



ORIGINAL RESEARCH PAPER

Using Grass carp fish as an indicator of the presence of TiO₂NPs pollution in the aquatic environmentREZA ALIZADEH ^{1*}

¹ Department of chemical and materials and Polymer Engineering, Buein Zahra Technical University, Buein Zahra ,Qazvin, 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](https://doi.org/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

2



NUMBER OF FIGURES

8



NUMBER OF REFERENCES

34

مقاله پژوهشی

استفاده از ماهی آمور به عنوان نشانگر زیستی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم (TiO₂ NPs) در محیط آبیرضا علیزاده^{*۱}

گروه مهندسی شیمی، مواد و پلیمر، مرکز آموزش عالی فنی و مهندسی بوئین زهرا، بوئین زهرا، قزوین، 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

پیشینه و اهداف: در سال‌های اخیر با رشد فزاینده مواد شیمیایی مبتنی بر فن‌آوری نانو از یک سو و از سوی دیگر قابلیت‌های ویژه‌ای مانند نورکافتی در نانو مواد که باعث تخریب و از بین بردن آلاینده‌های آلی خواهد شد، شاهد ورود این مواد به درون محیط‌های آبی مانند تالاب‌ها هستیم. در این پژوهش با توجه به استفاده گسترده از نانو مواد دی اکسید تیتانیوم جهت حذف رسوبات آلی تالاب‌ها در سال‌های گذشته، با ایجاد شرایط شبیه‌سازی 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 LC₅₀ برای گونه آمور محاسبه شده و میزان روزانه مرگ‌ومیر، به‌وسیله آنالیز SPSS، مقدار LC₅₀ برای ماهی آمور تعیین و ثبت شد. ماهی‌ها ۲ هفته در تیمارهای ۰/۱، ۰/۱، ۱۰، ۱ و ۱۰۰ ppm در تماس حاد و مزمن با نانو ذرات TiO₂ قرار داده شدند، بعد از گذشت ۱۴ روز، از ماهی‌ها خون‌گیری و نمونه‌های خون جهت آنالیز پارامترهای خونی بررسی شده است.

یافته‌ها: با بررسی پارامترهای خونی RBC، Hb، HCT، WBC، MCH و MCHC، تفاوت‌های معنی‌داری از نوع کاهش در سه پارامتر نخست ($P < 0.05$) و از نوع افزایشی در سه پارامتر آخر ($P > 0.05$)، در بین تیمارهای مختلف و گروه شاهد مشاهده شد. میزان غلظت تحت کشنده (LC₅₀) 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 می‌تواند برای ارزیابی سم شناسی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم از این ماهی به عنوان شاخص استفاده نمود.

*نویسنده مسئول

Alizadeh_environment@yahoo.com

orcid: 0000-0002-8361-6032

doi: 10.52547/joc.15.57.3

مقدمه

(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 ماهی‌ها به عنوان شاخص استفاده می‌شوند، ماهی، گونه‌ای آبی است که به دلیل اهمیت اقتصادی و حساسیت در برابر آلاینده‌ها به طور گسترده‌ای در مطالعات مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zirkoochi & Ordog, 1997)، مارکرهای زیادی در ماهی‌ها وجود دارد که در مطالعات سم‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرند. از ماهی‌ها، برای تعیین وضعیت سلامت و نظارت بر پاسخ‌های استرسی و پیش‌بینی سازگاری‌های فیزیولوژیکی استفاده می‌شود. Johnson et al, 1993 در این پژوهش پارامترهای خونی ماهی‌ها، که از گونه‌های پرجمعیت موجود در تالاب انزلی است، مورد بررسی قرار گرفته است نظر به اینکه مطالعات خون‌شناسی روش ارزشمندی برای ارزیابی آثار محیطی آلاینده‌ها بر روی ماهی‌ها است، از این رو ضرورت دارد با تعیین این نوع آسیب‌ها بر روی این نشانگرهای زیستی وجود آلاینده‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی را مورد مطالعه قرارداد (Oliveira et al, 2002)

