مقاله کامل علمی- پژوهشی

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دهم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۰
۹۷-۱۰۶
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2021.18796.1574

بررسی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک پلی‌استایرن

علیرضا مهری[۱]، سید علی‌اکبر هدایتی*[۲]، حمید محمدی آذرم[۳]، علی جافر نوده[۴] و صفورا ابرقویی[۵]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

[۲]دانشیار گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

[۳]دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران،

[۴]دکتری شیلات گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

[۵]دانشجوی دکتری گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۰۸

چکیده

ذرات پلاستیکی کوچک به عنوان آلاینده‌های نوظهور شناخته شده‌اند و همین امر باعث گسترش مطالعات در این زمینه شده است. تاکنون مطالعات بسیاری به بررسی اثرات میکروپلاستیک‌ها بر روی موجودات زنده و آبزیان پرداخته است و مطالعات کم‌تری در رابطه با اثرات نانوپلاستیک‌ها بر روی موجودات انجام شده است؛ با این‌حال هنوز اطلاعات جامعی در رابطه با اثرات این مواد بر روی موجودات زنده و انسان وجود ندارد. این پژوهش با هدف بررسی پاسخ‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی ماهی کپور معمولی به عنوان مدل زیستی، در مواجه با نانو پلاستیک پلی‌استایرن به‌عنوان یک پلیمر پر مصرف انجام شد. ۸٤ عدد ماهی کپور معمولی با متوسط وزنی ۵/۱±۳۰، در ٤ تیمار غذایی (شاهد با غذای پایه و فاقد نانوپلاستیک، و تیمارها با غذهای حاوی ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر نانوپلی‌استایرن امولسیونی اسپری شده بر روی غذا به‌مدت ۲۸ روز قرار گرفتند. در پایان دوره آزمایش نمونه سرم جهت بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی و خون‌شناسی جمع‌آوری شد. غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک پلی‌استایرن با وجود روند افزایشی، بر تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، میزان MCV، MCH، MCHC، تعداد لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت، بازوفیل و ائوزینوفیل و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم، مانند، آلبومین و پروتئین کل سرم خون تأثیر معناداری ندارند ($P>0/05$). اما میزان گلبول‌های سفید و گلوکز در غلظت ۱ میلی‌لیتر (بالاترین غلظت)، نسبت به گروه شاهد افزایش معنادار داشت ($P<0/05$). نتیجه‌گیری کلی نشان داد احتمالاً غلظت‌های بالاتر نانوپلاستیک پلی‌استایرن موجب افزایش استرس و پاسخ‌های التهابی در ماهی کپور معمولی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی، ماهی کپورمعمولی، نانوپلاستیک پلی‌استایرن

* مسئول مکاتبه: hedayati@gau.ac.ir

مقدمه

در دهه‌های اخیر تولید پلاستیک‌ها در جهان افزایش چشم‌گیری داشته است. کاربرد پلاستیک‌ها تقریباً تمام جنبه‌های زندگی مدرن، شامل بسته‌بندی، ساخت و ساز، خودروسازی، لوازم الکترونیک و برقی، کشاورزی و غیره را شامل می‌شود (پلاستیک یورپ، ۲۰۱۸). افزایش جمعیت، گسترش صنعت ماهی‌گیری، گسترش فعالیت‌های تفریحی مرتبط با دریاها، فعالیت‌های صنعتی، کشتی‌های تجاری و افزایش مهاجرت به نواحی ساحلی، اثر قابل‌توجهی در ورود پسماندهای پلاستیکی به دریاها و اقیانوس‌ها داشته است (جایر و همکاران، ۲۰۱۷).

