



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

بهره‌برداری و پرورش آبزیان

جلد هشتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۸

۵۳-۵۹

<http://japu.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/japu.2019.14073.1411

بررسی اثرات غلظت‌های تحت‌کشنده نانولوله‌های کربنی چند جداره بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

خبات آذری^۱، جواد الله بیگی چمنجنگلی^۱، اباندر قاسمی^۱، *سید حسین حسینی‌فر^۲،

علی شعبانی^۳ و حامد پاک‌نژاد^۲

^۱کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

^۲استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

^۳دانشیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۲۲

چکیده

با توجه به گسترش روزافزون استفاده از نانوذرات صنایع و کارخانجات نگرانی‌های زیادی در مورد ورود پساب‌های آلوده این مراکز به اکوسیستم‌های آبی به وجود آمده است. مطالعه حال حاضر با هدف بررسی اثرات مواجهه با غلظت‌های تحت‌کشنده نانولوله‌های کربنی چند جداره بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور معمولی انجام شده است. بدین منظور تعداد ۱۵۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $2/10 \pm 20/12$ گرم تأمین شده و جهت سازگاری با محیط آزمایش به مدت ۲ هفته در تانکرهای نگهداری شدند. پس از طی دوره سازگاری ماهی‌ها به مدت چهار روز در سیستم ایستایی (قطع غذاهای، عدم تعویض آب، هوادهی مستمر) در معرض غلظت‌های تحت‌کشنده نانولوله‌های کربنی چند جداره عامل‌دار شده ۰، ۱، ۱۰ و ۳۲ میلی‌گرم بر لیتر قرار داده شدند. در طول دوره آزمایش تلفاتی در بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد. در پایان روز چهارم به صورت تصادفی از ماهیان هر تیمار خون‌گیری از ورید ساقه دمی به عمل آمد و شاخص‌های خونی در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این مطالعه افزایش معناداری در مقدار پروتئین کل در بین تمام تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد را نشان داد ($P < 0/05$). تغییرات مقادیر آلبومین سرم خون افزایش معناداری را در بین تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P < 0/05$). تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌ترین مقدار و تیمار شاهد دارای کم‌ترین مقدار بود. تغییرات مقادیر گلبولین سرم خون کاهش معناداری را در تیمار ۱۰ میلی‌گرم نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P < 0/05$). اختلاف معناداری در میزان گلوکز و آلکالین فسفاتاز در بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نگردید ($P > 0/05$). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت نانولوله کربنی چند جداره هم مانند سایر نانوذرات سبب بروز عوارض جدی هم‌چون، استرس شدید و اختلال در عملکرد شاخص‌های خونی از جمله آلبومین و گلبولین در ماهی کپور معمولی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: نانولوله کربنی چند جداره، گلوکز، آلبومین، گلبولین، ماهی کپور

* مسئول مکاتبه: hossein.hoseinifar@gmail.com

مقدمه

افزایش فعالیت کارخانه‌ها نگرانی‌های زیادی را در مورد ورود پساب‌های خروجی این مراکز به اکوسیستم‌های آبی به وجود آورده است (ایسانی و همکاران، ۲۰۰۳). موجودات ساکن در این اکوسیستم‌ها شدیداً در معرض خطرات مستقیم و یا غیرمستقیم این دست آلودگی‌ها قرار دارند. از آنجایی که ماهیان و دیگر موجودات دریایی به‌عنوان بخش مهمی از منابع تأمین پروتئین جوامع بشری شناخته می‌شوند، توجه به مسائل زیست‌محیطی و بهداشتی آن‌ها باید مورد توجه قرار گیرد (ساولانین و همکاران، ۲۰۱۰؛ سیماته و همکاران، ۲۰۱۲). استفاده از نانو فناوری به‌عنوان یکی از فناوری‌های جدید و پیشرفته در شاخه‌های مختلف علوم در حال افزایش است (وی، ۲۰۰۵). از این دست فناوری‌ها می‌توان به استفاده از نانولوله‌های کربنی (Carbon nano tubs) اشاره کرد. CNTS ها در واقع صفحات گرافیتی بوده که بر اساس تعداد لایه‌های اتم کربن در دیواره به نانولوله‌های تک‌جداره یا چندجداره تقسیم می‌شوند (رن و همکاران، ۲۰۱۱). این مواد به‌دلیل داشتن خصوصیتی از جمله ساختار توخالی، منافذ زیاد و توانایی برهم‌کنش قوی با مولکول‌های آلاینده می‌توانند به‌عنوان جاذب فلزات سنگین، مواد آلی و معدنی (بینا و همکاران، ۲۰۱۱) در فرآیند تصفیه آب به‌عنوان فیلتر (گوران و همکاران، ۲۰۱۰) استفاده شوند. علی‌رغم کاربرد فراوان در حوضه‌های مختلف صنعت و همچنین اهمیت این مواد در فرآیند تصفیه آب، عدم حلالیت و تشکیل رسوب در بستر که می‌تواند موجب مسمومیت شدید در آبزیان گردد، به‌عنوان چالشی جدی در استفاده از این مواد مطرح شده است (کوسینی و همکاران، ۲۰۱۰).

