J. Oceanography (JOC). Volume15 (57): 20-30, Spring 2024

Journal of Oceanography
Homepage: joc.inio.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH PAPER

Using Grass carp fish as an indicator of the presence of TiO2NPs pollution in the aquatic environment

REZA ALIZADEH [1*]

[1] *Department of civil Engineering, Faculty of Technical Engineering, Qom University of Technology, Qom, IRAN*

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 2024/03/11

Revised: 2024/07/13

Accepted: 2024/07/13

Keywords:
Titanium dioxide nanoparticles
Hematology
Ctenopharyngodon Idella
Anzali lagoon

*Corresponding author:
Alizadeh_environment@yahoo.com

ORCID: 0000-0002-8361-6032

doi: **10.52547/joc.15.57.3**

ABSTRACT

Background and Objectives: In recent years, with the growth of chemicals based on nanotechnology on the one hand, and special capabilities such as photocatalysis in nanomaterials that will destroy and eliminate organic pollutants on the other, we have witnessed the entry of these materials into the environment. We are blue like wetlands. In this research, according to the extensive use of titanium dioxide nanomaterials to remove organic sediments of Anzali lagoon in the past years, by creating simulated laboratory conditions, the hematology test of the carp species (Ctenopharyngodon Idella), in contact with titanium dioxide nanoparticles, was done to investigate the toxicological effects of this substance in the aquatic environment.

Methods: The average lethal concentration LC50 for Amur species was calculated and the daily mortality rate was determined and recorded by SPSS software. The fish were chronically exposed to TiO2 nanoparticles for 2 weeks in the treatments of 0.1, 0.1, 1, and 10 ppm. After 14 days, blood samples were taken from the fish and then analyzed to investigate the blood parameters.

Findings: By examining the blood parameters of RBC, Hb, HCT, MCV, WBC, MCH and MCHC, significant differences were found, including a decrease in the first three cases ($P<0.05$) and an increase in the last three cases ($P>0$ /05), among different treatment and the control groups. The lethal concentration (LC50) for Amur species was also 12834 ppm.

Conclusion: Nanomaterials of titanium dioxide in the examined concentrations have a negative effect on the hematological factors of Amur fish and cause a decrease in red blood cells, hemoglobin and hematocrit in the blood of Amur fish, which ultimately leads to the death of this species of fish. Therefore, this fish can be a suitable indicator for the toxicology evaluation of titanium dioxide nanoparticles.

NUMBER OF TABLES	NUMBER OF FIGURES	NUMBER OF REFERENCES
2	8	34

مقاله پژوهشی

استفاده از ماهی آمور به عنوان نشانگر زیستی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم(TiO2 NPs)در محیط آبی

رضا علیزاده [1*]

[1] گروه مهندسی عمران، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه صنعتی قم، قم، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۱
تاریخ بازبینی: ۱۴۰۲/۴/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲۳

واژگان کلیدی:
ماهی آمور
خون شناسی
نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم
تالاب انزلی

*نویسنده مسئول
Alizadeh_environment@yahoo.com
orcid: 0000-0002-8361-6032

doi: 10.52547/joc.15.57.3

پیشینه و اهداف: در سال‌های اخیر با رشد فزاینده مواد شیمیایی مبتنی بر فن‌آوری نانو از یک سو و از سوی دیگر قابلیت های ویژه‌ای مانند نورکافتی در نانو مواد که باعث تخریب و از بین بردن آلاینده های آلی خواهد شد، شاهد ورود این مواد به درون محیط های آبی مانند تالاب ها هستیم. در این پژوهش با توجه به استفاده گسترده از نانو مواد دی اکسید تیتانیوم جهت حذف رسوبات آلی تالاب انزلی در سال‌های گذشته، با ایجاد شرایط شبیه سازی شده آزمایشگاهی، آزمایش خون شناسی گونه ماهی آمور(Ctenopharyngodon Idella)، در تماس با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم ، جهت بررسی اثرات سم شناسی این ماده در محیط آبی انجام شد..

روش‌ها: میزان غلظت کشنده میانی LC_{50} برای گونه آمور محاسبه شده و میزان روزانه مرگ‌ومیر ، به‌وسیله آنالیز SPSS ، مقدار LC_{50} برای ماهی آمور تعیین و ثبت شد. ماهی ها ۲ هفته در تیمار های۰/۰۱، ۰/۱، ۱و۱۰ ppm در تماس حاد و مزمن با نانو ذرات TiO2 قرار داده شدند، بعد از گذشت ۱۴ روز، از ماهی ها خون‌گیری و نمونه های خون جهت آنالیز پارامترهای خونی بررسی شده است.

یافته‌ها: با بررسی پارامترهای خونی RBC، Hb، HCT، WBC، MCH و MCHC ، تفاوت های معنی داری از نوع کاهش در سه پارامتر نخست ($P<0.05$) و از نوع افزایشی در سه پارامتر آخر($P>0.05$) ، در بین تیمار های مختلف و گروه شاهد مشاهده شد. میزان غلظت تحت کشنده (LC_{50}) برای گونه آمور نیز 12834 ppm بدست آمد..

نتیجه‌گیری: نانو مواد دی اکسید تیتانیوم در غلظت‌های مورد بررسی بر فاکتورهای خون شناسی ماهی آمور اثر منفی گذاشته و موجب کاهش گلبول قرمز ، هموگلوبین و هماتوکریت در خون ماهی آمور شده که نهایتاً مرگ این گونه ماهی را در پی دارد. بنابراین ماهی می توان برای ارزیابی سم شناسی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم از این ماهی به عنوان شاخص استفاده نمود.

