تشخیص سلامت ماهیان مورد استفاده قرار گرفته است (ساهو و همکاران، ۲۰۰۷؛ شریفی و همکاران، ۲۰۰۱؛ چن و همکاران، ۲۰۰۴؛ گونزالس و همکاران، ۲۰۰۷). پارامترهای هماتولوژیک در ماهیان ممکن است تحت تأثیر عوامل فیزیولوژیک مانند جنسیت، مراحل تولید مثل، سن، اندازه و سلامتی آن‌ها تغییر کند (نسپولو و روزنمن، ۲۰۰۲؛ لوسکووال، ۱۹۹۵) این فاکتورها همچنین تحت تأثیر عوامل خارجی مثل فصل، دمای آب، کیفیت‌های زیست‌محیطی، غذا، استرس‌ها، انواع آلودگی‌ها و بیماری‌ها دچار تغییر می‌شوند (ریوز و همکاران، ۲۰۰۲) و این تغییرات فیزیولوژیکی خون به راحتی می‌تواند نشان‌دهنده تغییرات کیفی در محیط زیست باشد (کومار، ۲۰۰۳). چنانچه میزان طبیعی پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی خون و دامنه تغییرات آن در انواع ماهی‌ها در شرایط

کشاورزی در سمت دیگر کوه قرار داشتند. منبع تأمین آب برای این مزرعه، از چشمه پایین کوه بود.

برطبق اطلاعات به دست آمده از سازمان مدیریت اصلاح نباتات استان فارس، کل سموم آفت کش کشاورزی استفاده شده در نواحی مورد مطالعه ما طی سال‌های ۱۳۸۸ الی ۱۳۹۲ (۲۰۰۹ تا ۲۰۱۳)، مطابق زیر بود: کوه مره سرخی: ۱۲۴/۷۶، سعادت شهر: ۴۱ تن، سپیدان: ۱۰۹/۶۶ تن (جدول-۱). همان گونه که از این اطلاعات بر می آید میزان مصرف سموم آفت کش در سپیدان بیشترین و در سعادت شهر کمترین بود.

نمونه گیری در فواصل پائیز و زمستان سال ۱۳۹۲ به صورت تصادفی از استخرهای متفاوت، انجام شد. از هر منطقه مورد بررسی، تعداد ۲۲ ماهی بالغ با وزن تقریبی ۲۵۰ گرم انتخاب شد. خونگیری از ورید پشتی با استفاده از سرنگ ۱۸ انجام شد. مقدار ۲ میلی لیتر از نمونه های خون در لوله های حاوی ۵۰ میکرولیتر ماده ضد انعقاد EDTA جمع آوری شد و برای بررسی پارامترهای هماتولوژیک (Hb, PCV, CBC diff.) و اکسیداتیو (GPX, SOD) مورد استفاده قرار گرفت. مابقی نمونه خون گرفته شده در لوله های دیگری بدون ماده ضد انعقاد جمع آوری شدند تا سرم آن برای سنجش آزمایشات بیوشیمیایی (ALT, AST, LDH) مورد استفاده قرار بگیرد. برای جدا کردن سرم، خون گرفته شده بدون ماده ضد انعقاد در دور $12000 \times g$ به مدت ده دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شدند. سرم‌ها تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. هموگلوبین با استفاده از روش سیانومت-هموگلوبین اندازه گیری شد، که ۲۰۰ میکرولیتر خون را با ۵ سی سی محلول تجاری درابکین مخلوط کرده و بعد از ۱۰ دقیقه به منظور رسوب ذرات هسته با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده، جذب نوری محلول فوقانی در طول

طبیعی یا فیزیولوژیک در دسترس با شد بررسی فاکتورهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون می تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری های عفونی، خونی و مسمومیت های آبزیان ایفا کند.

دوری و نزدیکی اکوسیستم های آبی به مزارع کشاورزی که از سموم دفع آفات استفاده می کنند می تواند سلامت آبزیان را به خطر بیندازد. هدف از این مطالعه، تأثیر نحوه احداث استخر پرورش ماهی روی سلامت ماهیان پرورشی است. برای سنجش سلامت ماهیان به بررسی تغییراتی که در پارامترهای بیوشیمیایی، هماتولوژیک و اکسیداتیو تحت تأثیر سموم دفع آفات کشاورزی ایجاد می شود در سه ناحیه با منابع متفاوت تأمین آب پرداختیم.