کیپور معمولی از رده ماهیان استخوانی و متعلق به خانواده Cyprinidae یک از گونه‌های مهم

پرورشی بوده و نقش مهم را در افزایش میزان تولید جهانی آبزیان ایفا می‌کند. ورود نانو ذرات به بدن آبزیان می‌تواند از طریق راه‌های مختلف صورت گیرد که بروز بیماری و تغییرات ساختاری در ماهیان را سبب می‌شود (فاتما و همکاران، ۲۰۰۹). از آنجایی که خون در بسیاری از فعالیت‌های متابولیسمی بدن موجودات نقش مهمی ایفا می‌کند بررسی‌های خون‌شناسی می‌تواند، ارزیابی دقیقی از وضعیت فیزیولوژیکی ماهیان (سولداتو، ۲۰۰۵) و میزان آلودگی اکوسیستم‌های آبی را نشان دهد (تریگون و همکاران، ۲۰۰۲). نتایج بررسی هدایتی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دهنده استفاده از نانو اکسید روی در ماهی کیپور معمولی کاهش گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت را در پی داشته است. همچنین سبب افزایش گلبول سفید و MCHC می‌شود. نتایج بررسی‌های مشابه نیز آسیب‌رسانی نانولوله‌های کربنی چندجداره بر اندام‌های حیاتی ماهیان را نشان می‌دهد. با توجه به نتایج مطالعات و اهمیت استرس در بحث ایمنی و تغذیه ماهی این مطالعه به بررسی اثرات غلظت‌های تحت کشنده نانولوله‌های کربنی چندجداره بر گلوکز به‌عنوان شاخص استرس همچنین آلبومین و گلبولین به‌عنوان شاخص‌هایی از میزان کارایی سیستم ایمنی در ماهی کیپور معمولی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حال حاضر در زمستان ۱۳۹۵ در سالن شهید ناصر فضل برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تعداد ۱۵۰ قطعه بچه‌ماهی کیپور معمولی با میانگین وزنی $2/10 \pm 20/12$ انتخاب‌شده و به مدت ۲ هفته جهت آدپتاسیون با محیط آزمایش در تانکرهای ۱۲۰ لیتری نگهداری

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های مربوط به آنالیزهای مختلف به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شد. اختلاف بین این داده‌ها و مقایسه میانگین نمونه‌ها در تیمارهای مختلف با آنالیز واریانس یک‌طرفه و با برنامه نرم‌افزار SPSS 16 انجام در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها، از آزمون چند دامنه دانکن استفاده گردید و اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ ($P < 0.05$) بیان شد. محاسبه هر یک از مقادیر پروتئین کل، گلوکز، آلبومین، آلکالین فسفاتاز با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 انجام گرفت.

نتایج

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون: تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرم خونی ماهی کپور معمولی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده نانولوله‌های کربنی چندجداره به مدت ۴ روز و مقایسه آن با تیمار شاهد در جدول ۱ آمده است. مطابق این جدول افزایش معناداری در مقدار پروتئین کل در بین تمام تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$). تغییرات مقادیر آلبومین سرم خون تفاوت معناداری را در بین تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$). تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌ترین مقدار و تیمار شاهد دارای کم‌ترین مقدار بودند همچنین تیمار ۱ و ۳۲ میلی‌گرم حد واسط تیمارهای آزمایشی بودند. تغییرات مقادیر گلبولین سرم خون کاهش معناداری را در تیمار ۱۰ میلی‌گرم نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P < 0.05$). اختلاف معناداری در میزان گلوکز و آلکالین فسفاتاز در بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نگردید ($P > 0.05$).

