بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد هفتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۷
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2018.4267.1403

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 رجبی اصلانی[۵]**

[۱]دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شیراز، [۲]دانشجوی دکتری فارماکولوژی، گروه علوم پایه، دانشگاه شیراز، [۳]دانش آموخته دکتری بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شیراز، [۴]استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه شیراز، [۵]دانش‌آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/٤؛ 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 جمعا ٦٦ نمونه ماهی جداسازی شد، از آن‌ها خونگیری شد و مورد بررسی بیوشیمیایی، هماتولوژیکی و اکسیداتیو قرار گرفتند. سطح آنزیم‌های کبدی (آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST) در منطقه دو از همه بیشتر بود و تفاوت معنادار با دو منطقه دیگر داشت ($p<۰/۰۵$). 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 ($p<۰/۰۵$). سطح آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در منطقه یک از همه بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). در منطقه دو، علی‌رغم مصرف کمتر سموم دفع آفات کشاورزی، به‌دلیل 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 آنتی اکسیداتیو 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 ارگانیسم‌های آبزی در آن زیست می‌کنند تغییر دهند (پاژانیسامی، 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 آبشویی 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، قنوات 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 به‌وسیله آلوده‌کننده‌ها ایجاد شده است، فرایند متابولیسم و تغییرات بیوشیمیایی را، در ماهی منعکس می‌کند. آفت‌کش‌های کشاورزی غالبا 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 ارگانیسم‌های بیمار و ناسالم شوند و سرانجام نسل ارگانیسم 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

طبیعی یا فیزیولوژیک در دسترس با شد بررسی فاکتورهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون می‌تواند نقش مهمی در تشخیص بیماری‌های عفونی، خونی و مسمومیت‌های آبزیان ایفا کند.

دوری و نزدیکی اکوسیستم‌های آبی به مزارع کشاورزی که از سموم دفع آفات استفاده می‌کنند می‌تواند 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 می‌شود در سه ناحیه با منابع متفاوت تأمین آب پرداختیم.

مواد و روش کار

این مطالعه در استان فارس، جنوب ایران، انجام شد. نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، از سه مزرعه پرورش ماهی در موقعیت‌های جغرافیایی مختلف، به‌طور تصادفی انتخاب شدند. اولین محل نمونه‌گیری، مزرعه پرورش ماهی شهر سپیدان (شمال غرب شیراز) بود که در ناحیه سرد کوهستانی واقع شده بود و بالادست و دور از زمین‌های کشاورزی بود. منبع آب این مزرعه از رودخانه جاری در مزارع و باغات میوه بود. دومین محل نمونه‌گیری، مزرعه پرورش ماهی شهر سعادت شهر (شمال شرق شیراز) بود که منبع تامین آب آن‌ها از چاه بود. این استخر پرورش ماهی در وسط زمین‌های کشاورزی قرار داشت و چاه در بالای مزرعه واقع بود و فاصله آن از زمین‌های کشاورزی کمتر از سایر محل‌های نمونه‌گیری بود. سومین محل نمونه‌گیری، مزرعه پرورش ماهی شهر کوه‌مره‌سرخی (جنوب استان فارس) بود که در پشت کوه قرار داشت و در بالادست آن هیچ زمین کشاورزی نبود و زمین‌های کشاورزی در سمت دیگر کوه قرار داشتند. منبع تأمین آب برای این مزرعه، از چشمه پایین کوه بود.

برطبق اطلاعات به‌دست آمده از سازمان مدیریت اصلاح نباتات استان فارس، کل سموم آفت‌کش کشاورزی استفاده شده در نواحی مورد مطالعه ما طی سال‌های ۱۳۸۸ الی ۱۳۹۲ (۲۰۰۹ تا ۲۰۱۳)، مطابق زیر بود: کوه مره سرخی: ۱۲٤/۷٦، سعادت شهر: ٤۱ تن، سپیدان: ۱۰۹/٦٦ تن (جدول-۱). همان‌گونه که از این اطلاعات بر می آید میزان مصرف سموم آفت‌کش در سپیدان بیشترین و در سعادت شهر کمترین بود.