مواد و روش کار

این مطالعه در استان فارس، جنوب ایران، انجام شد. نمونه های ماهی قزل آلی رنگین کمان، از سه مزرعه پرورش ماهی در موقعیت های جغرافیایی مختلف، به طور تصادفی انتخاب شدند. اولین محل نمونه گیری، مزرعه پرورش ماهی شهر سپیدان (شمال غرب شیراز) بود که در ناحیه سرد کوهستانی واقع شده بود و بالادست و دور از زمین های کشاورزی بود. منبع آب این مزرعه از رودخانه جاری در مزارع و باغات میوه بود. دومین محل نمونه گیری، مزرعه پرورش ماهی شهر سعادت شهر (شمال شرق شیراز) بود که منبع تأمین آب آن‌ها از چاه بود. این استخر پرورش ماهی در وسط زمین های کشاورزی قرار داشت و چاه در بالای مزرعه واقع بود و فاصله آن از زمین های کشاورزی کمتر از سایر محل های نمونه گیری بود. سومین محل نمونه گیری، مزرعه پرورش ماهی شهر کوه مره سرخی (جنوب استان فارس) بود که در پشت کوه قرار داشت و در بالادست آن هیچ زمین کشاورزی نبود و زمین های

پاگلیا و والتین (پاگلیا و والتین، ۱۹۶۷) شد. گلوکاتایون پراکسیداز، اکسیداسیون گلوکاتایون (GSH) را به وسیله کیومن هیدروپراکسید، کاتالیز می‌کند. در حضور گلوکاتایون ردوکناز و NADPH، گلوکاتایون اکسید شده، به همراه تبدیل NADPH به NADP⁺، به سرعت به شکل احیا آن تبدیل می‌شود. کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار این آنزیم‌ها به ترتیب به صورت unit/mL و unit/L از همولیزات بیان شد. پارامترهای بیوشیمیایی شامل ALT, AST, LDH طبق دستورالعمل کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) اندازه‌گیری شدند.

تحلیل آماری: داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شدند و به وسیله نرم‌افزار SPSS، ویرایش ۲۰، تجزیه و تحلیل شد. آزمون آنالیز واریانس یکطرفه در مورد مقایسه میانگین گروه‌ها استفاده شد. از آزمون تکمیلی دانکن نیز برای تعیین محل اختلاف استفاده شد و اختلاف معنی‌دار در هر نقطه با $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

موج ۵۴۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و میزان هموگلوبین بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه گردید. هماتوکریت با استفاده از روش میکرو که روش آدامز هم نامیده می‌شود اندازه‌گیری شد (فلدمن و همکاران، ۲۰۰۰). سلول‌های خونی در گسترش خون محیطی بعد از رنگ آمیزی گیمسا مورد بررسی مورفولوژیک قرار گرفتند و سلول‌های سفید مورد شمارش افتراقی قرار گرفتند.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز طبق دستورالعمل کیت تجاری (RANSOD kit, Randox Com. UK)، اندازه‌گیری شد. در این روش از زانتین و زانتین اکسیداز (XOD) برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید، که با 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT)، برای تشکیل رنگ فورمازان قرمز واکنش می‌دهند، استفاده شد. فعالیت آنزیم به وسیله درجه مهار واکنش تعیین شد، به طوری که یک واحد SOD برابر است با ۵۰ درصد مهار احیا INT تحت شرایط آزمایش. فعالیت GPX به وسیله کیت تجاری (RANSEL kit, Randox Com. UK) بر پایه روش

جدول ۱- مقدار سموم آفت‌کش کشاورزی استفاده شده در مناطق مورد بررسی طی سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۲ طبق گزارش سازمان اصلاح نباتات استان فارس.

