Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Print ISSN: 2345-427X
Online ISSN: 2345-4288

Comparative effect of chemical nanoparticles, green and heavy metal zinc on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*)

Elaheh Chardeh Baladehi[1], Seyed Aliakbar Hedayati[*2], Hamed Paknejad[3], Hamed Ghafarifarsani[4], Hadiseh Kashiri[5]

1. Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: baladehi.elahe@yahoo.com
2. Corresponding Author, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hedayati@gau.ac.ir
3. Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hkolangi@gmail.com
4. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran. E-mail: hamed_ghafari@alumni.ut.ac.ir
5. Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hadiskashiri@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 12.02.2022
Revised: 12.21.2022
Accepted: 01.01.2023

Keywords:
Carp,
Green synthesized nanoparticle,
Heavy metal zinc,
Hematology,
Zinc nanoparticles

ABSTRACT

The notable increase in the use of zinc in different forms has led to environmental concerns regarding this element. In this study, three different forms of zinc metal, including zinc heavy metal zinc, zinc chemical and green synthesized nanoparticles were evaluated on blood indices of common carp for 21 days. 420 carp juveniles were divided into 7 experimental groups T0 (control), T1 and T2 (1.5 and 2.5 mg per liter of zinc heavy metal), T3 and T4 (1.5 and 2.5 mg per liter) liter of chemical zinc nanoparticles), T5 and T6 (1.5 and 2.5 mg/liter green zinc nanoparticles), and blood parameters were evaluated. Accordingly the hematocrit percentage in T1 and T2 treatments, the number of red blood cells in T2, T4 and T5 treatments, the amount of hemoglobin in T2, T4, T5 and T6 treatments and the amount of MCH only in T6 group showed a significant decrease compared to the control group ($P>0.05$). The lowest amount of MCHC was recorded in T4 (19.23 ± 1.60), T5 (18.61 ± 2.33), and T6 (18.48 ± 4.80) treatments. In addition, the amount of MCV in T1 recorded a significant decrease compared to the control group ($P<0.05$). The number of white blood cells exhibited a significant decrease in all treatments except 1.5 mg/liter green zinc nanoparticles compared to the control group ($P<0.05$). The lymphocyte percentage also illustrated a significant decrease in T1, T2, and T3 treatments as compared with the control group ($P<0.05$). In contrast, the monocytes percentage in the groups exposed to the heavy metal showed a significant increase compared to other treatments. Also, the neutrophils percentage in T1, and T2 groups recorded a significant increase compared to the control and green zinc nanoparticles groups ($P<0.05$). These results may be related to the adverse effects of zinc (in different forms) on hematopoietic tissues, weakness in using dietary iron, and hormonal fluctuations that led to adverse effects on blood parameters. Therefore, based on the findings of this study, zinc metal even in its green form can have adverse effects on the blood parameters of carp fish.

Cite this article: Chardeh Baladehi, Elaheh, Hedayati, Seyed Aliakbar, Paknejad, Hamed, Ghafarifarsani, Hamed, Kashiri, Hadiseh. 2024. Comparative effect of chemical nanoparticles, green and heavy metal zinc on hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (2), 177-194.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2023.20845.1729
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

اثر مقایسه‌ای نانوذرات شیمیایی، سبز و فلز سنگین روی بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

الهه چهارده بالادهی[۱]، سید علی‌اکبر هدایتی*[۲]، حامد پاک‌نژاد[۳]، حامد غفاری فارسانی[٤]، حدیثه کشیری[٥]

۱. دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: baladehi.elahe@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hedayati@gau.ac.ir
۳. دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hkolangi@gmail.com
٤. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. رایانامه: hamed_ghafari@alumni.ut.ac.ir
٥. دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hadiskashiri@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۰۹/۱۱
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۱/۰۹/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۱۰/۱۱

واژه‌های کلیدی:
فراسنجه‌های خونی،
فلز سنگین روی،
ماهی کپور،
نانو ذره روی،
نانو ذره سبز سنتزشده

چکیده

افزایش قابل‌ملاحظه استفاده از روی در فرم‌های مختلف منجر به نگرانی‌های زیست‌محیطی در رابطه با این عنصر شده است. در این مطالعه سه فرم مختلف فلز روی شامل فلزسنگین روی، نانو ذره شیمیایی و سبز روی بر فراسنجه‌های خونی ماهی کپور به‌مدت ۲۱ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین‌منظور ٤۲۰ قطعه ماهی کپور در هفت گروه آزمایشی T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/٥ و ۲/٥ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/٥ و ۲/٥ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/٥ و ۲/٥ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی)، تقسیم و فراسنجه‌های خونی ارزیابی شدند. میزان هماتوکریت در تیمارهای T1 و T2، تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای T2، T4 و T5 و میزان هموگلوبین در تیمارهای T2، T4، T5 و T6 و میزان MCH تنها در گروه T6 کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰٥). کم‌ترین میزان MCHC در تیمارهای T4 (۱/٦۰ ±۱۹/۲۳)، T5 (۲/۳۳ ±۱۸/٦۱) و T6 (٤/۸۰ ±۱۸/٤۸) و ثبت شد. علاوه‌بر این میزان MCV در T1 کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل ثبت کرد (P<۰/۰٥). تعداد گلبول‌های سفید در تمامی تیمارها به‌جز ۱/٥ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰٥). درصد لنفوسیت‌ها نیز در تیمارهای T1 و T2 فلز سنگین روی و T3 کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل ثبت کرد (P<۰/۰٥). در مقابل، درصد مونوسیت نیز در گروه‌های قرار گرفته در معرض فلز سنگین روی افزایش معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰٥). هم‌چنین تعداد نوتروفیل در گروه‌های T1 و T2

افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل و نانو ذره سبز روی ثبت کردند (P<۰/۰۵). این نتایج ممکن است به‌دلیل اثرگذاری عنصر روی بر بافت‌های خونساز، ضعف در بهره‌گیری از آهن جیره یا نوسانات هورمونی باشد که منجر به اثرات نامطلوبی بر فراسنجه‌های خونی شد. بنابراین براساس یافته‌های این مطالعه، فلز روی حتی در فرم سبز می‌تواند اثرات سوئی بر فراسنجه‌های خونی ماهی کپور اعمال کند.

