التأثيرات تحت القاتلة لعنصر الزنك على بعض القياسات الدموية في أسماك الكارب العادي *Cyprinus carpio*

مصطفى أحمد المختار * عامر عبدالله جابر مجدي فيصل مجيد العلي

فرع الأنسجة والتشريح – كلية الطب البيطري – جامعة البصرة*

قسم الفقريات البحرية – مركز علوم البحار – جامعة البصرة

الخلاصة

عرضت أسماك الكارب العادي *C. carpio* إلى تراكيز تحت قاتلة Sublethal من عنصر الزنك (٠.٠٢٨، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم / لتر ولمدة ٣٠ يوم ، اختبرت خلالها التغيرات المتوقعة في بعض القياسات الدموية المدروسة . لوحظ خلال الدراسة انخفاض عدد خلايا الدم الحمر والبيض وحجم الدم المضغوط ومستوى تركيز الهيموكلوبين في الأسماك المعاملة بالتراكيز المختلفة من العنصر مقارنة مع العينة الضابطة ، كذلك لوحظ انخفاض متذبذب في مستوى تركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم في مصل دم مجموعات الأسماك المعاملة مقارنة مع اسماك السيطرة

المقدمة

يدخل الزنك في العديد من الصناعات الكيماوية والبلاستيكية والتي تطرح فضلات نواتجها الصناعية إلى البيئة المائية مما سبب العديد من الأضرار الحياتية على نمو وتطور وتكاثر الأحياء المائية (Olsson *et. al.*, 1995) . يبدو أن هذه النواتج هي السبب الرئيسي في زيادة تركيز هذا العنصر في مياه الأنهار والمحيطات (السعدي وجماعته ، 1986) . تمتاز معظم المعادن الثقيلة سهولة امتصاصها وتراكمها داخل أنسجة الكائنات الحية لتراكيز قد تصل إلى مستويات أعلى بكثير من المدى الطبيعي لها محدثة بذلك العديد من التأثيرات السلبية الفسلجية والأيضية كالتأثير في التوازن الأيوني والمائي والثبات الفسلجي فضلا عن التلف الحاصل للعديد من الأنسجة في جسم الكائنات الحية مؤثرا بذلك في تخليق وإدامة عمل العديد من الأنزيمات والهرمونات المهمة في النشاط الحياتي لهذه الأحياء (A.P.I. 1985) . مما يجعل هذه الأحياء أكثر حساسية للإصابة بالأمراض مسببا انخفاضا حادا في خزين الطاقة كنتيجة للإجهاد الكبير وانتهاءها بهلاك الكائن الحي (Beckman &

) . لذلك فقد اتجهت هذه الكائنات في استخدام طرق مختلفة كالامتصاص Zaugy 1988 والنقل والخزن وإعادة دورتها داخل الخلية وذلك للمحافظة على تراكيزها داخل أجسامها بمستوياتها الطبيعية Lewis 1978) .

اتجهت الدراسة الحالية لتحديد مستوى التأثير السمي الطويل الأمد لعنصر الزنك على أسماك الكارب العادي *C. carpio* نظرا لما تشكله تلك التأثيرات المزمنة من خطر كبير على الأحياء المائية ومن ثم ومن خلال السلسلة الغذائية على الكائنات الحية الأخرى كالإنسان من خلال ملاحظة حالات التسمم بعد مرور فترات زمنية طويلة الأمد (Lewis , 1978) . حددت خلال الدراسة التغيرات المتوقعة في عدد كريات الدم الحمر والبيض ومستوى الهيموكلوبين وحجم الدم الضغوط فضلا عن مستوى تركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم في مصل الدم المعزول من حيوانات التجربة .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات والأقلمة :-

استخدمت اسماك الكارب العادي *C. carpio* الخالية من الإصابات الطفيلية الخارجية والتي تراوحت أوزانها بين (30.2 ± 2.5) غم ، جمعت الأسماك من مياه نهر شط العرب – منطقة كرمة علي باستخدام شبكة السلية ، نقلت إلى المختبر لغرض أقلمتها ولمدة أسبوعين (40) لتر على الظروف المختبرية من درجة حرارة وإضاءة في أحواض بلاستيكية سعة (20) % بروتين ، جهزت الأسماك بالأوكسجين خلال مدة الأقلمة على عليقة تجارية تحوي تحوي ماء حنفية مخزن مسبقا وخالي من الكلور وبواقع خمسة عشر سمكة لكل حوض غذيت بواسطة استخدام مضخة هواء كهربائية .