پلاستیک‌های وارد شده به اقیانوس‌ها و دریاها بر اثر عوامل مختلف تخریب‌شده و به تکه‌های کوچک‌تر تبدیل می‌شوند. از جمله عوامل تخریب پلاستیک می‌توان ۱- تخریب زیستی: تکه تکه شدن توسط ارگانیسم‌های زنده مانند میکروب‌ها ۲- تخریب نوری: به وسیله نور خورشید ۳- اکسیداسیون حرارتی: شکست اکسایشی کند در دمای متوسط محیط ٤- تخریب گرمایی: تخریب در دماهای زیاد ۵- هیدرولیز: واکنش با آب، اشاره کرد (جامبک و همکاران، ۲۰۱۷؛ العوفی و همکاران، ۲۰۰٤). پلاستیک‌ها در اثر عوامل فوق به میکرو و نانوپلاستیک تبدیل می‌شوند (الیورا و همکاران، ۲۰۱۹). میکروپلاستیک‌ها به ذرات کوچک‌تر از ۵ میلی‌متر اطلاق می‌شود اما در مورد نانوپلاستیک‌ها تعریف اثبات شده‌ای وجود ندارد (گیگولت و همکاران، ۲۰۱۸). اما فرض بر این است که آن‌ها ذراتی با منشأ و ترکیب مشابه میکروپلاستیک‌ها با اندازه زیر ۱۰۰ نانومتر هستند (فریئرا و همکاران، ۲۰۱۹؛ کولمنز و همکاران، ۲۰۱۵) در بین موجودات آبزی، ماهیان به دلیل رنگ‌آمیزی جذاب، شناور بودن و تشابه غذایی میکروپلاستیک‌ها با مواد غذایی، بیش‌تر مستعد بلعیدن این ذرات هستند و از آن‌جایی‌که ماهیان موجوات ارزشمندی از نظر تامین پروتئین حیوانی مورد نیاز انسان هستند بررسی وقوع و اثرات بالقوه این مواد بر ماهیان دارای اهمیت می‌باشد (ابرقویی و همکاران، ۱۳۹۹). طی سه دهه گذشته در پژوهش‌های علمی، از چندین گونه ماهی به عنوان گونه مدل استفاده شده است و ماهیان تبدیل به ابزاری مفید برای آزمایش‌های مربوط به دانش فرآیندهای بیولوژیکی، سموم اکوتوکسیکولوژی، مکانیسم بیماری‌ها و پزشکی زیستی مربوط به انسان و آب می‌شود (لاوارنس و همکاران، ۲۰۱۲؛ هریس و همکاران، ۲۰۱٤؛ آلستورم و همکاران، ۲۰۰٦).

ماهی کپور معمولی گونه مناسب جهت انجام آزمایش‌های سم‌شناسی بر روی آبزیان می‌باشد. از آن‌جایی‌که ویژگی‌های خون‌شناسی ماهیان یکی از مهم‌ترین شواهد مراحل فیزیولوژیک آن‌ها و منعکس‌کننده ارتباط خصوصیات اکوسیستم آبی و سلامت آن‌ها می‌باشد، آگاهی از دامنه طبیعی پارامترهای خونی یک ماهی می‌تواند به عنوان شاخص زیستی مورد استفاده قرار گیرد (لوسکووا و همکاران، ۱۹۹۵) به همین منظور با توجه به خواص نانو ذرات و احتمال سمیت بالاتر آن نسبت به میکرو پلاستیک‌ها، مطالعه حاضر با هدف بررسی سمیت نانوپلاستیک پلی‌استایرن به عنوان یک پلیمر پرمصرف بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی انجام شد.

مواد و روش‌ها

ذرات نانو پلی‌استایرن به صورت امولسیون در محدوده ۷۰ نانومتری تهیه شد (شکل ۱). استایرن به‌عنوان مونومر، پلی‌وینیل‌الکل (PVA) با جرم مولکولی ۱۲۸۰۰۰ گرم بر مول به عنوان تثبیت‌کننده از شرکت مرک آلمان و بنزوئیل‌پراکسید به عنوان آغازگر از شرکت آلفا آریزر (آمریکا) خریداری شدند. استایرن قبل از استفاده تقطیر شد و سایر مواد شیمیایی به‌همان صورت مورد استفاده قرار گرفت. هم‌چنین در تمام آزمایش‌ها آب دیونیزه به کار برده شد (تهامی وکیلی و همکاران، ۲۰۱٦؛ شوهانی و همکاران، ۲۰۱۷). ذرات پلی‌استایرن مطابق با پژوهش‌های تهامی و همکاران و شوهانی و همکاران ساخته شد، بر طبق این روش‌ها، ۳-۱ درصد وزنی آغازگر (بنزوئیل پراکسید)، ٤-۱ درصد وزنی تثبیت‌کننده (پلی‌وینیل الکل) انتخاب و سرعت هم‌زدن ۷۵۰-۵۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد. پلیمریزاسیون در یک راکتور یک لیتری سه‌دهانه، مجهز به قیف اضافه‌کننده (اضافه کردن قطرای مونومر استایرن)، خنک‌کننده و دماسنج انجام شد. در ظرف واکنش ٤۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، آغازگر و تثبیت‌کننده اضافه شد و گاز نیتروژن به‌مدت ۲۰ دقیقه برای خارج کردن اکسیژن محلول از آن عبور داده شد. سپس دما را به ۹۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و ضمن هم‌زدن به تدریج طی مدت نیم ساعت استایرن قطره قطره اضافه شد و واکنش پلیمریزاسیون به مدت ۸ ساعت ادامه یافت (تهامی وکیلی و همکاران، ۲۰۱٦؛ شوهانی و همکاران، ۲۰۱۷).