استناد: چهارده بالادهی، الهه، هدایتی، سید علی‌اکبر، پاک‌نژاد، حامد، غفاری فارسانی، حامد، کشیری، حدیثه (۱۴۰۳). اثر مقایسه‌ای نانوذرات شیمیایی، سبز و فلز سنگین روی بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۲)، ۱۹۴-۱۷۷.
DOI: 10.22069/japu.2023.20845.1729

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

در دهه‌های اخیر، هم‌زمان با افزایش جمعیت جهان و توسعه صنایع مختلف و کشاورزی، مقادیر زیادی از آلاینده‌ها مانند عوامل میکروبی، ترکیبات آلی پایدار (Persistent organic pollutant) و فلزات کمیاب و سنگین و مواد رادیواکتیو وارد اکوسیستم‌های آبی شده‌اند (۱). یکی از منابع اصلی آلوده‌کننده اکوسیستم‌های آبی عناصر هستند که شبکه‌های غذایی و نهایتاً سلامت انسان را به‌طور جدی تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (۲). با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در مقوله تصفیه و پالایش فلزات سنگین این عناصر هم‌چنان به عنوان یک خطر بالقوه برای انسان و سایر جانوران محسوب می‌شوند (۳). برخلاف سایر آلاینده‌ها این مواد قابل تجزیه نیستند و پس از ورود به محیط‌های آبی و نفوذ به بستر به‌طور کامل از دسترس خارج نمی‌شوند و طی تغییر شرایط فیزیکوشیمیایی آب قادر به بازگشت به توده‌های آبی هستند (٤ و ٥). روی یکی از عناصر کمیاب است که در ساختار بیش از ۳۰۰ آنزیم و متالوآنزیم شامل آلکالین فسفاتاز، الکل دهیدروژناز، سوپر اکسید دیسموتاز و کربنیک انیدراز وجود دارد و نقش مهمی را در رشد، تکثیر و سیستم ایمنی ماهیان ایفا می‌کند (۳ و ٦). بسته به غلظت و ساختار شیمیایی، عنصر روی می‌تواند به عنوان یک فاکتور تغذیه‌ای، آنتی‌اکسیدانی یا سمی به‌کار رود (۷). همانند دیگر عناصر، سمیت با عنصر روی ممکن است به‌دلیل تغییر شرایط فیزیکوشیمیایی آب همانند درجه حرارت، اکسیژن محلول، پی اچ، سختی آب، و دیگر لیگاندهای آلی و غیرآلی رخ دهد (۸). عنصر روی ممکن است در نتیجه فرآیندهای طبیعی همانند هوازدگی و فرسایش، بارش باران‌های اسیدی بر مواد ساختمانی حاوی روی، یا از طریق فعالیت‌های انسانی (واحدهای کشاورزی، پساپ و فعالیت‌های صنعتی) وارد اکوسیستم‌های آبی شود و براساس غلظت، شکل و اندازه جانوران آبزی را تحت‌تأثیر قرار دهد (۹). روی به عنوان یک فلز سنگین توسط روده و آبشش ماهیان جذب و از طریق خون به اندام‌های مختلف انتقال می‌یابد. مطالعات قبلی گزارش دادند که آلودگی با این فلز سنگین باعث اختلال در فرآیند تنظیم اسمزی، تغییر در قلیائیت خون، هیپوکسی بافت‌ها، افزایش ضربان قلب، آسیب بافتی، کاهش درصد هچ تخم‌ها، تأثیر سوء بر فاکتورهای خونی و تغییرات رفتاری در ماهیان می‌شود (۱۰، ۱۱ و ۱۲).

نانو ذره روی فرم آلایندگی دیگر روی است که در سال‌های اخیر به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد و کاربردهای جدید در صنایع مختلف در حال نفوذ به اکوسیستم‌های آبی است. نانو ذره روی در بخش‌های مختلف همانند تولید محصولات خود مراقبتی، افزودنی غذا، و حمل دارو در خون مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳ و ١٤). نانوذرات با توجه به اندازه کوچک و سطح فعال بالا، در کنار سایر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی مانند آلاینده‌های فلزی و بار سطحی، ممکن است اثرات غیرقابل پیش‌بینی بر آبزیان داشته باشند (۱ و ۳). امروزه بیش‌تر نانوذرات به روش شیمیایی یا فیزیکی تهیه می‌شوند، اما به‌دلیل استفاده از مواد شیمیایی خطرناک و سمی و آسیب‌های زیست‌محیطی حاصل از آن‌ها، نگرانی‌های زیادی را ایجاد کرده است (۱۵). تولید نانوذرات با استفاده از روش سبز جایگاه ویژه‌ای در پژوهش‌ها پیدا کرده است. سنتز سبز دارای مزیت‌های متعدد همانند مقرون به صرفه بودن، استفاده از درجه حرارت کم‌تر، استفاده از مواد غیرسمی، و سازگار با برنامه‌های کاربردی پزشکی و مواد غذایی است (١٦ و ١٧). یکی از اهداف سنتز زیستی نانوذرات کاهش سطح مصرف مواد شیمیایی است. اما این بدان معنانیست که نانوذرات سبز به‌طور کامل ایمن هستند، برخی از

نانوذرات ممکن است موجب استرس‌های اکسیداتیو و اثرات سمی شود (۱۸). علاوه‌براین، نانو ذرات سبز ممکن است به غشا سلولی نفوذ کند و در متابولیسم سلول‌ها تداخل ایجاد کند (۱۹). برخی از پارامترها همانند اندازه، وضعیت شیمیایی، دز و شکل بر سمیت بالقوه نانوذرات سبز اثرگذار است (۲۰). بنابراین درک واکنش نانوذرات سبز با سیستم بیولوژیک ماهیان نیز ضروری به نظر می‌رسد.

پارامترهای خون یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامت و کنترل زیستی آبزیان می‌باشد. چنان‌چه میزان طبیعی پارامترهای سلولی خون انواع ماهیان در شرایط اقلیمی در دسترس باشد، بررسی فاکتورهای خون‌شناسی می‌تواند نقش مهمی در تشخیص ناهنجاری‌های حاصل از فلزات سنگین در آبزیان ایفا کند (۲۰). چندین مطالعه واکنش فراسنجه‌های خونی ماهیان را در برابر نانو ذرات گزارش کرده‌اند. برای مثال Alkaladi و همکاران (۲۱) گزارش دادند که قرار گرفتن ماهی تیلاپیای نیلی (*Oreochromis niloticus*) در معرض اکسید روی منجر به کاهش معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین نسبت به گروه کنترل شد. علاوه بر این Fiaz و همکاران (۹) گزارش دادند که قرار گرفتن ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) در معرض نانواکسید روی منجر به کاهش تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، میزان هماتوکریت و هموگلوبولین نسبت به گروه کنترل شد. هم‌چنین Ghafarifarsani و همکاران (۲۲) گزارش دادند که قرار گرفتن ماهی گلدفیش (*C. auratus*) در معرض نانو ذره روی به‌مدت ۱٤ روز منجر به افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، سفید، هماتوکریت، هموگلوبولین و نوتروفیل نسبت به گروه کنترل شد.

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهم‌ترین ماهیان تجاری است که در سرتاسر جهان پرورش داده می‌شود و به‌دلیل زیست در اکوسیستم‌های آبی مختلف شامل رودخانه‌ها، دریاچه‌ها، آبگیرها، مزارع برنج و استخرهای پرورشی می‌تواند به عنوان یک شاخص زیستی برای ارزیابی سمیت فلزات مورد استفاده قرار بگیرد. مدیریت آسان، نگهداری در آزمایشگاه و پاسخ سریع به تغییرات محیطی از جمله دلایل مهم برای کاربرد ماهی کپور در مطالعات سم‌شناسی است (۲۳).