مقدمه

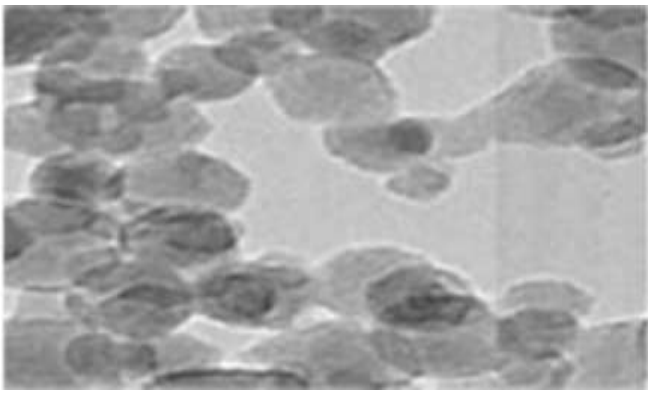
آلودگی در تالاب‌های آبی از طریق منابع آلاینده گوناگون به مشکل جهانی تبدیل شده است، این آلودگی ها از منابعی مانند پساب های صنعتی، فاضلاب‌های انسانی، زهاب های کشاورزی و..... می باشد که منشاء انسانی دارند(Ajmal et al;1988، Pereira et al,2018.) در نتیجه ورود این آلاینده ها به میزان سالانه ۲۵۰۰۰۰ متر مکعب رسوبات طبیعی، صنعتی و خانگی به تالاب با مساحت ۲۰۰۰۰ هکتار انزلی، واقع در استان گیلان ، حجم بسیار زیادی از این تالاب انباشته از رسوب و تهنشست ها شده است. این پدیده باعث کاهش یافتن عمق تالاب به کمتر از یک متر شده و تالاب رو به مرگ و نابودی می باشد. تلاش های بسیاری در جهت حل این مشکل در تالاب بین المللی انزلی صورت گرفته که نتیجه بخش نبوده است.، از آخرین اقدامات انجام شده در این راستا، بهره‌گیری از فن آوری نانو و افزودن نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم، با هدف حذف تهنشست ها و رسوب آلی درون تالاب، تحت فرایند موسوم به نورکافتی می توان نام برد. مفهوم فن آوری نانو برای اولین بار در سال ۱۹۵۹، توسط فیزیکدان ریچارد فینمن[1] معرفی شد، فرآیندی که طی آن اتم‌ها و ملکول ها را جهت اهداف دلخواه خود می توان دستکاری و کنترل نمود. مواد نانو ساختار اگر در محیط زیست پایدار مانده و یا در زیست توده به عنوان ماده خام قابل استفاده باشد، توان زیادی در آسیب رساندن به محیط زیست را دارا هستند.. مزایای بسیار، کارایی و در دسترس پذیری نانو مواد، خطرات زیادی را نیز برای موجودات زنده در پی دارد. یکی از نانو مواد با اهمیت، نانو، ذرات دی اکسید تیتانیوم است که از پرکاربردترین نانو ذرات محسوب می شوند. (Chris & Mike, 2003) این نانو ذرات به دلیل خواص نورکافتی و ضد میکروبی، بخش زیادی از نانو مواد تولید شده در جهان را به خود اختصاص داده است، با ورود این ذرات به اکوسیستم تالاب ها، احتمال آثار سمیت در این اکوسیستم ها نشان داده می شود(کلباسی۲۰۱۱) نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم را می توان نسل نوین آلاینده هایی دانست که غلظت آنها در منابع آبی، طی سال‌های آینده افزایش می‌یابد (کلر و همکاران ،۲۰۱۳)، به طوری که میزان ورود نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم و نقره به محیط های آبی را به ترتیب ۱۵۶۰۰ و ۶۳ تن در سال برآورد کرده‌اند. نانو ذرات می‌توانند یکی از عوامل ایجادکننده سمیت در خون باشند. ماهی ها به عنوان "شاخص های زیست محیطی"، "سنگ های کلیدی"، "چترها"، "گل سرسبدها" و "آسیب پذیرها" عمل می کنند (ناس، ۱۹۹۰). طبق نظریه مارکرت (۱۹۹۴)، یک شاخص زیستی، یک ارگانیسم یا بخشی از یک ارگانیسم یا یک موجود زنده است. و یا جامعه موجوداتی که حاوی اطلاعاتی در مورد کیفیت محیط زیست است. بنابراین، استفاده از شاخص‌های زیستی باید به توصیف محیط طبیعی، شناسایی و ارزیابی اثرات انسانی و ارزیابی اقدامات بازسازی یا اصلاح کمک کند. در تمام این موارد ماهی ها به عنوان شاخص استفاده می شوند، ماهی ، گونه ای آبزی است که به دلیل اهمیت اقتصادی و حساسیت در برابر آلاینده ها به طور گسترده ای در مطالعات مورد استفاده قرار می گیرد(Zirkoohi & Ordog,1997)، مارکر های زیادی در ماهی ها وجود دارد که در مطالعات سم شناسی مورد استفاده قرار می گیرند. از ماهی ها، برای تعیین وضعیت سلامت و نظارت بر پاسخ های استرسی و پیش بینی سازگاری های فیزیولوژیکی استفاده می‌شود. Jihnson et al,1993. در این پژوهش پارامترهای خونی ماهی آمور، که از گونه های پر جمعیت موجود در تالاب انزلی است ، مورد بررسی قرار گرفته است نظر به اینکه مطالعات خون شناسی روش ارزشمندی برای ارزیابی آثار محیطی آلاینده ها بر روی ماهی ها است، از این رو ضرورت دارد با تعیین این نوع آسیب ها بر روی این نشانگرهای زیستی وجود آلاینده ها در اکوسیستم های طبیعی را موردمطالعه قرارداد(Oliveira et al, 2002)

مواد و روش پژوهش

الف-مواد

محلول کلرید سدیم ۱٪ (Nacl)، نانو ذرات پودر و سفید رنگ دی اکسید تیتانیوم(TiO2)، تولید شرکت نوترینو و اندازه متوسط nm ۱۰-۱۵، دستگاه ZetaSizer (Zetasizer-Malvern Instruments Inc,UK Model: 3000Hsa برای کنترل اندازه نانو ذرات، دستگاه اولتراسوندQSonica (مدل S3000)به‌منظور تولید سوسپانسیون یکنواخت نانو ذرات، دستگاه ICP (ICP-AES Model: 3410 ARL, Switzerland) برای کنترل غلظت محلول، محلول پودر میخک، میکرو لوله های ۰,۵ میلی لیتری هپارینه و غیر هپارینه (حاوی ۰,۰۱ میلی لیتر) و ۹۶ قطعه ماهی آمور با طول تقریبی ۴,۷ ± ۲۵,۵۱ سانتی متر.

