

آماده انتشار

تغییرات آسیب شناسی بافت آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده نانو ذرات شیمیایی، سبز و فلز سنگین روی

نرگس رستمیان^۱، آرش جواشیر خونی^{۱*}، آرش صلاحی نژاد^۲

narges.rostamian333@yahoo.com

arashjavanshir@ut.ac.ir

aslahin@uwo.ca

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
^۲گروه زیست‌شناسی، دانشکده بیولوژی، دانشگاه ساسکاچوان، کانادا

Doi: 10.22069/japu.2025.23051.1917

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳-۰۹-۱۴

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳-۰۹-۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳-۱۰-۱۴

چکیده:

با توجه به پیشرفت روزافزون فناوری نانو در همه‌ی زمینه‌ها و همچنین افزایش جهانی در استفاده از نانوذرات طی دهه‌های گذشته، ورود آن‌ها به محیط زیست افزایش یافته است. در این راستا ورود این مواد به محیط زیست قابلیت تأثیر بر موجودات زنده از جمله ماهی‌ها را خواهد داشت. از این‌رو هدف از این مطالعه، بررسی آسیب شناسی بافتی ناشی از نانوذره سبز، شیمیایی و فلز سنگین روی بر بافت آبشش ماهی کپور معمولی می‌باشد. تعداد ۴۲۰ بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $30 \pm 4/3$ گرم به مدت ۲۱ روز با غلظت‌های ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسید روی سنتز شیمیایی، نانوذره اکسید روی سنتز سبز و فلز سنگین روی، در ۷ گروه آزمایشی با احتساب تیمار شاهد با سه تکرار تقسیم شدند. تغییرات بافت‌شناسی هایپرپلازی و هایپرتروفی، چسبندگی لاملا، کوتاه شدن لاملاهای ثانویه، نکروز، آنروسم، انحنای در لاملای ثانویه و خمیدگی تیغه‌های ثانویه در ماهی کپور معمولی مشاهده شد. این پژوهش نشان داد که نانوذره اکسید روی سنتز شیمیایی و فلز سنگین روی با غلظت‌های ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند بافت آبشش ماهی کپور معمولی را تحت تأثیر قرار دهد. اما این آسیب در مواجهه با نانوذره اکسید روی سنتز سبز با غلظت‌های ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم کم‌تر بود. این امر لزوم سنتز نانوذرات از طریق سنتز سبز را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: نانوذره روی، فلز سنگین روی، صدمات بافتی، ماهی کپور معمولی

مقدمه:

بوم‌سازگان‌های آبی همواره دریافت‌کننده حجم وسیعی از آلاینده‌هایی چون آفت‌کش‌ها، فلزات سنگین، نانوذرات، هیدروکربن‌های نفتی و مواد آلی ناشی از فاضلاب‌های خانگی، کشاورزی، معدنی و صنعتی می‌باشند. ورود این آلاینده‌ها تعادل بوم‌سازگان را برهم زده و از عملکرد درست آن ممانعت می‌کند (۱). فناوری نانو در معنای ساده استفاده از مواد و ساختارهای در مقیاس نانو (حداقل با قطر ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) است. دستکاری ماده در چنین مقیاس اتمی و مولکولی کوچکی، سبب کاربرد وسیع این علم در شیمی، زیست‌شناسی، فیزیک، داروسازی و علوم مهندسی شده است (۲). افزایش تولیدات و محصولات نانو به ناچار منجر به افزایش فاضلاب نانو مواد می‌شوند. این فاضلاب‌ها از طریق هوازدگی اکسید و به طور عمدی یا تصادفی وارد محیط می‌گردند. محیط‌های آبی که بسیار آسیب‌پذیر هستند، محل رسوب و تجمع بسیاری از این نانوذرات و فاضلاب شیمیایی هستند. در نهایت این نانوذرات وارد واکنش با موجودات زنده و عوامل غیرزنده می‌شوند، اما اثرات مضر و تخریب‌کننده آن‌ها به طور کامل شناخته نشده است. و این عدم شناخت کافی منجر به ایجاد نگرانی‌هایی برای سلامت انسان و محیط زیست می‌شود (۳).