اگرچه برخی از مطالعات تأثیر فلز سنگین روی، نانو اکسید روی و فرم سبز روی را در برخی از گونه‌ها بررسی کرده‌اند ولی تاکنون اثرات مقایسه‌ای این فلز در سه فرم ذکر شده بر پارامترهای خون‌شناسی ماهی کپور بررسی نشده است. از این‌رو مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه اثرات سنگین روی، نانو اکسید روی و فرم سبز آن بر فراسنجه‌های خونی ماهی کپور صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

نگهداری ماهیان و نحوه تیماربندی: در این مطالعه تعداد ٤٥٠ بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۳۰ گرم از یک مرکز خصوصی در استان گلستان تهیه شده و سپس به تانک‌های ۸۰ لیتری در آزمایشگاه پرورش آبزیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ماهیان در بدو ورود با آب نمک ۳٪ ضدعفونی شده و به‌مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط فیزیکوشیمیایی جدید شامل دمای ۲۳-۲۲ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۷-٦/٦، پی اچ ۷/۸-۷/۵ در تانک‌های ۱۰۰۰ لیتری نگهداری شدند. پس از اتمام دوره سازش، به منظور طراحی ۷ گروه آزمایشی با سه تکرار {T0 (کنترل)، T1 (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T2 (۲/۵ میلی‌گرم

در لیتر فلز سنگین روی)، T3 (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره روی)، T4 (۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره روی)، T5 (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی)، T6 (۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی)} ۴۲۰ ماهی با میانگین وزن ۰/٦ ± ۳٦ گرم به‌صورت تصادفی در ۲۱ تانک (با تراکم ۲۰ عدد ماهی در هر تانک) تقسیم شدند. تغذیه ماهیان در دوره آزمایشی با استفاده از غذای تجاری FFC تهیه شده از شرکت فرادانه (پروتئین: ۳۵ درصد، چربی: ٦ درصد، فیبر: ٤ درصد، خاکستر: ۷ درصد، رطوبت: ۵ درصد) به میزان ۳ درصد وزن بدن در سه نوبت (۸:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۸:۰۰) صورت پذیرفت. شرایط محیطی به صورت روزانه بررسی شد و روزانه ۷۵ درصد آب تعویض شد و میزان هر آلاینده به آن اضافه شد (۲۲).

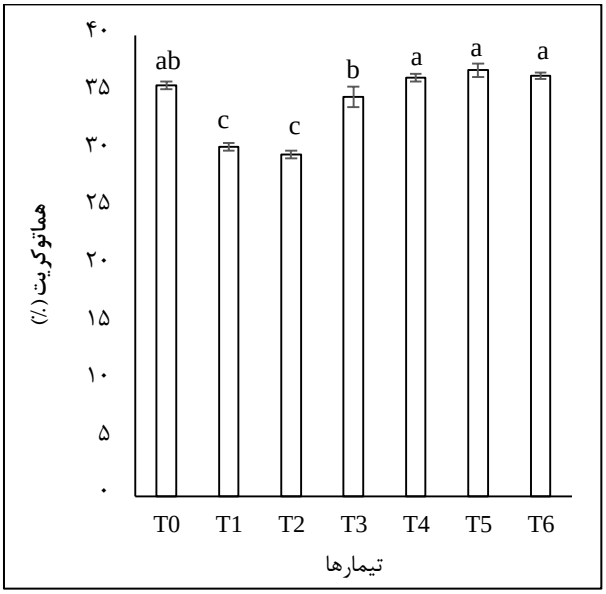
نحوه سنتز زیستی نانو ذره روی: نانو ذره اکسید روی با اندازه ۲۰ نانومتر از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه شد. در بررسی حاضر، سنتز زیستی نانو ذره روی با استفاده از عصاره گیاه پونه (*Mentha pulegium*) تهیه شد. در مرحله اول عصاره آبی گیاه پونه براساس روش توصیف شده توسط Lakshmi و همکاران (۲٤) تهیه شد. در مرحله بعد ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده با ۹۰ میلی‌لیتر نانو ذره اکسید روی مخلوط شده و به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای آزمایشگاه بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. جهت مشاهده تغییر رنگ بر روی میزان جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (shimadzu, UV2550) در محدوده ۷۰۰-۳۰۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. محلول حاوی نانو ذره ساخته‌شده سانتریفیوژ شد (۵۰۰ دور در دقیقه برای ۱۰ دقیقه) و سپس محلول رویی دور ریخته شد و سوسپانسیون در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت در آون خشک شد (۲۵).

خون‌گیری: نمونه‌گیری ۲۱ روز پس از مواجهه انجام شد. به‌منظور بررسی فراسنجه‌های خونی، نمونه‌های ماهی به‌وسیله محلول پودر گل میخک با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش، سپس با استفاده از سرنگ دو سی‌سی استریل شده از ناحیه کمان خونی ساقه دمی خون‌گیری انجام شد (۲۲). در ادامه نمونه‌های خون به لوله‌های حاوی EDTA انتقال یافت. به‌منظور شمارش گلبول سفید، نمونه‌های خون توسط روش Dacies و Lewis (۲٦) با استفاده از محلول Teurk (٤ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال، ۱۰ قطره متیلن‌بلو و ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و توسط لام نئوبار و میکروسکوپ مورد شمارش قرار گرفت. گلبول قرمز نیز پس از رقیق‌سازی شمارش شدند. برای سنجش هموگلوبین نیز نمونه‌های خون با محلول Drabkin مخلوط و سپس در دمای اتاق به‌مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. در نهایت پس از ورتکس، میزان جذب نوری توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵٤۰ نانومتر قرائت شد. برای سنجش هماتوکریت نیز نمونه‌های خونی به‌مدت ۵ دقیقه و با سرعت g ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شده و در نهایت حجم هماتوکریت توسط میکروهماتوکریت خوانده شد (۲۷). هم‌چنین حجم متوسط گلبولی (MCV)، وزن هموگلوبین داخل گلبولی (MCH) و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی (MCHC) با توجه به فرمول‌های موجود محاسبه گردید. به‌منظور شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، گسترش خونی بر روی لام تهیه و گسترش‌های تثبیت شده با متانول و با استفاده از رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شدند و توسط میکروسکوپ شمارش انجام شد (۱۸).

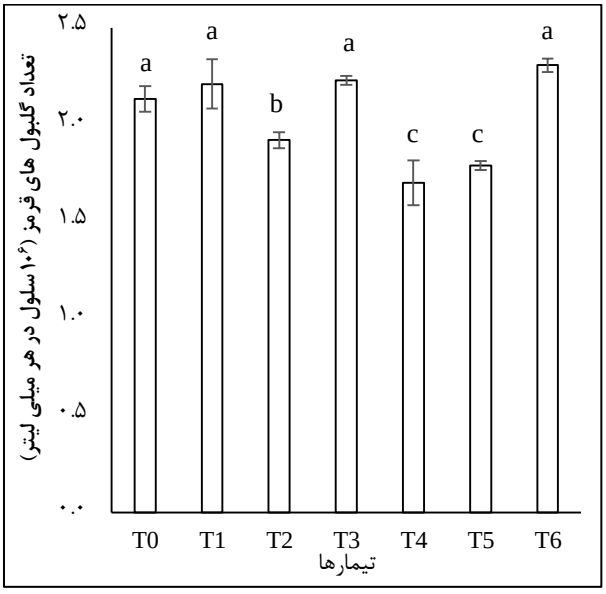
تجزیه و تحلیل داده‌ها: این پژوهش به‌صورت یک طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار صورت گرفت. نتیجه به‌صورت میانگین با خطای استاندارد گزارش شد. ابتدا توزیع نرمال داده‌ها و همگنی واریانس داده‌ها به‌ترتیب توسط آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov و Leven بررسی شدند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way Anova) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام پذیرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS20 و رسم نمودارها با استفاده از اکسل ۲۰۲۰ انجام گرفت.