قسمت الأسماك إلى أربعة مجموعات كل مجموعة تتضمن ثلاث مكررات يحوي كل مكرر على ست أسماك ، عرضت أسماك المجموعة الأولى والثانية والثالثة إلى تراكيز تحت زنك باستخدام مادة كبريتات الزنك أللامائية قاتلة (٠.٠٢٨ ، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم / لتر ولمدة (٣٠) يوما ، وقد مثلت التراكيز التجربة (١/١٠٠) ، (١/٥٠) ، (١/١٠) من قيمة Lc50( ) المسجلة خلال (٩٦) ساعة والبالغة (٢.٨) ملغم/لتر ، فيما استخدمت المجموعة الرابعة كعينة ضابطة (قياسية) ، قطعت التغذية خلال فترة التجربة .

الاختبـــارات الدمويـــة :-

) يوم خلال السحب ٣٠ , 15 , عزل نسيج الدم من اسماك تجربة خلال الأوقات (١ المباشر بواسطة أنابيب زجاجية دقيقة معاملة بمادة الهيبارين من الوريد أو الشريان

بعد قتلها مباشرتا من خلال ضربها على الرأس وقطع منطقة Caudal vein Or artery الذنبية بواسطة مشرط حاد ، أجريت الاختبارات الدموية المختلفة مباشرتا بعد عملية السويقة السحب وكالاتي :

١ – حساب عدد كريات الدم الحمر :-

في تقدير عدد Dacie & Lewis, (1984)استخدمت الطريقة الموضحة من قبل ( ) Hemocytometerكريات الدم الحمر والبيض من خلال استخدام معداد الدم (

٢ – حساب مستوى تركيز الهيموكلوبين :-

Drabki solutionأتبعت طريقة السيانوميثاكلوبين من خلال استعمال كاشف درابكن . 1965), Oslerوكما موضح في (

) :- ٣PCV – تقدير النسبة المئوية لحجم الدم المضغوط (%

وذلك باستخدام أنابيب المكداس (1973) Blaxhall & Daislyاستخدمت طريقة . Microhematocriteالدموي الدقيق

٤ – تقدير تركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم

بعد إجراء عملية الطرد المركزي لجزء من الدم المسحوب لغرض الحصول على المصل والذي حدد فيه تركيز الأيونات المذكورة أعلاه وحسب الطريقة الموضحة من قبل في تقدير تركيز الأيونات . Phlamphotometre) ، وقد استخدم جهاز 1999السوداني (

النتائج

أظهرت نتائج اختبارات القياسات الدموية المدروسة تباين واضح في معدلات قيمها المسجلة للأسماك المعرضة لتراكيز مختلفة من عنصر الزنك (٠.٠٢٨ ، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم / لتر مقارنة مع أسماك معاملة السيطرة .

الشكل (١) أظهر تحليل التباين لمتوسطات قيم عدد خلايا الدم الحمر في الأسماك) بين مجموعات $P< 0.05$المعرضة لتراكيز متباينة من عنصر الزنك وجود فروقات معنوية (الأسماك المعاملة ومجموعة السيطرة خلال (٣٠) يوم من زمن التجربة ، فقد سجلت أدنى مقارنة ^{3} خلية / ملم10^{6} ×) 0.91معدلات هذه القيم لمعاملة التركيز الأعلى والتي بلغت ($P<$مع باقي المجموعات ، بينما لم يظهر اليوم (١) من زمن التعرض فروقات معنوية ( ) بين المعاملات ، **الشكل** (١) . 0.05

سجل مستوى حجم الدم المضغوط في مجموعات الأسماك المعاملة انخفاضا تدريجيا في معدلات قيمها الملاحظة مقارنة مع السيطرة ، والتي أظهرت خلالها مجموعة ألأسماك