این پژوهش در تابستان ۱۳۹۸، در سالن آبزی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. ۸٤ عدد ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۵/۱ ±۳۰ گرم تهیه و در مخازنی با هوادهی و جریان مناسب آب به مدت دو هفته جهت سازگاری با شراط جدید نگهداری و روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن غذادهی شدند، سپس ماهیان به‌صورت تصادفی در گروه‌های ذیل قرار گرفتند، گروه شاهد با غذای پایه و فاقد نانوپلاستیک پلی‌استایرن و تیمارها با غذای حاوی ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر نانوپلی‌استایرن امولسیونی، که بر روی غذا اسپری شدند و از ژلاتین ۲ درصد برای تثبیت نانومواد بر روی غذا استفاده شد. با توجه به مطالعات ابرقویی و همکاران (۲۰۲۱) بر روی میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن در شرایط آزمایشگاهی و مطالعهات مشابه (لو و همکاران، ۲۰۱٦). نتایج نشان داد میکروپلاستیک و نانو پلاستیک‌ها قابلیت تجمع در اندام‌های مختلف را دارند، غلظت‌های این مطالعه بر اساس مطالعات پیشین و با بررسی غلظت‌های محیطی از طریق مطالعات میدانی بر روی میکروپلاستیک‌ها و با هدف بررسی اثرات مستقیم این ذرات از طریق خوراکی بر روی ماهی کپور معمولی به‌عنوان مدل زیستی انتخاب شد (ابرقویی و همکاران، ۲۰۲۰؛ بلسینگ و همکارن، ۲۰۱٤؛ باقری و همکاران، ۲۰۲۰). جهت تعیین محدوده LC_{50} غلظت‌های بسیاری اعمال شد. پیش‌تست‌های مطالعات پیشین بر روی این ذرات و ذرات میکروپلاستیک پلی‌استایرن نشان داد این ذرات در مدت ۹٦ ساعت کشندگی ندارند (ابرقویی و همکاران، ۲۰۲۰) غذای تهیه شده به مدت ۲٤ ساعت در دمای محیط خشک و سپس در ظروف استریل نگهداری شد

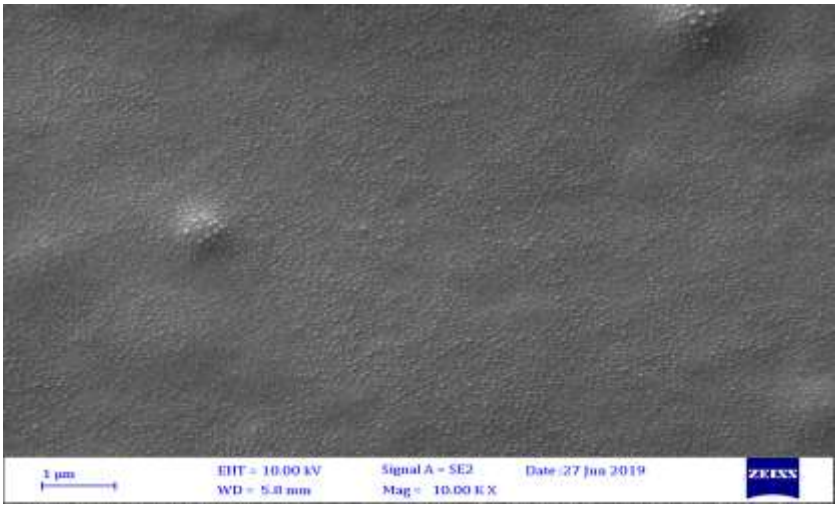
آزمایش‌های سمیت تحت‌حاد در مدت زمان ۲۸ روز انجام شد و در پایان دوره آزمایش، جهت تهیه پلاسما، ماهیان با پودر گل میخک به میزان ۲۰ ppm بیهوش و

با استفاده از سرنگ هپارینه خون‌گیری انجام شد. برای جداسازی پلاسما، نمونه‌های خون به مدت دو دقیقه در دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ و پس از جداسازی پلاسما، نمونه‌ها جهت انجام تست‌های بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه نگهداری شدند. اندازه‌گیری مقدار هموگلوبین مطابق روش (کوندرا و همکاران، ۲۰۱۲) مقدار هماتوکریت با استفاده از روش (وازکز و گوءرو، ۲۰۰۷).