نتایج

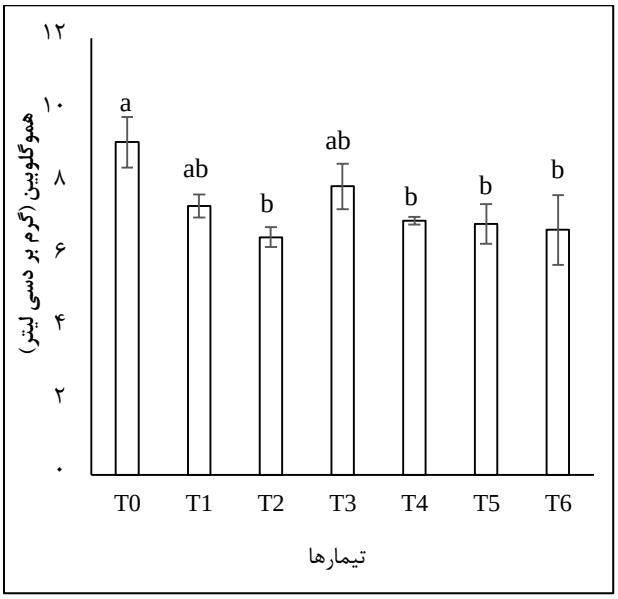
تأثیر فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی و سبز روی بر شاخص‌های اریتروسیتی: اثرات فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی و سبز روی بر فراسنجه‌های خونی ماهی کپور در شکل‌های ۱ تا ٦ ارائه شده است. بر این اساس میزان هماتوکریت (شکل ۱) در تیمارهای ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر فلز سنگین روی (T1 و T2) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل و سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵) هر چند تفاوت معنی‌داری بین سایر تیمارها مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده در رابطه با تأثیر سه فرم روی بر تعداد گلبول‌های قرمز (شکل ۲) نشان داد که تعداد این سلول‌های خونی در ماهیان تیمار شده با فلز سنگین روی در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز روی (T2)، ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی (T4) و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی (T5) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل و سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). میزان هموگلوبین نیز تحت‌تأثیر فرم‌های مختلف روی قرار گرفت (شکل ۳). میزان این پارامتر در گروه‌های تیمار شده با ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی (T2)، ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی (T4)، ۱/۵ (T5) و ۲/۵ (T6) میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل ارائه کرد (P<۰/۰۵). میزان MCH (شکل ٤) تنها در ماهیان قرار گرفته در معرض ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی (T6) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۵). در مورد پارامتر MCHC (شکل ۵) کم‌ترین میزان در ماهیان تیمار شده با نانو ذره سبز روی (T5 و T6) و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی (T4) ثبت شد (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان MCV (شکل ٦) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر فلز سنگین روی (T1) ثبت شد که کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل ثبت کرد (P<۰/۰۵). علاوه بر این بیش‌ترین میزان این پارامتر در ماهیان آلوده شده با ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی (T4) و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی (T5) ثبت شد که افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل ثبت کرد (P<۰/۰۵).



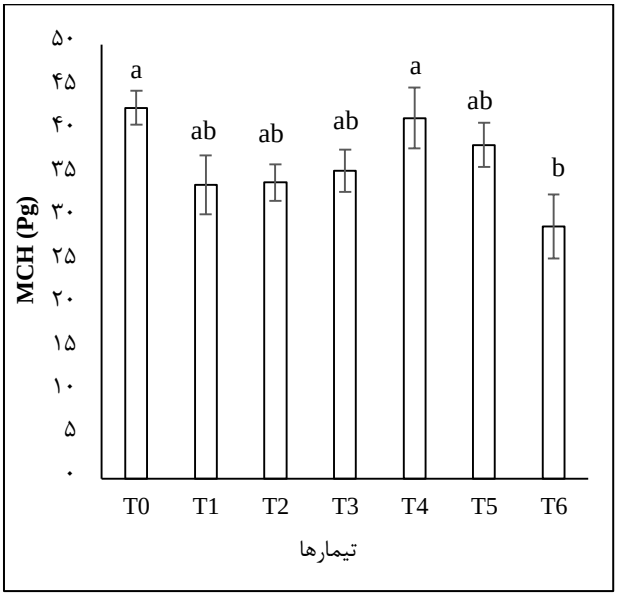
شکل ۱- میزان هماتوکریت در ماهی کپور قرار گرفته که در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی). داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).



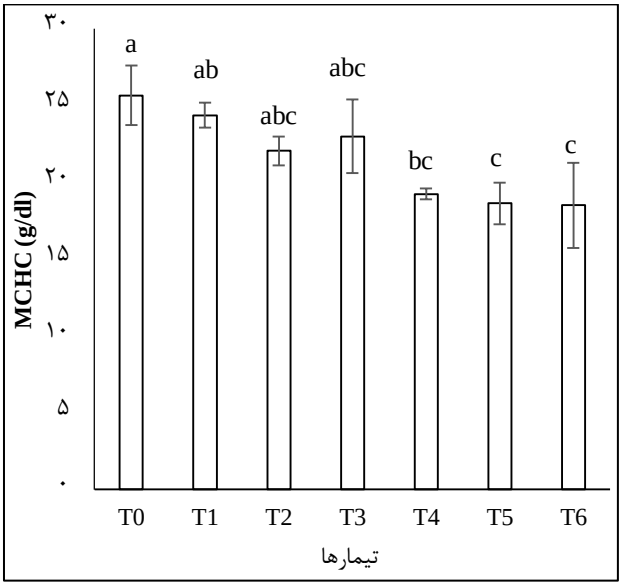
شکل ۲- تعداد گلبول‌های قرمز در ماهی کپور قرار گرفته که در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی). داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).



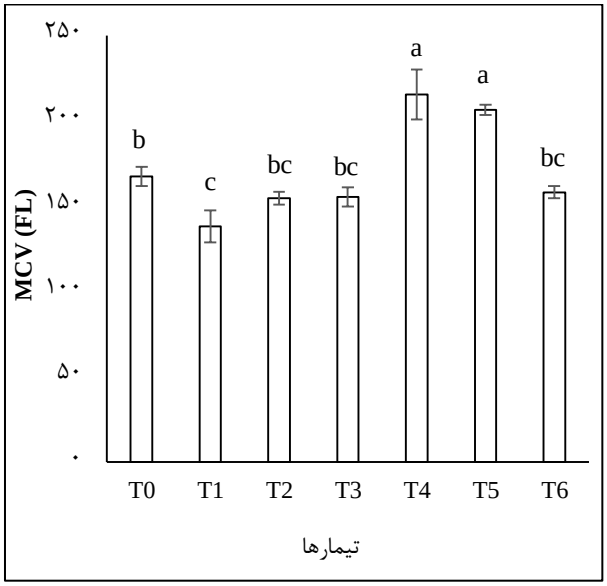
شکل ۳- میزان هموگلوبین در ماهی کپور قرار گرفته که در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی). داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).



