

تأثیر سمیت تحت کشنده نانو اکسید روی (ZnO NPs) بر شاخص‌های خونی ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*)

علی اکبر هدایتی^۱، عبدالرضا جهانبخشی^۲، محمد مرادزاده^{۳*}، مهسا جوادی موسوی^۲
۱- استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و
منابع طبیعی گرگان
۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و
منابع طبیعی گرگان

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثرات تحت کشنده نانو اکسید روی بر فاکتورهای خونی ماهی کلمه انجام شد. در این تحقیق ابتدا با تعیین دامنه‌ای از غلظت‌های نانو اکسید روی به منظور تعیین LC_{50} تلفات ماهیان کلمه در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد. سپس با توجه به میزان LC_{50} آزمایش جداگانه‌ای طراحی شد و با القای غلظت تحت کشنده این ماده پارامترهای خون‌شناختی ماهیان مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های خون از بچه ماهیان کلمه که ۷ روز در معرض غلظت تحت کشنده (۵۰٪ غلظت LC_{50}) نانو اکسید روی قرار داشتند به همراه بچه ماهیانی که در معرض مواد نانو نبودند (شاهد)، گرفته شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نانوذرات روی موجب تغییراتی در پارامترهای خونی ماهی کلمه می‌شود که این تغییرات در شاخص‌های خونی با کاهش سطح گلبول قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hemoglobin) و هماتوکریت (Hematocrit) در تیماری که تحت تأثیر نانوذرات روی قرار داشت، همراه بود ($P < 0.05$) و برعکس میزان گلبول‌های سفید (WBC)، MCH، MCHC و MCV در تیماری که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده نانو اکسید روی بودند نسبت به گروه ماهیان شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سمیت تحت کشنده نانوذرات روی بر شاخص‌های خونی ماهی کلمه تأثیر منفی دارد، لذا باید از ورود این گونه مواد به اکوسیستم آبی جلوگیری نمود.

واژگان کلیدی: ماهی کلمه، نانو اکسید روی، شاخص‌های خونی.

تاریخ پذیرش: خرداد ۹۳

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۹۳

* نویسنده مسئول: mmoradzadeh88@yahoo.com

مقدمه

در دهه‌های اخیر نانو تکنولوژی، به عنوان یک فناوری کاربردی مورد توجه قرار گرفته است. نانوذرات به ذراتی گفته می‌شود که حداقل یکی از ابعاد آن‌ها در محدوده ۱-۱۰۰ nm باشد. ذراتی با اندازه نانو از میلیون‌ها سال قبل روی کره زمین وجود داشته‌اند، اما اخیراً با توجه به افزایش دانش و توانایی بشر در تولید این ذرات و استفاده از آن‌ها، این ذرات توجه زیادی را به خود معطوف کرده‌اند (Wardak et al., 2008). در ایران نیز مسأله آلودگی زیست محیطی به نانوذرات که به تازگی وارد چرخه فرآیندی صنایع کشور شده است، از اهمیت چشمگیری برخوردار است؛ چرا که در صورت توجه به این مسأله و اقدامات صحیح در زمینه مدیریت این ترکیبات جدید، می‌توان از آلودگی‌های به وجود آمده جلوگیری به عمل آورد (مومنی‌ها و همکاران، ۱۳۹۱). نانوذرات به دلیل اندازه کوچک سطح بسیار وسیعی دارند که آمادگی جذب سطحی یا واکنش را دارد و باعث افزایش فعالیت شیمیایی ماده می‌شود. بنابراین یک ماده در مقیاس نانو بسیار فعال‌تر از ذرات معمولی همان ماده است و می‌تواند سمیت بیشتری داشته باشد (باکند، ۱۳۸۶).

