علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره هفدهم، شماره سه، پاییز ۹۴

بررسی تأثیر غلظت کادمیوم بر روی میزان آهن خون ماهی کپور معمولی

سید قاسم قربان زاده زعفرانی[۱] *

Ghorbanzadeh۱۱۰@yahoo.com

شهلا جمیلی[۲]

جبیب اله ناظم[۳]

فرهاد عربها[۴]

امید رضا تونی[۴]

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۳۰ **تاریخ پذیرش:۸۸/۴/۳۱**

چکیده

زمینه و هدف: مطالعه حاضر، به منظور بررسی تأثیر غلظت کادمیوم (Cd) بر روی میزان آهن خون کپور معمولی انجام شد.

روش بررسی: نمونه برداری به صورت تصادفی به وسیله تور کششی از استخر پرورشی واقع در بابل انجام شد. ابتدا ماهیان طی ۴۸ ساعت با شرایط آزمایشگاه سازگاری یافته و سپس در قالب ۴ گروه شامل گروه شاهد و سه گروه آزمون با غلظت متفاوت (۴/۲۹۶ mg/L = C= ۸/۶۵۶ mg/L,B = ۷/۱۲۷mg/L, A) قرار گرفتند. تعداد آکواریم ها ۱۲ عدد و تعداد ماهیان هرآکواریم ۱۲ قطعه بود. در طول آزمایش سعی شد تا شرایط محیطی یکسانی برای تمامی آکواریم ها لحاظ گردد. خون گیری از ماهیان در زمان ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت از ورید دمی و قلب انجام شد. غلظت کادمیوم و آهن خون پس از هضم اسیدی نمونه های خونی به وسیله ماکروویو، با دستگاه ICP-OES اندازه گیری شد.

یافته ها: میانگین وزنی و طولی (طول کل) ماهیان به ترتیب ۱۶۳/۶ گرم و ۲۳/۶ سانتی متر بود. در این مطالعه مشخص گردید که میزان جذب کادمیوم در زمان های بیشتر، متمایزتر می باشد و به طور کلی افزایش معنی داری (P< ۰/۰۵; n=۳) در طول زمان در غلظت های

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور اصفهان و کارشناس محیط زیست، سازمان حفاظت محیط زیست تهران، *(مسوول مکاتبات)

۲- استادیار موسسه تحقیقاتی شیلات، تهران، ایران

۳- استادیار دانشگاه پیام نور، تهران

۴- کارشناس محیط زیست، سازمان حفاظت محیط زیست، تهران

کادمیوم خون (در مقایسه با شاهد) مشاهده می شود که چون خون به عنوان ناقل عمل می کند و محل انتقال فلزات سنگین چون کادمیوم به ارگان های هدف می باشد، روند مشخصی ندارد.

بحث و نتیجه گیری: با رد فرضیه " غلظت یون کادمیوم با تداخل با آهن خون ماهی کپور معمولی تاثیر معنی داری بر کاهش میزان آهن موجود در خون دارد"، ارتباط معنی داری ($P< ۰/۰۵; n=۳$) بین افزایش کادمیوم جذب شده در خون و تغییرات آهن خون مشاهده نشد که می توان نتیجه گرفت احتمالاً جایگزینی و تداخل کادمیوم با آهن خون در گردش خونی رخ نمی دهد و تغییرات آهن خون در طول آزمایش تاثیر غلظت کادمیوم، احتمالاً به دلیل ایجاد تغییرات فیزیولوژیک ناشی از استرس در خون ماهی می باشد.

واژه های کلیدی: کادمیوم، آهن، خون کامل، سمیت، کپور معمولی (Cyprinus carpio)

مقدمه

ماهی موجودی است که همیشه در ارتباط با آب بوده و سهم مهمی در رژیم غذایی انسان دارد. به همین دلیل ممکن است یکی از منابع مواد زنوبیوتیک[۱] برای انسان باشد. زنوبیوتیک ترکیبات شیمیایی دیرپایی است که به صورت طبیعی وجود ندارند. مشاهده پارامتر های خونی، سریع ترین روش ردیابی و آشکار ساختن تغییرات در ماهی می باشد. سرعت اثرات سمی فلزات سنگین، مرتبط با عمل انتقال خون می باشد. از آن جا که به وسیله خون، فلزات به تمام بخش های بدن پخش می شوند، بنابراین سنجش اثرات سمی فلزات سنگین از طریق نتایج حاصل از بررسی های پارامتر های خونی تسهیل می گردد (۱).

کپور معمولی از طریق آب آلوده و هم از طریق غذای آلوده می تواند دچار آلودگی با این فلز گردد. تأثیرات کادمیوم بر ماهی مذکور را می توان به ۵ گروه تقسیم نمود(۲) :

۱. تغییرات مورفولوژیک (ظاهری)، تغییر شکل استخوان ها و کاهش تراکم کلسیم در آن.
۲. تجمع بافتی: به طور کلی بیشترین تجمع کادمیوم در ماهی کپور معمولی در آبشش ها، کلیه ها، لوله های گوارش، هپاتوپانکراس و با شدت کمتری در طحال و ستون مهره ها دیده می شود.
۳. تغییر پارامترهای خونی: از لحاظ خون شناسی، تجمع کادمیوم به طور مشخص تعداد گلبول قرمز، مقدار هموگلوبین، میزان هماتوکریت و گلوکز خون را بالا برده ولی تعداد لوکوسیت ها را پایین می آورد. هم چنین مسمومیت حاد در کپور معمولی باعث کاهش میزان لوکوسیتها، افزایش سرعت رسوب گذاری گلبول قرمز و افزایش تعداد گلبول قرمز نابالغ می شود. اگر ماهی به مدت سه هفته در آب سالم قرار گیرد، این وضعیت به حال اول بر می گردد (۲). سبسکا[۲] (۲۰۰۱) گزارش نمود که افزایش میزان آهن بعد از مسمومیت، به احتمال زیاد به دلیل تخریب اریتروسیت ها و آزاد شدن آهن موجود در آن ها می باشد. چنین تغییرات مشابه توسط ویتسکا[۳] (۱۹۹۸) با مطالعه بر روی اثرات کادمیوم روی هماتولوژی کپور معمولی گزارش شد (۱).
۴. تغییر رفتاری: تغییرات مشخصی در الگوی رفتاری ماهی کپور معمولی هنگامی که در معرض کادمیوم با غلظت ۶/۱۲ میلی گرم در لیتر قرار می گیرد، مشاهده شده است. این تغییرات عبارتند از تحریک پذیری شدید، حرکات سریع و انقباضی، تشنج و نهایتاً ترشح مخاط به مقدار زیاد. با بالا رفتن غلظت به میزان ۸ میلی گرم در لیتر، فعالیت کمتر شده، ماهی در کف بستر ساکن می شود. (۲).

