

The effect of sub-acute concentration of nano-zinc oxide (ZnO NPs) on hematological indices of Common carp (*Cyprinus carpio*)

Aliakbar Hedayati^{1*}, Abdolreza Jahanbakhshi²,
Mohammad Moradzadeh³

1. Assistant Professor, Basij Square, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
 2. PhD Student, Basij Square, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
 3. Graduated in MSc, Basij Square, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- (Received: May 7, 2015; Accepted: Aug. 23, 2015)

Abstract

In respect to nano-technological studies and physiological and biochemical lesions of these materials on aquatic animals, in this study we examine the toxicity effects of nano-zinc oxide (ZnO NPs) on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*). LC50 of nano zinc oxide was determined according to the mortality at 24, 48, 72 and 96 hours, respectively. During separate experiment based on the LC50 levels, hematological parameters were studied with induction of the sub-lethal concentrations of nano zinc oxide. In this study, lethal toxicity concentration of nano-ZnO (LC50) for common carp was 3.120 ± 0.23 ppm. when the fish were exposed to sub lethal concentrations (50% of LC50) for 7 days, the results showed that the nano-particles causes various changes in the blood parameters of the fish that these changes was affected by the nano-particles in blood indices by reducing the level of red blood cells (RBC), Hemoglobin, Hematocrit and increase in white blood cells (WBC) ($P < 0.05$). In comparison of fish exposed to sub-lethal concentrations of the nano-particles compared to the control group MCHC showed a significant increase ($P < 0.05$) but during experiment MCV and MCH didn't show significant changes ($P > 0.05$) in the exposed nano-ZnO. The results of this study showed that the sub-lethal toxicity of nano-particles could have a negative impact on hematological indices of Common carp, so we should prevent the entrance of such substances to the aquatic ecosystems.

Keywords: Aquatic animal, Heavy metal, Hematology, Lethal Toxicity.

بررسی سمیت تحت کشنده نانو اکسید روی (ZnO NPs) بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

سید علی اکبر هدایتی^{۱*}، عبدالرضا جهانبخشی^۲،
محمد مرادزاده^۳

۱. استادیار، گرگان، میدان بسیج، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
 ۲. دانشجوی دکتری تخصصی، گرگان، میدان بسیج، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
 ۳. کارشناسی ارشد، گرگان، میدان بسیج، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱، تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۶/۱)

چکیده

با توجه به شتاب روز افزون نانو تکنولوژی در کشور و اختلالات احتمالی فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در بدن موجودات زنده، در این تحقیق تأثیر سمیت تحت کشنده نانو اکسید روی (ZnO NPs) بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا با تعیین دامنه‌ای از غلظت‌های نانو اکسید روی به منظور تعیین LC₅₀^۱ تلفات ماهیان کپور معمولی در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد. سپس با توجه به میزان LC₅₀ آزمایش جداگانه‌ای طراحی شد و با القای غلظت تحت کشنده این ماده شاخص‌های خون‌شناسی ماهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج غلظت سمیت کشنده (LC₅₀) نانو اکسید روی برای ماهی کپور معمولی 3.120 ± 0.23 ppm بدست آمد. هنگامی که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده (۵۰٪ غلظت LC₅₀) به مدت ۷ روز قرار گرفتند، نانو ذرات روی موجب تغییرات در پارامترهای خونی ماهی قرمز شد که این تغییرات در شاخص‌های خونی با کاهش سطح گلبول قرمز^۲، هموگلوبین و هماتوکریت در تیماری که تحت تأثیر نانو ذرات روی قرار داشت، همراه بود ($P < 0.05$) و افزایش گلبول‌های سفید^۳ در تیماری که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده نانو ذرات روی بودند نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$). MCHC^۴ در تیماری که در معرض نانو اکسید روی قرار داشت افزایش معناداری را نشان داد ($P < 0.05$)، در حالی که شاخص‌های MCV^۵ و MCH^۶ در طی آزمایش فاقد تغییرات معنادار بودند ($P > 0.05$). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سمیت تحت کشنده نانو ذرات روی می‌تواند بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی تأثیر منفی داشته باشد، لذا باید از ورود این گونه مواد به اکوسیستم آبی جلوگیری نمود.