شتاب روزافزون نانو تکنولوژی و تولید مواد و وسایل نانو ساخت موجب راهیابی و نفوذ بسیاری از نانوذرات به درون طبیعت و اکوسیستم‌های آن شده که نتیجه نهایی آن در بیش‌تر موارد، اختلالات متعدد فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در بدن موجودات زنده مقیم آن نواحی است (Lin et al., 2010). از آن جایی که نانوذرات در حین تولید و در زمان استفاده در وسایل گوناگون، امکان جدایی و نشت دارند لذا همیشه محیط‌های آبی در معرض خطرات ناشی از آلودگی این مواد قرار داشته که در دراز مدت منجر به افزایش مرگ و میر بین آبزیان مقیم خواهد شد. در همین راستا برای مثال مشخص شده است که در کارخانجات فناوری نانوذرات نقره، هنگام تولید به مقدار زیادی از طریق راکتورهای مسئول تولید فاز مایع، این ذرات به محیط بیرون از کارگاه نشت پیدا کرده و تجمع می‌یابند (Liu et al., 2009). سمیت انواع نانوذرات به اندازه و نیز میزان ورود آنان به محیط بستگی تام دارد. نانومواد نسبت به انواع درشت‌تر خود، از سطح واکنش دهنده بیش‌تری برخوردار بوده، لذا به راحتی به درون سلول‌ها و بدن موجودات زنده وارد می‌شوند و ضمن تجمع در آن نواحی، در بیش‌تر موارد موجب القای اثرات منفی و آسیب‌رسان در اورگانسیم می‌شوند (Buzea et al., 2007). همچنین نتایج برخی از پژوهش‌ها، نشان دهنده اثرات منفی نانوذرات اکسید روی بر

روی موجودات و سلول‌های هدف هستند؛ به طوری که در اثر تماس با نانوذرات اکسید روی با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موش‌ها دچار علائمی نظیر بی‌حالی، اسهال و استفراغ و حتی مرگ شدند (Mortimer et al., 2010). مطالعات زیادی تا کنون در خصوص تاثیر انواع نانوذرات بر مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بدن ماهیان به عمل آمده که بیش‌تر آنان موید نقش مخرب این ذرات می‌باشند (Scott et al., 2009). هر چند که اکسید روی در حالت نانو دارای خواص متعددی است، اما به هر حال نانوذرات اکسید روی دارای اثرات مضر بیش‌تری بر سلامت انسان و محیط زیست هستند (Kasemets et al., 2009). امروزه آلودگی‌های ناشی از نانوذرات به عنوان مساله‌ای جدید و خطرناک مطرح شده است (Shi, Zhang et al., 2010; Revell, 2006; et al., 2006). هر چند استفاده از نانوذرات بسیار کم‌تر از سایر مواد با اثرات مشابه به محیط زیست آسیب رسانده و بهداشت انسانی را تهدید می‌کند (Sharma et al., 2009) اما ماندگاری نانوذرات اکسید فلزی در محیط و زنجیره غذایی زیاد است، که تداوم مسمومیت‌های ناشی از آنها را به دنبال دارد (Peter et al., 2004). همچنین این نانوذرات می‌توانند از لایمهای حفاظتی بدن عبور کنند و وارد جریان خون شده، سبب اثرات شدید شوند (Barbu et al., 2009; Lockman et al., 2003). خون ماهی در پژوهش‌های سم‌شناختی و مشاهدات زیست‌محیطی به عنوان یک اندیکاتور تغییرات فیزیولوژیکی و آسیب‌شناسی در مدیریت شیلاتی و پژوهش‌های بیماری مطالعه می‌شود (Mulcahy, 1975).

ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) از مهم‌ترین گونه‌های کپورماهیان دریای خزر است که به دلیل از بین رفتن بسیاری از زیستگاه‌های طبیعی، این ماهی از طریق طبیعی نمی‌تواند بازسازی شود در نتیجه تولید و پرورش مصنوعی آن ضروری است که با توجه به تلاش‌های مستمر سازمان شیلات که جهت تأمین و حفظ ذخایر آنها در دریای خزر هر ساله با تکثیر مصنوعی چند میلیون عدد بچه ماهی انگشت قد^۱ در رودخانه‌های منتهی به دریای خزر رهاسازی می‌شود، ولی میزان صید این ماهی در طی سال‌های اخیر رو به کاهش نهاده است (خواجه و علاقی، ۱۳۷۷) همچنین با توجه به اهمیت آن در تغذیه انسان، ضرورت حفظ و بازسازی ذخایر آن بیش از پیش