شمارش گلبول‌های قرمز خون مطابق روش (وینتروب، ۱۹۳٤) و شمارش گلبول‌های سفید مطابق روش (وازکئوز و همکاران، ۲۰۰۷) انجام شد. مقدار پروتئین کل با روش بیورت و با استفاده از کیت زیست آزمون اندازه‌گیری شد (برتیس و اشوود، ۱۹۸٦). اطلاعات حاصل از آنالیزهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی با انجام آزمون Anova یک‌طرفه در سطح معناداری ۵ درصد (P<۰/۰۵) با استفاده از نرم‌افزار Spss 20 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

نتایج

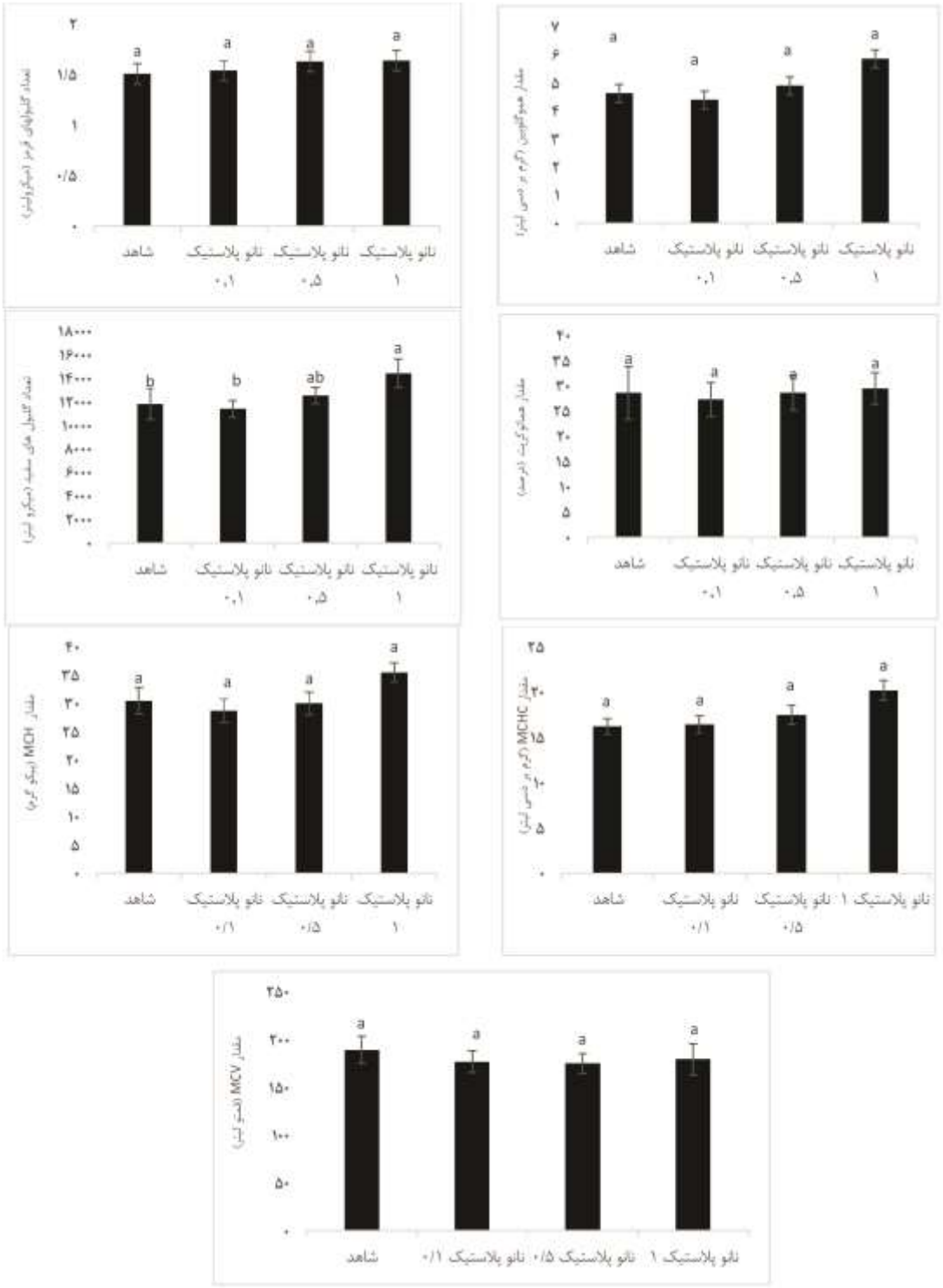
تصاویر FE-SEM نشان داد ذرات امولسیونی سنتز شده در محدوده ۷۰ نانومتر هستند (ZEISS آلمان مدل SIGMA VP).



شکل ۱- سنتز ذرات کوانتوم دات در محدوده ۷۰ نانومتری.