[1] -Richard feynman



شکل۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم مصرفی

ب- روش

طرح و طول دوره آزمایش ها با استفاده از دستورالعمل استاندارد OECD 203 guidline انجام شده است.

۹۶ قطعه ماهی آمور با طول تقریبی ۴,۷ ± ۲۵,۵۱ سانتی‌متر از استخر پرورشی تهیه شد. پس از گذشت دوره تطابق و آداپتاسیون (دو هفته)، ماهی ها به صورت تصادفی در مخزن ۲۰۰ لیتری تقسیم شدند. در طی آزمایش ها، شرایط فیزیکوشیمیایی کنترل شد و هوادهی مداوم در مخازن حاوی ماهی ها به‌گونه‌ای انجام شد که، آشفتگی به وجود نیامده و تنها عامل متغیر غلظت نانو ذرات باشد.. در این شرایط، به میزان ۲۵ تا۳۰ درصد از آب مخزن‌ها هر روز تعویض شده و ماهی ها نیز تحت ۱۲ساعت روشنایی و همچنین تاریکی قرار گرفت. این آبزیان هر روزه به میزان ۳٪-۲٪ وزن بدن تغذیه شدند. ماهی‌های تلف شده نیز از درون آب خارج شد. آزمون pH، اکسیژن محلول و دما روزانه انجام شد که مقدار میانگین این پارامترها، به ترتیب ۸، ۱۰ mg/L، ۲۰° c بود، همچنین مقدار سختی آب ۲۰۰ ppm محاسبه شد. دمای آب ثابت نگاه داشته شد.. هر قطعه ماهی به‌صورت تصادفی از درون مخزن خارج و ۱ دقیقه درون ظرف حاوی کلرید سدیم ۱٪ ضدعفونی و سپس به درون آکواریم انتقال یافت.در هر آکواریوم ۱۰ قطعه ماهی قرار داده شد. ۲۴ ساعت قبل از آزمایش ها و افزودن شیبه سازی شده نانو ذراتTiO_2 ، خوراک دادن به ماهی ها متوقف و همچنین باقیمانده مواد غذایی با سیفون خارج شد. تیمارها به ترتیب ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ppm و یک تیمار شاهد(هرکدام در ۳ تکرار)، قرار داده شد. دوره آزمایش سمیت حاد چهار روز بود.، پس از آزمون سمیت حاد و تعیین غلظت کشنده میانی، دو غلظت ۰/۰۱ و۰/۱ ppm و یک گروه شاهد(هرکدام در ۳ تکرار) جهت انجام آزمایش مزمن استفاده شد. طول دوره آزمایش ۱۴ روز انتخاب شده و در پایان این مدت، عملیات خون گیری از ماهی ها انجام شده است.

بعد از گذشت ۱۴ روز، از هر تیمار ۳ قطعه از ماهی ها تحت خون گیری به‌صورت تصادفی قرار گرفت. در عملیات خون گیری و بی حسی ، از محلول پودر میخک استفاده شد.ه و با قطع ساقه دمی ماهی، خون گیری با استفاده از سرنگ انسولین و به آرامی از سیاهرگ انجام شد، به‌گونه‌ای که گلبول‌های قرمز خون پاره نشود نمونه‌های خون داخل میکرو لوله‌های ۰,۵ میلی‌لیتری هپارینه و غیر هپارینه (حاوی ۰,۰۱ میلی لیتر) ریخته شد نمونه ها در مجاورت با یخ به آزمایشگاه انتقال یافته تا میزان هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول قرمز و سفید و دیگر شاخص‌های خونی مورد بررسی قرار گیرد. نمونه های خون داخل میکرو لوله های ۰,۵ میلی لیتری هپارینه و غیر هپارینه (حاوی ۰,۰۱ میلی لیتر) ریخته شد نمونه ها در مجاورت با یخ به آزمایشگاه انتقال یافته تا میزان هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول قرمز و سفید و دیگر شاخص های خونی مورد بررسی قرار گیرد.[۱-۷]

نتایج

- آزمون سمیت حاد و تعیین غلظت کشنده میانی

جهت تعیین غلظت کشنده میانی LC_{50} ، ماهی‌های آمور به مدت چهار روز با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم دارای غلظت ppm ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ ، در تماس قرار گرفت، ، به‌طور روزانه ماهی‌های تلف شده ثبت شد. در جدول شماره ۱غلظت ایجاد ،۱۰،۳۰،۴۰،۵۰ و ۷۰ و۹۹درصد تلفات در ماهی آمور، بعد از گذشت ۱،۲،۳ و ۴ روز از تماس با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم آمده است، بر این اساس LC_{50} برای گونه آمورppm 12834 به دست آمد.[۹]

جدول۱-غلظت ایجاد کننده ۱تا۹۹ درصد تلفات بعد از تماس ۱ تا ۴ روز با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم

پارامتر (Parameter)	شاهد(Value)	۵۰٪ غلظت LC50(Value 50%Conc)
MCV - فمتولیتر	1±266	0±296
MCHC - گرم بر دسی لیتر	31±57	33±06
MCH - پیکوگرم	96/1±67	98±00/24
هماتوکریت - ٪	23/57±66	22±83/03
Hb - میکرولیتر	22±53	8±83
گلبول قرمز-میکرولیتر	0±77	0±56
گلبول سفید میکرولیتر	7700±0/7	9733±32

- آزمون سمیت مزمن و طولانی مدت

پس از تعیین غلظت کشنده میانی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در ماهی آمور، برای بررسی اثرات مزمن و طولانی مدت نانو ذرات TiO2 ، با استفاده از نرم افزار SPSS 16 میزان مرگ و میر روزانه ماهی ها ثبت شد. در این راستا از دو غلظت ppm ۰/۰۱ و ۰/۱ نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم استفاده شده است.