اکسید روی یکی از مهم‌ترین اکسیدهای فلزی است که در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. اکسید روی پودری سفید یا زرد است که از سنگ معدن روی به دست می‌آید. در طول بیست سال گذشته، نانوذرات روی در بسته‌بندی مواد غذایی، حسگرهای زیستی، تصویربرداری سلولی و درمان سرطان، لوازم آرایشی، تصفیه آب و فاضلاب مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. اندازه ذرات تا حد نانومتری کاهش می‌یابد که باعث تغییر در خواص فیزیکی و شیمیایی مواد و ظهور خواص جدید در آن‌ها می‌شود. سطح ویژه نانو اکسید روی نفوذپذیری آن را افزایش می‌دهد و اندازه کوچک ذرات قابلیت پخش خوبی به آن‌ها می‌دهد که توزیع آن را در بافت هدف یکنواخت می‌کند (۴).

هائو و همکاران (۲۰۰۹)، اثر تغییرات آسیب‌شناسی بافتی و استرس اکسیداتیو را در مواجهه با سمیت تحت‌کشنده نانو اکسید تیتانیوم در اندام‌های مختلف بچه ماهی کپور بررسی نمودند و این تغییرات را در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیداز در آبشش، کبد و مغز چه ماهی کپور مشاهده کردند. نتایج نشان داد که بررسی این اندام‌ها برای نظارت بر وضعیت استرس اکسیداتیو ماهی بعد از در معرض قرار گرفتن در نانو اکسید روی مناسب بودند. آبشش، کبد و مغز اندام‌های حساس‌تری بودند و روده کم‌ترین میزان تغییرات را نشان داد (۵). چهارده و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی اثر آلاینده نوظهور نانو ذره اکسید روی (ZnO) بر روی بافت کبد و آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و به دنبال آن بررسی اثر ایمنی ویتامین C بر شکستگی

DNA پس از اعمال نانوذره پرداخت. بر طبق نتایج، اثر غلظت ZnO و ویتامین C و اثر متقابل زمان- غلظت بر روی سطح آسیب DNA در بافت کبد و آبشش بین تیمارهای مختلف کاملاً معنی‌دار بود. بیشترین آسیب در بافت کبد و آبشش در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره اکسید روی در روز پنجم مشاهده شد. همچنین در هر دو بافت در روز دهم میزان شکستگی DNA کاهش یافت (۶). از اندام‌های مهم ماهیان در رابطه با بررسی اثرات آلاینده‌های محیطی آبشش می‌باشد. زیرا این بافت به‌طور مستقیم در معرض آلاینده‌های محیط آبی قرار دارد. از این‌رو هدف از مطالعه پیش‌روی، بررسی تغییرات آسیب‌شناسی بافت آبشش ماهی کپور معمولی در مواجهه با غلظت‌های تحت‌کشنده نانوذرات شیمیایی، سبز و فلز سنگین روی می‌باشد. که بعنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های زیستی کپورماهیان اطلاعاتی در اختیار ما قرار دهد.

مواد و روش :

تهیه ماهی:

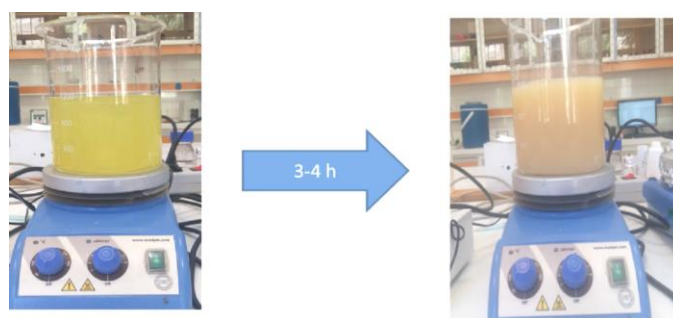
تعداد ۴۲۰ بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با میانگین وزنی ۳۰ گرم تهیه شد. سپس به تانک‌های ۱۲۰ لیتری منتقل شد. ماهیان در بدو ورود با آب‌نمک ۳٪ ضدعفونی شده و به مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از اتمام دوره سازش به صورت تصادفی در ۷ تیمار (با احتساب تیمار شاهد) تقسیم شد. هر تیمار دارای سه تکرار بود. برای تغذیه ماهیان در دوره سازش از غذای معمولی تجاری ماهی کپور معمولی به میزان ۳ درصد وزن بدن در دو نوبت استفاده شد. شرایط محیطی قابل کنترل و روزانه بررسی شد و هر ۴۸ ساعت یک‌بار ۵۰ درصد آب مخازن تعویض گردید. جهت اندازه‌گیری نانوذره روی از دستگاه اولتراسونیک استفاده شده و به آب تانک اضافه شد.