واژه‌های کلیدی: فلزات سنگین، سمیت کشنده، ماهی کپور، نانو تکنولوژی.

E-mail: hedayati@gau.ac.ir

* نویسنده مسئول:

1. Lethal Concentration
2. Red Blood Cell- RBC
3. White Blood Cell- WBC
4. Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
5. Mean Corpuscular Volume
6. Mean Corpuscular Hemoglobin

مقدمه

در آب‌های سراسر جهان ۲۲۰ جنس و ۲۴۲۰ گونه از کپورماهیان وجود دارد که در رودخانه‌ها، مصب‌ها، دریاها و مناطق گوناگون پراکنده‌اند. خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) بزرگترین و یکی از مهمترین خانواده‌های ماهی‌های آب شیرین است و تقریباً تمام اعضای آن متعلق به آب شیرین بوده و در صورت زندگی در آب لب شور، برای تولیدمثل نیازمند ورود به آب شیرین هستند. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با نام لاتین Common carp سر سلسله خانواده کپور ماهیان می‌باشد که جز قدیمی‌ترین گونه از ماهیان اهلی شده جهت پرورش بوده است (Baloon, 2006). نوع بومی وحشی آن با نام سازان در آب‌های جنوبی دریای خزر مشاهده می‌شود و نوع پرورشی آن در سراسر کشور پرورش می‌یابد (Ghelichi et al., 2009). از میان عمده‌ترین کشورهای که به پرورش کپورماهیان مشغولند می‌توان چین، هند، بنگلادش، اندونزی، میانمار و ایران را نام برد.

در عصر کنونی نانو ذرات به دلیل خاصیت ضد میکروبی کاربردهای گسترده‌ای دارند. فناوری نانو در معنای ساده استفاده از مواد و ساختارهای در مقیاس نانو حداقل در یک بعد ۱-۱۰۰ نانومتر است. توانایی دست‌کاری مواد در چنین مقیاس اتمی و مولکولی کوچکی، سبب کاربرد وسیع این علم در شیمی، زیست‌شناسی، فیزیک، داروسازی و علوم مهندسی شده است. نانو مواد عمدتاً نسبت به مواد با ترکیبات مشابه، تفاوت معنی‌داری در خصوصیات منحصر به فرد فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی نشان می‌دهند (Masciangioli & Zhang, 2003). از آنجایی که نانو ذرات در حین تولید و در زمان استفاده در وسایل گوناگون امکان جدایی و انتشار دارند، لذا همیشه محیط‌های آبی در معرض خطرات ناشی از آلودگی این مواد قرار داشته که در دراز مدت منجر به افزایش مرگ و میر بین آبزیان مقیم در آنان خواهد گردید (Liu et al., 2009).

اکوسیستم‌های آبی به طور مستقیم و غیرمستقیم تحت تأثیر آلاینده‌های آبی قرار دارند. از آنجایی که ماهی‌ها در تماس مستقیم با محیط‌های آبی قرار دارند، بنابراین نسبت به تغییرات فیزیکی و شیمیایی حساسند. از این‌رو تحقیقات اکولوژیک و بیولوژیک برای تعیین اثر مواد غیرطبیعی بر حیات محیط زیست در سال‌های اخیر افزایش داشته است و هر گونه تغییر فیزیولوژیکی ممکن است پارامترهای خونی را تحت تأثیر قرار دهد. انواع گونه‌های ماهی با تغییر و یا اصلاح عملکرد متابولیک خود نسبت به ورود ترکیبات آلاینده واکنش نشان می‌دهند.