۱- Xenobiotics

۲- Sobecka

۳- Witeska

۵. تغییر در تکامل جنینی و اختلالات کروموزومی: اگر نیترات کادمیوم با غلظت ppm ۰/۱۸ و ppm ۰/۳۲ به مدت ۴۸ ساعت بر کروموزوم های متافازی ماهی کپور معمولی اثر داده شود، انحرافات شدید کروموزومی ایجاد می کند. به طور کلی در تمام مراحل تکامل که شامل تخم، تخم زرده دار، تخمی که زرده اش جذب شده، نوزاد، انگشت قدها می باشد، تغییرات قابل توجهی در اثر مجاورت با کادمیوم ایجاد می شود (۲).

با توجه به مطالب فوق، این نکته یادآور می گردد که موضوع این تحقیق جدید بوده و موضوعات مشابه موجود غالباً در مورد اثر سمیت یون های فلزی بر روی پارامترهای خونی، آهن سرمی و نیز تداخل آهن موجود در رژیم غدایی و فلزات سنگین ضروری یا غیرضروری در دستگاه گوارش انسان و حیوانات صورت گرفته است. در این مطالعه، با توجه به اثرات سمی فلزات سنگین بر پارامترهای خونی انسان و سایر جانوران ازجمله ماهیان، به تأثیر غلظت زیرکشنده کادمیوم بر روی میزان آهن خون ماهی کپور معمولی طی زمان ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت می پردازد تا احتمال جایگزینی و تداخل کادمیوم با آهن خون بررسی گردد.

مواد و روش ها

نمونه برداری کپور معمولی به وسیله تور کششی از استخر پرورشی ماهی واقع در شهرستان بابل (با مختصات جغرافیایی ״۵۴,۴ ׳۴۴ ۵۲۰: E: , ״۲,۵ ׳۲۸ ۳۶۰ :N) انجام شد. ماهیان از نظر سلامت ظاهری بررسی شده و افراد سالم انتخاب شدند. ماهیان به آزمایشگاه محیط زیست دریایی مرکز تحقیقات زیست محیطی سازمان حفاظت محیط زیست منتقل گردیدند. ابتدا ماهیان به منظور سازگاری، در داخل تانک های ۷۰ لیتری پلی اتیلنی، به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. آبگیری آکواریم های ۲۰۰ لیتری از آب شهری (با سختی کل کربنات کلسیم ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) صورت گرفت. سه غلظت انتخابی کادمیوم برای آکواریم ها، به ترتیب برابر ۴/۲۹۶ mg/L،۷/۱۲۷ mg/L،۸/۶۵۶mg/L و نمک مورد استفاده در آزمایش نمک نیترات کادمیم $Cd(NO_3)_2,4H_2O$ (GR,۲۰۱۹,۰۲۵۰ , merck) بود. ۴۸ ساعت قبل از ورود ماهیان به آکواریم ها، تغذیه آن ها قطع شد. سپس ۱۲ عدد ماهی به طور تصادفی به هر آکواریوم منتقل گردید.

در طول آزمایش پارامترهای فیزیکی و شیمیایی شامل دما (^{oC} ۲۱/۱)، هدایت الکتریکی (۴۵۱/۲ µS/cm)، غلظت اکسیژن محلول(۸ mg/L)، pH (۷/۷) و شوری (در حد صفر) توسط دستگاه مولتی پارامتر WTW ثبت گردید.

پس از طی زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، خون گیری از ساقه دمی و قلب ماهیان به صورت تصادفی و به وسیله سرنگ ۲ میلی لیتری آغشته به محلول EDTA انجام شد که پس از بیهوشی با محلول گل میخک و ثبت طول کل و وزن آن ها صورت گرفت (۳ و ۴). میانگین وزنی و طولی (طول کل) ماهیان به ترتیب ۱۶۳/۶ گرم ، ۲۳/۶ سانتی متر بود. تقریباً ۱/۵ میلی لیتر خون درون ظروف مخصوص (فالکن های ۱۵ میلی لیتری کد گذاری شده) ریخته و حجم و وزن خون نیز یادداشت گردید.

نمونه ها با استفاده از اسید نیتریک غلیظ ۶۵ ٪ (supra pure, merck) به وسیله دستگاه ماکروویو BERGHOF مدل MWS -۲ هضم گردید. نمونه‌های هضم شده با آب دیونیزه به حجم ۱۰ میلی لیتر رسید و با روش اسپکترومتری نشر نوری پلاسمای جفت شده القایی[۱] (۵) به وسیله دستگاه ICP- Spectroscopy، مدل Themo Company ICAP ۶۵۰۰, آنالیز گردید. در آنالیز دستگاهی حداقل ۲ نمونه بلانک برای هر آنالیز آماده و مقدار متوسط اندازه گیری شده فلز در بلانک از غلظت کادمیوم نمونه خونی کم شد.

در این مطالعه تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از مقایسه میانگین ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA)، آزمون Tukey،ضریب همبستگی Pearson (r)، ضریب تعیین

۱- ICP-OES

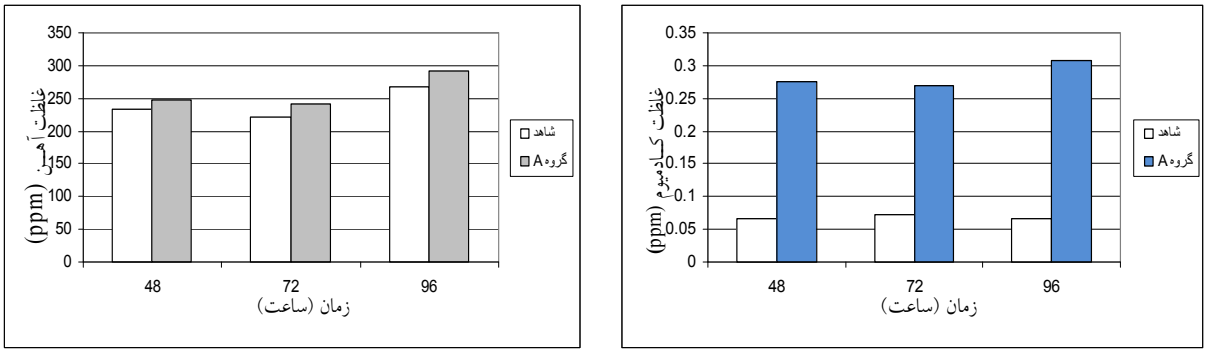
کنندگی (r^2) برای پی بردن میزان درصد نقش کادمیوم محیط در غلظت کادمیوم درخون ، استفاده از میانگین ضرایب تشابه (Unweighted Average Linkage Clustering) برای گروه های مختلف آزمون جهت دسته بندی زمان های آزمون براساس غلظت عناصر آهن، کادمیوم به صورت نمودار درختی انجام شد. سطح اطمینان در تجزیه و تحلیل آماری ۹۵٪ مد نظر بود و در محاسبات از برنامه های آماری Minitab، Spss، Excell، و Origin استفاده گردید.