| نام منطقه | مقدار سموم دفع آفات کشاورزی استفاده شده |
|-----------------------|---|
| منطقه یک سپیدان | ۳۲ تن ارگانوفسفات، پائروتیروئید، کاربامات، ایمیدازول، فنوکسی پیرازول، نتونیکوتینوئید، سولفیت استرها، اسید تترونیک، بنزیلات، ایزوتیازولیدین |
| منطقه دو سعادت شهر | ۱۷ تن ارگانوفسفات، پائروتیروئید، ایمیدازول، کاربامات |
| منطقه سه کوه‌مرسرخ | ۳۶ تن ارگانوفسفات، پائروتیروئید، کاربامات |
| | ۲۱ تن تری‌آزول، ترکیبات مس، فنول، آسیل‌آلانین، بنزایمیدازول، دی‌کربوکسیمات، دی‌تیوکربامات، آریل‌کربوکسانالاید |
| | ۵۶ تن اسید فسفونیک (نمک ایزوپروپیل آمین)، بیپیریدیلیم، آریل‌اکسی‌فنوکسی، پروپیونات، سولفونیل‌اوره، پیرولازین |
| | ۱۰ تن تری‌آزول، بنزایمیدازول، دی‌کربوکسیمات، دی‌تیوکربوماتاز، آریل‌کربوکسانالاید، آسیل‌آلانین، ارگانوفسفات، ترکیبات مس |
| | ۱۴ تن کاربامات، دی‌آزول، آمیدها، فنوکسی استیک اسید، بنزوتیادیازیون، آریل‌اکسی‌فنوکسی، پروپیونات، سولفونیل‌اوره، ارگانوفسفات، پیرولازین |
| | ۲۴ تن تری‌آزول، بنزایمیدازول، دی‌تیوکربوماتاز، دی‌کربوکسیمید، آریل‌کربوکسانالاید |
| | ۶۴ تن آریل‌اکسی‌فنوکسی، پروپیونات، سولفونیل‌اوره، ارگانوفسفات، پیرولازین |

نتایج

آلانین آمینوترانسفراز (ALT): سطح این آنزیم در سعادت شهر (منطقه دو) ($45/5 \pm 5$ U/L)، که منبع تأمین آب از چاه بود، نسبت به سپیدان (منطقه یک) ($5/68 \pm 1/8$ U/L) و کوه مره سرخی (منطقه سه) ($3/9 \pm 0/59$ U/L)، که منابع تأمین آب شان به ترتیب از چشمه و رودخانه بود، بالاتر و دارای تفاوت معنی دار آماری بود ($p < 0/05$) (جدول ۲).

آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST): سطح این آنزیم در سه مزرعه پرورش ماهی متفاوت بود و تفاوت‌ها از نظر آماری معنی دار بودند ($p < 0/05$) (جدول ۲). در منطقه سه پایین‌ترین سطح ($231 \pm 19/8$ U/L) و در منطقه دو بالاترین سطح ($430 \pm 28/9$ U/L) مشاهده شد.

لاکتات دهیدروژناز (LDH): سطح این آنزیم در سه منطقه مورد بررسی دارای تفاوت معنی دار آماری بود ($p < 0/05$) (جدول ۲). فعالیت این آنزیم در منطقه یک (1433 ± 301 U/L) پایین‌تر از دو منطقه دیگر بود و اختلاف آن‌ها از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0/05$). اما در دو منطقه دیگر، تفاوت معنی داری دیده نشد (جدول ۲).

سوپراکسید دیسموتاز (SOD): فعالیت این آنزیم در منطقه یک ($332 \pm 1/9$ U/mL) تفاوت معنی دار با منطقه دو ($315 \pm 6/3$ U/mL) و منطقه سه ($316 \pm 5/04$) داشت ($p < 0/05$) (جدول ۲).

گلوکاتیون پراکسیداز (GPX): برای این آنزیم هیچ تفاوت معنی دار آماری در سه منطقه مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۲).

هموگلوبین و هماتوکریت (Hb, PCV): هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان پرورشی که منبع تأمین آبشان از آب چاه بود (منطقه دو) ($PCV = 37 \pm 1/1$ ؛ $Hb = 9 \pm 0/46$)، پایین‌تر از دو مزرعه دیگر بود که منابع تأمین آبشان از چشمه و رودخانه بود (جدول ۲).