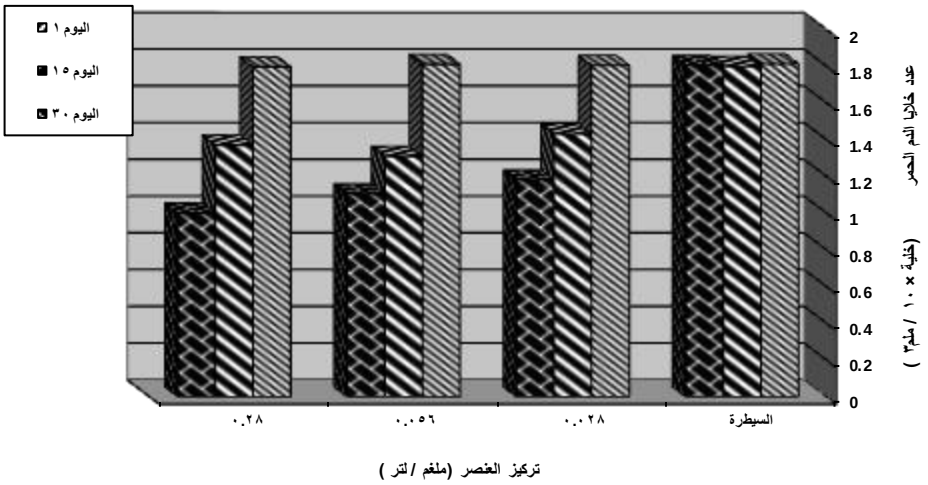
المعاملة بأعلى تركيز أدنى معدلات هذه القيم بعد مرور (٣٠) يوم من زمن التجربة اذ بلغ (18) مقارنة مع مجموعة معاملة السيطرة ، إحصائيا لوحظت فروقات معنوية (P<0.05) بين معاملة السيطرة وكل من التركيزين الأوسط والأعلى خلال (١٥ و ٣٠) يوم من زمن التجربة ، **الشكل** (٢) .

أظهرت قيم متوسط تركيز الهيموكلوبين في مجموعات الأسماك المعاملة انخفاضا واضحا في معدلات هذه القيم والذي تناسب طرديا مع زيادة تركيز العنصر المستخدم وزمن التجربة ، فقد لوحظت أدنى معدلات القيم المحسوبة بعد مرور (٣٠) يوم من زمن التجربة مل مقارنة مع باقي المجموعات ، دلت نتائج تحليل التباين وجود فروقات معنوية (P< 0.05) بين مجموعة أسماك التركيز الأوسط 100) غم / 4.8 وللأعلى تركيز اذ سجل (والأعلى ومجموعة اسماك السيطرة خلال (١٥ ، ٣٠) يوم من زمن التجربة ، **الشكل** (٣) .

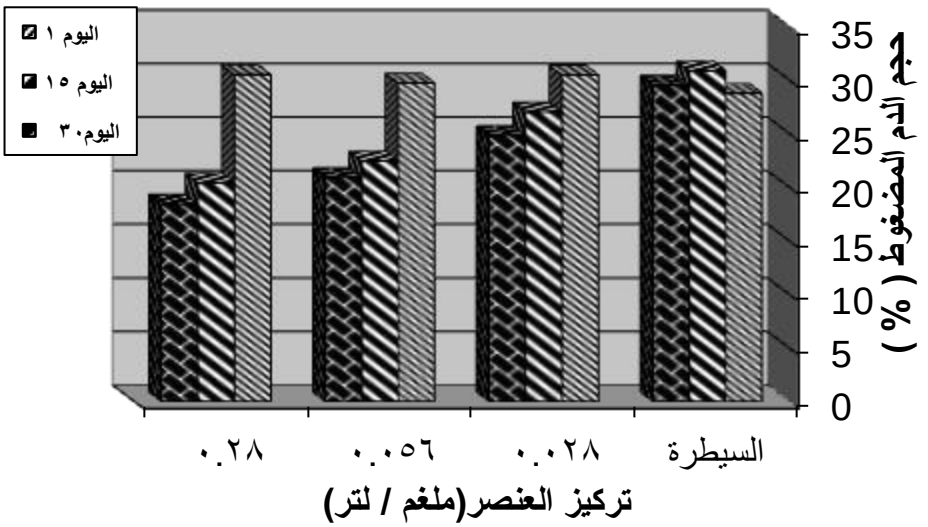
أظهرت نتائج كريات الدم البيض انخفاضا في معدلات قيمها لمعاملات التجربة يوم من زمن 30 مقارنو مع السيطرة ، أدنى قيمة كانت قد سجلت لتركيز الأعلى بعد مرور 4 مقارنة مع باقي المعاملات ، الشكل (10^3 خلية / ملم^3) × 10 التجربة اذ بلغت( ) .