نتایج

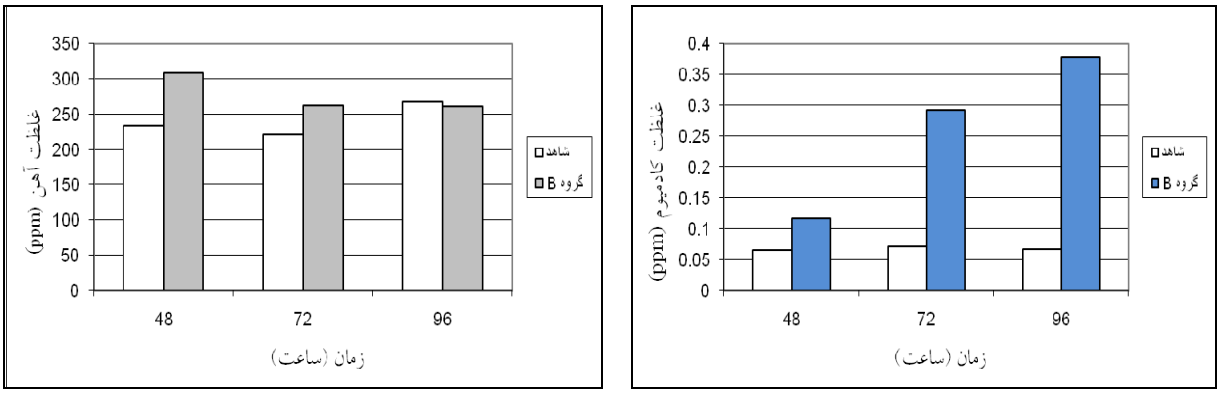
نتایج اندازه گیری به صورت میانگینِ میانگین های مقادیر کادمیوم و آهن نمونه ها در زمان های مختلف در جدول ۳ و نمودارهای ۱ الی ۵ همراه با مقادیر خطای استاندارد ارایه شده است.

جدول۳- غلظت عناصرکادمیم و آهن (ppm) در خون ماهیان گروه شاهد (۰ ppm)، گروه A (۴/۲۹۶ ppm)، گروه B (۷/۱۲۷ ppm)، گروه C (۸/۶۵۶ppm) در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت

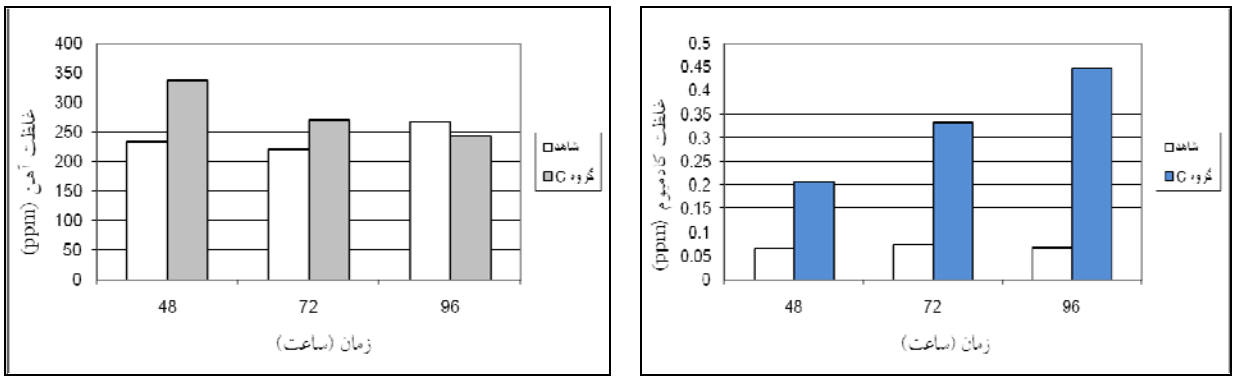
فلز	زمان(ساعت)	غلظت درگروه							
		شاهد (۰ ppm)		A(۴/۲۹۶ ppm)		B(۷/۱۲۷ ppm)		C(۸/۶۵۶ppm)	
		میانگین میانگین ها	خطای استاندارد (±)	میانگینِ میانگین ها	خطای استاندارد (±)	میانگینِ میانگین ها	خطای استاندارد (±)	میانگینِ میانگین ها	خطای استاندارد (±)
کادمیم	۴۸	۰/۰۶۵	۰/۰۰۲	۰/۲۷۵	۰/۰۵۷	۰/۱۱۸	۰/۰۲۷	۰/۲۰۸	۰/۰۴۴
	۷۲	۰/۰۷۲	۰/۰۰۱	۰/۲۷۰	۰/۱۲۷	۰/۲۹۲	۰/۰۴۱	۰/۳۳۳	۰/۰۴۹
	۹۶	۰/۰۶۷	۰/۰۰۲	۰/۳۰۷	۰/۰۰۸	۰/۳۷۸	۰/۰۴۹	۰/۴۴۵	۰/۰۸۰
آهن	۴۸	۲۳۳/۹۸۸	۳۱/۳۴۸	۲۴۷/۳۴۴	۶۵	۳۰۸/۹۸۸	۵۴/۵۸۹	۳۳۷/۰۴۴	۷۴/۷۳۰
	۷۲	۲۲۱/۱۵۵	۱۸/۷۹۱	۲۴۰/۳۸۸	۱۲/۶۳۱	۲۶۲/۰۱۱	۲۱/۰۷۰	۲۷۱/۳۱۱	۱۹/۷۰۴
	۹۶	۲۶۷/۳۸۸	۲۱/۷۸۳	۲۹۲/۱۶۶	۱۰/۴۱۱	۲۶۱/۵۳۳	۶/۲۷۹	۲۴۲/۷۵۵	۱۰/۷۳۵



نمودار ۱- نمودار مقایسه ای میانگینِ میانگین های غلظت کادمیوم خون (نمودار راست) و آهن خون (نمودار چپ) بین نمونه های گروه A (۴/۲۹۶ ppm کادمیوم) و شاهد در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت

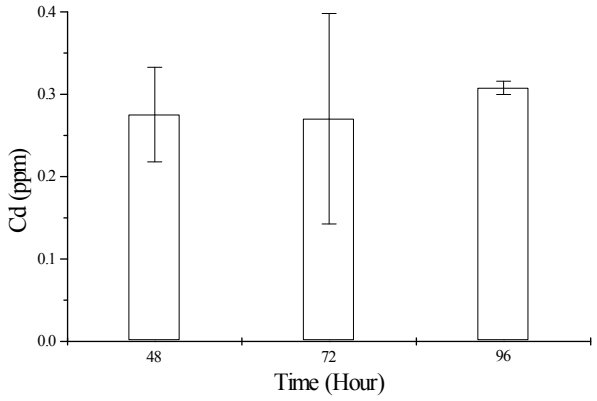


نمودار ۲- نمودار مقایسه ای میانگینِ میانگین های غلظت کادمیوم خون (نمودار راست) و آهن خون (نمودار چپ) بین نمونه های گروه B (۷/۱۲۷ ppm کادمیوم) و شاهد در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت

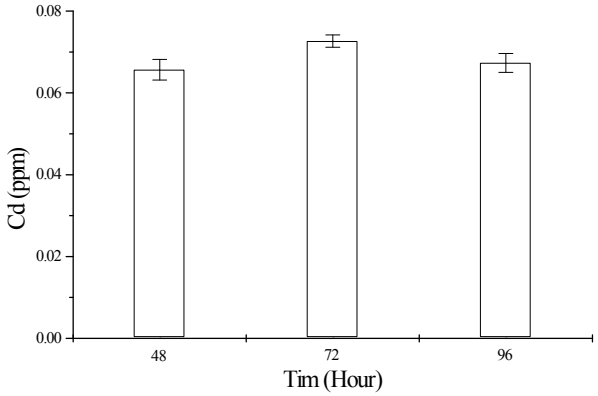


نمودار ۳- نمودار مقایسه ای میانگینِ میانگین های غلظت کادمیوم خون (نمودار راست) و آهن خون (نمودار چپ) بین نمونه های گروه C (۸/۶۵۶ ppm کادمیوم) و شاهد در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت

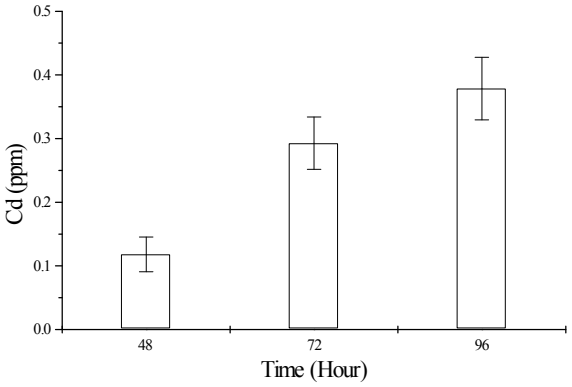
گروه A



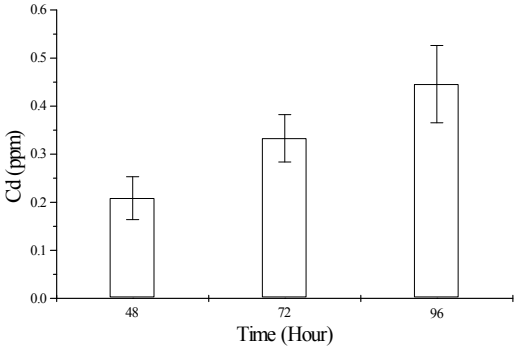
گروه شاهد



گروه B

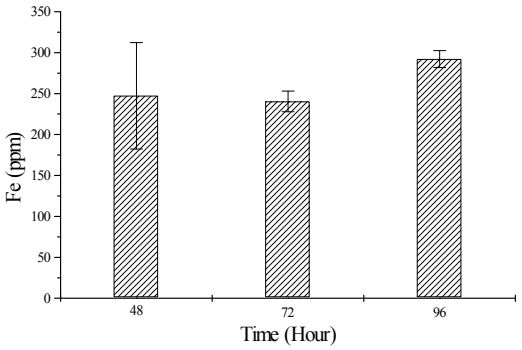


گروه C

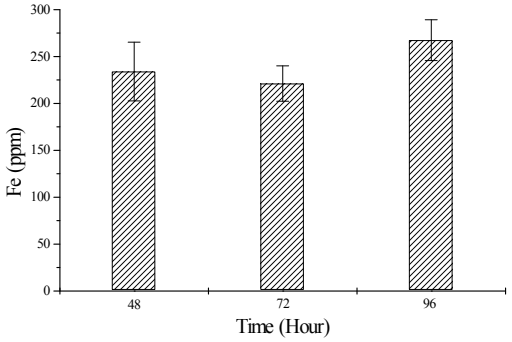


نمودار ۴- نمودار میزان تغییرات خطای استاندارد میانگینِ میانگین های غلظت کادمیوم خون (±SE) در گروه شاهد (۰ ppm)، گروه A (۴/۲۹۶ ppm)، گروه B (۷/۱۲۷ ppm)، گروه C (۸/۶۵۶ ppm) در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن یون کادمیوم به محیط

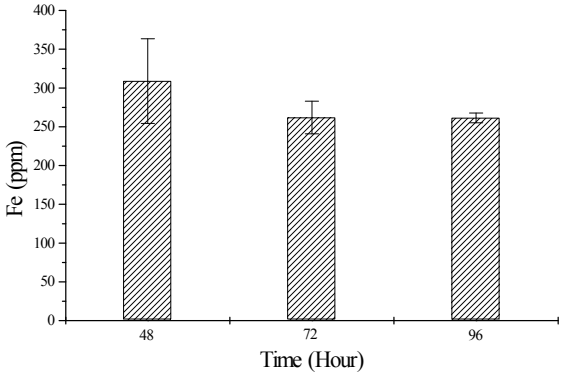
گروه A



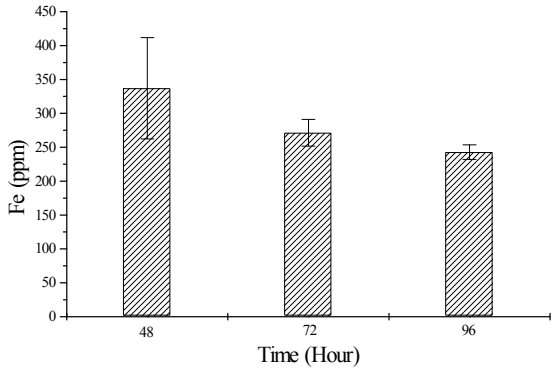
گروه شاهد



گروه B



گروه C



نمودار ۵- نمودار میزان تغییرات خطای استاندارد میانگینِ میانگین های غلظت آهن خون (±SE) در گروه شاهد (۰ ppm)، گروه A (۴/۲۹۶ ppm)، گروه B (۷/۱۲۷ ppm) ، گروه C (۸/۶۵۶ ppm) در زمان های ۴۸ ،۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن یون کادمیوم به محیط

طبق جدول ۳و نمودارهای ۱ الی ۵، کادمیوم در خون ماهیان گروه شاهد مشاهده می شود. با توجه به این که در آغاز آزمایش یون کادمیوم به آکواریم های شاهد اضافه نشد، احتمال دارد از محیط زندگی قبلی (استخر پرورش ماهی) وارد خون شده و یا ناشی از خطای آزمون و اندازه گیری باشد. غلظت کادمیوم آب استخر پرورش ماهی به وسیله جذب اتمی شعله ای کمتر از ۲۰pbb اندازه گیری شد.

توجه: در جداول زیر علامت* از لحاظ آماری نشانه معنی دار بودن($P< ۰/۰۵$) و علامت** نشانه خیلی معنی دار بودن ($P< ۰/۰۱$) می باشد.

جدول ۴- همبستگی Cd و Fe خون در غلظت شاهد (۰ ppm) برای میانگین ۳ نمونه از ۳ تکرار ($P< ۰/۰۵$; n=۳)

در زمان های ۴۸ ،۷۲ و ۹۶ ساعت

	Fe در ۴۸ ساعت	Fe در ۷۲ ساعت	Fe در ۹۶ ساعت
Cd در ۴۸ ساعت	r =۱ **P =۰/۰۰۷		
Cd در ۷۲ ساعت		r =۰/۲۵۰ P =۰/۸۳۹	
Cd در ۹۶ ساعت			r = -۰/۹۹۹ *P =۰/۰۲۶

با انجام آزمون تعیین ضریب همبستگی Pearson (r) بین آهن خون در ۴۸ ساعت و کادمیوم خون در ۴۸ ساعت در نبود کادمیوم در محیط آبی (محیط شاهد) همبستگی بسیار قوی معنی داری (P = ۰/۰۰۷ ; r= ۱) وجود داشت. باتوجه ضریب تعیین کنندگی (r^2= ۱) مشخص گردید که اساساً میزان غلظت آهن در خون بسیار بیشتر از میزان کادمیوم خون می باشد.