نمونه‌گیری در فواصل پائیز و زمستان سال ۱۳۹۲ به‌صورت 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 میلی‌لیتر از نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ۵۰ میکرولیتر ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد و برای بررسی پارامترهای هماتولوژیک (Hb, PCV, CBC diff.) و اکسیداتیو (GPX, SOD) مورد استفاده قرار گرفت. مابقی نمونه خون گرفته شده در لوله‌های دیگری بدون ماده ضدانعقاد جمع‌آوری 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 ۱۲۰۰۰×g به‌مدت ده دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند. سرم‌ها تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. هموگلوبین با استفاده از روش سیانومت‌هموگلوبین اندازه‌گیری شد، که ۲۰۰ میکرولیتر خون را با ۵ سی‌سی محلول تجاری درابکین مخلوط کرده و بعد از ۱۰ دقیقه به‌منظور رسوب ذرات هسته با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده، جذب نوری محلول فوقانی در طول

موج ٥٤٠ نانومتر به‌وسیله 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 به‌وسیله درجه مهار واکنش تعیین شد، به‌طوری‌که یک واحد SOD برابر است با ۵۰ درصد مهار احیا INT تحت شرایط آزمایش. فعالیت GPX به‌وسیله کیت تجاری (RANSEL kit, Randox Com. UK) بر پایه روش پاگلیا و والنتین (پاگلیا و والنتین، ١٩٦٧) شد. گلوتاتیون پراکسیداز، اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) را به‌وسیله کیومن هیدروپراکسید، کاتالیز می‌کند. در حضور گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH، گلوتاتیون اکسید شده، به‌همراه تبدیل NADPH به +NADP، به سرعت به شکل احیا آن تبدیل می‌شود. کاهش جذب در طول موج ٣٤٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار این آنزیم‌ها به‌ترتیب به‌صورت 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 به‌صورت Mean±SEM بیان شدند و به‌وسیله 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<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

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، پایروتیروئید، کاربامات، ایمیدازول، فنوکسی‌پیرازول، نئونیکوتینوئید، سولفیت استرها، اسید تترونیک، بنزیلات، ایزوتیازولیدین	۲۱ تن تری‌آزول، ترکیبات مس، فنول، آسیل‌آلانین، بنزایمیدازول، دی‌کربوکسیمات، دی‌تیوکرباamات، آریل‌کربوکسانالاید	٥٦ تن اسید فسفونیک (نمک ایزوپروپیل آمین)، بیپیریدیلیوم، آریل‌اکسی‌فنوکسی، پروپیونات، سولفونیل اوره، پیرولازین
منطقه دو سعادت شهر	۱۷ تن ارگانوفسفات، پایروتیروئید، ایمیدازول، کاربامات	۱۰ تن تری‌آزول، بنزایمیدازول، دی‌کربوکسیمات، دی‌تیوکرباماتاز، آریل‌کربوکسانالید، آسیل‌آلانین، ارگانوفسفات، ترکیبات مس	١٤ تن کاربامات، دی آزول، آمیدها، فنوکسی استیک اسید، بنزوتیادیازیون، آریل‌اکسی‌فنوکسی، پروپیونات، سولفونیل اوره، ارگانوفسفات، پیرولازین
منطقه سه کوه‌مره‌سرخی	٣٦ تن ارگانوفسفات، پایروتیروئید، کاربامات	٢٤ تن تری‌آزول، بنزایمیدازول، دی‌تیوکاربوماتاز، دی‌کاربوکسیمید، آریل‌کربوکسانالید	٦٤ تن آریل‌اکسی‌فنوکسی، پروپیونات، سولفونیل‌اوره، ارگانوفسفات، پیرولازین

نتایج

آلانین آمینوترانسفراز (ALT): سطح این آنزیم در سعادت شهر (منطقه دو) (٤٥/٥±٥ U/L)،که منبع تأمین آب از چاه بود، نسبت به سپیدان (منطقه یک) (٥/٦٨±١/٨ U/L) و کوه مره سرخی (منطقه سه) (٣/٩±٠/٥٩ U/L)، که منابع تامین آب شان به‌ترتیب از چشمه و رودخانه بود، بالاتر و دارای تفاوت معنی‌دار آماری بود (p<٠/٠٥) (جدول ٢).

آسپارتات آمینوترانسفراز (AST): سطح این آنزیم در سه مزرعه پرورش ماهی متفاوت بود و تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار بودند (p<٠/٠٥) (جدول ٢). در منطقه سه پایین‌ترین سطح (١٩/٨±٢٣١ U/L) و در منطقه دو بالاترین سطح (٢٨/٩±٤٣٠ U/L) مشاهده شد.