تیمارها:

پس از اتمام دوره سازش در ۷ گروه آزمایشی با احتساب تیمار شاهد تقسیم شدند. با استناد به نتایج حاصل از تعیین LC₅₀ بر اساس نتایج به‌دست آمده طی مطالعه قبلی محقق (۷) گروه‌های مورد نظر شامل T0 (کنترل)، T1 و T2 (غلظت ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر فلز سنگین روی)، T3 و T4 (غلظت ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره شیمیایی اکسید روی)، T5 و T6 (غلظت ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره سبز اکسید روی)، بود.

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 (شکل ۱). در مرحله اول عصاره آبی گیاه پونه براساس روش توصیف شده توسط لاکشمی و همکاران (۲۰۱۷) تهیه شد. در مرحله بعد ۱۰ میلی لیتر از عصاره تهیه شده با ۹۰ میلی لیتر نانو ذره اکسید روی مخلوط شده و به مدت ۲۴ 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 ۳۰۰-۷۰۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. محلول حاوی نانو ذره ساخته شده سانتریفیوژ شد (۵۰۰ دور در دقیقه برای ۱۰ دقیقه) و سپس محلول رویی دور ریخته شد و سوسپانسیون در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شد (۷). سنتز شیمیایی اکسید روی نیز با استفاده از دستگاه اولتراسونیک جهت اندازه گیری، انجام شد.



شکل ۱- فرایند تبدیل نانوذره سبز سنتز شده

Figure ۱- The conversion process of the synthesized green nanoparticle

نمونه برداری:

ماهی ها در هر یک از تیمارها به مدت ۲۱ روز در معرض نانو ذرات اکسید روی سنتز شیمیایی، سنتز سبز و فلز سنگین روی قرار گرفتند. در پایان این دوره از هر تیمار ۳ قطعه ماهی به صورت کاملاً تصادفی صید و پس از بیهوش کردن، بافت آبشش آن ها خارج شد و نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن تثبیت شدند. سپس چندین مرتبه با الکل اتانول ۷۰ درصد مورد شستشو قرار گرفتند. پس از آن توسط الکل ۹۵ و ۱۰۰ در پایان توسط الکل بوتانول آگیری و سپس با پارافین قالب گیری شدند.

از بافت‌ها برش‌هایی به ضخامت ۵-۶ میکرومتر تهیه شد. پس از نگهداری به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه آون به روش استاندارد هماتوکسیلین اتوزین رنگ آمیزی صورت گرفت. در نهایت به‌منظور بررسی عوارض بافتی ناشی از اثرات نانو ذرات اکسید روی سنتز شیمیایی، سنتز سبز و فلز سنگین روی و مقایسه بافت‌های مورد نظر با نمونه‌های شاهد از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکس برداری استفاده شد (۷).

جدول ۱- عوارض بافتی آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه ۲۱ روزه با نانو ذرات اکسید روی سنتز شیمیایی،

سنتز سبز و فلز سنگین روی در دو غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر و ۲/۵ میلی گرم در لیتر