شمارش افتراقی سلول‌های سفید خون (CBC (diff.))): تفاوت معنی دار بین تعداد هتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، بازوفیل‌ها و منوسیت‌ها در سه مزرعه پرورش ماهی مشاهده شد ($p < 0/05$) (جدول ۲). بنابراین تعداد هتروفیل‌ها در منطقه دو ($28 \pm 2/14$)، بالاتر از دو مزرعه دیگر بود و تفاوت معنی دار هم بین نتایج مشاهده شد ($p < 0/05$) (جدول ۲). تعداد لنفوسیتها در منطقه یک و سه مشابه یکدیگر بود ($82 \pm 0/6$ ؛ $80 \pm 0/61$) اما با منطقه دو تفاوت معنی دار داشت. در مورد منوسیتها و ائوزینوفیلها، وضعیت مشابه بود. هیچ تفاوت معنی داری در تعداد بازوفیلها در هر ناحیه مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین (Mean±SEM) فاکتورهای بیوشیمیایی، هماتولوژیک و آنتی‌اکسیدان در ماهیان سه مزرعه.

| نام منطقه | ALT U/L | AST U/L | LDH U/L | SOD U/ml | GPX U/L | Hb g/dl | HCT % | Hetero % | Lymp h % | Mono % | Eosin % | Baso % |
|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------|
| یک | $\pm 5/68$ | ± 313 | ± 1433 | ± 332 | ± 582 | $\pm 10/4$ | ± 39 | ± 16 | ± 80 | $\pm 2/3$ | $\pm 1/1$ | $\pm 0/4$ |
| (سپیدان) | ^a 1/8 | ^b 19 | ^a 301 | ^b 1/9 | ^a 216 | ^a 0/56 | ^a 0/86 | ^a 0/54 | ^b 0/16 | ^a 0/26 | ^a 0/1 | ^a 0/04 |
| دو (سعادت شهر) | $\pm 45/5$ | ± 430 | ± 2400 | ± 315 | ± 1011 | ± 9 | ± 37 | ± 28 | ± 64 | $\pm 5/2$ | $\pm 2/2$ | $\pm 0/9$ |
| سه | $\pm 3/9$ | ± 231 | ± 2044 | ± 316 | ± 627 | $\pm 12/4$ | ± 45 | ± 14 | ± 82 | $\pm 1/7$ | $\pm 0/8$ | ^a ± 0 |
| (کوهمره سرخی) | ^a 0/59 | ^a 20 | ^{bc} 235 | ^a 5/4 | ^a 375 | ^b 0/34 | ^b 0/9 | ^a 0/47 | ^b 0/6 | ^a 0/21 | ^a 0/14 | |

(a,b,c) حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی دار بین گروه‌ها در سطح ($p < 0/05$) هستند.

بحث

نتایج مطالعه حاضر با توجه به فاکتورهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی مشتق شده از سه استخر پرورش ماهی با منابع آبی متفاوت نشان داد که تغییرات معناداری در سطح فاکتورهای مورد بررسی وجود داشت که بازتابی از میزان سلامت ماهیان پرورشی در سه منطقه بود و مشخص شد که موقعیت احداث استخرهای پرورش ماهی و فاصله آن‌ها از زمین‌های کشاورزی و مراکز صنعتی و مسکونی می‌تواند روی سلامت آبزیان پرورشی تأثیر داشته باشد. تفسیر نتایج به‌دست آمده به‌صورت زیر است:

آلانین آمینوترانسفراز (ALT): ارزیابی این آنزیم از جمله شاخص‌های عملکرد کبدی است. سطح این آنزیم در ماهیان منطقه دو بالاتر از دو مزرعه دیگر بود، این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (جدول ۲). سطح این آنزیم در مناطق یک و سه به مقدار طبیعی گزارش شده در تحقیقات پیشین توسط اکرمی، خواجه و پیغان نزدیک بود (اکرمی و همکاران، ۲۰۱۵؛ خواجه و پیغان، ۲۰۰۷)، اما در منطقه دو سطح این آنزیم از حد طبیعی بالاتر بود. برطبق گزارش ارائه شده در استفاده از آفت‌کش‌های کشاورزی در سه مزرعه پرورش ماهی، انتظار می‌رفت که منطقه سه که میزان مصرف آفت‌کش‌ها در این منطقه ۱۲۴/۷۶ تن و بالاتر از دو مزرعه دیگر بود، بیشتر تحت تأثیر قرار بگیرد اما مزرعه پرورش ماهی مستقر در این ناحیه در بالادست زمین‌های کشاورزی بود و به دور از فعالیت‌های کشاورزی. چشمه تامین کننده آب استخر پرورش ماهی هم در دامنه کوه واقع بود بنابراین در معرض آفت‌کش‌های کشاورزی قرار نمی‌گرفت. از طرفی، استفاده از سموم آفت‌کش در منطقه یک بیش از منطقه دو بود (سپیدان: ۱۰۹/۶۶ تن؛ سعادت شهر: ۴۰ تن) اما مشاهده شد که موقعیت قرارگیری زمین منطقه یک طوری است که احتمال

کمتری داشت که تحت تأثیر آفت‌کش‌های کشاورزی قرار بگیرد.

آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST): این آنزیم، بجز کبد، از ارگان‌های دیگری مثل ماهیچه اسکلتی و قلبی، کلیه و پانکراس آزاد می‌شود (ایوانس، ۲۰۰۹). سطح این آنزیم در سه استخر پرورش ماهی، متفاوت بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (جدول ۲). پائین‌ترین سطحی که گزارش شد مربوط به منطقه سه بود اما سطح این آنزیم در گستره طبیعی قرار داشت و این نتایج با نتایج تحقیقات پیشین که توسط اکرمی، خواجه و پیغان انجام شده بود هم خوانی داشت (اکرمی و همکاران، ۲۰۱۵؛ خواجه و پیغان، ۲۰۰۷) بنابراین تغییرات این آنزیم از نظر پاتولوژیک چشمگیر نبود. نتایج مختلف به‌دست آمده از این سه منطقه می‌تواند مربوط به ارگان‌های مختلف آزادسازی AST باشد (هیث، ۱۹۹۵؛ فرگوسن، ۲۰۰۶). در ماهی‌ها، شبیه پستانداران، کبد نقش مهمی در متابولیسم دارد و به‌وسیله بیوترانسفروماسیون و کونژوگه کردن سبب پاکسازی پلازما از مواد مضر و ترشح آن‌ها به صفر می‌شود. آفت‌کش‌هایی مثل ارگانوفسفات‌ها، ارگانوکلوئیدها، تتراکلرید کربن، فلزات و ترکیبات روغنی و آروماتیک، کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهند و باعث واکنش شدن سیتوپلاسم، دفرمه شدن هسته سلول و سرانجام تخریب هپاتوسیت‌ها می‌شوند (هیث، ۱۹۹۵). چون کبد اصلی‌ترین مکان ذخیره ALT و AST است، تخریب هپاتوسیت‌ها، این آنزیم‌ها را افزایش می‌دهد. آنزیم AST علاوه‌بر کبد، در کلیه‌ها و سلول‌های قرمز خون، ذخیره می‌شود اما مقدار آن کمتر از کبد است. سموم دفع آفات هم کلیه‌ها و سلول‌های قرمز خون را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بنابراین، تاحدی باعث افزایش این آنزیم در پلازما می‌شوند (هیث، ۱۹۹۵؛ فرگوسن، ۲۰۰۶). مشخص شده است که کبد ماهی غنی از

دیگر می‌باشد. ترکیبات بدن ماهی در پاسخ به تغییرات فصلی، تولید مثلی و تغییرات شرایط محیطی، تغییر می‌کند (دی‌جرت، ۱۹۹۰). نوسانات دمایی چه از بالا به پائین باشد و چه از پائین به بالا باعث تغییر فعالیت آنزیم در ماهی می‌شود (پاولویک، ۲۰۰۴). افزایش دما باعث افزایش متابولیسم، مصرف اکسیژن، تشکیل ROS و استرس اکسیداتیو می‌شود. از سویی دیگر، کاهش دما باعث کاهش متابولیسم و کاهش فعالیت آنزیم می‌شود. در مطالعه‌ای مشخص شد که کاهش دما از ۲۸ درجه سانتی‌گراد به ۱۸ درجه سانتی‌گراد باعث استرس اکسیداتیو در ماهی گورخری می‌شود (ملک و همکاران، ۲۰۰۴). آب سرد، حلالیت اکسیژن را در آب بالا می‌برد. نسبت مستقیمی بین تولید ROS و فشارنسیبی و غلظت اکسیژن وجود دارد (آلتاس و هافور، ۲۰۱۰).