جدول ۵-همبستگی Cd و Fe خون در غلظت ppm ۴/۲۹۶ کادمیوم برای میانگین ۳ نمونه از ۳ تکرار (P< ۰/۰۵; n=۳) در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن یون کادمیوم به محیط

	Fe در ۴۸ ساعت	Fe در ۷۲ ساعت	Fe در ۹۶ ساعت
Cd در ۴۸ ساعت	r =۰/۹۷۷ P =۰/۱۳۶		
Cd در ۷۲ ساعت		r = -۰/۵۵۹ P =۰/۶۲۲	
Cd در ۹۶ ساعت			r = -۰/۸۶۹ P =۰/۳۳۰

جدول ۶-همبستگی Cd و Fe خون در غلظت ppm ۷/۱۲۷ کادمیوم برای میانگین ۳ نمونه از ۳ تکرار (P< ۰/۰۵; n=۳) در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن یون کادمیوم به محیط

	Fe در ۴۸ ساعت	Fe در ۷۲ ساعت	Fe در ۹۶ ساعت
Cd در ۴۸ ساعت	r =۰/۸۰۶ P =۰/۴۰۴		
Cd در ۷۲ ساعت		r =-۰/۹۸۸ P =۰/۰۹۹	
Cd در ۹۶ ساعت			r =۰/۸۳۴ P =۰/۳۷۲

جدول ۷- همبستگی Cd و Fe خون در غلظت ppm ۸/۶۵۶ کادمیوم برای میانگین ۳ نمونه از ۳ تکرار (P< ۰/۰۵; n=۳) در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن یون کادمیوم به محیط

	Fe در ۴۸ ساعت	Fe در ۷۲ ساعت	Fe در ۹۶ ساعت
Cd در ۴۸ ساعت	r = -۰/۲۲۹ P =۰/۸۵۳		
Cd در ۷۲ ساعت		r =۰/۹۷۱ P =۰/۱۵۳	
Cd در ۹۶ ساعت			r = -۰/۹۵۰ P =۰/۲۰۲

طبق جداول ۴ الی ۷، ارتباط معنی داری (P< ۰/۰۵; n=۳) بین غلظت کادمیوم خون و غلطت آهن خون در تمام گروه های آزمون طی زمان ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت وجود ندارد. در بررسی میزان غلظت کادمیوم و آهن خون و میزان غلظت کادمیوم محیط، نتایج در جدول ۸ به شرح ذیل ارایه می گردد:

جدول ۸- همبستگی Cd محیط با Cd و Fe خون (P< ۰/۰۵; n=۳) در زمان های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از افزودن یون کادمیوم به محیط

		Cd در خون	Fe درخون
غلظت Cd در محیط در گروه های مختلف	۴۸ ساعت	r =۰/۴۴۹ P =۰/۵۵۱	r =۰/۹۳۲ P =۰/۰۶۳
	۷۲ ساعت	r =۰/۹۵۸ *P =۰/۰۴۲	r =۰/۹۹۲ **P =۰/۰۰۸
	۹۶ ساعت	r =۰/۹۸۷ *P =۰/۰۱۳	r = -۰/۵۱۵ P=۰/۴۸۵

طبق جدول ۸، بین غلظت های کادمیوم محیط و میزان کادمیوم خون پس از ۹۶ ساعت همبستگی قوی مثبت و معنی داری (r= ۰/۹۸۷; P = ۰/۰۱۳) وجود داشته و باتوجه به ضریب تعیین کنندگی (r^2= ۰/۹۷) مشخص می گردد که فقط ۳٪ از تغییرات مربوط به عوامل دیگر محیط بوده و ۹۷٪ مربوط به میزان غلظت کادمیوم در محیط می باشد. هم چنین بین غلظت کادمیوم محیط و میزان آهن خون پس از ۷۲ ساعت همبستگی بسیار قوی مثبت معنی دار (۰/۰۰۸ = P ;۰/۹۹۲ =r) وجود داشت. باتوجه به ضریب تعیین کنندگی (r^2= ۰/۹۸) مشخص می گردد که فقط ۲٪ از تغییرات مربوط به عوامل دیگر محیط بوده و ۹۸٪ مربوط به میزان غلظت کادمیوم در محیط می باشد. پس از ۴۸ ساعت همبستگی بین میزان غلظت کادمیوم های محیط، آهن و کادمیوم خون مشاهده نمی شود.

جدول ۹- نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه کادمیوم خون طی زمان ۴۸ ساعت پس از افزودن یون کادمیوم به محیط در گروه های مختلف آزمون (P< ۰/۰۵; n=۳)

		غلظت Cd (ppm) خون در ۴۸ ساعت		
		گروه A	گروه B	گروه C
غلظت Cd (ppm) خون در ۴۸ ساعت	شاهد	*P =۰/۰۲۲	*P =۰/۰۳۳	P =۰/۰۷
	گروه A		P =۰/۰۸۷	P =۰/۲۳۱
	گروه B			P =۰/۸۱

انجام آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای زمان ۴۸ ساعت، یک اختلاف معنی داری (P= ۰/۰۲۱ ;n=۳) را بین غلظت کادمیوم خون تمام گروه ها نشان داد. آزمون تعیین اختلاف بین گروه ها نشان داد اختلاف متعلق به گروه شاهد (غلظت ۰ ppm)، گروه A با غلظت ۴/۲۹۶ ppm کادمیوم (P= ۰/۰۲۲; n=۳) و گروه B با غلظت ۷/۱۲۷ ppm کادمیوم (P= ۰/۰۳۳; n=۳) می باشد.

آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای زمان ۷۲ ساعت، اختلاف معنی داری را بین غلظت کادمیوم موجود در خون گروه ها (P= ۰/۱۲۲; n=۳) نشان نداد.