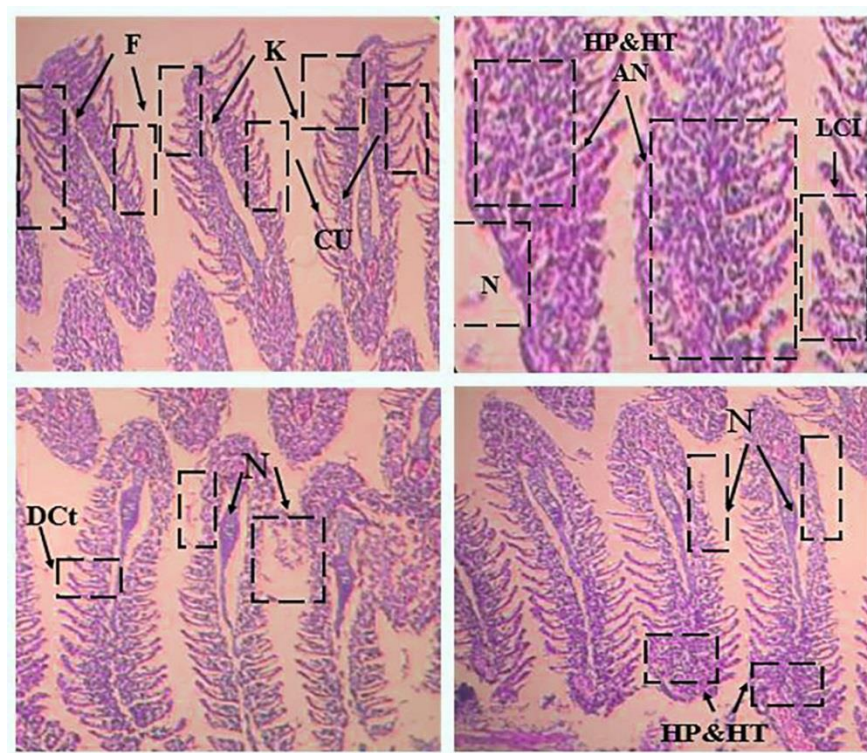
Table 1- Tissue effects of gills of common carp (*Cyprinus carpio*) in 21 days of exposure to zinc oxide nanoparticles of chemical synthesis, green synthesis, and zinc heavy metal in two concentrations of 1.5 mg/liter and 2.5 mg/liter

تخریب‌ها پارامترها	کوتاه شدن لاملاهای ثانویه	نکروز	چماقی شدن لاملا	آنروسم	انحنا در لاملاهای ثانویه	خمیدگی تیغه‌های ثانویه هایپرلازی و هیتروتروفی	چسبندگی لاملاها
شاهد	-	-	-	-	-	-	-
نانوذره اکسید روی سنتز شیمیایی غلظت ۱/۵ (mg/l)	+	-	-	-	++	++	++
نانوذره اکسید روی سنتز شیمیایی غلظت ۲/۵ (mg/l)	+++	++	+	++	++	++	++
نانوذره اکسید روی سنتز سبز غلظت ۱/۵ (mg/l)	-	-	-	-	-	+	-
نانوذره اکسید روی سنتز سبز غلظت ۲/۵ (mg/l)	-	-	-	-	-	=	+
فلز سنگین روی غلظت ۱/۵ (mg/l)	++	+	+	+	++	++	++
فلز سنگین روی غلظت ۲/۵ (mg/l)	+++	++	++	++	++	++	++

عدم مشاهده عارضه (-)، خفیف ۱ تا ۳ عدد در تیمار (+)، متوسط ۳ تا ۶ عدد در تیمار (++)، شدید بالای ۶ عدد در تیمار (+++)

نتایج و بحث :

آبشش ماهیان مورد آزمایش در گروه شاهد از نظر بافت‌شناسی طبیعی بود. در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی سنتز شیمیایی هیپرپلازی و هیپرتروفی متوسط، انحنای در لاملای ثانویه و خمیدگی تیغه‌های ثانویه، در غلظت ۲/۵ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی سنتز شیمیایی هیپرپلازی و هیپرتروفی شدید، نکروز و کوتاه شدن لاملای ثانویه، در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر نانوذره اکسید روی سنتز سبز هیپرپلازی و هیپرتروفی خفیف و چسبندگی لاملا، در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر فلز سنگین روی هیپرپلازی و هیپرتروفی متوسط، چسبندگی لاملا و خمیدگی تیغه‌های ثانویه و در غلظت ۲/۵ میلی گرم در لیتر فلز سنگین روی هیپرپلازی و هیپرتروفی شدید، نکروز، کوتاه شدن تیغه‌های ثانویه، نکروز، آنروسم و چماقی شدن لاملا بعنوان مهم‌ترین تغییرات هیستوپاتولوژیکی مشاهده شد (جدول ۱، شکل ۲). با افزایش غلظت نانوذرات و فلز سنگین روی در آب میزان آسیب بافت آبشش افزایش یافت. علائم پاتولوژی آبشش در جدول ۱ و تصاویر آبشش‌ها در شکل ۲ ارائه شده است.