1-Fingerling

فزونی می‌یابد ولی متأسفانه میزان صید آن‌ها طی سال‌های اخیر رو به کاهش نهاده است. این امر گویای کاهش ذخایر آن در دریای خزر است. با توجه به بررسی‌های به عمل آمده عوامل مختلفی می‌توانند در این امر دخیل باشند اما مهم‌ترین عاملی که امروزه بیش‌تر توجه محافل علمی را به خود جلب کرده است، آلودگی محیط زیست به ویژه افزایش روز افزون فاضلاب‌های صنعتی حاوی ترکیبات مختلف آلاینده‌های کشاورزی است که در راستای توسعه صنعتی و پیشرفت بشر قرار دارد. اما این سوال که چه مقدار از غلظت این سموم می‌تواند حیات آبزیان را به مخاطره اندازد مورد پژوهش پژوهشگران قرار دارد. در این پژوهش به بررسی اثرات سمیت تحت کشنده نانو اکسید روی (ZnO NPs) بر ماهی کلمه پرداخته شده و در نهایت پاسخ‌های خون‌شناختی این گونه را در مواجهه با غلظت تحت کشنده نانو اکسید روی مورد بررسی گرفته است.

مواد و روش‌ها

تعیین غلظت تحت کشنده

این آزمایش در آذر ماه سال ۱۳۹۱ در یک کارگاه خصوصی در شهر گرگان انجام شد. از ماهیان کلمه با طول کل $5/46 \pm 0/57$ سانتی‌متر و میانگین وزنی $4/49 \pm 0/32$ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید. برای تعیین LC_{50-96h} نانوذرات روی، ۱۰۵ بچه ماهی کلمه در تانک‌های فایبر گلاس ۴۰۰ لیتری جهت آدایته شدن نگهداری شدند. بعد از گذشت دوره آدایته‌یون ماهیان به طور تصادفی در آکواریوم‌های ۶۰ لیتری تقسیم شدند و غلظت مورد نظر از نانوذرات روی به آکواریوم‌ها اضافه گردید، ابتدا ماهیان به مدت ۹۶ ساعت در معرض غلظت‌های مختلف نانو اکسید روی قرار گرفتند و میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت جهت تعیین LC_{50} ثبت شد. در هر تیمار ۲۱ قطعه ماهی و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد سپس با استناد به نتایج حاصل از تعیین LC_{50} ، تیمار تحت کشنده و یک تیمار شاهد در نظر گرفته شد و از بچه ماهیان کلمه به تعداد ۲۵ قطعه در هر تکرار در معرض غلظت تحت کشنده (۵۰ درصد LC_{50}) قرار گرفتند.

آزمایش‌های خونی

نمونه‌های خون در بچه ماهیان کلمه بعد از ۷ روز قرارگیری در معرض غلظت تحت کشنده (۵۰٪ غلظت LC_{50}) نانو اکسید روی به همراه بچه ماهیانی که در معرض نانو مواد نبودند (شاهد)، برداشت شد. خون‌گیری در بچه ماهیان به وسیله قطع ساقه دم، بدون فشار و به آرامی انجام شد، به صورتی که منجر به لیز شدن گلبول‌های قرمز خون و اختلال در تهیه سرم مطلوب نشود. نمونه‌های خون داخل لوله‌های هپارینه به آزمایشگاه انتقال یافت. در آزمایشگاه خون‌شناسی تعداد گلبول‌های سفید، هموگلوبین و درصد هماتوکریت سنجیده شد.

شمارش گلبول‌های قرمز و سفید

تعداد کل گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از پیپت ملانژور قرمز و سفید، لام نئوبار و محلول‌های رقیق‌کننده گاور و تورک شمارش گردیدند. جهت شمارش گلبول‌های قرمز مقدار ۰/۵ میلی گرم از نمونه خون را به داخل پیپت ملانژور قرمز کشیده و برای رقیق کردن از محلول گاور استفاده شد. سپس تعداد گلبول‌های قرمز با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ شمارش گردید. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از پیپت ملانژور سفید، لام نئوبار و محلول‌های رقیق‌کننده تورک شمارش می‌گردند (Blaxhall and Daisley, 1973).