شکل ٤- میزان MCH در ماهی کپور قرار گرفته که در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی). داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).

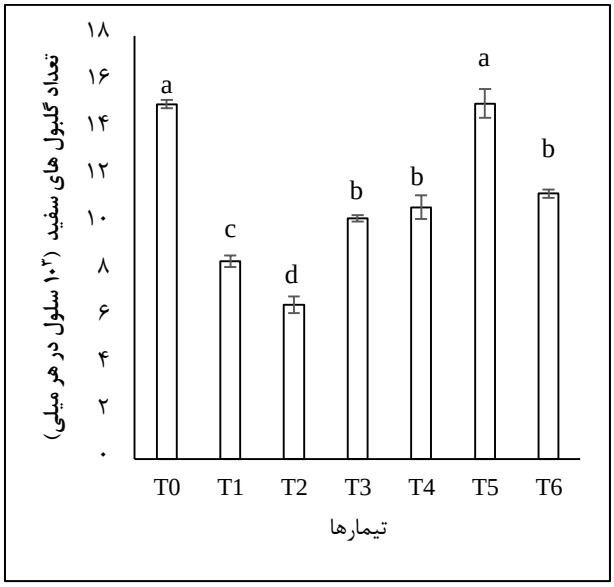


شکل ۵- میزان MCHC در ماهی کپور قرار گرفته که در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی). داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).

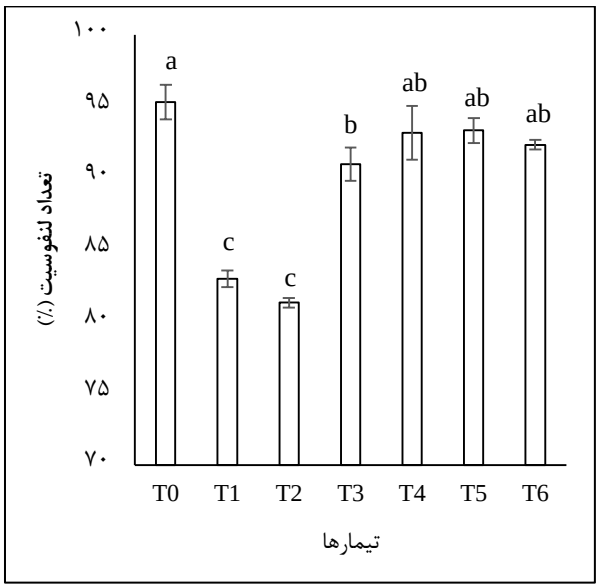


شکل ٦- میزان MCV در ماهی کپور قرار گرفته در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی) داده ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).

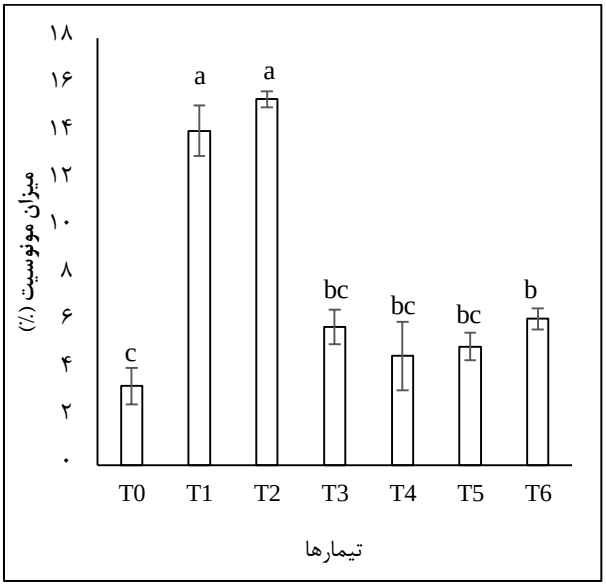
تأثیر فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی و سبز روی بر شاخص‌های لکوسیتی: وضعیت گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی آن‌ها در شکل‌های ۷ تا ۱۰ ارائه شده است بر این اساس تعداد گلبول‌های سفید (شکل ۷) در تمامی تیمارها به‌جز ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۵). علاوه‌بر این کم‌ترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی ثبت شد که کاهش معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). تعداد لنفوسیت‌ها (شکل ۸) نیز در تیمارهای ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر (T1 و T2) فلز سنگین روی و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی (T3) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل ثبت کرد (P<۰/۰۵). برعکس بالاترین میزان مونوسیت (شکل ۹) نیز در گروه‌های تیمار شده با فلز سنگین روی ثبت شده که تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). علاوه‌بر این ماهیان قرار گرفته در معرض ۲/۵ میلی‌گرم نانو ذره سبز روی (T6) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵). هم‌چنین تعداد نوتروفیل (شکل ۱۰) در گروه‌های تیمار شده با فلز سنگین روی و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل و نانو ذره سبز روی ثبت کرد (P<۰/۰۵).



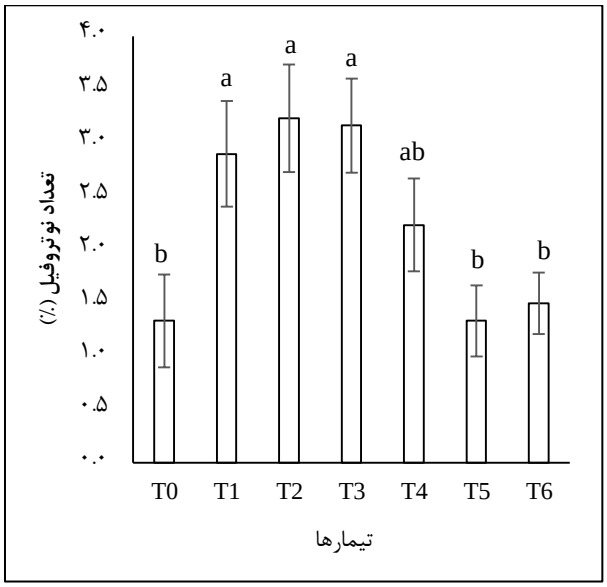
شکل ۷- تعداد گلبول‌های سفید در ماهی کپور قرار گرفته در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی) داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).



شکل ۸- تعداد لنفوسیت در ماهی کپور قرار گرفته در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی) داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).



شکل ۹- تعداد مونوسیت در ماهی کپور قرار گرفته در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی) داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).