گلوکاتایون پراکسیداز (GPX): این آنزیم واکنش تبدیل هیدروژن پراکسید را به آب، کاتالیز می‌کند و گلوکاتایون اکسید شده ایجاد می‌کند که به وسیله گلوکاتایون ردکتاز، احیا می‌شود (لیوینگستون، ۲۰۰۳). نتیجه این مطالعه نشان داد که مقدار GPX در این سه منطقه از نظر آماری تفاوتی نداشتند ($p < 0.05$) (جدول ۲).

هماتوکریت هموگلوبین (PCV; Hb) و شمارش افتراقی سلول‌های سفید خون (CBC diff): هماتوکریت (PCV)، شاخص تعیین حجم سلول‌های قرمز است. هماتوکریت معمولترین روش سنجش توده اریتروسیتها در ماهی است. به‌طورکلی، درصد هماتوکریت در ماهی کمتر از پستانداران و پرندگان است. از طرف دیگر، درصد هماتوکریت در ماهی‌هایی که سریع‌تر شنا می‌کنند و حرکات سریعی دارند نسبت به ماهی‌های کند حرکت، بیشتر است (کمپبل، ۲۰۱۲). درصد هماتوکریت در ماهی‌های

آنزیم AST است؛ بنابراین، سطح پلاسمایی این آنزیم در مقایسه با پستانداران بسیار بالاتر است و نمی‌تواند دلیلی برای آسیب کبدی باشد (کمپبل، ۲۰۱۲). برای مثال افزایش سطح آمونیاک می‌تواند منجر به افزایش فعالیت ترانس آمیناز شود و فعالیت عضلانی ماهی در تقلاهی او در حین گرفتن آن باعث آسیب عضلانی و آزادسازی آنزیم می‌شود (کمپبل، ۲۰۱۲). بنابراین سطح آنزیم AST در ماهی، تحت تأثیر تغییرات آمونیاک پلاسمای، آسیب عضلانی، تقلاهی ماهی و آسیب‌های کبدی قرار می‌گیرد.

لاکتات دهیدروژناز (LDH): سطح خونی این آنزیم به مقدار غذای دریافتی و فعالیت بدنی بستگی دارد. وقتی فرد گرسنه تر می‌شود و فعالیت بدنیش کم می‌شود باعث کاهش سطح پلاسمایی این آنزیم می‌شود. سطح این آنزیم در سه منطقه مورد مطالعه دارای تفاوت‌های معنی‌دار آماری بود ($p < 0.05$) (جدول ۲). فعالیت این آنزیم در منطقه یک پائین‌تر از سایر مزارع بود (1433 ± 301 U/L) اما در دو مزرعه دیگر تفاوت چشمگیری مشاهده نشد ($p < 0.05$) (جدول ۲).

سوپراکسید دیسموتاز (SOD): این آنزیم، سلول‌های قرمز خون را از آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند. حاوی روی و مس است و سوپراکسید را به هیدروژن پراکسید و مولکول اکسیژن تبدیل می‌کند. از ارزیابی آنزیم‌های اکسیداتیو به‌عنوان شاخص خطر اولیه آلودگی دریاچه‌ها و استخرها استفاده شد (لین و همکاران، ۲۰۰۱). نتیجه مطالعه ما نشان داد که سطح آنزیم SOD در منطقه یک، به‌طور چشمگیری از دو منطقه دیگر متفاوت بود که از نظر آماری هم معنادار بود ($p < 0.05$) (جدول ۲). یک دلیل احتمالی برای این تفاوت می‌تواند مربوط به اقلیم باشد، منطقه سپیدان سرد و برفی است که متفاوت از دو اقلیم