حساسیت گونه‌های مختلف ماهی به مواد سمی متفاوت، متغیر است. از این‌رو آزمایش‌های سم‌شناسی بر روی ماهیان مختلف صورت می‌گیرد. برای ارزیابی میزان سمیت آلاینده‌های محیطی شاخص‌های فیزیولوژیکی متفاوتی در ماهی‌ها وجود دارد که از جمله آنها خون‌شناسی است. خون‌شناسی ارزیابی کاملی از سلامتی موجود زنده فراهم می‌کند و به طور مؤثری اثرات مواجهه با آلاینده‌های محیطی را انعکاس می‌دهد. شاخص‌های خونی پارامترهای بسیار مهمی برای ارزیابی شرایط فیزیولوژیکی ماهی می‌باشند و با گونه، سن، چرخه بلوغ جنسی مولدین و بیماری‌ها تغییر می‌کند (Luskova, 1997). پارامترهای خون‌شناسی اطلاعات گسترده‌ای را در مورد واکنش‌های فیزیولوژیک در مقابله با تغییرات محیط خارج در اختیار محققین قرار می‌دهند.

شتاب روز افزون نانو تکنولوژی و تولید مواد و وسایل نانو ساخت موجب راه‌یابی و نفوذ بسیاری از نانو ذرات به درون طبیعت و اکوسیستم‌های آن شده که نتیجه نهایی آن در بیشتر موارد، اختلالات متعدد فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در بدن موجودات زنده مقیم آن نواحی می‌باشد. از آنجایی که کشورمان در زمینه فناوری نانو و کاربرد این علم در صنایع مختلف از کشورهای پیشرو می‌باشد، لذا در این تحقیق تأثیر سمیت تحت کشنده نانو اکسید روی (ZnO NPs) بر

اختلال در تهیه سرم مطلوب نگردد، داخل لوله‌های هپارینه و غیرهپارینه ریخته شد و به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه خون‌شناسی تعداد گلبول‌های سفید، هموگلوبین و درصد هماتوکریت سنجیده می‌شوند.

شمارش گلبول‌های قرمز و گلبول سفید
تعداد کل گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از پیت ملائزورهای قرمز و سفید، لام نئوبار و محلول‌های رقیق‌کننده گاور و تورک شمارش گردیدند (Blaxhall & Daisley, 1973). جهت شمارش گلبول‌های قرمز مقدار ۰/۵ میلی‌گرم از نمونه خون را به داخل پیت ملائزور قرمز کشیده و برای رقیق کردن از محلول گاور استفاده شد. سپس تعداد گلبول‌های قرمز با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ شمارش گردید. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از پیت ملائزور سفید، لام نئوبار و محلول‌های رقیق‌کننده گاور و تورک شمارش می‌گردند (Blaxhall & Daisley, 1973). برای شمارش گلبول‌های سفید مقدار ۰/۵ میلی‌گرم از نمونه خون را به داخل پیت ملائزور سفید کشیده و برای رقیق کردن از محلول تورک استفاده شد. تعداد گلبول‌های سفید نیز با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ شمارش گردید.

محاسبه اندیس‌های خونی

اندیس‌های خونی شامل شاخص‌های میانگین حجم گلبول MCV، میانگین هموگلوبین گلبول MCH و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول MCHC می‌باشد که با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (Blaxhall & Daisley, 1973):

$$M.C.V = \frac{HCT (\%) \times 10}{RBC}$$

$$M.C.H = \frac{Hb (gr \%) \times 10}{RBC}$$

$$M.C.H.C = \frac{100}{HCT}$$

شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تعیین غلظت تحت کشنده

این تحقیق در آذر ماه سال ۱۳۹۱ در یک کارگاه خصوصی در شهر گرگان شروع شد. ماهی کپور معمولی به عنوان مدل جانوری در قالب یک طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید و برای انجام این آزمایش از بچه ماهی کپور معمولی با طول کل $7/36 \pm 0/30$ سانتی‌متر استفاده شد. برای تعیین LC_{50-96h} نانو ذرات روی ۱۰۵ ماهی کپور معمولی در تانک‌های فایبر گلاس ۴۰۰ لیتری جهت آداپته شدن نگهداری شدند. بعد از گذشت دوره آداپتاسیون ماهیان به طور تصادفی در آکواریوم‌های ۶۰ لیتری تقسیم شدند و غلظت‌های مختلف نانو ذرات (۸، ۴، ۲، ۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) روی هر آکواریوم اضافه گردید، در هر تیمار ۷ قطعه ماهی و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. تمامی ماهیان به مدت ۹۶ ساعت در غلظت‌های مورد نظر نگهداری شده و میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد. با استناد به نتایج حاصل از تعیین LC_{50} برای هر یک از نانو ذرات (گزارش منتشر نشده نویسندگان)، تیمار تحت کشنده و یک تیمار شاهد در نظر گرفته شد و از بچه ماهیان کپور معمولی به تعداد ۱۰ قطعه در هر تکرار در معرض غلظت تحت کشنده قرار گرفت.