بينت نتائج متوسطات قيم ايونات الصوديوم والبوتاسيوم في مصل الدم لمجموعات الأسماك المختلفة والتي أظهرت نتائجها وجود انخفاض معنوي (P< 0.05) في تركيز هذين الأيونين في الأسماك المعاملة مقارنة مع السيطرة خلال (١٥ و ٣٠) يوم من زمن التجربة والتي سجلت (92.5 113.5 ,) و (8.31 8.35 ,) وكما في الأشكال (٥ و ٦) .

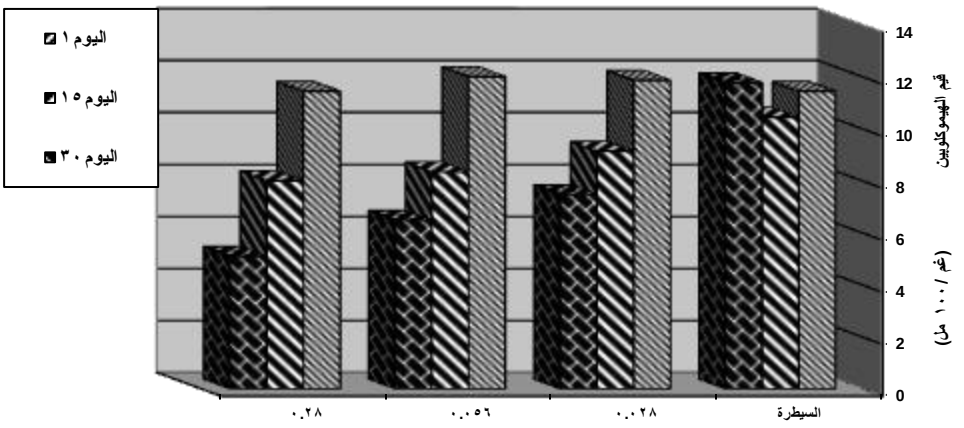
لم تظهر معدلات قيم كالسيوم المصل المسجل لمجموعات الأسماك المختلفة وجود فروقات معنوية (P> 0.05) بين مجموعات الأسماك المعاملة ومعاملة اسماك السيطرة خلال زمن التجربة ، **الشكل** (٧) .



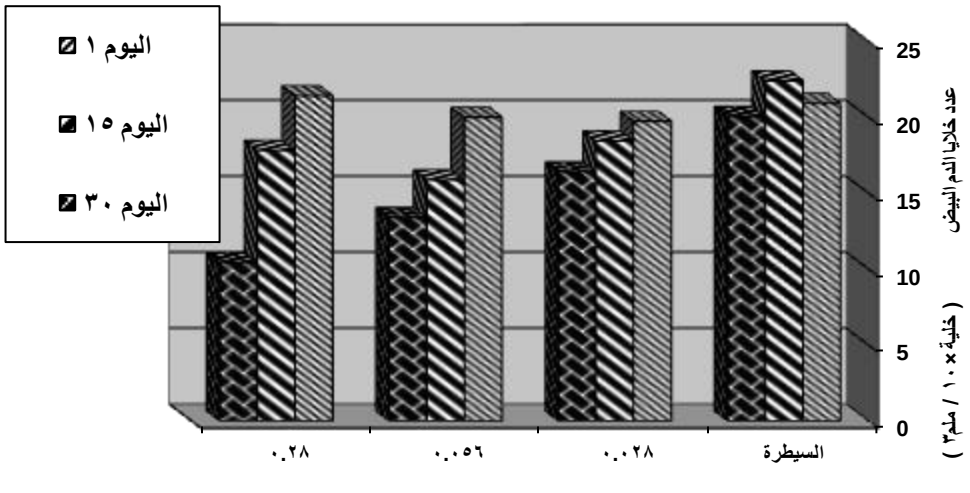
الشكل (١) عدد خلايا الدم الحمر في الأسماك *C. carpio* المعرضة لتراكيز تحت قاتلة (٠.٠٢٨ ، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم / لتر من عنصر الزنك