شکل ۲- عوارض بافتی آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه ۲۱ روزه با نانو ذرات اکسید روی سنتز شیمیایی، سنتز سبز و

فلز سنگین روی در دو غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر و ۲/۵ میلی گرم در لیتر. HP&HT (هایپرپلازی و هایپرتروفی سلول‌های اپیتلیال)، An

LCI (چماقی شدن لاملا)، N (نکروز)، DCt (انحناء در لاملاى ثانويه)، K (کوتاه شدن لاملاى ثانويه)، CU (خمیدگی تیغه‌های

ثانويه)، F (چسبندگی لاملاها)، (H&E x20)

Figure 2- Tissue effects of gills of common carp (*Cyprinus carpio*) in 21 days exposure to zinc oxide nanoparticles of chemical synthesis, green synthesis and zinc heavy metal in two concentrations of 1.5 mg/liter and 2.5 mg/liter. HP&HT (hyperplasia and hypertrophy of epithelial cells), An (aneurysm), LCI (lamella clubbing), N (necrosis), DCt (curvature in the secondary lamella), K (shortening of the secondary lamella), CU (curvature of the lamellae) secondary), F (adhesion of lamellae), (H&E 20x)

با توجه به سرعت رشد آلاینده‌ها از جمله نانوذرات و فلزات سنگین و انتقال آن‌ها به محیط زیست و عدم اطلاعات کافی در زمینه تأثیرات زیست محیطی آن‌ها به‌خصوص اثرات آن‌ها بر موجودات آبی، بررسی سرنوشت آن‌ها در بوم‌سازگان آبی و همچنین تأثیرات ناشی از تماس مواد مذکور با ارگانیسم‌های آبی به‌ویژه ماهی‌ها، در ارزیابی سلامت محیط‌های آبی و موجودات زنده بوم‌سازگان امری مهم تلقی می‌گردد. هیستوپاتولوژی به‌عنوان یکی از تکنیک‌های اصلی در مطالعه سمیت آلاینده‌ها از جمله نانوذرات و فلزات سنگین، اطلاعات مفیدی برای شناسایی اندام‌های هدف و سازوکارهای آسیب‌های ناشی از این مواد ارائه می‌کند (۸). آبشش ماهیان جزء اندام‌های مهم محسوب می‌شود که وظایف مهمی، از جمله تبادل گازهای تنفسی، دفع مواد زائد نیتروژنی، تنظیم اسید- باز و تنظیم فشار اسمزی ایجاد کند (۹).

در مواجهه ۲۱ روزه با غلظت‌های ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره اکسید روی سنتز شیمیایی، نانوذره اکسید روی سنتز سبز و فلز سنگین روی، تغییرات بافت‌شناسی هایپرپلازی و هایپرتروفی، چسبندگی لاملا، کوتاه شدن لاملاهای ثانویه، نکروز، آنوریسم، انحناء در لاملاى ثانويه و خمیدگی تیغه‌های ثانويه مشاهده شد. این نتایج مطابق با پژوهش‌های قبلی است که نشان داده‌اند آبشش ماهیان به نانوذرات و فلزات سنگین حساس هستند. مواجهه با نانوذرات اکسید روی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به هایپرپلازی و هایپرتروفی سلول‌های راسی لاملاى ثانويه، هایپرتروفی و هایپرپلازی سلول‌های موکوسی در لاملا اولیه، هایپرتروفی سلول‌های غضروفی، چماقی شدن لاملاى ثانويه، کوتاه شدگی لاملاى ثانويه، آنوریسم ضعیف، فیوزن خفیف، جداسدگی شدید اپیتلیال لاملاى ثانويه و در نایت در بعضی موارد تخریب بافت به‌صورت خفیف مشاهده شده است (۱۰). که با عوارضی که در مطالعه محققین دیگر که بر روی گونه‌های آبی انجام شد مطابقت داشت (۲، ۵، ۱۱). مطالعات هیستوپاتولوژیکی انجام شده از نانو ذرات اکسید روی بر ماهیان بسیار اندک بوده و فقط چند گزارش تاکنون از آن به‌چاپ رسیده است. در مطالعه-