مواد و روش پژوهش

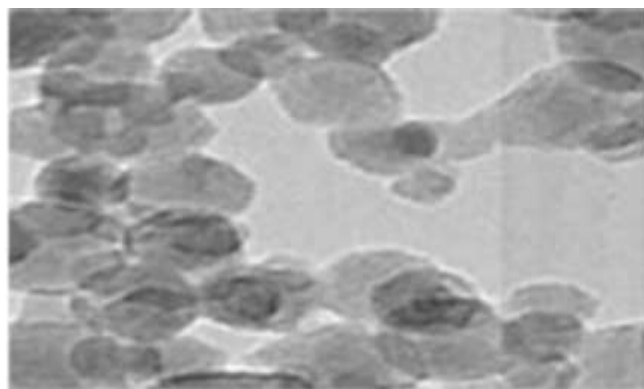
الف-مواد

محلول کلرید سدیم ۱٪ (NaCl)، نانو ذرات پودر و سفید رنگ دی اکسید تیتانیوم (TiO₂)، تولید شرکت نوترینو و اندازه متوسط nm ۱۵-۱۰، دستگاه ZetaSizer (Zetasizer-Malvern Instruments) مدل: 3000Hsa Inc, UK، برای کنترل اندازه نانو ذرات، دستگاه اولتراسوند QSonica (مدل S3000) به منظور تولید سوسپانسیون یکنواخت نانو ذرات، دستگاه ICP (ICP-AES، Model: 3410 ARL، Switzerland) برای کنترل غلظت محلول، محلول پودر میخک، میکرولوله‌های ۰.۵ میلی لیتری هپارینه و غیرهپارینه (حاوی ۰.۰۱ میلی لیتر) و ۹۶ قطعه ماهی‌آمور با طول تقریبی ۴.۷ ± ۲۵.۵۱ سانتی متر.

آلودگی در تالاب‌های آبی از طریق منابع آلاینده گوناگون به مشکل جهانی تبدیل شده است، این آلودگی‌ها از منابعی مانند پساب‌های صنعتی، فاضلاب‌های انسانی، زهاب‌های کشاورزی و..... می‌باشد که منشاء انسانی دارند (Pereira et al, 2018, Ajmal et al; 1988). در نتیجه ورود این آلاینده‌ها 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 ته‌نشست‌ها شده است. این پدیده باعث کاهش یافتن عمق تالاب به کمتر از یک متر شده و تالاب رو به مرگ و نابودی می‌باشد. تلاش‌های 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 ته‌نشست‌ها و رسوب آلی درون تالاب، تحت فرایند موسوم به نورکافتی می‌توان نام برد. مفهوم فن آوری نانو برای اولین بار در سال ۱۹۵۹، توسط فیزیکدان ریچارد فینمن^۱ معرفی شد، فرآیندی که طی آن اتم‌ها و ملکول‌ها را جهت اهداف دلخواه خود می‌توان 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 می‌شوند. (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 تالاب‌ها، احتمال آثار سمیت در این اکوسیستم‌ها نشان داده می‌شود (کلباسی ۲۰۱۱). نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم را می‌توان نسل نوین آلاینده‌هایی 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 محیط‌های آبی را به ترتیب ۱۵۶۰۰ و ۶۳ تن در سال برآورد کرده‌اند. نانو ذرات می‌توانند یکی از عوامل ایجادکننده سمیت در خون باشند. ماهی‌ها به عنوان "شاخص‌های زیست محیطی"، "سنگ‌های کلیدی"، "چترها"، "گل سرسبدها" و "آسیب پذیرها" عمل می‌کنند (ناس، ۱۹۹۰). طبق نظریه مارکرت

¹ -Richard feynman

به گونه ای که گلبول های قرمز خون پاره نشود نمونه های خون داخل میکرولوله 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. نمونه های خون داخل میکرولوله 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. [۷-۱]