محاسبه اندیس‌های خونی

اندیس‌های خونی شامل شاخص‌های میانگین حجم گلبول قرمز MCV، میانگین هموگلوبین گلبول MCH و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول MCHC است که با استفاده از روابط زیر محاسبه شد:

تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون / $10 \times$ میزان هماتوکریت (درصد) = میانگین حجم گلبول
 تعداد گلبول‌های قرمز بر حسب میلیون / $10 \times$ میزان هموگلوبین = میانگین هموگلوبین گلبول
 میزان هماتوکریت (درصد) / $100 \times$ میزان هموگلوبین = میانگین غلظت هموگلوبین گلبول

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج حاصل از آنالیزهای مختلف به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده است. اختلاف بین داده‌ها و مقایسه میانگین نمونه‌ها در تیمارهای مختلف با آنالیز واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم‌افزاری SPSS 16 انجام و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها، از آزمون چند دامنه دانکن استفاده شد. اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ ($P < 0/05$) در نظر گرفته شد. با روش Probit Analysis میزان LC_{50} محاسبه شد.

نتایج

تعیین میزان سمیت کشنده نانوذرات روی در بچه ماهی کلمه

پس از انجام آزمایش‌ها، میزان سمیت نانوذرات روی برای بچه ماهی کلمه $0/909 \pm 0/117$ ppm به دست آمد. غلظت ایجاد کننده ۱ درصد تلفات، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۹ درصد تلفات بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مجاورت با نانوذرات روی برای بچه ماهی کلمه در جدول ۱ مشخص شده است.

اثر غلظت تحت کشنده نانو اکسید روی بر شاخص‌های خونی ماهی کلمه

نتایج حاصل از فاکتورهای خون‌شناختی بچه ماهیان کلمه مورد آزمایش، در جدول شماره ۲ آمده است. هنگامی که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده به مدت ۷ روز قرار گرفتند، نتایج نشان داد که نانوذرات موجب تغییرات در پارامترهای خونی می‌شود که این تغییرات در شاخص‌های خونی با کاهش سطح گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیماری که تحت تاثیر نانوذرات روی قرار داشتند، همراه بود ($P < 0/05$) و برعکس افزایش گلبول‌های سفید، MCH، MCHC و MCV در تیماری که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده نانو اکسید روی بودند نسبت به گروه ماهیان شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$).

جدول ۱: غلظت ایجاد کننده ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۹ درصد تلفات بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مجاورت با نانوذرات روی برای بچه ماهی کلمه

مقدار	غلظت (ppm) (سطح اطمینان ۹۵٪)			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
LC ₁₀	۰/۱۵۸±۰/۱۹	-	-	-
LC ₃₀	۱/۵۵۹±۰/۱۹	۰/۷۴۰±۰/۱۸	۰/۳۵۶±۰/۱۶	۰/۱۹۳±۰/۱۷
LC ₅₀	۲/۵۲۹±۰/۱۹	۱/۵۰۹±۰/۱۸	۱/۲۵۳±۰/۱۶	۰/۹۰۹±۰/۱۷
LC ₇₀	۳/۴۹۹±۰/۱۹	۲/۲۷۸±۰/۱۸	۲/۱۵۰±۰/۱۶	۱/۶۲۶±۰/۱۷
LC ₉₀	۴/۸۹۹±۰/۱۹	۳/۳۸۸±۰/۱۸	۳/۴۴۶±۰/۱۶	۲/۶۶۱±۰/۱۷
LC ₉₉	۶/۸۳۲±۰/۱۹	۴/۹۲۰±۰/۱۸	۵/۲۳۳±۰/۱۶	۴/۰۸۹±۰/۱۷

جدول ۲: شاخص‌های خونی در بچه ماهیان کلمه گروه شاهد و در معرض غلظت تحت کشنده (۵۰٪ غلظت LC₅₀) نانو اکسید روی