ای که توسط سوباشکومور و سلوانایاگام (۲۰۱۴) با عنوان اثر نانوذره اکسید روی بر بافت آبشش ماهی کپور معمولی انجام شد عوارضی نظیر اتساع تیغه‌ها، خمیدگی اپیتلیال، پوسته پوسته شدت و نکروز، تغییر و از دست دادن تیغه‌های ثانویه در غلظت‌های پایین، تورم و احتقان خونی حاد در ۱۰ درصد LC₅₀ و در ۲۰ درصد LC₅₀، هایپرپلازی سلول‌های اپیتلیال، همجوشی لاملا، آنوریسم، بهم‌ریختگی لاملا و پیچش یا حلقه حلقه (حالت فر شدن) مشاهده کردند (۱۲). در پژوهش‌های دیگر نتایج مشابه‌ای از جمله ساختار نامنظم و هسته پیکنوتیک اپیدرم، آپلازی و یا جوشخوردگی تیغه آبششی، تانژکتازیس، نکروز و جداشدگی اپیتلیالی آبشش در ماهی خاویاری سیبری (۹) هایپرپلازی، ادم و جداشدگی اپیتلیوم آبشش و جوشخوردگی تیغه آبششی در ماهی طلائی (۱۳) و آنوریسم تیغه اولیه، هایپرپلازی اپیتلیال، افزایش موکوس، جوشخوردگی تیغه و خمیدگی تیغه ثانویه در ماهی مداکا (۸) مشاهده شده است.

در مطالعه حاضر معمول‌ترین عارضه تغییرات هایپرپلازی و هایپرتروفی در لاملاها بود. هایپرتروفی از جمله تغییرات موقت و قابل برگشت بافت‌ها است که تحت تاثیر هر عامل خارجی می‌تواند ایجاد گردد. هایپرپلازی اغلب پاسخی اولیه به تحریک غیرطبیعی در روند تکثیر سلولی است و در آن شکل میکروسکوپی سلول طبیعی بوده اما میزان تکثیر بیش‌تر از حد نیاز است. هایپرپلازی و هایپرتروفی اپیتلیالی تیغه آبششی مشاهده شده در پژوهش حاضر یک واکنش جبرانی محسوب می‌شود که با این کار از ورود و جذب مواد سمی جلوگیری می‌شود (۱۴، ۱۵). اگر چه این واکنش‌ها فاصله بین آب و خون را افزایش و فضای بین تیغه‌های آبششی را کاهش می‌دهد و به کاهش جذب مواد سمی منجر می‌شوند، اما در اثر کاهش سطح تنفسی، اختلالات تنفسی (کاهش بازدهی تبادل گاز) را در پی دارند.

اثراتی از قبیل جداشدگی خفیف لایه پوششی در لاملای ثانویه که این عارضه نیز می‌تواند به علت یک واکنش دفاعی در برابر ترکیبات سمی و فلزات سنگین باشد، مشاهده شد این حالت در برخی نقاط آن‌قدر شدید بوده که منجر به ایجاد همجوشی بین لاملا شده است. ایجاد همجوشی بین دو لاملا نیز با مطالعات سالاری جو و همکاران (۱۳۹۱) در مورد اثرات نانوذرات نقره همخوانی داشت. در بیش‌تر مطالعات که آبشش با سموم مواجهه یافته است هایپرپلازی یک عارضه رایج گزارش شده که مرحله بعدی آن اتصال تیغه‌های ثانویه مجاور به هم می‌باشد (۲، ۵، ۱۱، ۱۲).

کوتاهی تیغه آبششی مشاهده شده در این پژوهش، تماس آبشش‌ها با آب را کاهش می‌دهد که نتیجه آن، کاهش میزان تبادل گاز و یون‌ها است (۹) که می‌تواند بر عملکرد طبیعی آبشش اثر بگذارد.

در مطالعه‌های قبلی مشخص شده که عدم تعادل اسمزی ناشی از نانوذرات سبب ادم و جداشدگی اپیتلیالی در تیغه ثانویه می‌شود (۱۶، ۱۷)، که مشابه این حالت اما به شکل خفیف در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد.