آزمایشات خونی

نمونه‌های خون در بچه ماهیان کپور معمولی بعد از ۷ روز قرارگیری در معرض غلظت تحت کشنده (۵۰٪ غلظت LC_{50}) نانو اکسید روی به همراه بچه ماهیانی که در معرض نانو مواد نبودند (شاهد)، برداشت شد. نمونه‌گیری خون در بچه ماهیان بوسیله قطع ساقه دم و بدون فشار و به آرامی، به صورتی که منجر به شکسته شدن گلبول‌های قرمز و لیز شدن خون و

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های مربوط به آنالیزهای مختلف به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده است. اختلاف بین این داده‌ها و مقایسه میانگین نمونه‌ها در تیمارهای مختلف با آنالیز واریانس یکطرفه با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS 16 انجام و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها، از آزمون چند دامنه دانکن استفاده گردید و اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

تعیین میزان سمیت کشنده نانو ذرات روی بر بچه ماهی کپور معمولی

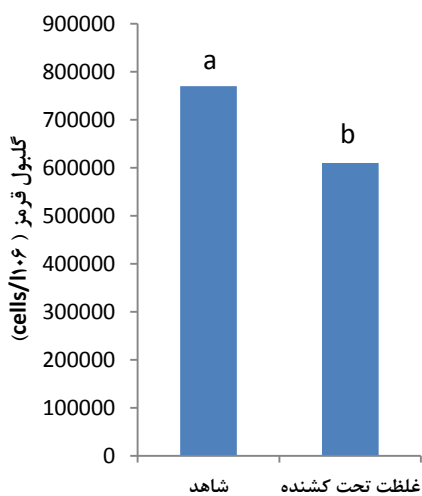
پس از انجام آزمایشات، میزان سمیت نانو ذرات روی برای بچه ماهی کپور معمولی $3/12 \pm 0/23$ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد. غلظت ایجادکننده ۱ درصد تلفات، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۹ درصد تلفات بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مجاورت با نانو ذرات روی بر اساس خروجی آنالیز نرم‌افزار SPSS برای بچه ماهی کپور معمولی در جدول ۱ مشخص گردید.

شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی ماهیان

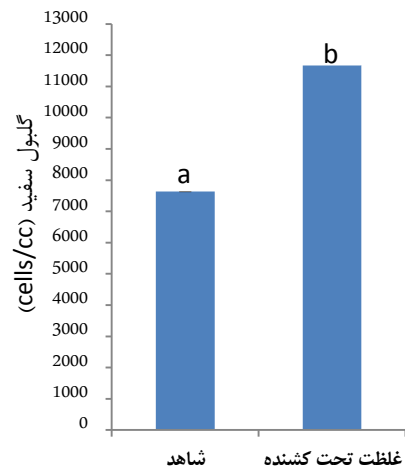
تغییرات ایجادشده در پارامترهای هماتولوژیک ماهیان قرارگرفته در معرض غلظت تحت کشنده (۱/۵۶ میلی‌گرم بر لیتر) از نانو اکسید روی به مدت ۷ روز در نمودارهای نشان داده شده‌اند. نتایج نشان داد که نانو ذرات موجب تغییرات در پارامترهای خونی می‌گردد که این تغییرات در شاخص‌های خونی با کاهش سطح گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تیماری که تحت تأثیر نانو ذرات روی قرار داشت، همراه بود ($P < 0.05$). افزایش گلبول‌های سفید در تیماری که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده نانو اکسید روی بودند نسبت به گروه ماهیان شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$). در واقع هرچه غلظت نانو اکسید روی افزایش یافت، مقادیر گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین کاهش یافته و گلبول سفید دچار افزایش نسبت به گروه شاهد شدند. MCHC در تیماری که در معرض نانو اکسیدروی قرار داشت افزایش معناداری را نشان داد ($P < 0.05$). MCV و MCH در طی آزمایش فاقد تغییرات معنادار بودند ($P > 0.05$). تغییر غیر معنی‌دار ($P > 0.05$).