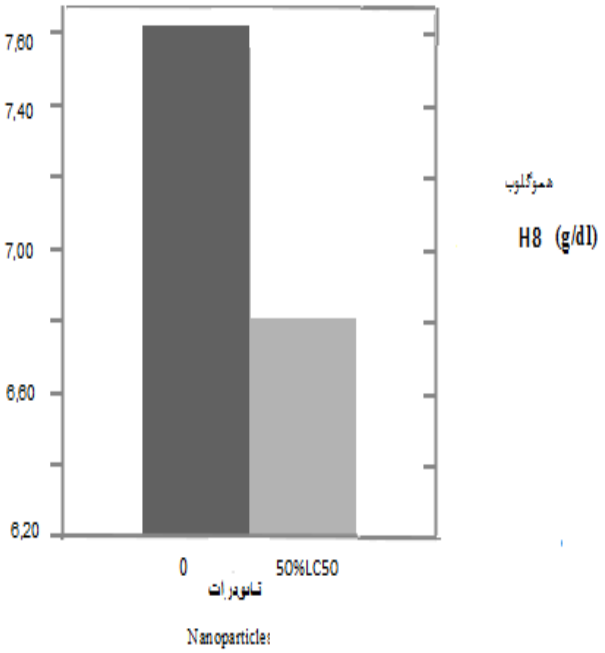
- فاکتورهای خونی

ابتدا داده ها از طریق آزمون کولموگرف- اسمیرنف، برای نرمال بودن مورد بررسی قرار گرفت. این داده ها شامل RBC (تعداد گلبول قرمز)،WBC(تعداد گلبول سفید)،PCV (هماتوکریت) ، MCVحجم متوسط گلبول قرمز)، MCH(هموگلوبین متوسط گلبول قرمز) و MCHC(غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز)، دارای توزیع نرمال بود($p>0.05$)، همچنین هموگلوبین(HB) فاقد توزیع نرمال بود و از طریق آزمون غیر پارامتری کروسکال- والیس بررسی شد($p>0.05$).. جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت فاکتورهای خونی با شاهد و تمامی تیمار ها از آزمون ANOVA یک طرفه استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها (۰/۰۱ و ۰/۱ ppm) با گروه شاهد از آزمون Dunett و LSD استفاده شد[۸]. در جدول شماره۲ شاخص های خونی ماهی آمور، در معرض غلظت تحت کشنده در مقایسه با نمونه های شاهد آمده است

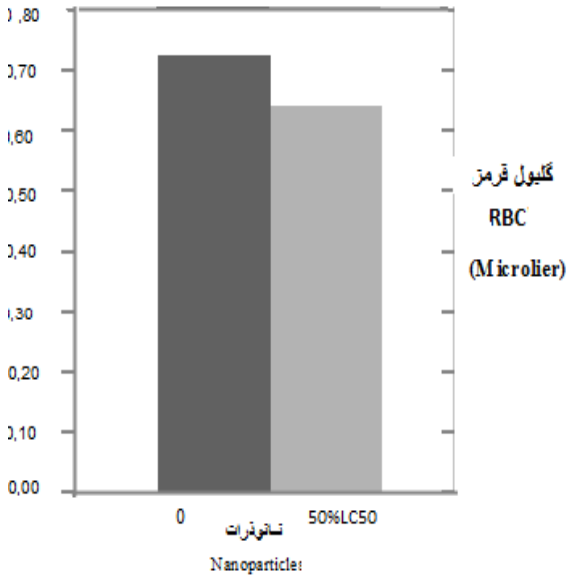
جدول۲-شاخص های خونی ماهی آمور، در معرض غلظت تحت کشنده در مقایسه با شاهد

مقدار	میانگین غلظت -قسمت در میلیون			
	۱ روز	۲ روز	۳ روز	۴ روز
LC1	9641/1±2	7484/1±65	3503/0±11	2996/0±92
LC10	14146/1±59	12001/1±9(	8670/0±11	7275/0±42
LC30	17411/1±72	15275/1±6(	12414/0±57	10375/0±99
LC50	19673/1±14	17542/1±9	15007/0±98	12834/0±44
LC70	21934/1±69	19810/1±2	0±17601	14670/0±89
LC90	25199/1±69	23083/1±8	21345/0±85	17771/0±47
LC99	29705/1±26	27601/1±1	26512/0±85	22049/0±97

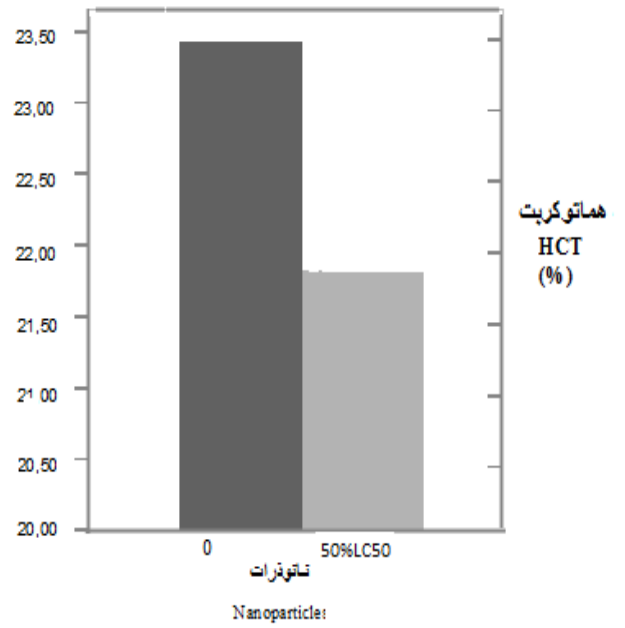
در شکل های شماره ۲ تا ۸ ، نمودار های مقایسه ای شاخص های خونی مختلف، در نمونه های ماهی آمور قرار گرفته در معرض نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم(Tio2NPs)، پس از گذشت مدت زمان یک هفته در مقایسه با نمونه های شاهد آمده است