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک پلی‌استایرن برتعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC، تأثیر معناداری ندارد (P>۰/۰۵) اما در همه فاکتورهای سنجش شده روند افزایشی مشاهده شد. به‌طوری‌که در بالاترین غلظت نانوپلاستیک پلی‌استایرن (تیمار ۱ میلی‌لیتر) میزان گلبول‌های سفید نسبت به گروه شاهد افزیش معنادار داشت.

هم‌چنین، غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک بر تعداد لنفوسیت، نوتروفیل، مونوسیت، بازوفیل و ائوزینوفیل سرم خون تأثیر معنی‌داری نداشت (شکل ۲).

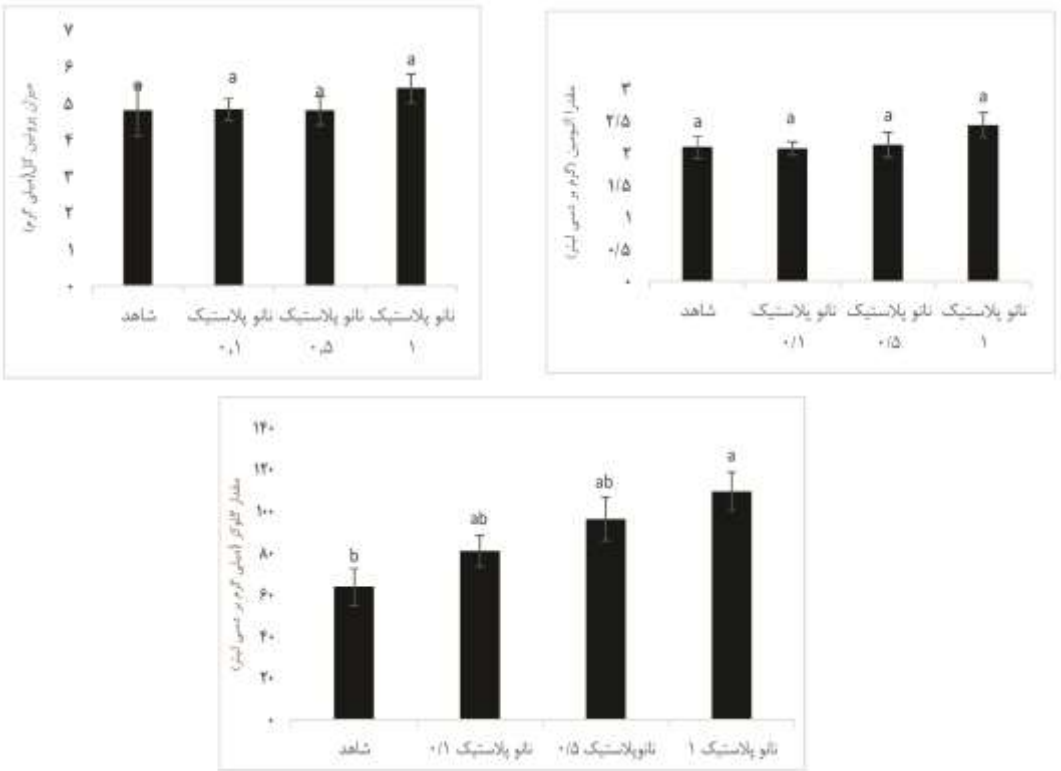


شکل ۲- شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوپلاستیک. در تیمارهای مختلف آزمایشی حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح (P>۰/۰۵) بین تیمارهای آزمایشی است و حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) بین تیمارهای آزمایشی است.

جدول ۱- شاخص‌های افتراقی خون ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوپلاستیک در تیمارهای مختلف آزمایشی، عدم حروف انگلیسی بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است.

شاخص‌های خونی / غلظت نانوپلاستیک (میلی‌لیتر)	نوتروفیل (درصد)	ائوزونوفیل (درصد)	مونوسیت (درصد)	لنفوسیت (درصد)	بازوفیل (درصد)
شاهد	۱۰±۲	۱±۱	٦±۱	۸۲/۳۳±٤	۰/٦٦±۰/۵
نانوپلاستیک ۰/۱	۱۰/۳۳±۱/۱	۱/۳۳±۰/۵	۵/۳۳±۱/۵	۸۱/٦٦±۳	۱/۳۳±۰/۵
نانوپلاستیک ۰/۵	۹±۱	۱/۳۳±۱/۱	۵±۱/۷	۸۳±٤/۳	۱/٦٦±۰/۵
نانوپلاستیک ۱	۹/٦٦±۲	۱/۳۳±۱/۱	٤/۳۳±۰/۵	۸۳/٦٦±۳/۵	۱±۰

بررسی تجریه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که، بالاترین غلظت آزمایش فقط بر میزان گلوکز خون تأثیر معناداری دارد ($P<۰/۰۵$) ولی بر میزان آلبومین و پروتین کل سرم تأثیر معناداری ندارد ($P>۰/۰۵$) هم‌چنین میزان گلوکز، آلبومین و پروتئین کل سرم خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با نانو پلاستیک با افزایش غلظت‌ها افزایش یافت (شکل ۳).