لاکتات دهیدروژناز (LDH): سطح این آنزیم در سه منطقه مورد بررسی دارای تفاوت معنی‌دار آماری بود (p<٠/٠٥) (جدول ٢). فعالیت این آنزیم در منطقه یک (٣٠١±١٤٣٣ U/L) پائین‌تر از دو منطقه دیگر بود و اختلاف آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود (p<٠/٠٥). اما در دو منطقه دیگر، تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ٢).

سوپراکسید دیسموتاز (SOD): فعالیت این آنزیم در منطقه یک (١/٩±٣٣٢ U/mL) تفاوت معنی‌دار با منطقه دو (٦/٣±٣١٥ U/mL) و منطقه سه (٥/٠٤±٣١٦ U/mL) داشت (p<٠/٠٥) (جدول ٢).

گلوتاتیون پراکسیداز (GPX): برای این آنزیم هیچ تفاوت معنی‌دار آماری در سه منطقه مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ٢).

هموگلوبین و هماتوکریت (Hb, PCV): هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان پرورشی که منبع تأمین آبشان از آب چاه بود (منطقه دو) (PCV= ٣٧±١/١؛ Hb= ٩±٠/٤٦)، پائین‌تر از دو مزرعه دیگر بود که منابع تأمین آبشان از چشمه و رودخانه بود (جدول ٢).

شمارش افتراقی سلول‌های سفید خون (CBC .diff): تفاوت معنی‌دار بین تعداد هتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، بازوفیل‌ها و منوسیت‌ها در سه مزرعه پرورش ماهی مشاهد شد (p<٠/٠٥) (جدول ٢). بنابراین تعداد هتروفیل ها در منطقه دو (٢/١٤±٢٨)، بالاتر از دو مزرعه دیگر بود و تفاوت معنی‌دار هم بین نتایج مشاهده شد (p<٠/٠٥) (جدول ٢). تعداد لنفوسیتها در منطقه یک و سه مشابه یکدیگر بود (٠/٦١ ٨٠±٠/٦; ٨٢±) اما با منطقه دو تفاوت معنی دار داشت. در مورد منوسیتها و ائوزینوفیلها، وضعیت مشابه بود. هیچ تفاوت معنی‌داری در تعداد بازوفیلها در هر ناحیه مشاهده نشد (جدول ٢).

جدول ٢- 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 %	Lymph %	Mono %	Eosin %	Baso %
یک (سپیدان)	± ٥/٦٨ ^{a}١/٨	± ٣١٣ ^{b}١٩	± ١٤٣٣ ^{a}٣٠١	±٣٣٢ ^{b}١/٩	± ٥٨٢ ^{a}٢١٦	± ١٠/٤ ^{a}٠/٥٦	± ٣٩ ^{a}٠/٨٦	± ١٦ ^{a}٠/٥٤	± ٨٠ ^{b}٠/١٦	± ٢/٣ ^{a}٠/٢٦	± ١/١ ^{a}٠/١	± ٠/٤ ^{a}٠/٠٤
دو (سعادت شهر)	± ٤٥/٥ ^{b}٥	± ٤٣٠ ^{c}٢٩	± ٢٤٠٠ ^{c}٤٠٩	± ٣١٥ ^{a}٦/٣	± ١٠١١ ^{a}١٣٢	± ٩ ^{a}٠/٤٦	± ٣٧ ^{a}١/١	± ٢٨ ^{b}٢/١٤	± ٦٤ ^{a}٢/٢٢	± ٥/٢ ^{b}٠/٦٣	± ٢/٢ ^{b}٠/٣	± ٠/٩ ^{a}٠/٠٦
سه (کوهمره‌سرخی)	± ٣/٩ ^{a}٠/٥٩	± ٢٣١ ^{a}٢٠	± ٢٠٤٤ ^{bc}٢٣٥	± ٣١٦ ^{a}٥/٤	± ٦٢٧ ^{a}٣٧٥	± ١٢/٤ ^{b}٠/٣٤	± ٤٥ ^{b}٠/٩	± ١٤ ^{a}٠/٤٧	± ٨٢ ^{b}٠/٦	± ١/٧ ^{a}٠/٢١	± ٠/٨ ^{a}٠/١٤	^{a}٠± ٠

(a,b,c) حروف نامتشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح (p<٠/٠٥) 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 ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲). سطح این آنزیم در مناطق یک وسه 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 ۱۲٤/۷٦ 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: ۱۰۹/٦٦ تن؛ سعادت شهر: ٤۰ تن) اما مشاهده شد که موقعیت قرارگیری زمین منطقه یک طوری است که احتمال کمتری داشت که تحت تأثیر آفت‌کش‌های کشاورزی قرار بگیرد.