شدند. در طول این مدت غذادهی و تعویض آب به صورت مستمر انجام شد. این پژوهش در مدت ۴ روز و به صورت سیستم ایستایی (قطع غذادهی، عدم تعویض آب، هوادهی مستمر) صورت گرفت. در ابتدا ۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی انتخاب و در ۱۲ آکواریوم با حجم ۵۰ لیتر (هر آکواریوم ۱۰ قطعه) به صورت تصادفی توزیع شدند. مقدار مورد نیاز نانولوله‌های کربنی چندجداره به صورت عامل‌دار نشده که در ابعاد اتمی و به شکل استوانه توخالی قرار دارند از شرکت پیشگامان نانو ایرانیان به میزان لازم سفارش داده شد. از آنجایی‌که نانولوله‌های کربنی چند جداره عامل‌دار نشده سریعاً در محیط آبی ته‌نشین خواهند شد جهت شناور ساختن این مواد از روش هیدرولیز با اسیدهای معدنی غلیظ استفاده شد. تیمارهای آزمایشی در این مطالعه شامل ۱ تیمار شاهد (فاقد نانولوله‌های کربنی) و ۳ تیمار با غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۳۲ میلی‌گرم در لیتر هر یک با ۳ تکرار بود. بعد از ۴ روز مواجهه ماهیان با این مواد نمونه‌برداری به صورت تصادفی صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری فاکتورهای خونی، پس از بیهوشی ماهیان با یوجینول خون‌گیری از ورید ساقه دمی ماهی صورت گرفت سپس محتویات سرنگ به آرامی، به صورتی‌که منجر به شکسته شدن گلبول‌های قرمز و لایز شدن خون نشود به ویال‌هایی منتقل شدند و در مجاورت یخ نگهداری شدند (فیس و همکاران، ۲۰۰۷). پس از خون‌گیری نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند و در آنجا با کمک کیت‌های شرکت پارس آزمون پارامترهایی مانند پروتئین کل، گلوکز، آلبومین، آلکالین فسفاتاز سرم خون با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری شد. همچنین میزان گلبولین سرم خون از کسر نسبت پروتئین کل از آلبومین به دست آمد.

جدول ۱- تغییرات برخی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خونی ماهی کپور معمولی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده نانولوله‌های کربنی چندجداره به مدت ۴ روز.

| تیمار شاخص‌های خونی | شاهد | ۱ میلی‌گرم | ۱۰ میلی‌گرم | ۳۲ میلی‌گرم |
|-----------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| گلوکز (mg/dl) | ۱۲۰/۴۲ ± ۳۹/۶۰ ^a | ۱۱۶/۸۸ ± ۴/۸۸ ^a | ۱۳۵/۸۳ ± ۴۵/۶۲ ^a | ۱۱۴/۵۸ ± ۲۳/۲۷ ^a |
| پروتئین کل (g/dl) | ۲/۴۶ ± ۰/۱۱ ^b | ۲/۷۴ ± ۰/۱۳ ^{ab} | ۲/۵۸ ± ۰/۱۸ ^{ab} | ۲/۹۸ ± ۰/۲۹ ^a |
| آلبومین (g/dl) | ۱/۲۸ ± ۰/۰۶ ^c | ۱/۷۳ ± ۰/۳۰ ^{ab} | ۲/۰۶ ± ۰/۲۲ ^a | ۱/۵۹ ± ۰/۰۳ ^{bc} |
| گلوبولین (g/dl) | ۱/۱۸ ± ۰/۰۶ ^a | ۱/۰۰ ± ۰/۲۰ ^a | ۰/۵۱ ± ۰/۰۸ ^b | ۱/۳۸ ± ۰/۴۰ ^a |
| آلکالین فسفاتاز (U/L) | ۲۸/۴۸ ± ۹/۹۴ ^a | ۲۹/۱۰ ± ۴/۱۴ ^a | ۲۸/۷۹ ± ۱/۴۰ ^a | ۲۶/۶۵ ± ۰/۹۱ ^a |