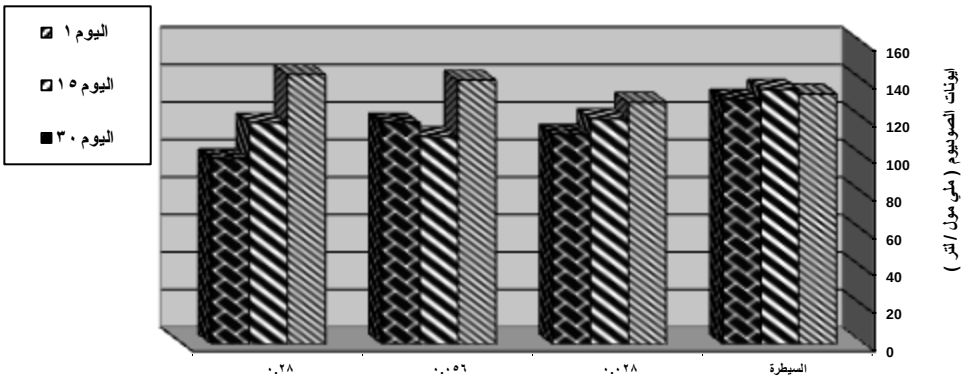
الشكل (٢) قيم حجم الدم الضغوط في الأسماك *C. carpio* المعرضة لتراكيز مختلة (٠.٠٢٨ ، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم/ لتر من عنصر الزنك



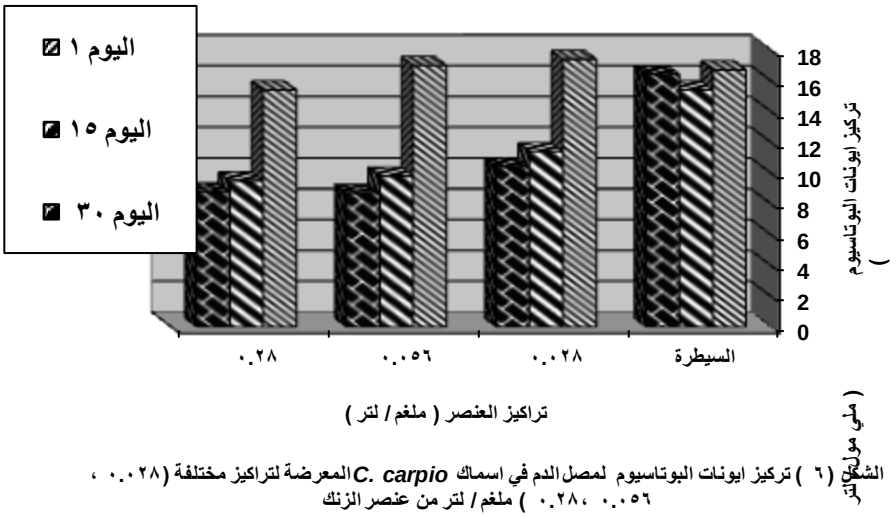
الشكل (٣) تركيز الهيموكلوبين في اسماك *C. carpio* المعرضة لتراكيز مختلفة (٠.٠٢٨ ، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم / لتر من عنصر الزنك