شکل ۳- شاخص‌های بیوشیمیایی سرم ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوپلاستیک در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ($P>۰/۰۵$) بین تیمارهای آزمایشی است و حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ($P<۰/۰۵$) بین تیمارهای آزمایشی است.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه تولید مواد پلاستیکی با رشد جمعیت وتوسعه صنعت درجهان چندین برابر شده است. پلاستیک‌ها می‌توانند باعث آسیب به ارگانیسم‌های مختلف شوند (برگامی و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH، MCHC، میزان آلبومین و پروتئین محلول، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار ندارند ولی گلبول سفید و گلوکز در بالاترین غلظت (۱ میلی‌لیتر)، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دارند. افزایش میزان گلبول‌های سفید ممکن است به این دلیل باشد که موجود توانسته سیستم ایمنی خود را در مواجهه با آلاینده تقویت کند و با شرایط سازگار شود (رمیلا و همکاران، ۲۰۰۸) افزایش تعداد گلبول‌های سفید در مواجهه با نانوپلاستیک می‌تواند به واسطه اثر ترکیبی هورمون‌های استرس مانند کورتیزول و یا به‌دلیل رادیکال‌های آزاد تولیدشده به واسطه نانوپلاستیک و توانایی این نانو ذرات در القاء پاسخ التهابی در ماهی باشد (کنزی و همکارن، ۲۰۰۷)

از شاخص‌های بیوشیمیایی خون، میزان گلوکز، در بالاترین غلظت نانوپلاستیک، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت. از آن‌جایی‌که گلوکز اصلی‌ترین ماده به دست آمده از سوخت و ساز مواد کربوهیدراتی می‌باشد (ژو و همکارن، ۲۰۰۹) و افزایش غلظت آن می‌تواند به‌دلیل فرآیند گلکونئوژنزیز باشد که به موجب آن در شرایط نامساعد و استرس (داخلی یا خارجی) هورمون‌های کاتکول آمین، آدرنالین و نورآدرنالین توسط سلول‌های کرومافین به خون ترشح شده و این هورمون‌ها به‌همراه کورتیزول، گلیکوژن بافت را به گلوکز تبدیل کرده تا انرژی مورد نیاز سلول‌ها طی فرآیند استرس فراهم شود (ساراوانا و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعات مختلف اثرات نانوپلاستیک‌ها بر آبزیان انجام شده است. در مطالعه‌ای که توسط لی و همکاران (۲۰۱۹)، بر روی تجمع زیستی نانوپلاستیک‌های پلی‌استایرن و تأثیر آن‌ها بر سمیت یون‌های طلا بر جنین ماهی زبرای گورخری انجام شد، نتایج نشان داد که نانوپلاستیک‌های پلی‌استایرن کوچک‌تر، به آسانی در کوریون و در جنین در حال رشد نفوذ کرده (بیش‌تر در مناطق غنی از لیپیدها مانند لیپیدهای کیسه زرده) و در کل بدن تجمع می‌یابند. هم‌چنین نتایج نشان داد که نانوپلاستیک پلی‌استایرن اثرات کمی بر میزان بقا، میزان هچ، ناهنجاری‌های رشد و نمو و مرگ سلول جنین‌های ماهی گورخری ایجاد می‌کند؛ اما این اثرات توسط یون طلا، به صورت هم‌افزایی وابسته به اندازه و غلظت تشدید می‌شوند و در مجموع مشخص شد اگرچه اثرات نانوپلاستیک PS کم می‌باشد اما می‌تواند محرکی برای تشدید سمیت ناشی از سایر سموم مانند یون‌های فلزی باشد (لی و همکاران، ۲۰۱۹). در مطالعه‌ای که توسط چآو همکاران (۲۰۱۸) بر انتقال غذایی و اثرات انحصاری نانوپلاستیک پلی‌استایرن بر زنجیره غذایی چهار گونه آب شیرین انجام شد، نتایج نشان داد که نانوپلاستیک‌ها، به‌راحتی از طریق زنجیره غذایی منتقل می‌شوند و نتایج به شدت به خطرات بالقوه و ریسک بالای آسیب بر سلامتی هنگام در معرض قرار گرفتن نانو پلاستیک ها اشاره دارد (چآ و همکاران، ۲۰۱۸).