* (Mean ± SD)، حروف متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار بین تیمارها می‌باشد (P < ۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد نشان نمی‌دهد. گلوکز اصلی‌ترین ماده حاصل از متابولیسم مواد کربوهیدراته بوده (ژو و همکاران، ۲۰۰۹). تغییرات گلوکز وابسته به تغییرات هورمون‌هایی هم‌چون کورتیزول و تیروئید است. بالا رفتن غلظت گلوکز خون ماهی نشان‌دهنده وجود استرس بوده (احمدی‌فر و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج دیگر مطالعات تأثیر مسمومیت بر افزایش غلظت گلوکز خون را نشان می‌دهد. از این‌دست می‌توان به افزایش غلظت گلوکز ناشی از قرار گرفتن در معرض مس نیترات در تاس‌ماهی شپ (Acipenser nudiventris) اشاره کرد. همچنین ووسیلین (۱۹۹۶)، نشان داد مسمومیت حاد با مس سبب افزایش گلوکز خون ماهی می‌شود. نتایج این بررسی هم با مطالعه حال حاضر هم‌سو نبوده است. این عدم مطابقت در نتایج را شاید بتوان در طول مدت آزمایش و شرایط تغذیه‌ای قبل از شروع آزمایش مرتبط دانست.

تغییرات در سطح پروتئین کل پلاسما، آلبومین و گلوبولین می‌تواند به‌عنوان یک شاخص بالینی در پایش سلامت سیستم ایمنی، کبد و همه ماهیان مورد استفاده قرار گیرد (جان، ۲۰۰۷). نتایج این مطالعه بیانگر

میل به استفاده از نانو ذرات در صنایع مختلف از جمله در فرآیند ساخت ابزارآلات سبب شده به‌صورت ناخواسته شاهد ورود این مواد به محیط‌زیست و اکوسیستم‌های آبی باشیم. ورود این آلاینده‌ها از راه‌های مختلف هم‌چون فرآیند زنجیره غذایی یا رسوب در بستر می‌تواند سبب انتقال آن‌ها به بدن ماهیان شده که پیامدهایی هم‌چون بیماری، تغییرات ساختاری و بیوشیمیایی و در نهایت مرگ ماهیان را در پی دارد (ویلا و همکاران، ۲۰۰۰). از شاخص‌های بیوشیمیایی خون جهت ارزیابی اثرات تحت کشنده مواد سمی از جمله فلزات سنگین و نانو ذرات در ماهیان استفاده می‌شود (تئودراکیس و همکاران، ۱۹۹۲). از این‌رو مطالعات خون‌شناسی می‌تواند به‌عنوان یک روش ارزشمند و مطمئن جهت ارزیابی میزان سلامت ماهیان مطرح باشد (استنتی‌فرد و همکاران، ۲۰۰۳).

تغییرات گلوکز خون ماهیان بسته به گونه ماهی در محدوده ۳۵-۳۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر متغیر است (احمدی‌فر و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج این مطالعه تفاوت معناداری را در مقادیر گلوکز سرم خون در بین

بتوان گفت مسمومیت ایجاد شده توسط نانولوله کربنی چندجداره در کپور معمولی سبب کاهش عملکرد سیستم ایمنی شده که نتیجه آن کاهش سطح گلبولین سرم خون بوده است.

در ارزیابی آسیب‌های کلیوی، سنجش آنزیم‌هایی هم‌چون آلکالین فسفاتاز به‌طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. هر گونه آسیب به غشای سلول و نکرور سبب رهاسازی این آنزیم‌ها به گردش خون می‌شود (دروتمن و همکاران، ۱۹۷۸). نتایج این مطالعه تغییرات معناداری را در میزان آلکالین فسفاتاز سرم خون کپور ماهیان نشان نمی‌دهد. حسینی و همکاران، (۲۰۱۶) نشان دادند مواجهه با نانو ذرات مس و سولفات مس کاهش آلکالین فسفاتاز سرم خون کپور معمولی را در پی دارد. نتیجه این مطالعه با مطالعه کنونی مطابقت نداشته است. از دلایل این عدم مطابقت را شاید بتوان در کم بودن طول دوره آزمایش دانست.