شکل ۱۰- تعداد نوتروفیل در ماهی کپور قرار گرفته در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره روی و نانو ذره سبز روی، T0 (کنترل)، T1 و T2 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی)، T5 و T6 (۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز روی) داده‌ها با استفاده از آنالیز یک‌طرفه ANOVA سنجش شدند و مقادیر براساس میانگین ± خطای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت حروف در هر نمودار نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری است (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

فراسنجه‌های خونی به عنوان یک ابزار مفید برای آگاهی از وضعیت سلامت، شناسایی عفونت و پیشرفت بیماری و واکنش به درمان در نظر گرفته می‌شوند (۱۸). خون به‌عنوان یک شاخص پاتوفیزیولوژی منعکس‌کننده وضعیت سلامت عمومی بدن است که می‌تواند به عنوان یک شاخص معتبر از تغییرات فیزیولوژیکی بعد از قرار گرفتن ماهی در معرض سمیت فلزات باشد (۲۸). برای ارزیابی وضعیت خون ماهیان آلوده شده با فلزات پارامترهایی همانند تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین در نظر گرفته می‌شود. این اطلاعات وضعیت شفافی را از واکنش ماهیان نسبت به آلودگی با برخی فلزات همانند روی و نانوذرات آن ارائه می‌کند (۲۹). نتایج این مطالعه نشان داد که قرار گرفتن ماهیان در معرض فلز سنگین روی، نانو ذره شیمیایی روی و سبز روی موجب تغییراتی بر کمیت این پارامترها می‌شود. برای مثال میزان هماتوکریت در ماهیان قرار گرفته در معرض فلز سنگین روی کاهش معنی‌داری را نشان داد. هم‌چنین تعداد گلبول‌های قرمز در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی (T2) و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره شیمیایی روی (T4) و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی (T5) کاهش معنی‌داری را ارائه کرد. علاوه بر این میزان هموگلوبین در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز روی (T2)، ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره شیمیایی روی (T4) و هم‌چنین در هر دو غلظت نانو ذره سبز روی (T5 و T6) کاهش یافت.

مشابه نتایج حاضر، Çelik و همکاران (۳۰) گزارش کردند که قرار گرفتن ماهی تیلاپیای موزابیک (*Oreochromis mossambicus*) در معرض فلز سنگین روی منجر به کاهش معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین در مقایسه با گروه شاهد شد. هم‌چنین

Alkaladi و همکاران (۲۱) گزارش دادند که تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین در ماهی تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) آلوده شده با نانو ذره شیمیایی روی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. علاوه بر این Fiaz و همکاران (۹) گزارش دادند که تعداد گلبول‌های قرمز، هماگلوبین و درصد هماتوکریت در ماهی کپور علفخوار (*C. idella*) آلوده شده با نانو ذره شیمیایی روی کاهش یافت. این در حالیست که Ghafarifarsani و همکاران (۲۲) افزایش این سه پارامتر خونی را در ماهی گلدفیش (*Carassius auratus*) تیمارشده با نانو ذره شیمیایی روی گزارش کردند. علاوه‌بر این Thangapandiyan و Monika (۲۷) گزارش دادند که استفاده از نانو ذره سبز روی منجر به افزایش معنی‌دار در تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین در ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) شد که برخلاف نتایج این مطالعه است. قرار گرفتن در معرض فرم سمی فلز روی باعث تولید انواع مختلفی از سمیت توسط رادیکال‌های آزاد می‌شود که یکپارچگی غشا را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۲۸). سمیت فلز روی در محیط باعث پدیده همودیلوشن می‌شود فرآیندی که در آن غلظت هموگلوبین به‌دلیل تخریب هموگلوبین یا کاهش نرخ سنتز آن رخ می‌دهد (۳۱).

از سوی دیگر کاهش میزان هماتوکریت بیانگر آسیب به بافت‌های کبدی، طحال و یا کمبود ویتامین و آهن در جیره غذایی یا ضعف در بهره‌گیری از آهن خوراک می‌باشد. علاوه بر این کاهش تعداد گلبول‌های قرمز ممکن است به‌دلیل فرآیند تورم گلبول‌های قرمز و نهایتاً همولیز آن‌ها باشد (۹). فرآیندی که در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و در واکنش به فلز روی نیز مشاهده شد (۳۲). با این وجود به‌نظر می‌رسد که برخی از غلظت‌های روی در فرم‌های مختلف به‌طور مؤثر جذب و مصرف شده‌اند و تأثیر بر وضعیت فراسنجه‌های خونی ارائه نکرده‌اند (۳۳). این نتایج تأیید می‌کند که کاهش در تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین منجر به کم‌خونی در ماهیان شده است. کاهش در هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز منعکس‌کننده اثرات مضر بر ظرفیت حمل اکسیژن خون و کاهش فعالیت فیزیکی در ماهیان، به دلیل عدم اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها است (۱۸).

شاخص‌های گلبول‌های قرمز شامل MCV، MCH و MCHC اطلاعاتی مانند نرخ، شکل و غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز را فراهم می‌کنند (۲۸). هم‌چنین، این شاخص‌ها برای مطالعات مرفولوژیکی و تشخیص نوع آنمی شامل نورموسیت، ماکروسیت، یا میکروسیت استفاده می‌شوند (۱۸). در این مطالعه شاخص MCV در ماهیان تیمار شده با ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی (T4) و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی (T5) افزایش یافت که نشان‌دهنده کم‌خونی از نوع هایپرکرومیک بوده است (۳۳). این در حالیست که شاخص MCHC در تیمار ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره شیمیایی روی (T4) و هر دو غلظت نانو ذره سبز روی (T5 و T6) کاهش یافت. کاهش در میزان هموگلوبین ممکن است دلیلی برای افزایش میزان شاخص MCV و کاهش مقدار MCHC باشد (۱۸). از سوی دیگر کاهش در میزان MCH در تیمار ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز (T6) ممکن است به‌دلیل کاهش میزان آهن سلولی باشد (۲۰). در راستای نتایج ما Thangapandiyan و Monica (۲۷) افزایش میزان MCV را در ماهی کپور هندی (*L. rohita*) قرار گرفته در معرض نانو ذره سبز

گزارش کردند. علاوه‌بر این Ghafarifarsani و همکاران (۲۲) افزایش میزان MCV را در ماهی گلدفیش (*C. auratus*) تیمار شده با نانو ذره را گزارش دادند. برخلاف نتایج ما، Fiaz و همکاران (۹) افزایش میزان MCHC و کاهش MCV را در ماهی کپور علفخوار (*C. idella*) آلوده شده با نانو ذره شیمیایی روی را مشاهده کردند. به‌طورکلی تغییرات در مقادیر MCV، MCH و MCHC در ماهی کپور در این مطالعه این نشان‌دهنده القا استرس و تغییرات پاتوفیزیولوژی است.