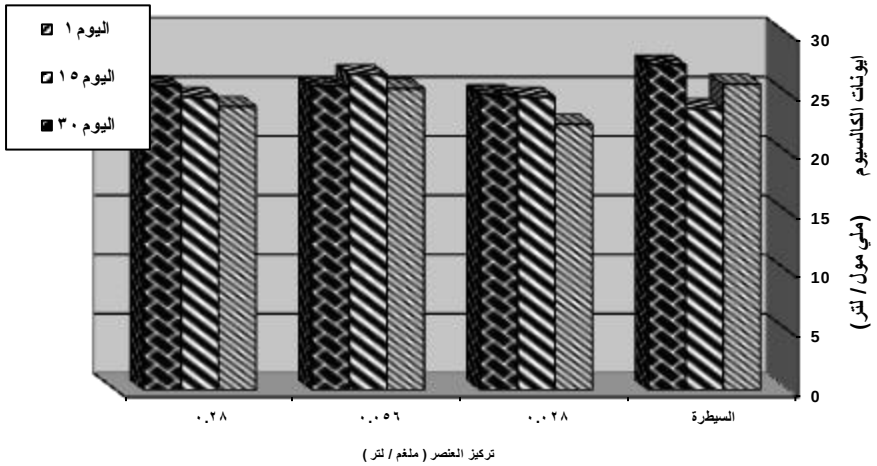
الشكل (٤) عدد خلايا الدم البيض في اسماك *C. carpio* المعرضة لتراكيز مختلفة (٠.٠٢٨ ، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم / لتر من عنصر الزنك.



الشكل (٥) تركيز ايونات الصوديوم في مصل دم اسماك *C. carpio* المعرضة لتراكيز مختلفة (٠.٠٢٨ ، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم / لتر من عنصر الزنك



الشكل (٦) تركيز ايونات البوتاسيوم لمصل الدم في اسماك *C. carpio* المعرضة لتراكيز مختلفة (٠.٠٢٨ ، ٠.٠٥٦ ، ٠.٢٨) ملغم / لتر من عنصر الزنك



الشكل (٧) تركيز ايونات الكالسيوم لمصل الدم في اسماك C. carpio المعرضة لتراكيز مختلفة من عنصر الزنك

المناقشـــة

رغم الأهمية البايلوجية لعنصر الزنك على الأحياء المائية فقد أكدت العديد من الدراسات تأثيره السام عند تواجده بتراكيز عالية على النسيج الطلائي الغلصمي في الأحياء المائية كالأسماك المعرضة لمثل هذا المعدن مسببا حالات الاختناق الشديد (Masaaki , *et. al.*, 1982) وبالنتيجة سوف تعمل هذه الأحياء على زيادة مستوى ضخ القلب للدم لغرض توفير كميات كافية منه لمرور عبر نسيج الغلاصم إذ يصبح في تماس مباشر مع المياه المارة عبر الغلاصم والتي ازدادت كمياتها هي الأخرى بسبب زيادة معدلات التنفس وذلك لتوفير كميات كافية من الأوكسجين الضروري في الاحتياجات الأيضية (Steven *et. al.*, 1972) ، وفي المقابل سوف يساعد هذا على دخول كميات كبيرة من العنصر داخل جسم الكائنات الحية مسببة بذلك عرقلة واضحة في التوازن الفسلجي والأيضي محدثا بذلك حالات الإجهاد العالية في الأسماك(Pelgrom, 1995)، ومؤثرا بذلك على العديد من القياسات الفسلجية المدروسة .

لقد سجلت دراسات عديدة قدرت المعادن الثقيلة ثنائية التكافؤ كالزنك والكالسيوم والرصاص وغيرها من هذه المعادن سجلت الإمكانية الكبيرة للتراكم الحيوي في العديد من الأعضاء المختلفة كالكلية والكبد (Pentreath, 1973) مسببا أضرارا نسيجية واضحة ومؤثرة بذلك في قدرة هذه ألأعضاء في أنتاج خلايا الدم الحمر والبيض مسببا تذبذبا واضحا

) وهذا مشابه لنتائج الدراسة الحالية والتي 1999في معدلات إنتاجها (التميمي وجماعته ، أظهرت انخفاض قيم خلايا الدم

المحسوبة والتي سجلت أدنى هذه المعدلات في الأسماك المعرضة للأعلى تركيز وبعد مرور(١٥) يوم من زمن التعرض ، أما فقد ذكرت بأن للعديد من الملوثات (1990) WHOالمائية قدرت التأثير المباشر على نسيج الكلية وهي المصدر الرئيسي المكون لخلايا الدم الحمر والبيض في الأسماك ومن ثم ينعكس سلبا على باقي مكونات الدم الأخرى من الهيموغلوبين وحجم الدم المضغوط PCV .