جدول ۱. غلظت ایجادکننده ۱۰ درصد تلفات، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۹ درصد تلفات بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مجاورت با نانو ذرات روی برای بچه ماهی کپور معمولی

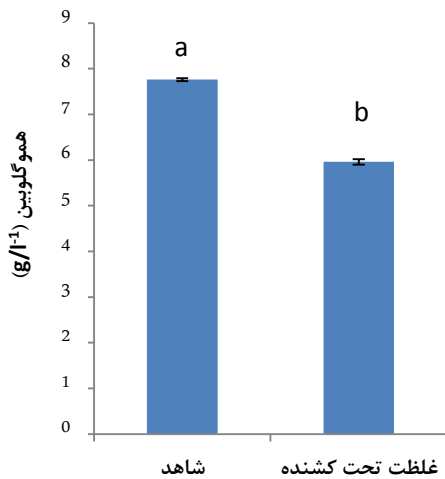
غلظت کشنده	غلظت (ppm) (سطح اطمینان ۹۵٪)			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
LC1	$3/066 \pm 12/20$	$0/546 \pm 0/45$	-	-
LC10	$3/843 \pm 12/20$	$2/465 \pm 0/45$	$1/352 \pm 0/27$	$0/736 \pm 0/23$
LC30	$4/405 \pm 12/20$	$3/855 \pm 0/45$	$2/890 \pm 0/27$	$2/145 \pm 0/23$
LC50	$4/795 \pm 12/20$	$4/818 \pm 0/45$	$3/955 \pm 0/27$	$3/120 \pm 0/23$
LC70	$5/185 \pm 12/20$	$5/780 \pm 0/45$	$5/021 \pm 0/27$	$4/096 \pm 0/23$
LC90	$5/747 \pm 12/20$	$7/170 \pm 0/45$	$6/559 \pm 0/27$	$5/505 \pm 0/23$
LC99	$6/524 \pm 12/20$	$9/089 \pm 0/45$	$8/681 \pm 0/27$	$7/449 \pm 0/23$



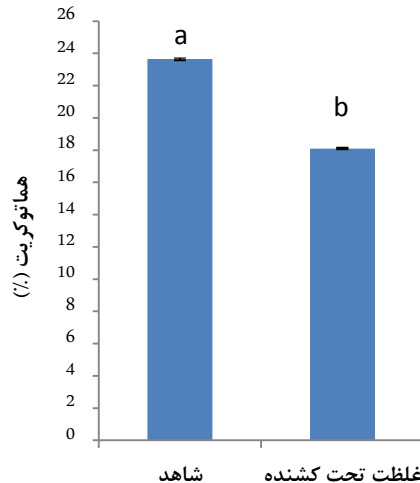
تغییرات میزان گلبول قرمز خون ماهی کپور معمولی پس از ۷ روز زمان قرارگیری در مجاورت نانو روی. تغییر معنی دار ($P < 0.05$).



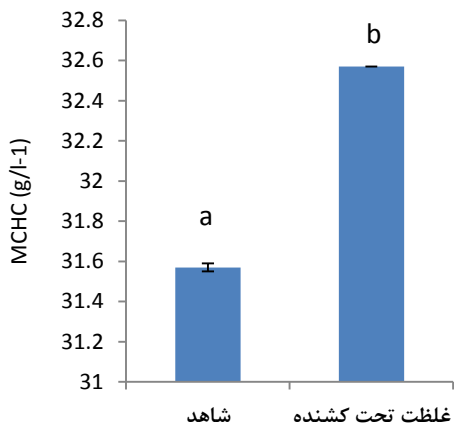
تغییرات میزان گلبول سفید خون ماهی کپور معمولی پس از ۷ روز زمان قرارگیری در مجاورت نانو روی. تغییر معنی دار ($P < 0.05$).