در مطالعه حاضر تعداد گلبول‌های سفید به‌طور معنی‌داری در تمام تیمارها به‌جز ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی (T6) کاهش یافت. علاوه‌بر این تعداد لنفوسیت در گروه‌های تیمار شده با هر دو دز فلز سنگین روی (T1 و T2) و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی روی (T3) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این در حالیست که تعداد نوتروفیل در این سه تیمار به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. هم‌چنین تعداد مونوسیت در هر دو تیمار فلز سنگین (T1 و T2) و تیمار ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره سبز روی (T6) به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. کاهش میزان گلبول‌های سفید نشان‌دهنده سرکوب سیستم ایمنی و افزایش آن بیانگر پاسخ به عفونت است (۳۵). لنفوسیت غالب‌ترین لکوسیت‌های افتراقی است و مسئول بسیاری از عملکردهای سیستم ایمنی در ماهی است. این کاهش لنفوسیت‌ها ممکن است به‌دلیل عملکرد نادرست سیستم خونساز ناشی از قرار گرفتن در معرض روی به‌عنوان عامل استرس باشد (۳۶). در توافق با نتایج ما، Çelik و همکاران (۳۰) نشان دادند که تعداد گلبول‌های سفید و لنفوسیت در معرض فلز سنگین روی ماهی تیلاپیای موزامبیک (*O. mossambicus*) کاهش می‌یابد. هم‌چنین Faiz و همکاران (۹) نیز کاهش تعداد گلبول‌های سفید در کپور علفخوار (*C. idella*) در پاسخ به نانوذره شیمیایی روی را گزارش کردند. این درحالیست که تعداد گلبول‌های سفید در ماهی گلدفیش (*C. auratus*) در معرض نانوذره شیمیایی روی افزایش و تعداد لنفوست تغییری نیافت (۲۲). علاوه‌بر این، کاهش تعداد گلبول‌های سفید در ماهی کپور هندی (*L. rohita*) قرار گرفته در معرض نانوذره سبز روی نیز توسط Thangapandiyan و Monika (۲۷) گزارش شد که بر خلاف نتایج مطالعه حاضر است. در این مطالعه تعداد مونوسیت در هر دو دز فلز سنگین روی (T1 و T2) و غلظت ۲/۵ میلی‌گرم نانو ذره سبز روی (T6) افزایش یافت. هم‌چنین، تعداد نوتروفیل نیز در هر دو غلظت فلز سنگین روی (T1 و T2) و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نانواکسید روی افزایش (T5) یافت. افزایش تعداد نوتروفیل و مونوسیت نیز در ماهی تیلاپیای موزامبیک (*O. mossambicus*) قرار گرفته در معرض فلز سنگین روی توسط Çelik و همکاران (۳۰) گزارش شد که در راستای نتایج این مطالعه است. Ghafarifarsani و همکاران (۲۲) گزارش دادند که تعداد مونوسیت تحت‌تأثیر نانوذره روی در ماهی گلدفیش (*C. auratus*) تغییر نیافت که مشابه نتایج مطالعه حاضر بود. کاهش در تعداد لنفوسیت و گلبول‌های سفید و افزایش تعداد نوتروفیل بعد از قرارگیری ماهیان در معرض فلزات سنگین ممکن است به‌دلیل آزادسازی هورمون نورواپی‌نفرین در طول فرآیند سمیت توسط روی و تضعیف سیستم ایمنی باشد (۳۷، ۳۸، ۳۹، ٤٠).

نتیجه‌گیری

گسترش استفاده از فرم‌های مختلف فلز روی نگرانی‌ها در مورد تأثیر آن‌ها بر سلامت جانوران آبزی را افزایش داده است. در این مطالعه استفاده از فرم‌های مختلف فلز روی حتی نانو سبز روی تأثیر

منفی بر فراسنجه‌های خون‌شناسی برجای گذاشت هر چند فرم سنگین فلز روی اثرات شدیدتری را بروز داد. هم‌چنین با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد فلز روی حتی در فرم سبز می‌تواند اثرات سوئی بر شاخص‌های خونی ماهی کپور بر جای بگذارد و باید در استفاده از انواع مختلف نانوذرات در فرم‌های سنتز شده مختلف، جنبه‌های زیستی و فیزیولوژیکی مورد توجه قرار گیرد.

منابع

1. Ben-Slama, I., Mrad, I., Rihane, N., Mir, L. E., Sakly, M., & Amara, S. (2015). Sub-acute oral toxicity of zinc oxide nanoparticles in male rats. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 1-6.
2. Cheng, Z., Man, Y. B., Nie, X. P., & Wong, M. H. (2013). Trophic relationships and health risk assessments of trace metals in the aquaculture pond ecosystem of Pearl River Delta, China. *Chemosphere*, 90 (7), 2142-2148.
3. Zhao, C. Y., Tan, S. X., Xiao, X. Y., Qiu, X. S., Pan, J. Q., & Tang, Z. X. (2014). Effects of dietary zinc oxide nanoparticles on growth performance and antioxidative status in broilers. *Biological trace element research*, 160 (3), 361-367.
4. Arain, M. B., Kazi, T. G., Jamali, M. K., Jalbani, N., Afridi, H. I., & Shah, A. (2008). Total dissolved and bioavailable elements in water and sediment samples and their accumulation in *Oreochromis mossambicus* of polluted Manchar Lake. *Chemosphere*, 70 (10), 1845-1856.
5. Ebrahimi, M., & Taherianfard, M. (2010). Concentration of four heavy metals (cadmium, lead, mercury, and arsenic) in organs of two cyprinid fish (*Cyprinus carpio* and *Capoeta sp*.) from the Kor River (Iran). *Environmental monitoring and assessment*, 168 (1), 575-585.
6. Dekani, L., Johari, S. A., & Joo, H. S. (2019). Comparative toxicity of organic, inorganic and nanoparticulate zinc following dietary exposure to common carp (*Cyprinus carpio*). *Science of the Total Environment*, 656, 1191-1198.
7. Lin, S., Lin, X., Yang, Y., Li, F., & Luo, L. (2013). Comparison of chelated zinc and zinc sulfate as zinc sources for growth and immune response of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 406 (3), 79-84.
8. Fialkowski, W., Fialkowska, E., Smith, B. D., & Rainbow, P. S. (2003). Biomonitoring survey of trace metal pollution in streams of a catchment draining a zinc and lead mining area of Upper Silesia, Poland using the amphipod *Gammarus fossarum*. International Review of Hydrobiology: *A Journal Covering all Aspects of Limnology and Marine Biology*, 88 (2), 187-200.
9. Faiz, H., Zuberi, A., Nazir, S., Rauf, M., & Younus, N. (2015). Zinc oxide, zinc sulfate and zinc oxide nanoparticles as source of dietary zinc: comparative effects on growth and hematological indices of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 17 (3), 568-574.
10. Kori-Siakpere, O., & Ubogu, E. O. (2008). Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, *Heteroclarias sp.* (Osteichthyes: Clariidae). *African Journal of Biotechnology*, 7, 12.
11. Kousar, S., & Javed, M. (2014). Heavy metals toxicity and bioaccumulation patterns in the body organs of four fresh water fish species. *Pakistan Veterinary Journal*, 34 (2), 161-164.
12. Javed, M., & Usmani, N. (2019). An overview of the adverse effects of heavy metal contamination on fish health. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: *Biological Sciences*, 89 (2), 389-403.
13. Neethirajan, S., & Jayas, D. S. (2011). Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and bioprocess technology*, 4 (1), 39-47.