- rats, *Rattus norvegicus*. Saudi Journal of Biological Sciences, 17(1): 65-71.
2. Akrami, R., Nouri Chenashk, F., Naseri, A.H., and Razeghi Mansour, M. 2015. The effect of dietary prebiotic mannan oligosaccharide and beta 1,3 glucan on hematological and biochemical parameters of juvenile rainbow trout (*onchorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Animal Science Research, 7(3): 373-380.
 3. Banaee, M. 2006. Sub-lethal toxicity effects of diazinon on hematology and biochemical parameters and histology of kidney and spleen in common carp (*Cyprinus carpio*). M.Sc. Thesis, Tehran University, Natural Resource Faculty, Fishery and Environmental Department. Tehran, Iran.
 4. Campbell, T. 2012. Clinical chemistry of fish and amphibians. In Thrall, M.A., Weiser, G., Allison, R., and Campbell, T. Veterinary hematology and clinical chemistry, 2nd ed. Wiley- Blackwell, New York, USA. Pp: 605-616.
 5. Chen, C.Y., Wooster, G.A., and Bowser, P.R. 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin, or copper sulfate. Aquaculture, 239: 421-443.
 6. Dhasarathan, P., Palaniappan, R., and Ranjit Singh, A.J. 2000. Effect of endosulfan and butachlor on the digestive enzyme and proximate composition of the fish, *cyprinus carpio*. Indian Journal of Environment and Ecoplanning, 3(3): 611-614.
 7. Dygert, P.H. 1990. Seasonal change in energy content and proximate composition associated with somatic growth and reproduction in a representative age-class of female english sole. Transactions of the American Fisheries Society Journal, 119: 791-801.
 8. Evans, G.O. 2009. Animal clinical chemistry: A Practical Handbook for Toxicologists and Biomedical Researchers, Second Edition. CRC

منطقه سه بالاتر از دو منطقه دیگر بود که این تفاوت از نظر آماری معنادار بود ($p < 0/05$) (جدول ۲).

نتایجی که از این تحقیق در ارتباط با اثر سموم آفت‌کش روی پارامترهای هماتولوژیک به دست آمد، نشان داد که افزایش غلظت آفت‌کش‌ها باعث افزایش تعداد سلول‌های سفید خون از نوع هتروفیل، بازوفیل و منوسیت و کاهش لنفوسیتها، هموگلوبین و هماتوکریت می‌شود (محمدنژاد شמושکی و همکاران، ۲۰۱۲؛ پورغلام و همکاران، ۲۰۰۱؛ ون‌کونگ و همکاران، ۲۰۰۸). باتوجه به موارد گفته شده و نتایج به دست آمده از این مطالعه، تفاوت معنادار بین نتایج شمارش افتراقی گسترش خون محیطی در این سه مزرعه وجود داشت ($p < 0/05$) (جدول ۲). مشاهده شد که درصد هتروفیل‌ها در منطقه دو بالاتر از سایر مزارع بود که تاحدی به خاطر غلظت نسبتا بالای آفت‌کش‌ها در منبع آب بود.

نتیجه‌گیری

محل قرارگیری استخر از نظر دوری و نزدیکی به زمین‌های کشاورزی و خطر قرارگیری در معرض آفت‌کش‌های مورد استفاده در مزارع کشاورزی، مثل افزایش سطح آنزیم‌های کبدی، کم خونی، افزایش سلول‌های سفید خون از نوع هتروفیل، که در سعادت شهر بالاتر بود و در کوه‌مره‌سرخ، پائین‌تر بود، نقش مهمی در سلامت ماهیان دارد. با راهکار صحیح می‌توان خطر در معرض قرارگیری آفت‌کش‌های خطرناک کشاورزی را تا پائین‌ترین سطح کاهش داد.