در مجموع با توجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌توان گفت که ورود نانولوله‌های کربنی چندجداره به بدن کپور ماهیان پرورشی سبب بروز استرس شدید و تضعیف سیستم ایمنی این ماهی می‌شود که علاوه بر بروز مشکل برای این ماهی می‌تواند سبب بروز مشکل برای مصرف‌کنندگان هرم‌های بالاتر غذایی از جمله انسان‌ها شود که امید است بتوان با راهکارهایی از جمله روش‌های مختلف عامل‌دار کردن و نصب فیلترهای مناسب در محل خروجی آب جلوی ورود این دست مواد را به اکوسیستم‌های آبی و تالاب‌ها گرفت.

افزایش معناداری در مقادیر پروتئین کل در بین تیمارهای مختلف آزمایشی بعد از ۹۶ ساعت نسبت به تیمار شاهد بوده است به‌طوری‌که با افزایش غلظت مصرف نانولوله‌های کربنی چندجداره در آب مقادیر پروتئین کل افزایش یافته است که بیش‌ترین میزان آن در غلظت ۳۲ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد. نتایج مطالعات نشان می‌دهد عوامل استرس‌زا از جمله فلزات سنگین ابتدا سبب کاهش مقدار پروتئین کل خون ماهیان می‌شوند و بعد از ۷۲ ساعت افزایش پروتئین کل را به همراه دارند (گوپال و همکاران، ۱۹۹۷). عماد و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که مسمومیت با مس و کادمیم سبب افزایش غلظت پروتئین کل بعد از ۹۶ ساعت در ماهیان انگشت‌قد کفال دریایی (*Mugil seheli*) می‌شود. نتیجه این مطالعه با مطالعه حال حاضر مطابقت داشته است. آلبومین در حفظ فشار اسمزی در عروق و همچنین به‌عنوان پروتئین حامل جهت انتقال مواد مختلف نقش دارد (ابراهیمی، ۲۰۰۵). سطح آلبومین سرم خون افزایش معناداری را در تیمار ۱۰ میلی‌گرم نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی پس از ۹۶ ساعت نشان می‌دهد. همچنین سطح گلبولین سرم خون در تیمار ۱۰ میلی‌گرم نانولوله کربنی کاهش معناداری را نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد. گلبولین دومین دسته از پروتئین‌های کل پلاسما هستند که به ۳ دسته آلفا، بتا و گاما گلبولین تقسیم می‌شوند. آلفا و بتا گلبولین به‌عنوان پروتئین‌های حامل عمل می‌کنند و گاما گلبولین نقش مهمی در فعالیت سیستم ایمنی بدن جانوران دارد. با توجه به نتایج به‌دست آمده شاید