آسپارتات 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 ($p<۰/۰۵$) (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، ۲۰۰٦). در ماهی‌ها، شبیه پستانداران، کبد نقش مهمی در متابولیسم دارد و به‌وسیله بیوترانسفرماسیون و کونژوگه کردن سبب پاکسازی پلاسما از مواد مضر و ترشح آن‌ها به صفرا می‌شود. آفت‌کش‌هایی مثل ارگانوفسفات‌ها، ارگانوکلریدها، تتراکلرید کربن، فلزات و ترکیبات روغنی و آروماتیک، کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهند و باعث واکوئله 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 پلاسما می‌شوند (هیث، ۱۹۹۵؛ فرگوسن، ۲۰۰٦). مشخص شده است که کبد ماهی غنی از

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 تقلای او در حین گرفتن آن باعث آسیب عضلانی و آزادسازی آنزیم می‌شود (کمپبل، ۲۰۱۲) بنابراین سطح آنزیم AST در ماهی، تحت تأثیر تغییرات آمونیاک پلاسما، آسیب عضلانی، تقلای 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 ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲). فعالیت این آنزیم در منطقه یک پائین‌تر از سایر مزارع بود (۱٤۳۳±۳۰۱ U/L) اما در دو مزرعه دیگر تفاوت چشمگیری مشاهده نشد ($p<۰/۰۵$) (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 ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲). یک دلیل احتمالی برای این تفاوت می‌تواند مربوط به اقلیم باشد، منطقه سپیدان سرد و برفی است که متفاوت از دو اقلیم 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 باشد باعث تغییر فعالیت آنزیم در ماهی می‌شود (پاولوویک، ۲۰۰٤). 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، ۲۰۰٤). آب سرد، حلالیت اکسیژن را در آب بالا می‌برد. نسبت مستقیمی بین تولید ROS و فشارنسبی و غلظت اکسیژن وجود دارد (آلتاس و هافور، ۲۰۱۰).

گلوتاتیون پراکسیداز (GPX): این آنزیم واکنش تبدیل هیدروژن پراکسید را به آب، کاتالیز می‌کند و گلوتاتیون اکسید شده ایجاد می‌کند که به‌وسیله گلوتاتیون ردکتاز، احیا می‌شود (لیوینگستون، ۲۰۰۳). نتیجه این مطالعه نشان داد که مقدار GPX در این سه منطقه از نظر آماری تفاوتی نداشتند ($p<۰/۰۵$) (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 ماهی های کند حرکت، بیشتر است (کمپبل، ۲۰۱۲). درصد هماتوکریت در ماهی‌های

منطقه سه بالاتر از دو منطقه دیگر بود که این تفاوت از نظر آماری معنادار بود ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲).

نتایجی که از این تحقیق در ارتباط با اثر سموم آفت‌کش روی پارامترهای هماتولوژیک به‌دست 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 شموشکی و همکاران، ۲۰۱۲؛ پورغلام و همکاران، ۲۰۰۱؛ ون‌کونگ و همکاران، ۲۰۰۸). باتوجه به موارد گفته شده و نتایج به‌دست آمده از این مطالعه، تفاوت معنادار بین نتایج شمارش افتراقی گسترش خون محیطی در این سه مزرعه وجود داشت ($p<۰/۰۵$) (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 کوه‌مره‌سرخی، 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 rats, Rattus norvigicus. 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 dietry 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

press: Taylor and francis, New york, USA. 368p.
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. Systemathic 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 effcts of ethylendiamine tetraacetic acid (EDTA) on hematological parameters in Onchorhynchus mykiss Juvenile. Scientific Journal of Exprimental Animal Biology, 3: 7-17.
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.

27. Shariffi, M., Jayawardena, P.A.H.L., Yus0ff, 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 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.