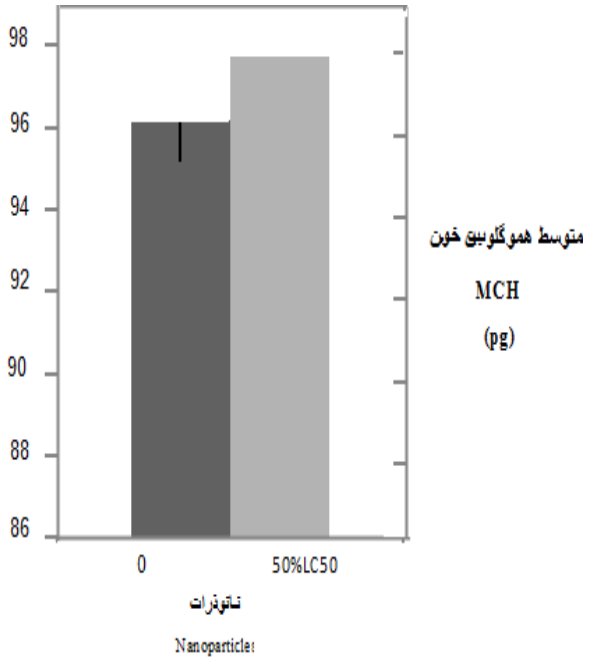
شکل۲- تغییرات در هموگلوبین خون نمونه شاهد و ماهی آمور در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز (گرم بر دسی لیتر)



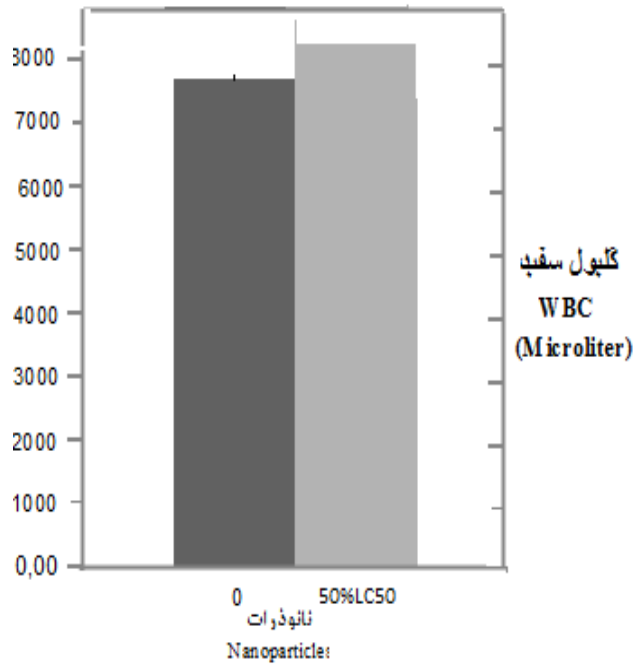
شکل۳-تغییرات تعداد گلبول قرمز خون یک میلیون برابر شده (میکرولیتر) نمونه شاهد و ماهی آمور در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز



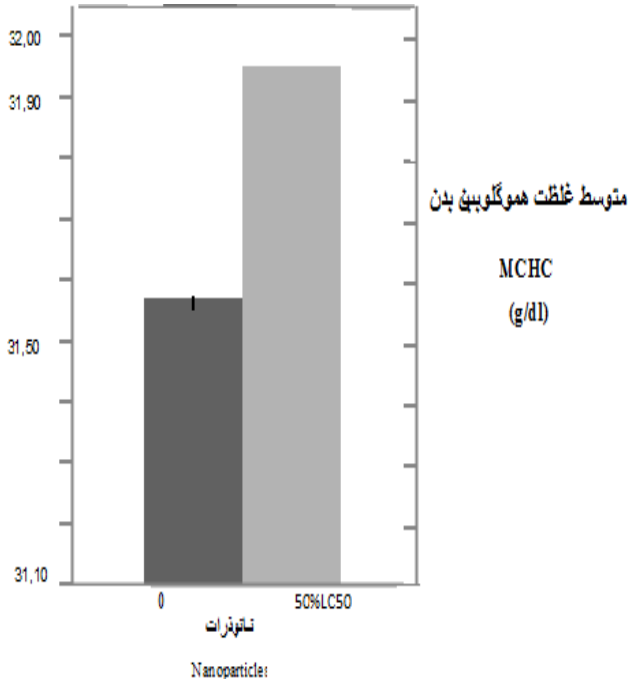
شکل۴- تغییرات هماتوکریت خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز



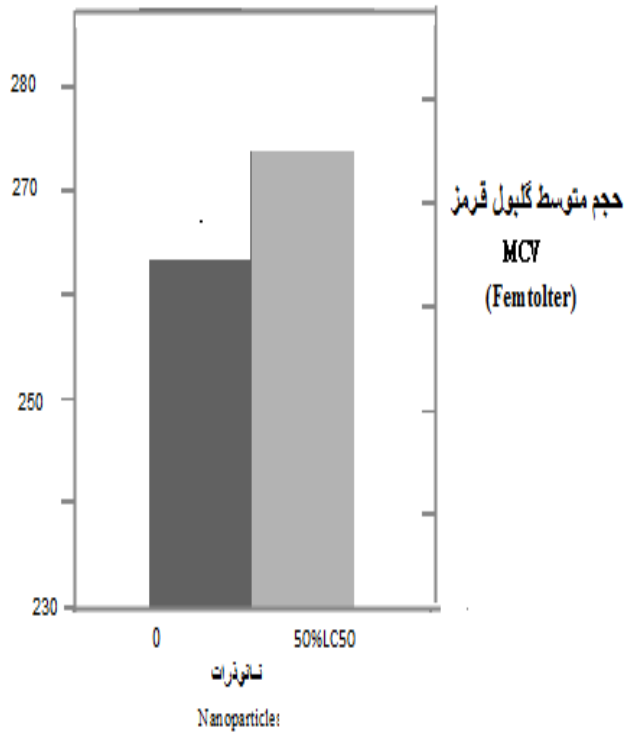
شکل۶- تغییرات MCH خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز(بر حسب پیکو گرم)



شکل۵- تغییرات گلبول سفید در خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز بر حسب میکرولیتر



شکل۷- تغییرات MCHC خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز (بر حسب گرم بر دسی لیتر)



شکل۸- تغییرات MCV خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز(بر حسب فمتولیتر)

بحث

در بیشتر تیمارهایی که ماهی آمور در معرض غلظت تحت کشنده نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم قرار گرفت، تعداد گلبول های سفید نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است که این با دستاوردهای پژوهش زارچی(۱۳۹۰) همخوانی دارد. نتایج نشان می دهد که نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در مدت ۱۴ روز در سلول های خونی ماهی تغییراتی ایجاد می کند و این تغییرات در گلبول های سفید معنی دار است و البته این تغییرات شامل کاهش تعداد گلبول قرمز نیز بوده است. افزایش گلبول های سفید شاخص سلامتی و آمادگی در برابر دفاع سلولی است، ولی افزایش شدید آن بیانگر التهاب بالینی و هجوم انگل و باکتری است.(Karimi et al., 2011). تفاوت مقدار LC_{50} و پاسخ خون شناسی به عوامل مختلفی مانند: وزن، رژیم غذایی،سن و نوع گونه، غلظت آلاینده ، زمان تماس و فاکتورهای کیفی آب وابسته است [۱۶]. عوامل زیادی بر میزان سمیت نانو ذرات فلزی مؤثر است. مطالعات بسیاری جهت بررسی مکانیسم اثر انواع نانو ذرات فلزی بر آبزیان انجام شده است [۱۷]. بمنظور ارزیابی سمیت آلاینده های محیطی، شاخص های مختلفی مانند شاخص های خون‌شناسی در ماهی قابل استفاده است. پارامترهای غیر طبیعی خون، نشانگر تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب است. بنابراین از ماهی می توان به عنوان یک شاخص هشدار دهنده در تشخیص حضور نامطلوب آلاینده در آب استفاده نمود(Atef & Atter, 2005). بر اساس پژوهش های انجام شده، در تماس ماهی با غلظت های بالا از نانو ذرات نقره AgNPs (۵ ppm و۲/۵ ppm) ، رفتار غیر عادی در شناوری، عدم تعادل و سخت شدن کلاهک آبششی و مرگ و میر مشاهده می شود[۱۸]. براساس همان تحقیق، در مدت ۱۴ روز، غلظت۰/۲ ppm و ۰/۱ ppm از AgNPs ، اثرات معنی‌داری بر فاکتورهای خونی RBC، WBC، HB، PCV، MCV، MCH و MCHC در گونه Carassius auratus ندارد.، اما افزایش اندک در تعداد گلبول های قرمز بوجود آمد، که می‌تواند به دلیل کمبود اکسیژن بروز نماید در شرایطی که ماهی ناگزیر به جبران کمبود اکسیژن ناشی از آسیب آبشش به‌ویژه جداشدگی و لیفتینگ اپیتیال باشد تعداد گلبول های قرمز برای جبران نقصان جذب اکسیژن ، افزایش می‌یابد(Wepener et al., 1992). [۱۹].از سوی دیگر کمبود اکسیژن منجر به افزایش دی‌اکسید کربن و تجمع استیک اسید در خون می‌شود، که در نتیجه متورم شدن(Swelling) گلبول های قرمز و افزایش میانگین حجم جسمی(Mean Corpuscular Volume یا MCV) را در پی دارد[۲۰]. یون های فلزی موجب افزایش تعداد گلبول های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت می‌شود که این سازگاری به منظور جذب بیشتر اکسیژن انجام می‌شود زیرا این یون ها موجب اختلال در عملکرد آبشش در تبادل گاز می‌گردد(Connor & fromm., 1975) [۲۳]. افزایش هموگلوبین نشانگر این است که گونه ماهی در مدت ۱۴ روز توانسته با بالا بردن هموگلوبین، میزان انتقال اکسیژن به بافت را افزایش داده و با شرایط سازگار شود. کاهش اندک MCHC نیز ناشی از تورم گلبول های قرمز و کاهش سنتز *Hb* می تواند باشد(Gail et al., 2006)[۲۱]. در نتایج پژوهش دیگری که برای بررسی اثر نانو ذرات نقره و نیترات نقره بر گربه ماهی رنگین‌کمان Pangasianodon hypophthalmus انجام شد، میزان هماتوکریت ،هموگلوبین و گلبول های قرمز ماهی پس از ده روز مواجهه، منجر به ایجاد تفاوت معنادار در شاخص‌های مورد بررسی نمی‌شود(رزم آرا و همکاران، ۱۳۹۳)[۲۲]. این نتایج با نتایج تحقیق(Gillian et al., 2007) یکسان است که در مدت ۱۴ روز تماس ماهی قزل آلا(Oncorhynchus mykiss) با نانو ذرات TiO_2، تأثیر معنی‌داری در تعداد RBC، WBC، PCV و Hb مشاهده نشده است. بنابراین پاسخ شاخص های ثانویه خون‌شناسی به عوامل تنش‌زای محیطی متأثر از عوامل مختلفی مانند نوع گونه، شرایط زیستی، مدت زمان در معرض قرار گیری، نوع و غلظت آلاینده مربوط است[۲۴]. اخیراً تأثیر زمان در معرض گذاری و غلظت نانوذره نقره بر تغییر ویژگی‌های بیوشیمیایی سرم و خون‌شناسی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز مورد تأکید قرار گرفته است.(Imani *et al.*, 2015)