أشار Larsson et. al, (1979) إلى أن انخفاض تركيز الهيموكلوبين في دم الأسماك المعرضة لتراكيز مختلفة من السموم الكيماوية قد يعود إلى الاضطراب الحاصل في إلية امتصاص الحديد من قبل الأمعاء وبسبب الاتنخفاض الحاصل فب عدد خلايا الدم الحمر وهذا مطابق لنتائج الدراسة الحالية والتي سجلت انخفاضا تدريجيا في معدلات قيم الهيموغلوبين وحجم الدم المضغوط في الأسماك المعرضة لتراكيز الزنك المختلفة أدنى هذه المعدلات كانت قد سجلت للأعلى تركيز وبعد مرور (٣٠) يوم من زمن التعرض .

أما الباحث Bury *et. al,* (1998) فقد اعزي انخفاض مستوى الصوديوم في دم الأسماك المعاملة بمستويات متباينة من المعادن الثقيلة للتلف الحاصل في أغشية الطبقة الطلائية الغلصمية مما سبب بالنتيجة فقدان قدرة المحافظة على مستوى تركيز هذا العنصر داخل الجسم مما ينتج عنه حركة الصوديوم من داخل الجسم ذو المحتوى الأيوني المرتفع وباتجاه البيئة الخارجية ، بينما أشار Pelgrom et. al, (1995) إلى تثبيط عمل الأنزيمات الناقلة للصوديوم والكالسيوم والبوتاسيوم ATPase) بفعل التعرض المباشر إلى بعض المعادن الثقيلة مثل الزنك مسببا بذلك عدم قدرت هذه الأنزيمات في حمل تلك الأيونات إلى داخل جسم الكائن الحي مما أحدث نقص واضح في مستوى تركيزها ، وهذا مطابق لنتائج الدراسة الحالية والتي سجلت انخفاضا تدريجيا في معدلات قيم ايونات الصوديوم والبوتاسيوم في الأسماك المعرضة لتراكيز الزنك المختلفة أدنى هذه المعدلات كانت قد سجلت للأعلى تركيز وبعد مرور (٣٠) يوم من زمن التعرض فيما لم يظهر الكالسيوم اختلافا معنويا خلال مدة التجربة .

المصادر

) . 1999التميمي ، محمد طالب حسن و بلاسم ، عباس ناجي و عماش ، هـدى صـالح (
كمؤشر بايلوجي للتلوث *Liza abo*دراسة وراثية خلوية وجزيئية لسمكة الخشني
. 50 – 41) : 1 (9بالرصاص . مجلة الطب البيطري ، العدد

) . علـم 1986السعدي ، حسين علي و الدهام ، نجم قمر و الحصان ، ليث عبد الجليل (
البيئة المائية ، وزارة التعليم العالي – جامعة بغداد

) . تأثير التراكيز تحت القاتلة للكادميوم على نسـب 1999السوداني ، ابرهيم مهدي عبد (
*Cyprinus*البقاء وبعض النواحي الفسلجية لصغار أسماك الكـارب الأعتيـادي
. 66 . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة ص*carpio*

American Petroleum Institute (A. P. I.) (1985) . Cadimum : Environment and community health impact . EA report API , 137C , P: 404 .

Beckman, B. R. & Zaugy, W. S. (1988). Copper intoxicant in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) induced by natural springwater: effects on gill Na^{+}, K^{+}& Ca^{+2}–ATPase, Hematocrit & Plasma glucose. Can. J. Aquat. Sci., 45: 1430-1435

Blaxhall , P. C. and Daislly , K. W. (1973) . Routine hematological methods for use with fish blood . J. fish, Biol., 5 : 771 – 781 .