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم مصرفی

نتایج

آزمون سمیت حاد و تعیین غلظت کشنده میانی

جهت تعیین غلظت کشنده میانی LC₅₀، ماهی های آمور به مدت چهار روز با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم دارای غلظت ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰، در تماس قرار گرفت، به طور روزانه ماهی های تلف شده ثبت شد. در جدول شماره ۱ غلظت ایجاد ۱۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۷۰ درصد تلفات در ماهی آمور، بعد از گذشت ۳، ۴ و ۲۱ روز از تماس با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم آمده است، بر این اساس LC₅₀ برای گونه آمور 12834 ppm دست آمد. [۹]

ب- روش

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

۹۶ قطعه ماهی آمور با طول تقریبی 4.7 ± 25.51 سانتی متر از استخر پرورشی تهیه شد. پس از گذشت دوره تطابق و آدپتاسیون (دو هفته)، ماهی ها به صورت تصادفی در مخزن ۲۰۰ لیتری تقسیم شدند. در طی آزمایش ها، شرایط فیزیکی و شیمیایی کنترل شد و هوادهی مداوم در مخازن حاوی ماهی ها به گونه ای انجام شد که، آشفستگی به وجود نیامده و تنها عامل متغیر غلظت نانو ذرات باشد. در این شرایط، به میزان ۲۵ تا ۳۰ درصد از آب مخزن ها هر روز تعویض شده و ماهی ها نیز تحت ۱۲ ساعت روشنایی و همچنین تاریکی قرار گرفت. این آبریان هر روزه به میزان ۳٪-۲٪ وزن بدن تغذیه شدند. ماهی های 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° بود، همچنین مقدار سختی آب ۲۰۰ ppm محاسبه شد. دمای آب ثابت نگاه داشته شد. هر قطعه ماهی به صورت تصادفی از درون مخزن خارج و ۱ دقیقه درون ظرف حاوی کلرید سدیم ۱٪ ضد عفونی و سپس به درون آکواریوم انتقال یافت. در هر آکواریوم ۱۰ قطعه ماهی قرار داده شد. ۲۴ ساعت قبل از آزمایش ها و افزودن شیشه سازی شده نانو ذرات TiO₂، 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 و ۰/۱ 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 به صورت تصادفی قرار گرفت. در عملیات خون گیری و بی حسی، از محلول پودر میخک استفاده شده و با قطع ساقه دم ماهی، خون گیری با استفاده از سرنگ انسولین و به آرامی از سیاهرگ انجام شد،

جدول ۱- غلظت ایجاد کننده ۹۹ درصد تلفات بعد از تماس ۱ تا ۴ روز با نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم

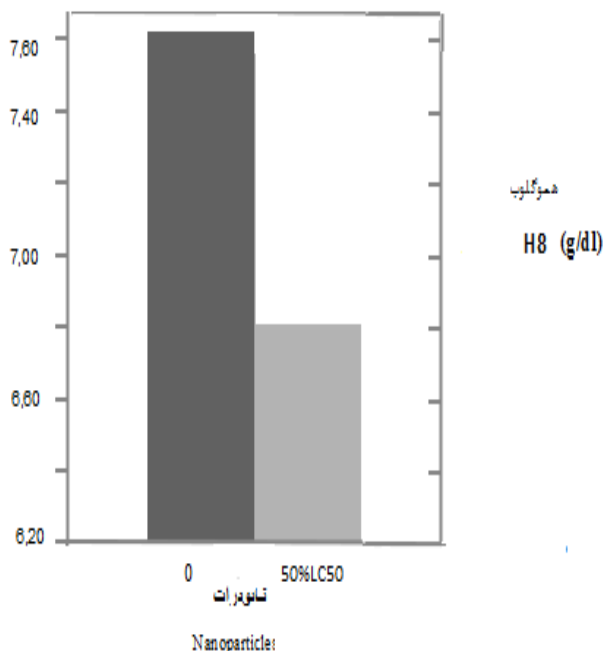
پارامتر (Parameter)	شاهد (Value)	۵۰٪ غلظت LC50 (Value 50% Conc)
MCV - فمتولیت	1±266	0±296
MCHC - گرم بر دسی لیتر	31±57	33±06
MCH - پیکوگرم	96/1±67	98±00/24
هماتوکریت - %	23/57±66	22±83/03
Hb - میکرولیتر	22±53	8±83
گلبول قرمز-میکرولیتر	0±77	0±56
گلبول سفید میکرولیتر	7700±0/7	9733±32