در تحقیقات راج کومار(K.S.Rajkumar)، اثرات حاد نانو ذرات نقره بر گونه ماهی *Labeo rohit*، در طی ۷ روز بررسی شده است، این نتایج

بیانگر آن است که تنها در غلظت ppm ۲۵ ، کاهش RBC،WBC، Hb نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود و در غلظت ppm ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰، این فاکتورها افزایش یافته است، از این نتایج می توان نتیجه گرفت که دو عامل غلظت آلاینده سمی و نوع گونه در اثرات ناشی از آن مهم است، [۲۵]. در یک تحقیق دیگر، اثر نانو ذرات نقره و نیترات نقره بر شاخص های هماتولوژی عروس ماهی زاینده رود مورد بررسی قرار گرفت. . ماهی ها به مدت ۱۰ روز در تماس با نانو ذرات نقره و نیترات نقره قرار گرفت. در پایان، شاخص های خون‌شناسی شامل تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین ،هماتوکریت، محتوای هموگلوبین گلبولی(MCH) و اندازه حجمی گلبول(MCV) بررسی شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های اولیه و ثانویه خون‌شناسی ماهی ها وجود دارد. بیشترین مقدار هماتوکریت و هموگلوبین در غلظت µg/L ۲۵ نیترات نقره دیده شده است[۲۶]. تعداد گلبول قرمز در غلظت µg/L ۲۵ از نانو ذرات نقره کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. به جز در غلظت متوسط هموگلوبین بدن(MCHC)، در دیگر فاکتورهای ثانویه ، تفاوت های معنی‌داری با شاهد وجود دارد(راکی و همکاران.، ۱۳۹۴).

اندام آبشش در ماهی ها، یک اندام چند منظوره است، که مسئول انتقال یونی، تبادل گازها، تنظیم اسید و باز و دفع مواد زائد است(Oang et al., 2001). آبشش حدود ۵۰٪ از مساحت سطح بدن ماهی را شامل می شود و از راه‌های اصلی انتقال آلاینده آب به ارگان هدف، هستند(Playle., 1998). [۲۷-۳۴]

نتیجه‌گیری

در نتایج به دست آمده از این پژوهش مشخص شد که نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم پس از ورود به محیط آبی، قادر به اثرگذاری سمی بر ماهی آمور است. با توجه به این‌که نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم اثر معنی‌داری بر فاکتور های خونی این گونه از ماهی داشت، می‌توان به طور یقین اظهار داشت که در غلظت های کم، بررسی فاکتورهای خونی، شاخص مناسبی برای ارزیابی میزان آسیب در این گونه است. همچنین این آسیب ها ممکن است منجر به مرگ ماهی نشود، اما می‌تواند اختلالاتی در زندگی ماهی ایجاد نماید.

تعارض منافع

نویسنده اعلام می دارد که هیچگونه تعارض منافعی ندارد

منابع

[1] Test Guideline No. 249. (2021). Fish Cell Line Acute Toxicity: The RTgill-W1 cell line assay .OECD Guidelines for the testing of Chemicals.

[2] Al-Bairuty, Genan A.; Shaw, Benjamin J.; Handy, Richard D.; Henry, Theodore, B., (2013). Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquatic Toxicology, 126: 104-115.

[3] Barnhart, Roger A., (1969). Effects of certain variables on hematological characteristics of rainbow trout. Transactions of the American Fisheries Society, 98(3): 411-418.

[4] Linhua, H.; Zhenyu, W.; Baoshan, X., (2009). Effect of sub-acute exposure to TiO2 nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Juvenile Carp (Cyprinus carpio). Journal of Environmental Science, 21: 1469-1466.

[5] Khan, M.; Qureshi, N.; ,Jabeen, F.; Shakeel, M.; Asghar, M., (2017). Assessment of waterborne amine-coated silver nanoparticle (Ag-NP)-induced toxicity in Labeo rohita by histological and hematological profiles. Biological trace element research. pp. 1-10.

[6] Kwan, Y.S.; Ko, M.H.; Jeon, Y.S.; Kim, H.J.; Won, Y.J., (2019). Bidirectional mitochondrial introgression between Korean cobitid fish mediated by hybridogenetic hybrids. Ecol Evol, 9: 1244–54

[7] Ajmal, M.; Uddin, R.; Khan, A., (1988). Heavy metals in water, sediments, plants and fish of Kali Nadi UP (India). Environment international, 14: 515-523.

[8] RRainbow Trout (Oncorhynchus mykiss). Aquatic Toxicology. 126: 104-115.

[9] Braunbeck, T.; Segner, H., (1992). Preexposure temperature acclimation and diet as modifying factors for the tolerance of golden ide (Leuciscus idus melanotus) to short-term exposure to 4-chloroaniline. Ecotoxicology and environmental safety, 24: 72-94.

[10] Chen, T.; Lin, C.; Tseng, M., (2011). Behavioral effects of titanium dioxide nanoparticles on larval zebrafish (Danio rerio). Marine pollution bulletin,63: 303-308.

[11] Connell, S., (1999). Urban structures as marine habitats: an experimental comparison of the composition and abundance of subtidal epibiota among pilings, pontoons and rocky reefs. Marine Environmental Research, 25: 115-125.