آنوریسم عروق پر خون و متورم و ناشی از آسیب سلول‌های ستونی است. این شرایط در بافت آبشش ممکن است بر تبادل گازی آبشش اثر گذاشته و به اختلال جریان خون در آبشش‌ها و پارگی و خون‌ریزی یا مرگ احتمالی منجر شود (۱۸، ۱۷، ۱۵) در واقع آنوریسم نوع شدیدی از جراحات است که ترمیم آن امکان‌پذیر است اما نسبت به تغییرات اپیتلیوم دشوارتر است (۲۰). در پژوهش حاضر آنوریسم در آبشش ماهیان دیده شد. در سایر پژوهش‌ها نیز گزارش شده است (۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲۳).

با توجه به رفتارشناسی ماهیان بعد از مواجهه با نانوذرات و فلز سنگین مورد مطالعه و نتایج هیستوپاتولوژی، علت تلفات ماهیان احتمالاً ناشی از اختلال تنفسی به دلیل آسیب بافت آبشش بود.

نتیجه‌گیری کلی :

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که نانوذره اکسید روی سنتز شیمیایی و فلز سنگین روی با غلظت‌های ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر در آب می‌تواند بافت آبشش ماهی کپور معمولی را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین، اعمال نظارت مناسب و دقیق برای پیشگیری از ورود این آلاینده‌ها به بوم‌سازگان آبی و دقت و توجه زیاد به استفاده از این نانومواد در صنعت آبی‌پروری ضروری به نظر می‌رسد. اما این آسیب در مواجهه با نانوذره اکسید روی سنتز سبز با غلظت‌های ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر کمتر بود. این امر لزوم سنتز نانوذرات از طریق سنتز سبز را نشان می‌دهد.

منابع:

1. Pourang, N., Tanabe, S., Rezvani, S., & Dennis, H. (2005). Trace elements accumulation in edible tissues of five sturgeon species from the Caspian Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 100, 89-108
2. Salarijoo, H., Kalbasi, M., & Johari, A. (2012). Influence of water on acute toxicity of colloidal nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Health and Environment*, 5(1), 121- 132 (In Persian).
3. Scown, T. M., Santos, E. M., Johnston, B. D., & Gaiser, B. (2010). Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. *Toxicol. Sci*, 115(2), 521-534.

4. Monsef Khoshhab, Z.(2012).Synthesis of zinc oxide using chemical precipitation method, *Payam Noor University Publications, Qazvin Center*, 1, (4), 11 pages. (In Persian).
5. Hao, L., Wang, Z., & Xing, B.(2009). Effect of sub-acute exposure to TiO₂ nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*), *Journal of Environmental Sciences*, 21: 1459–1466.
6. Chahardeh, E.,Hedayati, A., Kolangi, H., & Baqeri, T.(2016). Investigating the protective effect of vitamin C on DNA breakage in gill and liver cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to different concentrations of zinc oxide nanoparticles (ZnO). *Aquatic physiology and biotechnology*, 4(4), 111-132.
7. Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., & Ghaderiremazi, F. (2013). Aquatic toxicology. *Publications University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan*, Page 210. (In Persian).
8. Wu, Y., & Zhou, Q. (2013). Silver nanoparticles cause oxidative damage and histological changes in medaka (*Oryzias latipes*) after 14 days of exposure. *Environ Toxicol Chem*, 32, 165-173. <https://doi.org/10.1002/etc.2038>.
9. Ostaszewska, T., Chojnacki, M., Kamaszewski, M., & Sawosz-Chwalibog, E. (2016). Histopathological effects of silver and copper nanoparticles on the epidermis, gills, and liver of Siberian sturgeon. *Environ Sci Pollut Res Int*, 23, 1621-1633. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5391-9>.
10. Monfared, A. L., & 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(2), 391-395.
11. Patel, JM, & Bahadur, A. (2011). American-Eurasian. *J Toxicol Sci*, 4(1): 01-05.
12. Subashkumar, S., & Selvanayagan, M.(2014).First report on: Acute toxicity and gill histopathology of fresh water fish *Cyprinus carpio* exposed to Zinc oxide (ZnO)nanoparticles.*International Journal of Scientific and Research Publications (IJSRP)*,4,3.
13. 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*. *Int J Environ Sci Technol*, 13, 1753-1760. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-0972-9>.
14. Cerqueira, C.C., & Fernandes, M.N.(2002). Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 52, 83-91. <https://doi.org/10.1006/eesa.2002.2164>
15. Fernandes, M.N., & Mazon, A.F. (2003). Environmental pollution and fish gill morphology. In: Val., A.L., Kapoor, B.G. (Eds.), *Fish Adaptations, Science Publishers, Inc. Enfield, First edition, USA*, 203–231.
16. Al-Bairuty, G.A., Shaw, B.J., Handy, R.D., & Henry, T.B. (2013). Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat Toxicol*, 126, 104-115. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.10.005>.
17. Li, B., Hwang, J.Y., Drelich, J, Popko, D., & Bagley, S. (2010). Physical,chemical and antimicrobial characterization of copper-bearing material.*Jom Journal of the Minerals,Metals and Materials Society*,62: 80-95
18. Rostami, M., & Soltani, M. (2009). Study of tissue effects of chronic copper sulfate on some organs of common carp, *Journal of Veterinary Research*, 64(3), 193-198. (In Persian).
19. Martinez, C. B. R., M. Y. Nagae, C. T. B. V. Zaia & D. A. M. Zaia. (2004). Morphological and physiological acute effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Brazilian Journal of Biology*, 64 (4), 797-807.