- آزمون سمیت مزمن و طولانی مدت

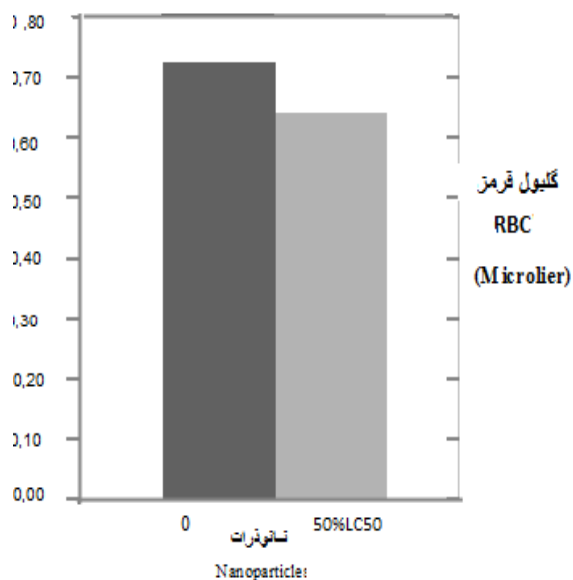
پس از تعیین غلظت کشنده میانی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در ماهی آمور، برای بررسی اثرات مزمن و طولانی مدت نانو ذرات TiO_2 ، با استفاده از نرم افزار SPSS 16 میزان مرگ و میر روزانه ماهی ها ثبت شد. در این راستا از دو غلظت ۰/۱ و ۰/۱۰ ppm نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم استفاده شده است.

- فاکتورهای خونی

ابتدا داده ها از طریق آزمون کولموگروف-اسمیرنف، برای نرمال بودن مورد بررسی قرار گرفت. این داده ها شامل RBC (تعداد گلبول قرمز)، WBC (تعداد گلبول سفید)، PCV (هماتوکریت)، MCV (حجم 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 تیمارها از آزمون ANOVA یک طرفه استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها (۰/۱ و ۰/۱۰ ppm) با گروه شاهد از آزمون Dunnett و LSD استفاده شد [۸]. در جدول شماره ۲ شاخص های خونی ماهی آمور، در معرض غلظت تحت کشنده در مقایسه با نمونه های شاهد آمده است