منابع

1. Alttas, O., and Haffor, A. 2010. Effects of hyperoxia periodic training on free radicals production, biological antioxidants potential and lactate dehydrogenase activity in the lungs of

19. Moses, M. 1993. Farmworkers and Pesticides. In Robert D. Bullard (Ed). *Confronting Environmental Racism: Voices from the Grassroots*. Boston, MA: South End Press. Pp: 161-178.
20. Nespolo, R.F., and Rosenmann, M. 2002. Intraspecific allometry of haematological parameters in *Basilichthys australis*. *Journal of fish Biology*, 60: 1358-1362.
21. Paglia, D.E., and Valentine, W.N. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70: 158-169.
22. Pavlović, S.Z., Belić, D., Blagojević, D.P., Radojičić, R.M., Žikić, R.V., Saičić, Z.S., Lajšić, G.G., and Spasić, M.B. 2004. Seasonal variations of cytosolic antioxidant enzyme activities in liver and white muscle of thinlip gray mullet (*Liza ramada*) from the Adriatic Sea. *Cryoletters*, 25: 273-285.
23. Pazhanisamy, K., and Indra, N. 2007. Toxic effects of arsenic on protein content in the fish, *Labeo rohita* (Hamilton). *Nature Environment and pollution Technology*, 6(1): 113-116.
24. Pourgholam, R., Soltani, M., Hassan, D.M., Esmaeili, F., Farhoumand, H., and Yousefi, P. 2001. Evaluation of blood characteristics of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after exposure to organophosphate, diazinon. *Iranian Journal of fisheries Sciences*, 3(2): 1-18.
25. Rios, F.S., Kalinin, A.L., and Rantin, F.T. 2002. The effects of long term food deprivation on respiration and haematology of the neotropical fish *Hoplias Malabaricus*. *Journal of Fish Biology*, 61: 85-95.
26. Sahu, S., Kumar Das, B., Pradhan, J., Mohapatra, B.C., Mishra, B.K., and Sarangi, N. 2007. Effect of *Magnifera indic* a kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. *Fish and Shellfish Immunology*, 23: 109-118.
9. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., and Jain, N.C. 2000. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5th Edition, Lippincott Williams and Wilkins. 1120-1124p.
10. Ferguson, H., Bjerkas, E., and Evensen, O. 2006. *Systematic pathology of fish*, 2nd ed. Scotian press, London, England. 368p.
11. Gonzalez, S.F., Buchmann, K., and Nielsen, M.E. 2007. Complement expression in common carp (*Cyprinus carpio*) during infection with *Ichthyophthirius multifiliis*. *Development and Comparative Immunology*, 31: 576-586.
12. Heath, A.G. 1995. *Water pollution and fish physiology*. CRC press: Taylor and francis, New york, USA. 384p.
13. Khajeh, G., and Peyghan, R. 2007. Evaluation of some blood serum biochemical parameters of rainbow trout cultured in earthen ponds. *Journal of veterinary research*, 62(3): 197-203.
14. Lin, C., Lee, T.L., Duan, K.J., and Su, J.C. 2001. Purification and characterization of black porgy muscle Cu/Zn, Superoxide dismutase. *Zoological Studies*, 40(2): 84-90.
15. Livingstone, D.R. 2003. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de médecine vétérinaire*, 154(6): 427-430.
16. Malek, R.L., Sajadi, H., Abraham, J., Grundy, M.A., and Gerhard, G.S. 2004. The effect of temprature reduction on gene expression and oxidative stress in skeletal muscle from adult zebra fish. *Comparative Biochemistry and physiology*, 138: 363-373.
17. Luskova, V. 1995. Determination of normal values in fish. *Acta University Carolinae Biologica*, 39: 191- 200.
18. Mohammad Nejad Shamoushaki, M., Jahanshahi, R., Rahmati, M., and Shajiee, H. 2012. Study effects of ethylendiamine tetraacetic acid (EDTA) on hematological parameters in *Onchorhynchus mykiss* Juvenile. *Scientific Journal of Exprimental Animal Biology*, 3: 7-17.

- Agriculture and Natural Resources, 5(1), Esfahan Univeresity of Technology, Esfahan, Iran.
29. Van Cong, N., Phuong, N.T., and Bayley, M. 2008. Brain cholinesterase response in the snakehead fish (*Channa striata*) after field exposure to diazinon. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 314- 318.
27. Shariffi, M., Jayawardena, P.A.H.L., Yusoff, F.M., and Subasinghe, R. 2001. Immunological parameters of Javanese carp *Puntiusgonionotus* (Bleeker) exposed to copper and challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 11: 281-291.
28. Sohrabi, T., Hosseini, A., Talebi, Kh. 2001. Tailwater Quality Changes in the Rice-Paddies of Guilan and Foumanat. L. *Science and Technology of*