20. Mansouri, B., & Johari, S.A.(2016). Effects of short-term exposure to sublethal concentrations of silver nanoparticles on histopathology and electron microscope ultrastructure of zebrafish (*Danio rerio*) gills. *Iran J Toxicol*, 10, 15-20.
21. Mansouri, B., Maleki, A., Johari, S.A., & Reshahmanish, N. (2015). Effects of cobalt oxide nanoparticles and cobalt ions on gill histopathology of zebrafish (*Danio rerio*). *AACL Bioflux*, 8, 438-44.
22. Govindasamy, R., & Rahuman, A.A. (2012). Histopathological studies and oxidative stress of synthesized silver nanoparticles in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Jacobs J Environ Sci*, 24, 1091-1098. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)60845-0](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(11)60845-0).
23. Johari, S.A., Kalbassi, M.R., Yu, I.J., & Lee, J.H. (2015b). Chronic effect of waterborne silver nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): *histopathology and bioaccumulation*. *Comp Clin Path*, 24, 995-1007. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-2019-2>

Pathological changes in the gill tissue of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to sub-lethal concentrations of chemical, green nanoparticles, and heavy metal zinc

Narges Rostamian¹, Arash Javanshir khoei^{*1}, Arash Salahinejad²

¹Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

²Department of Biology, University of Saskatchewan, Canada

Abstract:

Due to the increasing progress of nanotechnology in all fields and the global increase in the use of nanoparticles over the past decades, their entry into the environment has increased. In this regard, entering these materials into the environment will potentially affect living organisms, including fish. Therefore, this study aims to investigate the tissue pathology caused by green nanoparticles, chemicals, and the heavy metal zinc on the gill tissue of common carp. A total of 420 common carp fry with an average weight of 3.0 ± 0.3 g were treated for 21 days with concentrations of 1.5 and 2.5 mg/L of chemically synthesized zinc oxide nanoparticles, green synthesized zinc oxide nanoparticles, and heavy metal zinc, divided into 7 experimental groups including the control treatment with three replications. Histological changes of hyperplasia and hypertrophy, lamellar adhesion, shortening of secondary lamellae, necrosis, aneurysm, curvature of secondary lamellae, and curvature of secondary blades were observed in common carp. This study showed that chemically synthesized zinc oxide nanoparticles and heavy metal zinc at concentrations of 1.5 and 2.5 mg/L can affect the gill tissue of common carp. However, this damage was less when exposed to green synthesized zinc oxide nanoparticles at concentrations of 1.5 and 2.5 mg/L. This indicates the necessity of synthesizing nanoparticles through green synthesis.

Keywords: Zinc Nanoparticles, heavy metal zinc, tissue damage, common carp