شاهد	گلبول قرمز	هموگلوبین	همانوکریت	گلبول سفید	MCH	MCHC	MCV
۰/۶۸±۰/۰۰	۶/۵۶±۰/۰۳	۱۹/۶۳±۰/۰۸	۱۹۵۷/۷۳±۰/۰۰	۹۸۰۰/۰±۰/۰۰	۹۰/۵۱±۰/۳۶	۳۱/۵۳±۰/۰۵	۲۸۵±۰/۸۸
۰/۶۵±۰/۰۰	۵/۷۰±۰/۰۵	۱۸/۷۰±۰/۰۵	۱۲۳۰۰±۰/۳۷	۹۲/۴۲±۰/۲۸	۳۲/۶۹±۰/۰۶	۲۹۶±۰/۶۰	LC ₅₀

تمام اعداد (میانگین ± انحراف معیار) که نشان داده شده‌اند دارای اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر هستند (P<۰/۰۵).

بحث

اکوسیستم‌های آبی به طور مستقیم و غیر مستقیم تحت تأثیر آلاینده‌های آبی قرار دارند. از آن جایی که ماهی‌ها در تماس مستقیم با محیط‌های آبی قرار دارند، بنابراین نسبت به تغییرات فیزیکی و شیمیایی آب حساس هستند (Wilson and Taylor, 1993). مطالعات خون‌شناختی روش ارزشمندی برای ارزیابی آثار محیطی آلاینده‌ها روی ماهی‌ها است (Stentuford et al., 2003). در این پژوهش غلظت سمیت کشنده (LC₅₀) برای ماهی کلمه ۰/۱۷ ± ۰/۹۰۹ ppm به دست آمد. هنگامی که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده به مدت ۷ روز قرار گرفتند، نتایج نشان داد که

نانوذرات موجب تغییراتی در پارامترهای خونی می‌شوند که این تغییرات با کاهش سطح گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تیماری که تحت تاثیر نانوذرات روی قرار داشت، همراه بود ($P < 0/05$). در گزارشی، Gupta و Goel (۱۹۸۵) بیان کردند کاهش چشمگیر تعداد گلبول‌های قرمز خون و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت را که منجر به کم خونی ماکروسیتیک در *Heteropeustes fossilis* در اثر تماس با روی می‌شود، رخ می‌دهد. در تیماری که ماهیان در معرض غلظت تحت کشنده نانو اکسید روی بودند افزایش گلبول‌های سفید، MCHC، MCH و MCV نسبت به گروه ماهیان شاهد مشاهده شد ($P < 0/05$) که با مطالعه رضایی زارچی (۱۳۹۰) هم‌خوانی دارد و بیان می‌دارد در ابتدا بدن در جهت مقابله با نانوذرات ورودی تولید گلبول‌های سفید را افزایش می‌دهد، این نتایج همچنین نشان دهنده تغییرات منفی است که در ماهی در حال رخ دادن است (Lebedeva et al., 1998). کاهش هموگلوبین در ماهیانی که در مجاورت آلاینده‌ها قرار می‌گیرند، می‌تواند به علت تاثیر بازدارندگی ماده سمی در سیستم آنزیمی باشد که مسئول سنتز هموگلوبین است (Pamila et al., 1991) و در نتیجه کاهش سنتز هموگلوبین رخ می‌دهد. افزایش درگیری سلول‌ها در فرآیندهای ایمنی موجب کاهش تعداد سلول‌های خونی می‌شود (Zhang et al., 2010). در مسمومیت‌های شدید کاهش تعداد سلول‌ها ظاهر می‌شود (Revell, 2006). در مطالعات قبلی مکانیسم اثرگذاری سمیت نانو اکسید روی به دلیل آزاد شدن یون روی از آن، گزارش شده است (Franklin et al., 2007; Heinlaan et al., 2008; Wiench et al., 2009). به طور کلی نتایج بسیاری از پژوهش‌ها نشان دهنده سمیت نانوذرات اکسید روی و اثرات منفی آن بر روی موجودات و سلول‌های هدف است (Jones et al., 2008). Heinlaan و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی سمیت انواع ترکیبات ZnO بر روی *Daphnia magna* به این نتیجه رسیدند که تمامی ترکیبات آن از جمله نانوذرات اکسید روی دارای سمیت هستند (Heinlaan et al., 2008). در ارتباط با سایر نانوذرات نیز در سال ۲۰۱۳ مشخص شده که ورود نانوذرات نیکل به درون اکوسیستم‌های آبی موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی نظیر رادیکال هیدروکسیل در بدن اورگانسیم‌هایی نظیر سخت پوستان کوچک و برخی ماهیان شده است (Zhao-Xia et al., 2013). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که وجود نانوذرات روی به