چنین ناسازگاری‌هایی در نتایج پژوهش‌های مختلف ممکن است نشان‌دهنده این واقعیت باشد که عوارض مختلف میکرو و نانوپلاستیک‌ها به غلظت و مدت زمان قرار گرفتن در معرض این ذرات، مرحله زندگی موجودات و شرایط مختلف محیطی بستگی دارد که در مطالعات مختلف متفاوت بوده است. از مقایسه نتیجه مطالعه حاضر با سایر مطالعات می‌توان نتیجه گرفت، احتمالاً غلظت‌های بالاتر نانوپلاستیک

پلی‌استایرن موجب افزایش استرس و پاسخ‌های التهابی در ماهی کپور معمولی می‌شود. بنابراین برای نتیجه‌گیری بهتر پیشنهاد می‌شود غلظت‌های گسترده‌تر، ترکیب سموم و اثرات آن بر سمیت نانوپلاستیک پلی‌استایرن، مطالعه سایر پلیمرها، اثرات اندازه‌های مختلف به تنهایی و یا با ترکیب باسایر سموم و سایر گونه‌های آبزی مورد بررسی قرار گیرد. هم‌چنین پیشنهاد می‌گردد میزان ورود پلاستیک‌های مختلف به محیط زیست، مورد سنجش، بررسی و برنامه‌ریزی قرار بگیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، در قالب پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد انجام شده است.

منابع

Abarghouei, S., Hedayati, A., Raeisi, M., Hadavand, B.S., Rezaei, H., and Abed-Elmdoust, A. ------. The effect of different sizes and concentrations of polystyrene microplastic on the histopathology of Carassius auratus Journal of Aquaculture. 8: 15. (In Persian)

Abarghouei, S., Hedayati, A., Raeisi, M., Hadavand, B.S., Rezaei, H., and Abed-Elmdoust, A. 2021. Size-dependent effects of microplastic on uptake, immune system, related gene expression and histopathology of goldfish (*Carassius auratus*). Chemosphere, 129977.

Al-Oufi, H., McLean, E., Kumar, A.S., Claereboudt, M., and Al-Habsi, M. 2004. The effects of solar radiation upon breaking strength and elongation of fishing nets. Fisheries Research, 66: 1. 115-119.

Aly, S.M., Abdel-Galil, A.Y., Ghareeb, A. and Mohamed, M.F. 2008. Studies on Bacillus subtilis and Lactobacillus acidophilus, as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. Fish Shellfish Immunology, 25: 128-136.

Besseling, E., Wang, B., Lürling, M., and Koelmans, A.A. 2014. Nanoplastics affects growth of S. obliquus and reproduction of D. magna. Environ. Sci. Technol. 48: 20. 12336e12343.

Canesi, L., Ciacci, C., Vallotto, D., Gallo, G., Marcomini, A., and Pojana, G. 2010. In vitro effects of suspensions of selected nanoparticles (C60 fullerene, TiO_2, SiO_2) on Mytilus hemocytes. Aquatic Toxicology, 96: 151-158.

Chae, Y., Kim, D., and Kim, S.W. et al. 2018. Trophic transfer and individual impact of nano-sized polystyrene in a four-species freshwater food chain. Sci Rep. 8: 284. https://doi.org/10.1038/s41598-017-18849-y.

Ferreira, I., Venâncio, C., Lopes, I., and Oliveira, M. 2019. Nanoplastics and marine organisms: what has been studied ? Environ. Toxicol. Pharmacol. 67, 1-7. https://doi.org/C. Barría, et al. Marine Pollution Bulletin 610.1016/ j.etap.2019.

Geissen, V., Mol, H., and Klumpp, E. 2015. Emerging pollutants in the environment: a challenge for water resource management. ISWCR. 3: 1. 57-65.

Geyer, R., Jambeck, J.R., and Law, K.L. 2017. Production, use and fate of all plastics ever made. Science Advances, 3: 7. 759-782.

Gigault, J., Halle, A. ter, Baudrimont, M., Pascal, P.Y., Gauffre, F., Phi, T.L., El Hadri, H. Grassl, B., and Reynaud, S. 2018. Current opinion: what is a nanoplastic? Environ. Pollut.

Harris, B.M.P., Henke, K., Hawkins, M.B., Witten, P.E. 2014. Review Article Fish is Fish: The Use of Experimental Model Species to Reveal Causes of Skeletal Diversity inEvolution and Disease. vol. 30. pp. 616-629. https://doi.org/ 10. 1111/jai.12533.

Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., and Ghaderi, F. 2013. Aquatic toxicology. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Publications. 210p. (In Persian)

Koelmans, A.A., Nor, N.H.M., and Hermsen, E. 2019. Microplastics in freshwaters and drinking water: critical review and assessment of data quality. Water Res.