جدول۱۰- نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه کادمیوم خون برای زمان ۹۶ ساعت پس از افزودن یون کادمیوم به محیط در گروه های مختلف آزمون (P< ۰/۰۵; n=۳)

غلظت Cd (ppm) خون در ۹۶ ساعت		
گروه A	گروه B	گروه C

غلظت Cd (ppm) خون در ۹۶ ساعت	شاهد	** P< ۰/۰۰۴	** P< ۰/۰۰۴	** P< ۰/۰۰۴
	گروه A		** P< ۰/۰۰۴	** P< ۰/۰۰۴
	گروه B			** P< ۰/۰۰۴

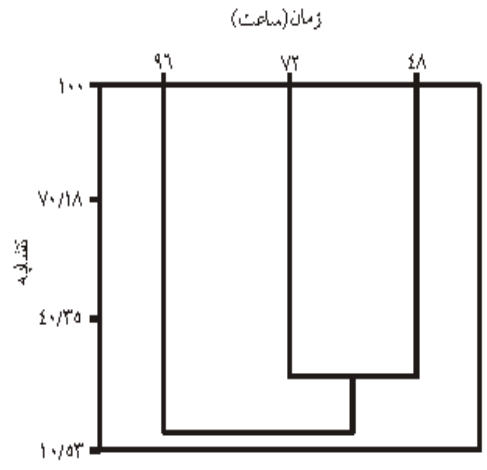
این آزمون درخصوص زمان ۹۶ ساعت یک اختلاف معنی دار قوی (P= ۰/۰۰۲; n=۳) را بین میانگین غلظت کادمیوم خون درگروه های مختلف نشان داد. آزمون مشخص نمود بین گروه شاهد (غلظت ppm ۰) و سایر گروه ها اختلاف معنی دار قوی (P< ۰/۰۰۴; n=۳) وجود دارد.

برای گروه شاهد، آزمون آنالیز واریانس یک طرفه بین میانگین غلظت کادمیوم خون در زمان ۷۲ ساعت با زمان ۴۸ و ۹۶ ساعت اختلاف معنی داری (P< ۰/۰۵; n=۳) نشان داد. هم چنین این آزمون مشخص نمود که برای گروه B و C ، بین میانگین غلظت کادمیوم خون در زمان ۴۸ ساعت با زمان ۷۲ و ۹۶ ساعت اختلاف معنی داری (P< ۰/۰۵; n=۳) وجود دارد.

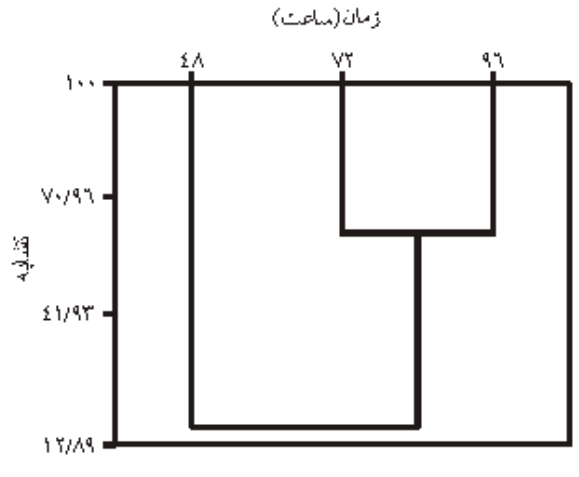
با توجه به حضور کادمیوم در محیط گروه های آزمون، آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، عدم اختلاف معنی داری (n=۳ ;P< ۰/۰۵) را بین میانگین غلظت های آهن موجود در خون گروه های مختلف (شاهد، A، B، C) در زمان ۴۸ ساعت و اختلاف معنی دار قوی (P= ۰/۰۰۶; n=۳) را بین میانگین غلظت های آهن موجود در خون گروه های شاهد و گروه B و هم چنین گروه C در زمان ۷۲ ساعت نشان داد. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه اختلاف معنی دار قوی (n=۳ ;P= ۰/۰۰۳) را بین میانگین غلظت های آهن موجود در خون گروه های شاهد و گروه B و هم چنین اختلاف معنی دار قوی (P= ۰/۰۰۹; n=۳) بین گروه شاهد و گروه C در زمان ۹۶ ساعت نشان داد.

آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای گروه شاهد و گروه A، بین میانگین غلظت آهن خون در زمان ۷۲ ساعت با زمان ۹۶ ساعت اختلاف معنی داری (P< ۰/۰۵; n=۳) را نشان داد. هم چنین این آزمون نشان داد که برای گروه C ، بین میانگین غلظت آهن خون در زمان ۴۸ ساعت با زمان ۹۶ ساعت اختلاف معنی داری (P< ۰/۰۵; n=۳) وجود دارد.

باتوجه به آزمون تشابه، نمودار درختی غلظت های آهن و کادمیوم خون ماهیان در ارتباط با زمان و گروه های مختلف آزمون در آزمایش کادمیوم در نمودار ۴ ارایه شده است.



Cd



Fe

نمودار ۴- نمودار درختی غلظت های آهن (نمودار سمت چپ) و کادمیوم (نمودار سمت راست) خون ماهیان در ارتباط با زمان و گروه های مختلف آزمون

بر اساس نتایج آزمون تشابه، نمودار درختی آهن (نمودار ۴) نشان می دهد که بین میزان آهن خون ماهیان در ۷۲ و ۹۶ ساعت شباهت زیادی وجود دارد. در شکل مذکور، نمودار درختی غلظت کادمیوم خون مشخص می کند که میزان تغییرات کادمیوم خون در فاصله زمانی ۴۸ و ۷۲ چندان نبوده، به عبارتی میزان آن در زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت تا حدود ۲۵٪ شبیه بوده و تشکیل یک گروه را می دهد ولی میزان کادمیوم خون ماهیان در ۹۶ ساعت متفاوت از دو زمان دیگر می باشد.

بحث و نتیجه گیری

هم اکنون مهره داران شامل ماهی ها توسط سم شناسانی که روی توان سمی ترکیبات مختلف ازجمله فلزات و در خصوص موضوعاتی چون روش جذب آن ها به داخل بدن و دوره در معرض قرارگیری مطالعه می کنند، مورد توجه قرار گرفته اند (۱).

اگر ماهی به مدت کوتاهی در معرض غلظت پایین فلزات سنگین قرا گیرد، اغلب باعث افزایش شاخص های خونی (تعداد اریتروسیت، غلظت هموگلوبین، درصد هماتوکریت و غلظت گلوکز) می شود که نشان دهنده شروع واکنش استرس ناشی مواد شیمیایی در ماهی می باشد که سبب عدم تعادل اسموتیک و تغییر در سیستم تنظیم تبادل یون می گردد که موجب کم شدن pH خون و افزایش حجم اریتروسیت ها و متعاقباً افزایش هماتوکریت می شود. استرس هم چنین باعث افزایش اپی نفرین و انقباض طحال شده که منجر به آزاد سازی اریتروسیت ها به خون و سپس افزایش درصد هماتوکریت می گردد. غلظت بالای فلزات سنگین یا زمان طولانی تر قرارگیری ماهی در غلظت زیر کشندگی فلزات سنگین معمولا شاخص های فوق الذکر را کاهش می دهد. کاهش تعداد اریتروسیت یا درصد هماتوکریت نشان دهنده بدتر شدن حالت موجود زنده و گسترش آنمی در آن می باشد. (۶).