14. Wang, C., Cheng, K., Zhou, L., He, J., Zheng, X., Zhang, L., Zhong, X., & Wang, T. (2017). Evaluation of long-term toxicity of oral zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate in mice. *Biological trace element research*, 178 (2), 276-282.
15. Kumari, S., Panda, P. K., Pramanik, N., Verma, S. K., & Mallick, M. A. (2019). Molecular aspect of phytofabrication of gold nanoparticle from *Andrographis peniculata* photosystem II and their in vivo biological effect on embryonic zebrafish (*Danio rerio*). Environmental Nanotechnology, *Monitoring & Management*, 11, 100201.
16. Ladhar, C., Geffroy, B., Cambier, S., Treguer-Delapierre, M., Durand, E., Brèthes, D., & Bourdineaud, J. P. (2014). Impact of dietary cadmium sulphide nanoparticles on *Danio rerio* zebrafish at very low contamination pressure. *Nanotoxicology*, 8 (6), 676-685.
17. Verma, Y., Rani, V., & Rana, S. V. S. (2020). Assessment of cadmium sulphide nanoparticles toxicity in the gills of a fresh water fish. Environmental Nanotechnology, *Monitoring & Management*, 13: 100280.
18. Ibrahim, A. T. A., Banaee, M., & Sureda, A. (2021). Genotoxicity, oxidative stress, and biochemical biomarkers of exposure to green synthesized cadmium nanoparticles in *Oreochromis niloticus* (L.). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: *Toxicology & Pharmacology*, 242, 108942.
19. Hanley, C., Thurber, A., Hanna, C., Punnoose, A., Zhang, J., & Wingett, D. G. (2009). The influences of cell type and ZnO nanoparticle size on immune cell cytotoxicity and cytokine induction. *Nanoscale research letters*, 4 (12), 1409-1420.
20. Ibrahim, A. T. A. (2020). Toxicological impact of green synthesized silver nanoparticles and protective role of different selenium type on *Oreochromis niloticus*: hematological and biochemical response. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 61, 126507.
21. Alkaladi, A., El-Deen, N. A. N., Afifi, M., & Zinadah, O. A. A. (2015). Hematological and biochemical investigations on the effect of vitamin E and C on *Oreochromis niloticus* exposed to zinc oxide nanoparticles. *Saudi journal of biological sciences*, 22 (5), 556-563.
22. Ghafarifarsani, H., Hedayati, S. A., Yousefi, M., Hoseinifar, S. H., Yarahmadi, P., Mahmoudi, S. S., & Van Doan, H. (2022). Toxic and bioaccumulative effects of zinc nanoparticle exposure to goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). *Drug and Chemical Toxicology*. 1-11.
23. Yeganeh, S., Adel, M., Ahmadvand, S., Ahmadvand, S., & Velisek, J. (2016). Toxicity of organic selenium (Selemax) and its effects on haematological and biochemical parameters and histopathological changes of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Toxin Reviews*, 35 (3-4), 207-213.
24. Lakshmi, S. J., Bai, R. R., Sharanagouda, H., Ramachandra, C. T., Nadagouda, S., & Doddagoudar, S. R. (2017). Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles from spinach (*Spinacia oleracea*) leaves and its effect on seed quality parameters of greengram (*Vigna radiata*). *International Journal of Current Microbiology and* Applied *Sciences*, 6 (9), 3376-3384.
25. Bhuyan, T., Mishra, K., Khanuja, M., Prasad, R., & Varma, A. (2015). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles from *Azadirachta indica* for antibacterial and photocatalytic applications. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 32 (5), 55-61.
26. Dacie, J. V., & Lewis, S. M. (1984). Practical haematology. 6th edition. Churchil Livingstone, Edinburgh. pp. 32-34 & 38-39.
27. Thangapandiyan, S., & Monika, S. (2020). Green synthesized zinc oxide nanoparticles as feed additives to improve growth, biochemical, and hematological parameters in freshwater fish *Labeo rohita*. *Biological trace element research*, 195 (2), 636-647.

28. Ali, A. J., Jalaluddin Akbar, N., Arun Kumar, M. S., Vijayakumar, S., & Akbar John, B. (2018). Effect of cadmium chloride on the haematological profles of the freshwater ornamental fsh, *Cyprinus carpio* koi (linnaeus, 1758). *Journal Clean WAS*, 2, 10-15.
29. Soundararajan, M., Veeraiyan, G., & Samipillai, S. S. (2014). Effect of heavy metal arsenic on haematological parameters of freshwater fish, *Tilapia mossambica*. *International Journal of Modern Research and Reviews*, 2 (3), 132-135.
30. Çelik, E. Ş., Kaya, H., Yilmaz, S., Akbulut, M., & Tulgar, A. (2013). Effects of zinc exposure on the accumulation, haematology and immunology of Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *African Journal of Biotechnology*, 12 (7), 25-36.
31. Oti, E. E., & Avoaja, D. A. (2005). Haematological assessment of freshwater catfishes, *Clarias gariepinus* (Burch) and" Heteroclarias"(Hybrid) exposed to sublethal concentrations of zinc. *Pakistan Journal of Zoology*, 37 (2), 101-105.
32. Kodama, M., Ogata, T., & Yamamori, K. (1982). Hemolysis of erythrocytes of rainbow trout *Salmo gairdneri* exposed to zinc polluted water. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 10 (23), 140-153.
33. Buentello, J. A., Goff, J. B., & Gatlin III, D. M. (2009). Dietary zinc requirement of hybrid striped bass, *Morone chrysops*× *Morone saxatilis*, and bioavailability of two chemically different zinc compounds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40 (5), 687-694.
34. Bujjamma, P., & Padmavathi, P. (2018). Effect of cadmium on haematological changes in a freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *International Journal of Zoology Studies*, 3 (1), 132-141.
35. Abarghoei, S., Hedayati, A., Ghorbani, R., Miandareh, H. K., & Bagheri, T. (2016). Histopathological effects of waterborne silver nanoparticles and silver salt on the gills and liver of goldfish *Carassius auratus*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13 (7), 1753-1760.
36. Gaber, H. S., El-Kasheif, M. A., Ibrahim, S. A., & Authman, M. (2013). Effect of water pollution in El-Rahawy drainage canal on hematology and organs of freshwater fish. *World Applied Sciences Journal*, 21 (3), 329-341.
37. Olanike, K., Funmilola, A., Olufemi, B., & Olajide, O. (2008). Sub lethal concentrations toxicity and blood profle of adult *Clarias gariepinus* exposed to lead nitrate. *The Internet Journal of Hematology*, 4 (2), 4. 2-10.
38. Ghafarifarsani, H., Hoseinifar, S. H., Aftabgard, M., & Van Doan, H. (2022). The improving role of savory (*Satureja hortensis*) essential oil for Caspian roach (*Rutilus caspicus*) fry: Growth, haematological, immunological, and antioxidant parameters and resistance to salinity stress. *Aquaculture*, 548, 737653.
39. Mirghaed, A. T., Yarahmadi, P., Craig, P. M., Farsani, H. G., Ghysvandi, N., & Eagderi, S. (2018). Hemato-immunological, serum metabolite and enzymatic stress response alterations in exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to nanosilver. *International Journal of Aquatic Biology*, 6 (4), 221-234.
40. Khabbazi, M., Harsij, M., Hedayati, S. A. A., Gerami, M. H., & Ghafari-farsani, H. (2015). Histopathology of rainbow trout gills after exposure to copper. *Iranian Journal of Ichthyology*, 1 (3), 191-196.