مقادیر ناچیز در محیط‌های آبی می‌تواند بر شاخص‌های خونی ماهی کلمه تأثیر منفی داشته باشد بنابراین باید تا حد امکان از ورود این گونه مواد به اکوسیستم‌های آبی جلوگیری گردد.

منابع

- باکند ش. و فرشاد ع. ۱. ۱۳۸۶. مروری بر فناوری نانو و سم شناسی نانوذرات. گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران. فصلنامه سلامت کار ایران. سال ۴، شماره ۱ و ۲، ۳-۱.
- خواجه م. و علاق‌خانی خ. ۱۳۷۷. بررسی سن و رشد و تولیدمثل ماهی کلمه تالاب گمیشان. پروژه کارشناسی رشته شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
- رضایی زارچی س. ۱۳۹۰. اثر نانوذرات اکسید تیتانیوم روی میزان سلول‌های خونی و آنزیم‌های کبدی در خون رت نژاد ویستار. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد. سال ۱۹، شماره ۵، ۶۱۸-۶۲۶.
- مومنی‌ها ف.، ندافی ک.، حسنونند م. ص.، نبی‌زاده ر. و حیدری م. ۱۳۹۱. بررسی سمیت نانوذرات ZnO تماس یافته با رنگ آبی ۲۹ با استفاده از دافنیا مگنا. مجله تحقیقات نظام سلامت، سال ۸، شماره ۲، ۲۶۷-۲۷۴.
- Barbu E., Molnar E., Tsibouklis J. and Gorecki D.C. 2009.** The potential for nanoparticle-based drug delivery to the brain: overcoming the blood-brain barrier. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 6(6): 553-565.
- Blaxhall P.C. and Daisley K.W. 1973.** Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5(6): 771-781.
- Buzea C., Pacheco I. and Robbie K. 2007.** Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4): 17-71.
- Franklin N.M., Rogers N.J., Apte S.C., Batley G.E., Gadd G.E. and Casey P.S. 2007.** Comparative toxicity of nano particulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalgae (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environmental Science and Technology*, 41: 8484-8490.
- Goel K. and Gupta K. 1985.** Haematobiochemical characteristics of *Heteropneustes fossilis* under the stress of zinc. *Indian Journal of Fisheries* 32(2): 256-259.
- Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.C. and Kahru A. 2008.** Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71(7): 1308-1316.

- Jones N., Ray B., Ranjit K.T. and Manna A.C. 2008.** Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiology Letter*, 279(1): 71–76.
- Kasemets K., Ivask A., Dubourguier H.C. and Kahru A. 2009.** Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxicology in Vitro*, 23(6): 1116–1122.
- Lebedeva N.E., Vosyliene S. and Golovkina V. 1998.** Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 40: 49–55.
- Lin D.H., Tian X.L., Wu F.C. and Xing B.S. 2010.** Fate and transport of engineered nano-materials in the environment. *J. Environ. Qual.*, 39: 1896–1908.
- Liu R., Sun F., Zhang L., Zong W., Zhao X., Wang L. Wu R. and Hao X. 2009.** Evaluation on the toxicity of nano Ag to bovine serum albumin. *The Science of the total environment*, 407: 4184–4188.
- Lockman P.R., Oyewumi M.O., Koziara J.M., Roder K.E., Mumper R.J. and Allen D.D. 2003.** Brain uptake of thiamine-coated nanoparticles. *Journal of Controlled Release.*, 93(3): 271–282.
- Mortimer M., Kasemets K. and Kahru A. 2010.** Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa *Tetrahymena thermophila*. *Toxicology*, 269(2–3): 182–189.
- Mulcahy M.F. 1975.** Fish blood changes associated with disease. A haematological study of pike lymphoma and salmon ulcerative dermal necrosis. In: *The Pathology of Fishes*. Ribelin W.E., Migaki Madison C. (Eds), University of Wisconsin, pp: 925–944.
- Pamila D., Subbaiyan P.A. and Ramaswamy M. 1991.** Toxic effect of chromium and cobalt on *Sartherodon mossambicus* (peters). *Indian Journal of Environment and Health*. 33: 218–224.
- Peter H.H., Irene B.H. and Oleg V.S. 2004.** Nanoparticles-known and unknown health risks. *J. Nanobiothechnol*, 2(1): 12–27.
- Revell P.A. 2006.** The biological effects of nanoparticles. *Nanotechnology Perceptions*, 2: 283–298.
- Scott H., Tina B., Joshua T., Tunishia K. and Lauren M. 2009.** Acute and chronic toxicity of nanoscale TiO₂ particles to freshwater fish, cladocerans,