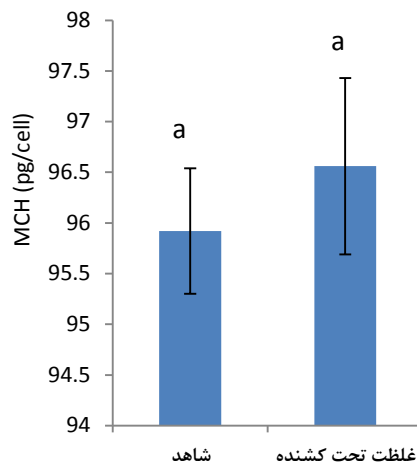
تغییرات میزان هموگلوبین خون ماهی کپور معمولی پس از ۷ روز زمان قرارگیری در مجاورت نانو روی. تغییر معنی دار ($P < 0.05$).



تغییرات میزان هماتوکریت خون ماهی کپور معمولی پس از ۷ روز زمان قرارگیری در مجاورت نانو روی. تغییر معنی دار ($P < 0.05$).

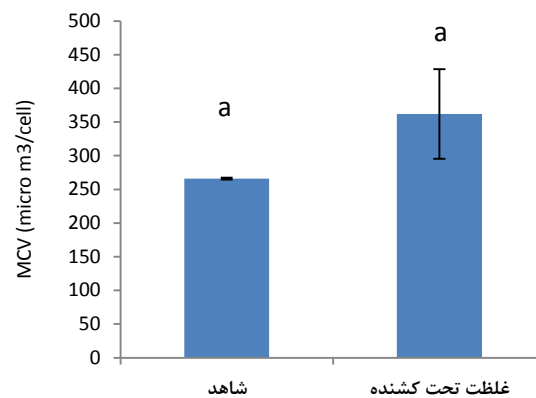


تغییرات میزان MCHC خون ماهی کپور معمولی پس از ۷ روز زمان قرارگیری در مجاورت نانو روی. تغییر معنی دار ($P < 0.05$).



تغییرات میزان MCH خون ماهی کپور معمولی پس از ۷ روز زمان قرارگیری در مجاورت نانو روی. تغییر غیر معنی دار ($P > 0.05$).

شکل ۱. تغییرات شاخص‌های هماتولوژیک بچه ماهی کپور معمولی پس از مجاورت با نانو ذرات روی



تغییرات میزان MCV خون ماهی کپور معمولی پس از ۷ روز زمان قرارگیری در مجاورت نانو روی. تغییر غیر معنی‌دار ($P > 0.05$).

ادامه شکل ۱. تغییرات شاخص‌های هماتولوژیک بچه ماهی کپور معمولی پس از مجاورت با نانو ذرات روی

بحث و نتیجه گیری

امروزه آلودگی‌های ناشی از نانوذرات به عنوان مساله‌ای جدید و خطرناک مطرح شده است (Zhang *et al.*, 2010). هر چند استفاده از نانوذرات بسیار کمتر از سایر مواد با اثرات مشابه به محیط زیست آسیب و بهداشت انسانی را تهدید می‌کند (Sharma *et al.*, 2009). اما ماندگاری نانوذرات اکسید فلزی در محیط و زنجیره غذایی زیاد می‌باشد، که تداوم مسمومیت‌های ناشی از آنها را به دنبال دارد (Peter *et al.*, 2004; Janardana, 2014). در پژوهش حاضر اثر سمیت نانوذرات روی که در صنایع مختلف کاربرد دارد بررسی شده است چرا که مصرف بیشتر احتمال بالاتری برای ورود به محیط زیست را در پی خواهد داشت.