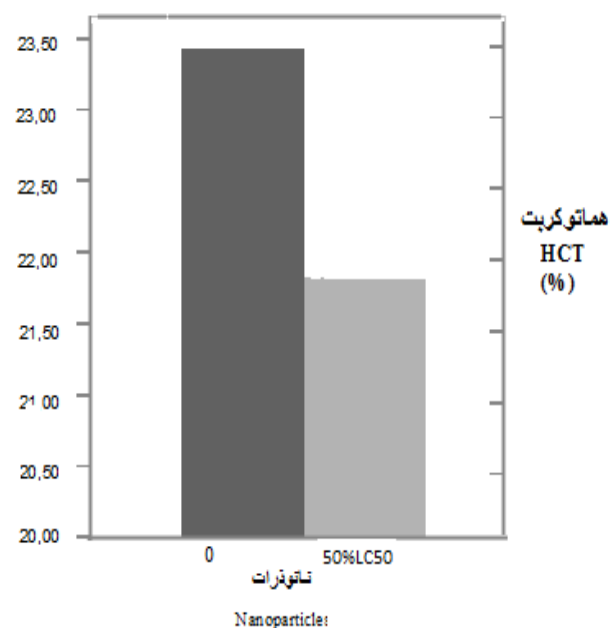
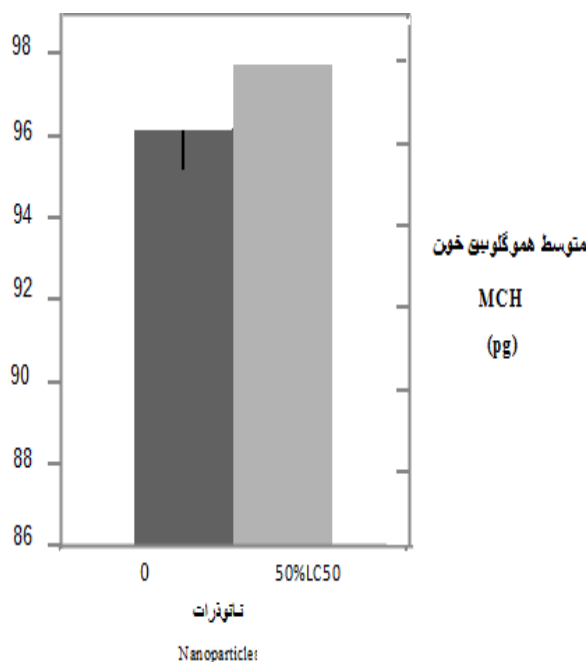
شکل ۲- تغییرات در هموگلوبین خون نمونه شاهد و ماهی آمور در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز (گرم بر دسی لیتر)



شکل ۳- تغییرات تعداد گلبول قرمز خون یک میلیون برابر شده (میکرولیتر) نمونه شاهد و ماهی آمور در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز

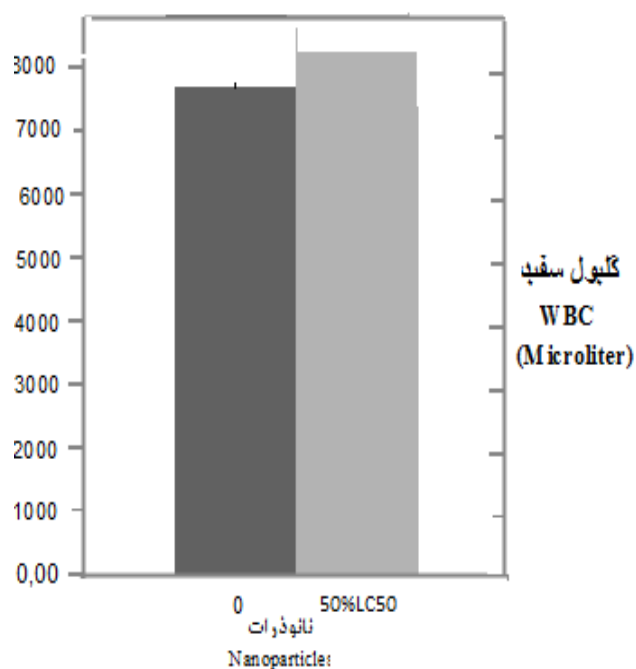
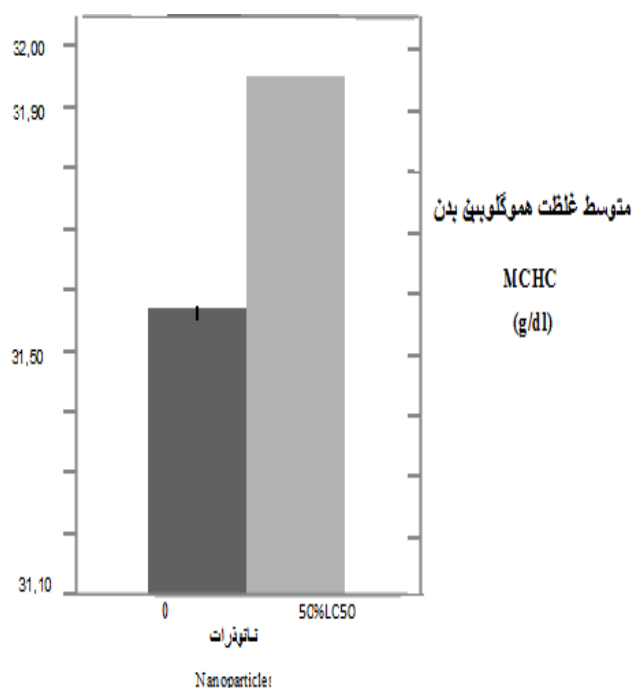
جدول ۲- شاخص های خونی ماهی آمور، در معرض غلظت تحت کشنده در مقایسه با شاهد