Koelmans, A.A., Besseling, E., and Shim, W.J., 2015. Nanoplastics in the aquatic environment. Critical review. In: Marine Anthropogenic Litter, https://doi.org/ 10.1007/978-3- 319-16510-3_12.

Kondera, E., Dmowska, A., Rosa, M., and Witeska, M. 2012. The effect of bleeding on peripheral blood and head kidney hematopoietic tissue in common carp (*Cyprinus carpio*). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 6: 2. 169-175.

Lawrence, C., Ennis, D.G., Harper, C., Kent, M.L., Murray, K., and Sanders, G.E., 2012. The challenges of implementing pathogen control strategies for fishes used in biomedical research. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 155, 160-166. https:// doi.org/10.1016/j.cbpc.2011.06. 007.

Lee, W.S., Cho, H.J., Kim, E., Huh, Y.H., Kim, H.J., Kim, B., Kang, T., Lee, J.S., and Jeong, J. 2019. Bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effect on the toxicity of au ions in zebrafish embryos. Nanoscale. https://doi.org/10.1039/c8nr90280a.

Luskova, V. 1995. Determination of normal values in fish. Acta Universitatis Carolinae Biologica, 39: 191-200.

Moss, D.V., and Henderson, A.R. 1999 'Clinical enzymology', in Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Oliveira, M., Almeida, M., and Miguel, I., 2019. Trends in analytical chemistry a micro (nano) plastic boomerang tale: a never ending story ? Trends Anal. Chem. 112, 196-200. https://doi.org/ 10.1016/ j.trac.2019.01.005.

Pesce, S.F., and Wunderlin, D.A. 2000. Use of water quality index to verify the impact of Cordoba city (Argentina) on Suquia River. Water Research, 3: 2915-2926.

PlasticsEurope, 2018. Plastics – the Facts 2018: an Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data. Available from: https://www.www. plasticseurope.org/en. Pseudopleuronectes americanus.

Rabitto, I.S., Alves Costa, J.R.M., Silva de Assis, H.C., Pelletier, E., Akaishi, F.M., Anjos, A., and Oliveira Ribeiro, C.A. 2005. Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish, Hoplias malabaricus: histopathological and biochemical findings. Ecotoxicology and environmental safety, 60: 2. 147-156.

Remyla, S.R., Ramesh, M., Sajwan, K.S., and Senthil Kumar, K. 2008. Influence of zinc on cadmium induced haematological and biochemical responses in a freshwater teleost fish Catlacatla. J. Fish Physiology and Biochemistry. 34: 169-174.

Riche, M. 2007. Analaysis of refractometry for determining total plasma in hybrid striped bass (Morone chrysops *M. saxatilis) at various salinities. Aquaculture, 264: 279-284.

Saravanan, M., Kumar, K.P., and Ramesh, M. 2011. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish Cyprinus carpio (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute chronic sublethal exposure to lindane. Pesticide Biochemistry and Physiology, 100: 206-211.

Shohani, N., Pourmahdian, S., and Shirkavand Hadavand, B. 2017. Response surfacemethodology for design of porous hollow sphere thermal insulator. MS&E. 269: 1. 012073.

Simon, N., and Schulte, M.L. 2017. Stopping global plastic pollution: The case for an international convention. Ecology Publication Series, 43p.

šmonaite, G., Larsson, K., Undeland, I., Sturve, J., and Carney Almroth, B. 2018. Size matters: ingestion of relatively large microplastics contaminated with environmental pollutants posed little risk for fish health and fillet quality. Environ. Sci. Technol. 52: 14381-14391. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04849.

Tahami, S.V., Pourmahdian, S., Hadavand, B.S., Azizi, Z.S., and Tehranchi, M.M. 2016. Thermal tuning the reversible optical band gap of self-assembled polystyrene photonic crystals. Photon. Nanostruct. Fund. Appl. 22, 40e45.

Vazquez, G.R., and Guerrero, G.A. 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in Cichlasoma dimerus (Teleostei, Perciformes). Tissue and Cell. 39: 3. 151-160.

Wintrobe, M.M. 1934. Variations in size and haemoglobin concentration of erythrocyte in the blood of various vertebrates. Folia Haematologica. 51: 32. 32-49.

Worm, B., Lotze, H.K., and Jubinville, I. 2017. Plastic as a persistent marine pollutant. Annu. Rev. Environ. Resour. 42: 1-26.

Zhou, W., Wang, G., Han, Z., Yao, W., and Zhu, W. 2009. Metabolism of flaxseed lignans in the rumen and its impact on ruminal metabolism and flora. Animal Feed Science and Technology, 150: 18-26.