در این تحقیق غلظت سمیت کشنده (LC_{50}) برای ماهی کپور معمولی $3/120 \pm 0/23$ ppm به دست آمد و هنگامی که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده به مدت ۷ روز قرار گرفتند، نتایج نشان داد که نانو ذرات موجب تغییرات در پارامترهای خونی می‌گردد که این تغییرات در شاخص‌های خونی با کاهش میزان گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تیماری که تحت تأثیر نانو ذرات روی قرار داشت، همراه بود. افزایش گلبول‌های سفید در تیماری که

ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده نانو اکسید روی بودند نسبت به گروه ماهیان شاهد مشاهده شد. در واقع هر چه غلظت نانو اکسید روی افزایش یافت، مقادیر گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین کاهش یافته و گلبول سفید دچار افزایش نسبت به گروه شاهد شدند. نتایج بسیاری از تحقیقات در کل نشان‌دهنده سمیت نانو ذرات اکسید روی و اثرات منفی آن بر روی موجودات و سلول‌های هدف است (Jones *et al.*, 2008). در تحقیق Lebedeva *et al.* (1998) دریافتند که کاهش چشمگیر تعداد گلبول‌های قرمز خون و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت را که منجر به کم خونی ماکروسیتیک در *Heteropeustes fossilis* در اثر تماس با روی می‌شود رخ می‌دهد. این نتایج همچنین نشان‌دهنده تغییرات منفی است که در ماهی در حال رخ دادن است. کاهش هموگلوبین در ماهیانی که در مجاورت آلاینده‌ها قرار می‌گیرند، می‌تواند به علت تأثیر بازدارندگی ماده سمی در سیستم آنزیمی باشد که مسئول سنتز هموگلوبین است و نتیجه کاهش سنتز هموگلوبین است. کاهش تعداد سلول‌های قرمز خونی و مقدار هموگلوبین یکی از شاخص‌های بارز کم خونی در جانوران می‌باشد. کاهش مقدار هموگلوبین و هماتوکریت، می‌تواند در پی کاهش و اندازه

اکسیژن است. میزان MCV و MCHC در ظرفیت انتقال اکسیژن نقش دارد (Wells & Baldwin, 1990). در تعیین MCHC، میزان هموگلوبین و هماتوکریت نقش دارند. هنگامی که ماهی فعال باشد، میزان هموگلوبین و هماتوکریت آن افزایش یافته، در نتیجه میزان MCHC افزایش می یابد. به طور کلی در ماهیان مانند سایر جانوران، پارامترهای خون شناسی نشانه‌ای از وضعیت فیزیولوژیک ماهی است. از آنجاکه میزان هماتوکریت وابسته به اندازه و تعداد سلول‌های قرمز خون است، تغییر در اندازه و تعداد سلول‌های قرمز موجب تغییر در میزان هماتوکریت می‌شود و به عبارت دیگر هرچه تعداد و اندازه سلول‌های قرمز بیشتر شود، میزان هماتوکریت بیشتر می‌گردد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سمیت تحت کشنده نانوذرات روی می‌تواند بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی تأثیر منفی داشته باشد، لذا باید از ورود این گونه مواد به اکوسیستم آبی جلوگیری نمود.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب طرح پژوهشی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. بدینوسیله از اساتید و همکاران محترم دانشکده شیلات و محیط زیست تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

- Balon, E.K.; (2006). The oldest domesticated fishes, and the consequences of an epigenetic dichotomy in fish culture. *Journal of Ichthyology and Aquatic Biology*; 11: 47-86.
- Blaxhall, P.C.; Daisley, K.W.; (1973). Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*; 5: 771-781.
- Ghelichi, A.; Akrami, R.; Bandani, G.; Jorjani, S.; (2009). Reproductive biology of female mature common carp in southeast of Caspian sea (Miankaleh). *Iranian Journal of Natural Resources*; 3:197-208.
- Janardana, S.R.; (2014). Impact of chemathoate nutritional index of freshwater fish, *Cyprinus carpio*. *International Journal of Scientific and Research Publications*; 4(3): 2250-3153.
- Jones, N.; Ray, B.; Ranjit, K.T.; Manna, A.C.; (2008). Antibacterial activity of

گلبول‌های قرمز، تخریب گلبول‌های قرمز، خونریزی داخلی، کم‌خونی و مسمومیت رخ دهد (Munker *et al.*, 2007).