مقدار	میانگین غلظت قسمت در میلیون			
	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ۴
LC1	9641/1±2	7484/1±65	3503/0±11	2996/0±92
LC10	14146/1±59	12001/1±90	8670/0±11	7275/0±42
LC30	17411/1±72	15275/1±60	12414/0±57	10375/0±99
LC50	19673/1±14	17542/1±91	15007/0±98	12834/0±44
LC70	21934/1±69	19810/1±21	0±17601	14670/0±89
LC90	25199/1±69	23083/1±81	21345/0±85	17771/0±47
LC99	29705/1±26	27601/1±19	26512/0±85	22049/0±97



شکل ۶- تغییرات MCH خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز (بر حسب پیکو گرم)

شکل ۴- تغییرات هماتوکریت خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز

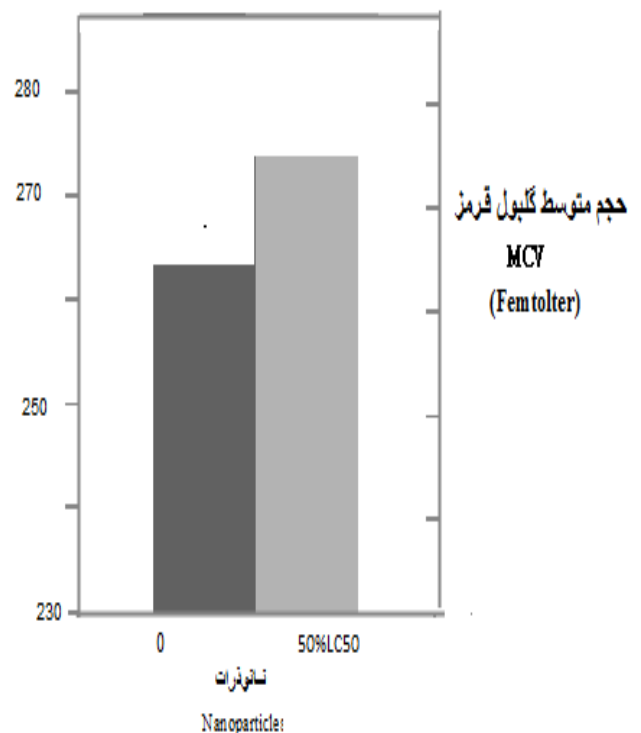


شکل ۷- تغییرات MCHC خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز (بر حسب گرم بر دسی لیتر)

شکل ۵- تغییرات گلبول سفید در خون ماهی آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز بر حسب میکرولیتر

در آب استفاده نمود (Atef & Atter, 2005). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، در تماس ماهی با غلظت‌های بالا از نانو ذرات نقره AgNPs (۵ ppm و ۲/۵ ppm)، رفتار غیر عادی در شناوری، عدم تعادل و سخت شدن کلاهیک آبششی و مرگ و میر مشاهده می‌شود [۱۸]. براساس همان تحقیق، در مدت ۱۴ روز، غلظت ۰/۲ 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 گلبول‌های 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 جداسازی و لیفتینگ اپیتلیال باشد تعداد گلبول‌های 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) گلبول‌های قرمز و افزایش میانگین حجم جسمی (Mean Corpuscular Volume) یا MCV را در پی دارد [۲۰]. یون‌های فلزی موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت می‌شود که این سازگاری به منظور جذب بیشتر اکسیژن انجام می‌شود زیرا این یون‌ها 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 گلبول‌های قرمز و کاهش سنتز Hb می‌تواند 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 گلبول‌های 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 قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) با نانو ذرات TiO_2 تأثیر معنی‌داری در تعداد RBC، WBC، PCV و Hb مشاهده نشده است. بنابراین پاسخ شاخص‌های 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 rohita* در طی ۷ روز بررسی شده است، این نتایج