Bury, N. R. ; Flik, L. G. ; Lock, R. A. C. and Wendelaar-Bonge, S. E. (1998) . Cortisol protects against copper induced necrosis and promotes apoptosis in fish gill chloride cells in vitro . Aquat. Toxicol., 40 : 193 – 202 .

Dacie , J. V. and Lewis , S. M. (1984) . Practical hematology , ghurch ill livingston (ed) , selecto printing co. Itd. , New Yuork , 445 pp.

Hassain , T. ; Ali , M. M. and Chander , S. V. (1987) . The combined effect of Pb and Mn on monoamine uptake and Na | K – ATPase in striatal synaptosomes . J. Appl. Toxicol. 7 (4) : 277 – 280 .

Larsson , A. (197٩) . Some biochemical effects of Cd on fish . In : Sublathel effects of toxic chemicals on aquatic animals (J. Koeman and J. Strik ed) . Elsevier scientific publishing company , Amsterdam , 3 – 13 pp.

Lewis , M. (1978) . Acute toxicity of copper , zinc and manganese in single and mixed salt solution to juvenile long fin dace , *Agosia chrysogaster* . J. Fish , 13 : 695 – 700 .

Masaaki , K. ; Takehiko , O. and Kunio , Y. (1982) . Acute toxicity of zinc to rainbow trout *Salmo gairdneri* . Bulletin of the Japanese society of scientific fisheries . 48 (8) : 1055 – 1058 .

Olsson , P. E. ; Kiling , P. ; Petterson , C. and Silver , C. (199٥) . Interaction of cadmium and oselardiol - 17β on mettalothionein and vitellogen systhesis in rainbow trout (*Oncorhy*ehus mykiss) . Biochem. J. , 307 : 197 – 203 .

Osler , B. L. (ed) (1965) . Hawks physiological chemistry 14 th ed , McCraw , New York .

Pelgrom, S. M. G. J. (ed.) (1995) . Interaction between copper and cadmium in fish , metal accumulation , physiological , endocrine regulation wageningen . Ponson and Looijen, Netherlands , pp : 7 – 11 .

Pelgrom, S. M. G. J.; Lock, R. A.; Balm, P. H. M. & Wendelaar Bonga, S. E. (1995). Structural & physiological changes in the gills of Tilapia *Orechromis mossambicus*, In response to single & combined copper & cadmium exposure . In: Interaction between Copper & Cadmium in Fish, (Pelgrom, S. ed.). Posons & Loojjen, Wageningen, Nederlandse, PP: 101-125.

Pentreath , R. J. (1973) . The accumulation and retention of Zn and Mn by the plaice , *Pleuronectes plates* . L. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 21 : 179 – 189 .

Steven, E. D. ; Bennion, G. R. ; Randall, D. J. and Shelton, G. (1972) . Factors affecting arterial pressuers and blood flow from the heart in intact unrestrained lingcod , *Ophiodon elongates* . Comp. bioch. Physiol., 45 : 681 – 695 .

(WHO) Wold Health organization (1990) . Enviromntal health criteria 95 , Fenvalerate , Genev .

EFFECTS OF SUBLATHAL CONCENTRATIONS OF ZINC ON SOME OF BLOOD PARAMETERS IN *CYPRINUS CARPIO*

Al-Ali M. F. M.* ; Japer A. A. and Al-Moktar M. A.
Department of Anatomy and Hastology- Veterinary Medicine Collage- Basrah University*
Department of Vertebrate- Marine Sciences Center – Basrah University

SUMMARY

Common carp fish *Cyprinus carpio* was exposed to sublethal concentrations of zinc (0.028 , 0.056 and 0.28) mg \ l during (1 , 15 and 30) days . Some of blood parameters were explored . The results showed a decrease of red and white blood cells , packed cells volume and hemoglobin levels , as well as , vacillate in sodium , potassium and calcium ions concentrations in blood serum in comparison with control fish .