- and green algae, and effects of organic and inorganic substrate on TiO₂ toxicity. *Nanotoxicology*, 3(2): 91–97.
- Sharma V.K., Yngard R.A. and Lin Y. 2009.** Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145: 83–96.
- Shi J.W., Zhang F., Zhao Y.L. and Chai Z.F. 2006.** Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicology Letters*, 161(2): 115–123.
- 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.
- Wardak A., Gorman M.E., Swami N. and Deshpande S. 2008.** Identification of risks in the life cycle of nanotechnology based products. *Journal of Industrial Ecology*, 12: 435–448.
- Wiench K., Wohlleben W., Hisgen V., Radke K., Salinas E., Zok S. and Landsiedel R. 2009.** Acute and chronic effects of nano- and non-nano-scale TiO₂ and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 76: 1356–1365.
- Wilson R.W. and Taylor E.W. 1993.** The physiological responses of fresh water rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during acutely lethal copper exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 163: 38–47.
- Zhang X.D., Wu H.Y., Wu D., Wang Y.Y., Chang J.H., Zhai Z.B., Meng A.M., Liu P.X., Zhang L.A., and Fan F.Y. 2010.** Toxicologic effects of gold nanoparticles *in vivo* by different administration routes. *International Journal of Nanomedicine*, 5: 771–781.
- Zhao-Xia D., Ying Y., Hong-Yan G. and Shi-He W. 2013.** Study of environmental risks incurred by leakage of lithium cells to the food chain in a freshwater ecosystem. *Water Science and Technology*, 67(7): 1599–1604.

Effect of sub-acute toxicity nano-zinc oxide (ZnO NPs) on hematological factor of roach (*Rutilus rutilus caspicus*)

Aliakbar Hedayati¹, Abdolreza Jahanbakhshi², Mohammad Moradzadeh^{3*},
Mahsa javadimoosavi³

1- Assistant Professor in Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Ph.D. Student in Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3- M.Sc. in Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Received: May 2014

Accepted: Jun 2014

Abstract

This study was designed to investigate the effects of nano-zinc oxide on blood factors of roach. In this paper the LC₅₀ range of concentrations of zinc oxide nanoparticles for roach was determined and mortality at 24, 48, 72 and 96 hours was computed. A separate experiment was designed based on the LC₅₀ levels and induction of the lethal concentration for hematology parameters. Blood samples of the juveniles that exposed to sublethal concentrations (50% concentration LC₅₀) of nano zinc oxide for 7 days and the controls (without exposure to nano-materials) were collected. The results showed that zinc nanoparticles cause changes in the blood parameters of the fish that the changes in blood indices by reducing the level of red blood cells (RBC), hemoglobin (Hemoglobin) and hematocit (Hematocrit) that of the impact the nanoparticles were located along the (P< 0.05) and the contrast of white blood cells (WBC), MCH, MCHC and MCV treated fish exposed to sub lethal concentrations of nano zinc oxide were increased compared to control fish (P<0.05). The results of this study showed that the lethal toxicity of nanoparticles have a negative effect on fish blood index of the roach, therefore, must be prevented from entering aquatic ecosystems such material.

Key words: *Roach, Nano Zinc Oxide, Hematological Indices.*

*Corresponding Author: Mmoradzadeh88@yahoo.com