سمیت کادمیوم به عوامل مختلفی از جمله بر هم کنش آن با برخی مواد مغذی به خصوص آهن و وضعیت تغذیه ای آهن بستگی دارد. با آزمایشی که بر روی موشه ای صحرایی ماده با عارضه کم خونی انجام شده، مشخص گردیده که اگر موش های مذکور از مکمل های آهن همراه با کلرید کادمیوم تغذیه نمایند، بعد از ۱۰ روز میزان جذب آهن و کاربرد متابولیکی این عنصر کاهش می یابد. ضمناً میزان تولید هموگلوبین نیز کاهش می یابد. نتیجه این که مقدار کم کادمیوم، جذب آهن را مختل نموده و بر هم کنش کادمیوم - آهن در مجرای روده رخ می دهد(۷).

کادمیوم موجود در خون علاوه بر متالوتیونین پلاسمایی می تواند با پروتیین های پلاسمایی آلبومین و گلوبولین متصل یا مستقیماً وارد اریتروسیت ها شود (۸). کادمیوم در داخل اریتروسیت ها ممکن است با هموگلوبین، پروتیین های با وزن ملکولی بیشتر از هموگلوبین و یا پروتئین های با وزن ملکولی کم باند شود. قسمتی از کادمیوم اریتروسیت ها در رت ها، در غشاء اریتروسیت ها یافت می شود. کادمیومی که به پروتیین های با وزن ملکولی بالا متصل شده است، بیشتر در کبد گرفتار می شود، در حالی که کادمیومی که با پروتئین های با وزن ملکولی پایین متصل شده، انتقال انتخابی دارد و توسط کلیه ها گرفته و به ادرار ترشح می شود(۹).

یک مطالعه تجربی بر روی سگ نشان داده است که بلافاصله بعد از تزیق داخل وریدی، بیشتر کادمیوم در پلاسما حضور دارد. غلظت پلاسمایی کادمیوم به سرعت کاهش می یابد و به سطوح کمتر از ۱٪ مقادیر آغازین در ۲۴ ساعت بعد از تزریق می رسد و سپس به طور آهسته کاهش می یابد. در طول فاز اول، سریعاً کادمیوم به پروتیین های با وزن ملکولی بالا متصل شده در حالی که در فاز آهسته تر، به پروتیینی با وزن ملکولی پایین متصل می شود. غلظت کادمیوم در اریتروسیت ها

بعد از یک تزریق داخل وریدی، به سرعت افزایش می یابد و در عرض چند ساعت به یک پیک غلظتی می رسد که بیشتر از غلظت پلاسمایی می باشد (۹ و ۱۰).

فلزاتی چون سرب، کادمیوم، مس و روی (مشخصاً سرب) باعث افزایش اریتروبلاست ها در خون کپور معمولی می شوند که ناشی از انقباض طحال به واسطه کاتکولامین ها در حضور استرس می باشد که سبب رها شدن اریتروسیت های جدید به جریان خون می شود. عدم افزایش تعداد گلبول قرمز نشان دهنده تخریب سریع سلول هاست. (۱۱).

آنمی ایجاد شده در ماهی که در معرض کادمیوم قرار گرفته به احتمال زیاد از مختل شدن فرایند سنتز خون به وسیله مواد سمی و یا به وسیله آسیب رساندن به غشاء سلولی در طول هیدرولیز استیل کولین توسط کولین استراز گلبول قرمز، ناشی می شود. افزایش میزان آهن در تمام اندام ها و بافت ها در ارتباط با تخریب گلبول قرمز و آنمی ناشی از آن می باشد. آهن از اریتروسیت هایی که همولیز شده اند، آزاد شده و به اندام های دیگر مانند کبد و کلیه ها انتقال می یابد (۱).

در این مطالعه اگرچه به طور کلی میزان کادمیوم خون در مقایسه با گروه شاهد، با افزایش زمان و غلظت روندی افزایشی داشته ولی از روند خاصی هم چون افزایش غلظت بیرونی و متعاقب آن درون خون تبعیت نمی کند که می تواند در ارتباط با خصوصیات فیزیولوژیکی ماهیان مورد آزمایش و تعداد تیمارها باشد. پس از ۴۸ ساعت همبستگی بین میزان غلظت کادمیوم های محیط، آهن و کادمیوم خون مشاهده نمی شود. احتمالاً این موضوع ناشی از مقاومت ماهی در جذب این عناصر به دلیل سمی بودن در مراحل اولیه در معرض قرار گرفتن باشد.

با توجه به وجود ارتباط خوب و معنی دار بین میزان کادمیوم محیط و خون در زمان ۹۶ ساعت، این آزمایش نشان می دهد که جذب بیشتر کادمیوم در ۹۶ ساعت اتفاق می افتد و میزان جذب این یون در زمان های بیشتر، متمایز تر می باشد.

بر اساس آزمون همبستگی، ارتباط معنی دار بین غلظت کادمیوم خون و تغییر غلظت آهن خون در طی آزمون وجود ندارد که با نتایج گزارش شده توسط داعی (۱۳۸۷) در خصوص عدم ارتباط معنی دار غلظت کادمیوم خون با تغییرات آهن خون ماهی شاه کولی در زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مشابه می باشد (۱۲). هم چنین با نتایج هادسن و همکارانش در سال ۱۹۷۸ که با قرارگیری ماهی قزل آلای رنگین کمان در غلظت ۰/۰۱۳ میلی گرم در لیتر سرب به دست آورده، تشابه دارد. هادسن با وجود افزایش تعداد گلبول قرمز، کاهش حجم گلبول قرمز، کاهش فعالیت آنزیم دلتا آمینو لولینک دهیدراتاز گلبول قرمز و کاهش میزان آهن سلول قرمز، تغییری در میزان آهن خون و هماتوکریت مشاهده نکرد(۱۳)

براساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نتیجه می شود که افزایش زمان و غلظت نقش تعیین کننده ای در جذب کادمیوم در خون ماهیان دارد. اما به طور غیر منتظره در گروه B و C در شرایطی که مقادیر کادمیوم با افزایش زمان روندی صعودی در خون ماهیان داشته، میزان آهن در ۷۲ ساعت افزایش و در ۹۶ ساعت کاهش می یابد که احتمالاً این افزایش و سپس کاهش آهن خون به دلیل ایجاد تغییرات در پارامتر های خونی و فیزیولوژیکی در ماهی از جمله آزادسازی تخریب گلبول های قرمز و افزایش گلبول قرمز نابالغ آهن از ارگان های دیگر می باشد که پس از مدتی به ارگان هایی مثل کلیه انتقال می یابد و سبب کاهش آهن در زمان ۹۶ خواهد شد.

ذکر این نکته ضروری می باشد در نمونه زمان ۴۸ ساعت میزان تغییرات بسیار بوده که می تواند تا حدودی مقادیر زمان ۹۶ را نیز در بر گیرد، درصورتی که روند تغییرات در زمان ۷۲ ساعت از پایداری بیشتری برخوردار می باشد. هم چنین بر اساس نتایج آزمون میانگین ضرایب تشابه، پس از ۷۲ ساعت مقادیر آهن ماهیان در مقایسه با شاهد محسوس بوده اما با گذشت زمان ۹۶ ساعت تغییرات چندان زیاد نبوده تا به صورت مستقل در یک گروه ظاهر گردد. در صورتی که میزان تغییرات کادمیوم خون در فاصله زمانی ۴۸ و ۷۲ چندان نبوده و با ۹۶

ساعت متفاوت است در نتیجه احتمالاً برای مشاهده تغییرات بیشتر باید زمان بیشتری در نظر گرفت.