شکل ۸- تغییرات MCV خون ماهی‌آمور شاهد و در معرض نانو ذرات بعد از ۷ روز (بر حسب فمتولیتتر)

بحث

در بیشتر تیمارهایی که ماهی‌آمور در معرض غلظت تحت کشنده نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم قرار گرفت، تعداد گلبول‌های سفید نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است که این با دستاوردهای پژوهش زارچی (۱۳۹۰) همخوانی دارد. نتایج نشان می‌دهد که نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در مدت ۱۴ روز در سلول‌های خونی ماهی تغییراتی ایجاد می‌کند و این تغییرات در گلبول‌های سفید معنی‌دار است و البته این تغییرات شامل کاهش تعداد گلبول‌های قرمز نیز بوده است. افزایش گلبول‌های 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 خون‌شناسی 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 آلاینده‌های محیطی، شاخص‌های مختلفی مانند شاخص‌های خون‌شناسی در ماهی قابل استفاده است. پارامترهای غیر طبیعی خون، نشانگر تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب است. بنابراین از ماهی می‌توان به عنوان یک شاخص هشدار دهنده در تشخیص حضور نامطلوب آلاینده

- [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 Toxicology*, 84: 415-430.

بیانگر آن است که تنها در غلظت ۲۵ ppm، کاهش WBC، RBC، Hb نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود و در غلظت ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰، این فاکتورها افزایش یافته است، از این نتایج می‌توان 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 شاخص‌های هماتولوژی عروس ماهی زاینده رود مورد بررسی قرار گرفت. ماهی‌ها به مدت ۱۰ روز در تماس با نانو ذرات نقره و نیترات نقره قرار گرفت. در پایان، شاخص‌های خون‌شناسی شامل تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، محتوای هموگلوبین گلیولی (MCH) و اندازه حجمی گلبول (MCV) بررسی شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های اولیه و ثانویه خون‌شناسی ماهی‌ها وجود دارد. بیشترین مقدار هماتوکریت و هموگلوبین در غلظت ۲۵ µg/L نیترات نقره دیده شده است [۲۶]. تعداد گلبول قرمز در غلظت ۲۵ µg/L از نانو ذرات نقره کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. به جز در غلظت متوسط هموگلوبین بدن (MCHC)، در دیگر فاکتورهای ثانویه، تفاوت‌های معنی‌داری با شاهد وجود دارد (راکی و همکاران، ۱۳۹۴).

اندام آبشش در ماهی‌ها، 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 می‌شود 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 ماهی‌هاست. با توجه به این‌که نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم اثر معنی‌داری بر فاکتورهای خونی این گونه از ماهی داشت، می‌توان به طور یقین اظهار داشت که در غلظت‌های کم، بررسی فاکتورهای خونی، شاخص مناسبی برای ارزیابی میزان آسیب در این گونه است. همچنین این آسیب‌ها ممکن است منجر به مرگ ماهی نشود، اما می‌تواند اختلالاتی در زندگی ماهی ایجاد نماید.

تعارض منافع

نویسنده اعلام می‌دارد که هیچگونه تعارض منافی 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.

- 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, 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. *European 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 gibel carp (*Carassius auratus langsdorffii*): 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 cephadrine and vildagliptin. Antibiotics, 7(4): 100.

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 می گردد:



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.