محققین در ارتباط با افزایش گلبول سفید در این این طور بیان نمودند که زمانی که ماهی در معرض استرس قرار گرفته توانسته است سیستم ایمنی خود را در مواجهه با آلاینده تقویت کند و با شرایط سازگار شود (Remyla *et al.*, 2008). در رابطه با هموگلوبین موجود در خون، سه پارامتر تنفسی دیگر شامل متوسط حجم سلول‌های قرمز (MCV)، متوسط میزان هموگلوبین در هر سلول قرمز خون (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین موجود در واحد حجمی از سلول‌های قرمز خون (MCHC) مطرح می‌گردد (Varadarajan *et al.*, 2014). MCHC در تیماری که در معرض نانو اکسیدروی قرار داشت، افزایش معناداری را نشان داد. همچنین MCV و MCH در طی آزمایش فاقد تغییرات معنادار بودند. در تعیین MCHC، میزان هموگلوبین و هماتوکریت نقش دارند. هنگامی که ماهی فعال باشد، میزان هموگلوبین و هماتوکریت آن افزایش یافته، در نتیجه میزان MCHC افزایش می‌یابد (Varadarajan *et al.*, 2014). متغیرهایی مانند گونه ماهی، جنس، سن، سیکل بلوغ جنسی، شرایط تغذیه‌ای، شرایط سلامت بدن و استرس می‌توانند پارامترهای هماتولوژی را تغییر دهند. MCHC شاخص مناسبی برای بررسی انتقال

- ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol Lett*; 279(1): 71-6.
- Lebedeva, NE.; Vosyliene, S.; Golovkina, V.; (1998). Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 40: 49-55.
- Liu, R.; Sun, F.; Zhang, L.; Zong, W.; Zhao, X.; Wang, L.; Wu, R.; Hao, X.; (2009). Evaluation on the toxicity of nano Ag to bovine serum albumin. *Science of the Total Environment*; 407: 4184-4188.
- Luskova, V.; (1997). Annual cycles and normal value of hematological parameters in fishes *Acta Science Vat Broon*; 31: 1-70.
- Masciangioli, T.; Zhang, W.; (2003). Environmental technologies at the nanoscale. *Environmental Science and Technology*; 37: 102-108.
- Munker, RE.; Hillwe, JG.; Paquette, R.; (2007). *Modern Hematology, Biology and Clinical Management*, Second Edition, Humna Pess Inc; 210-513.
- Peter, HH.; Irene, BH.; Oleg, VS.; (2004). Nanoparticles-known and unknown health risks. *Journal of Nano biotechnology*; 2(1): 12-27.
- Remya, SR.; Ramesh, M.; Sajwan, KS.; (2008). Senthil Kumar K, Influence of zinc on cadmium induced hematological and biochemical responses in a freshwater teleost fish *Catla catla*. *Fish Physiology and Biochemistry*; 34: 169-174.
- Sharma, VK.; Yngard, RA.; Lin, Y.; (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities, *Advances in Colloid and Interface Science*; 145: 83-96.
- Varadarajan, R.; Sankar, HS.; Jose, J.; Philip, B.; (2014). Sublethal effects of phenolic compounds on biochemical, histological and ionoregulatory parameters in a tropical teleost fish *Oreochromis mossambicus* (Peters). *International Journal of Scientific and Research Publication*; 4(3): 2250-3153.
- Wells, RMG.; Baldwin, J.; (1990). Oxygen transport potential in tropical reef fish with special reference to blood viscosity and haematocrit. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*; 141: 131-142.
- Zhang, XD.; Wu, HY.; Wu, D.; Wang, YY.; Chang, JH.; Zhai, ZB.; (2010). Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *International Journal of Nano medicine*; 5: 771-81.