در پایان می توان نتیجه گرفت به دلیل آن که خون به عنوان ناقل عمل می کند و محل انتقال فلزات سنگین چون کادمیوم به ارگان های هدف می باشد، بنابراین تغییرات معنی داری در غلظت آهن و روند خاص و مشخص در غلظت کادمیوم در طی آزمایش مشاهده نگردید و احتمالاً بر خلاف نظر ولکو[۱] که اظهار نموده "ایجاد پیوند کوالانسی یون کادمیوم با DNA با تئوری جایگزینی کادمیوم با آهن و مس در پروتیین های مختلف غشایی و سیتوپلاسمی تقویت می شود"(۱۴)، جایگزینی و تداخل کادمیوم با آهن خون در گردش خونی رخ نمی دهد و تغییرات آهن خون در طول آزمایش، احتمالاً به دلیل ایجاد تغییرات فیزیولوژیک در خون ازجمله آزادسازی آهن و گلبول قرمز نابالغ از بافت های دیگر به خون و یا خروج آهن از خون به طرف ارگان هدف مثل کلیه می باشد

منابع

۱. Bruck-Jastrzebska E., Protasowicki A., ۲۰۰۵, Effects of cadmium and nickel exposure on haematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio L.* Acta Ichthyol. Piscat. ۳۵(۱): ۲۹-۳۸

۲. قوام مصطفوی. پ،۱۳۷۹، بررسی اثر کادمیوم روی محور HPI (هیپوتالاموس – هیپوفیز – اینترنال) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، پایان نامه کارشناس ارشد، ص ۱۰۰.

۳. قیومی. ر،۱۳۷۹، مطالعه اثرات بیهوشی گل میخک (عصاره و اسانس) در ماهی کپور معمولی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، شهرستان نور، پایان نامه کارشناسی ارشد: ص ۷۵.

۴. ابطحی. ب، آقاجانپور. م، شریف پور. ع، رسولی. ع،۱۳۸۱، LC۵۰ اساس گل میخک و MS۲۲۲ در بچه ماهیان تاس ماهی ایرانی و مقایسه آن با قزل آلای رنگین کمان و کپور معمولی، موسسه تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، دومین همایش ملی _ منطقه ای ماهیان خاویاری، ص۱۰.

۵. NIOSH, Manual of Analytical Mathods (NMAM), ۱۹۹۴, Elements in blood or tissue, Fourth Edition,۳p

۶. Vosyliene M.Z, ۱۹۹۹, The Effect of Heavy Metals on Haematological Indices of Fish (Survy), Acta Zoological, Hydrobiologia, Vol. ۹. N.۲،۸۰p

۷. Krejpcio, Wojciak and Olejnik, ۲۰۰۳, Efficiency of Iron Supplementation as Affected by Cadmium in Anaemic Rats, Department of Human Nutrition and Hygiene, August Cieszkowski, Agricultural University, Poznan, Poland , available at, http://www.jn.nutrition.org/cgi/reprint/۱۳۳/۵/۲۰۳E

۸. U.S.Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for ToxicSubstances and Disease Registry, July ۱۹۹۹, Toxicological Profile for Cadmium, p۱۵۶-۱۵۹

۹. شاه طاهری. ج و افشاری. د، ۱۳۸۶، سم شناسی شغلی، انتشارات، برای فردا، ص۳۴۳.

۱۰. فولادساز. ک، ۱۳۸۴، عناصر کمیاب، فرآیند های متابولیکی و اختلالات بالینی آن ها، انتشارات نیکان کتاب، زنجان، ص ۲۶۲.

۱- Valko

۱۱. Witeska M., ۲۰۰۵, Stress in Fish – Hematological and Immunological Effects of Heavy Metals, Electronic Journal of Ichthyology, p۳۵-۴۱.

۱۲. داعی. م، ۱۳۸۷، بررسی تاثیر سرب و کادمیوم بر میزان آهن خون شاه کولی، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم و فنون دریایی، تهران، پایان نامه کارشناسی ارشد، ص ۸۲.

۱۳. WHO, ۱۹۸۹, International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria ۸۵,Lead - Environmental Aspects, http://www.inchem.org

۱۴. Valko M., Morris H and Cronin M.T.D, ۲۰۰۵, Metals, Toxicity and Oxidative Stress, Current Medicinal Chemistry,vol. ۱۲, ۱۱۶۱-۱۲۰۸

The Survey of Cd Ion effects on Iron in Common Carp (*Cyprinus carpio*) whole blood

Seyed Ghasem Ghorbanzadeh Zafarani [۲](Corresponding Author)

Ghorbanzadeh۱۱۰@yahoo.com

Shahla Jamili[۳]

Habibolla Nazem[٤]

Arabha Farha[٥]

Toni Omid reza[۴]

Abstract

Introduction:

The present study was carried out in order to examine the impact Cadmium on amount of iron in the blood of common carp.

Material and Methods:

Sampling of common carp was carried out randomly from a fish culture pond in southeast of Babol by trawling. Firstly the fish were become compatible with the laboratory conditions during ۴۸ hours and then have been influenced by different concentrations through one blank and ۳ experimental groups of A (۴,۲۹۶ mg/l), B (۷,۱۲۷ mg/l) and C (۸,۶۵۶ mg/l). There were ۱۲ aquariums, each including ۱۲ pieces of fish. It was tried to apply an equal environmental condition for all of the aquariums during the experiment. Bleeding was done from the fish vein and heart after ۴۸, ۷۲ and ۹۶ hours of anesthetizing. . Concentrations of cadmium and iron have been determined by ICP-OES after acid digestion of blood samples by Microwave.

Results and Discussion:

In analyzing Cadmium, the fish average weight and length (total length) were ۱۶۳,۶ g, ۲۳,۶ respectively In this study it has been identified that the absorption scale of Cadmium increases as the time passes and generally it showed a significant increase ($p<۰,۰۵$, $n=۳$) during the time in cadmium concentrations of blood comparing the blank sample. This has no significant trend since the blood acts as a carrier and is a junction for heavy metals such as cadmium to the target organs. Furthermore, in addition to refusal of this theory that: "concentration of lead and cadmium ions by interactions with common carp blood iron has a significant impact on iron amount in blood", there

۱- MSc of Biology (Zoology), Payame Noor University, Isfahan and Expert of Environment, Department of Environment, Tehran, Iran

۲ Iranian Fisheries Science Research Institute, Tehran, Iran

٤ Payame Noor University, Tehran, Iran

٥ expert of environment, Department of Environment, Tehran, Iran

has not seen any significant relation ($p<۰,۰۵$, $n=۳$) between increasing of the amount of absorbed Cadmium and blood iron changes. Therefore, it could be concluded that probably no interaction between cadmium, and blood iron happens in blood circulation and the blood iron changes during the test is probably because of some physiological changes resulting from stress in fish blood.

Keywords: lead, cadmium, iron, whole blood, toxicity, common carp (*Cyprinus carpio*).