[12] Gillian, F.; Benjamin, J.S.; Richard, D.H., (2007). Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. Aquatic Toxicolog, 84: 415–430.

mitochondrial D-loop sequencing. Genes Genet Syst, 76: 25-32. 10.1266/ggs.76.25

[25] Kitagawa, T.; Watanabe, M.; Kobayashi, T.; Yoshioka, M.; Kashiwagi, M.; Okazaki, T., (2001). Two genetically diverged groups on the Japanese spined loach, *Cobitis takatsuensis*, and their phylogenetic relationships among Japanese *Cobitis* inferred from mitochondrial DNA analyses. Zool Sci, 18: 249-259. 10.2108/zsj.18.249

[26] Sanderson, M., (1997). A nonparametric approach to estimate divergence times in the absence of rate constancy. Mol Biol Evol, 14: 1218-1231

[27] Halačka, K.; Lusková, V., (2000). Polyploidy in *Carassius auratus* in the Lower Reaches of the River Dyje—Determination Using the Size of Erythrocyte Nuclei, *Proc. 4th Czech conference of ichthyology.* Vodňany, pp. 106–109

[28] Pazmino, D.A.; van Herderden, L.; Simpfendorfer, C.A.; Junge, C.; Donnellan, S.C.; Hoyos-Padilla, E.M.; et al. (2019). Introgressive hybridisation between two widespread sharks in the East Pacific region. Mol Phylogenet Evol, 136: 119–27

[29] Irisarri, I.; Singh, P.; Koblmüller, S.; Torres-Dowdal,l J.; Henning, F.; Franchini, P.; et al. (2018). Phylogenomics uncovers early hybridization and adaptive loci shaping the radiation of Lake Tanganyika cichlid fishes. Nat Commun, 29: 3159

[30] Song, K.; Gao, B.; Halvarsson, P.; Fang, Y.; Jiang, Y.X.; Sun, Y.H.; et al. (2020). Genomic analysis of demographic history and ecological niche modeling in the endangered Chinese grouse *Tetrastes sewerzowi*. BMC Genomics, 21: 581

[31] Dussex, N.; Alberti, F.; Heino, M.T.; Olsen, R.A.; van der Valk, T.; Ryman, N.; et al. (2020). Moose genomes reveal past glacial demography and the origin of modern lineages. BMC Genomics, 21: 854.

[32] Jouyban, E.; Rahimpour, E., (2020). Optical sensors based on silver nanoparticles for determination of pharmaceuticals: an overview of advances in the last decade. *Talanta*, vol. 217, article 121071.

[13] Hickie, B.E.; Dixon, D.G., (1987). The influence of diet and preexposure on the tolerance of sodium pentachlorophenate by rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquatic Toxicology, 9: 343-353.

[14] Johnson, Marcia K.; Hashtroudi, Sh.; Lindsay, D. S., (1993). Source monitoring. Psychological bulletin, 114: 3.

[15] Monfared, A.; Soltani, S., (2013). Histological, Histometric and biochemical alterations of the gill and kidney of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) exposed to silver nanoparticles. Europian Journal of Experimental Biology,3: 391-395.

[16] Liu, Y.; Li, F.; Guo, Z.; et al. (2020). Silver nanoparticle-embedded hydrogel as a photothermal platform for combating bacterial infections. Chemical Engineering Journal, 382, article 122990,

[17] Ostaszewska, T.; Chojnacki, M.; Kamaszewski, M.; Sawosz-Chwalibóg, Ewa., (2016). Histopathological effects of silver and copper nanoparticles on the epidermis, gills, and liver of Siberian sturgeon. Environmental Science and Pollution Research, 23: 1621-1633.

[18] Piri Zirkoohi, M.; Ordog, V., (1997). Effect of some pesticides commonly used in Agriculture on Aquatic food chain. Thesis for Ph.D. degree submitted to the academy of agricultural sciences Budapest- Hungary, pp. 1-31.

[19] Gawlicka, A.; The, S.J.; Hung, S.S.O.; Hinton, D.E.; de lanove, J., (1995). Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. Fish physiol, Biochem, 14: 357-371

[20] Junqueira, L.C.; Carneiro, J.; Kelly, R.O., (1992). Basic Histology. Seventh ed. Lange Medical pub. Los Altos, California, pp. 315-316

[21] Kawai, S.; Ikeda, S., (1971). Studies on digestive system of fishes. I. Carbohydrates in digestive organs of several fishes. Bull. Jap. Soc. Fish, 37: 333-337

[22] Tortella, G.; Rubilar, O.; Durán, N.; et al., (2020). Silver nanoparticles: toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. Journal of Hazardous Materials, 390, article 121974

[23] Torras, M.; Roig, A., (2020). From silver plates to spherical nanoparticles: snapshots of microwave-assisted polyol synthesis," ACS Omega, 5(11): 5731–5738

[24] Murakami, M.; Matsuda, C.; Fujitani, H., (2001). The maternal origins of the triploid ginbuna (*Carassius auratus langsdorfii*): phylogenetic relationships within the *C. auratus* taxa by partial

[1] Stephan, C.E., (1977). Methods for calculating an LC50. In Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation (edited by Mayer F.I. and Hamelink J.L.). ASTM STP 634, pp 65-84, American Society for Testing and Materials.

[33] Masri, A.; Anwar, D.; Ahmed, R. B.; Siddiqui, M.; Raza Shah, N. Khan, A., (2018). Silver nanoparticle conjugation-enhanced antibacterial efficacy of clinically approved drugs cephradine and vildagliptin. Antibiotics, 7(4): 100.

AUTHOR(S) BIOSKETCHES

Alizadeh,R,,*Ph.D, Assistant Professor of Environmental engineering, Qom university of technology, Qom, IRAN*

✉ ALIZADEH_ENVIRONMENT@YAHOO.COM 0000-0002-8361-6032

این قسمت توسط نشریه تکمیل می‌گردد:

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Citation (Vancouver)

http://doi.org/10.52547/joc.15.57.3

http://joc.inio.ac.ir/ article-1-1796-fa.html

https://orcid.org/0000-0002-8361-6032

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.