منابع

1. Ahmdifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., and Zarejabad, A.M. 2010. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology*. 20: 5. 447-451.
2. Bina, B., Pourzamani, H., Rashidi, A., and Amin, M.M. 2011. Ethylbenzene removal by carbon nanotubes from aqueous solution. *J. Environ. Public Health*. 2012.
3. Coccini, T., Roda, E., Sarigiannis, D.A., Mustarelli, P., Quartarone, E., Profumo, A., and Manzo, L. 2010. Effects of water-soluble functionalized multi-walled carbon nanotubes examined by different cytotoxicity methods in human astrocyte D384 and lung A549 cells. *Toxicology*. 269: 1. 41-53.
4. Drotman, R.B., and Lawhorn, G.T. 1978. Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug and chemical toxicology*. 1: 2. 163-171.
5. Ebrahimi, A. 2005. *Clinical Explanation of Laboratory Testes*. Teimorzadeh, Tabib publisher. 628p.
6. Emad, H., Abou, E.N., Khalid, M., Moselhy, E., and Mohamed, A.H. 2005. Toxicity of cadmium and cooper and their effect on some biochemical parameters of marine fish *Mugil seheli*. *Egypt. J. Aqua. Res.* 31: 60-71.
7. Fatma, A.S., and Mohamed, A. 2009. Histopathological studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt: *World J. Fish Mar. Sci.* 1: 1. 29-39.
8. Fiess, J.C., Kunkel-Patterson, A., Mathias, L., Riley, L.G., Yancey, P.H., Hirano, T., and Grau, E.G. 2007. Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*. 146: 2. 252-264.
9. Gopal, V., Parvathy, S., and Balasubramanian, P.R. 1997. Effect of heavy metals on the blood protein biochemistry of the fish *Cyprinus carpio* and its use as a bio-indicator of pollution stress. *Environmental monitoring and assessment*. 48: 2. 117-124.
10. Goran, D., Vukovi, C., Aleksandar, D., and Marinkovi, C. 2010. Removal of cadmium from aqueous solutions by oxidized and ethylenediamine-functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Chem. Engin. J.* 157: 238-248.
11. Hoseini, S.M., Hedayati, A., Mirghaed, A.T., and Ghelichpour, M. 2016. Toxic effects of copper sulfate and copper nanoparticles on minerals, enzymes, thyroid hormones and protein fractions of plasma and histopathology in common carp *Cyprinus carpio*. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 68: 9. 493-503.
12. Isani, G., Monari, M., Andreani, G., Fabbri, M., and Carpenè, E. 2003. Effect of copper exposure on the antioxidant enzymes in bivalve mollusk *Scapharca inaequivalvis*. *Veterinary Research Communications*. 27: 1. 691-693.
13. John, P.J. 2007. Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to metasytox and sevin. *Fish Physiology Biochemistry*, 33: 1. 15-20.
14. Ren, X., Chen, C., Nagatsu, M., and Wang, X. 2011. Carbon nanotubes as adsorbents in environmental pollution management: a review. *Chem. Engin. J.* 170: 2. 395-410.
15. Savolainen, K., Alenius, H., Norppa, H., Pylkkänen, L., Tuomi, T., and Kasper, G. 2010. Risk assessment of engineered nanomaterials and nanotechnologies-a review. *Toxicology*, 269: 2. 92-104.
16. Simate, G.S., Iyuke, S.E., Ndlovu, S., Heydenrych, M., and Walubita, L.F. 2012. Human health effects of residual carbon nanotubes and traditional water treatment chemicals in drinking water. *Environment international*. 39: 1. 38-49.
17. Soldatov, A.A. 2005. Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. *J. Evolution. Biochem. Physiol.* 41: 3. 272-281.

18. Stentiford, G.D., Longshaw, M., Lyons, B.P., Jones, G., Green, M., and Feist, S.W. 2003. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Marine Environmental Research*, 55: 137-159.
19. Theodorakis, C.W., D'surney, S.J., Bickham, J.W., Lyne, T.B., Bradley, B.P., Hawkins, W.E., and Shugart, L.R. 1992. Sequential expression of biomarkers in bluegill sunfish exposed to contaminated sediment. *Ecotoxicology*, 1: 1. 45-73.
20. Triebkorn, R., Adam, S., Casper, H., Honnen, W., Müller, E.F., Pawert, M., Schramm, M., Schwaiger J., and Köhler, H.R. 2002. Biomarkers as diagnostic tools for evaluating toxicological effects of unknown past water quality conditions on stream organisms. *Ecotoxicology*, 11: 6. 451-465.
21. Vilella, S., Ingrosso, L., Lionetto, M.G., Schettino, T., Zonno, V., and Storelli, C. 2000. Effect of cadmium and zinc on the Na⁺/H⁺ exchanger present on the brush border membrane vesicles isolated from eel kidney tubular cells. *Aquatic toxicology*, 48: 1. 25-36.
22. Vosyliene, M.Z. 1996. The effect of long-term exposure to copper on physiological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. 2. Studies of hematological parameters. *Ekologija*, 1: 3-6.
23. Wei, C.M. 2005. Nanomedicine-foreword. *Dm Disease-A-Month*, 51: 322-324.
24. Zhou, X., Li, M., Abbas, K., and Wang, W. 2009. Comparison of haematology and serum biochemistry of cultured and wild Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Fish physiology and biochemistry*, 35: 3. 435-441.

