

بررسی آسیب‌شناسی بافتی آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ماهی طلایی (*Carassius auratus*) در مواجهه با غلظت کشنده نانو اکسید روی (ZnONPs)، نانو اکسید مس (CuONPs) و نانودی اکسید تیتانیوم (TiO₂NPs)

سیدعلی اکبر هدایتی^۱، فاطمه دارابی تبار^{۲*}، حسن رضایی^۳

۱- دانشیار گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- دانشجوی دکتری تخصصی شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خوزستان، ایران.

۳- استادیار گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: darabitar@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۱/۱۷ پذیرش نهایی: ۹۶/۵/۴)

چکیده

از آنجا که آبشش اولین مکان بعد از پوست است که ماهی‌ها از آن طریق در معرض مستقیم سموم یا آلاینده‌ها قرار دارند، بنابراین بررسی تغییرات ساختار آبشش شاخص مناسبی برای سموم یا آلاینده‌ها تحت شرایط استرس است. هدف از این مطالعه، بررسی جراحات بافت آبشش ماهی کپور معمولی در مواجهه با نانوذرات مختلف بود. برای انجام این آزمایش ۲۱۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با طول کل ۷/۳۶±۰/۳۰ سانتی‌متر و ماهی قرمز با طول کل ۶/۵۰±۰/۴۳ سانتی‌متر در ۶ تیمار، هر کدام در ۳ تکرار در گروه‌های ۱۱-تایی در آکواریوم‌های ۶۰ لیتری قرار داده شدند. نمونه‌های بافت آبشش بچه‌ماهیان کپور معمولی و قرمز بعد از ۷ روز قرارگیری در معرض (۵۰ درصد غلظت سمیت کشنده) نانو اکسید روی، نانو اکسید مس و نانودی اکسید تیتانیوم برداشت شد. تغییرات بافتی با رنگ‌آمیزی معمول هماتوکسیلین-ئوزین در نمونه‌های قرارگرفته در معرض نانو اکسید روی، نانو اکسید مس و نانودی اکسید تیتانیوم مشهود بود، در حالی که هیچ تغییر قابل تشخیصی در آبشش ماهیان گروه‌های شاهد مشاهده نشد. جراحات مشاهده‌شده در بافت آبشش هر دو ماهی شامل آنورسم لاملائی، به هم چسبیدگی لاملاهای ثانویه، افزایش مقدار موکوس آبشش و پرخونی بود، که بیشترین جراحات مشاهده‌شده آنورسم لاملائی و افزایش مقدار موکوس آبشش بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که ۵۰ درصد غلظت سمیت کشنده نانوذرات تیتانیوم، نانو اکسید مس و نانوذرات روی می‌تواند باعث آسیب و تخریب بافتی شود. همچنین سمیت تحت‌کشنده نانو اکسید روی نسبت به نانو اکسید مس و نانودی اکسید تیتانیوم بیشتر بوده و باعث جراحات وسیع‌تری در بافت آبشش ماهی قرمز و کپور معمولی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: ماهی قرمز، کپور معمولی، نانو اکسید روی، نانو اکسید مس، نانودی اکسید تیتانیوم.

مقدمه

نانوذرات طبقه‌ای از مواد با ابعاد ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که دارای ویژگی‌های بسیار خاص شیمیایی و فیزیکی از نظر اندازه، شکل و نسبت بالای سطح به حجم می‌باشند. گاهی اندازه آن‌ها کوچک‌تر و یا در حد ساختارهای سلولی، ویروس، پروتئین و یا یک ژن می‌باشند. همچنین ویژگی‌های جدید مانند انحلال‌پذیری، تحرک بسیار زیاد در بدن انسان و توانایی نفوذ به غشاء سلولی را می‌توان نام برد که این امر سبب شده مقیاس نانو بیش از مقیاس‌های دیگر مورد توجه قرار گیرد. با توجه به خصوصیات منحصر به فرد فیزیکوشیمیایی نانوذرات، ممکن است نوع سمیت آن‌ها با موادی که از نظر ساختمان شیمیایی با آن‌ها یکسان بوده اما اندازه متفاوت دارند، فرق داشته باشد. حتی امکان دارد که نانو ذره‌ها سمیت بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگ‌تر ایجاد کنند. نانوذرات اکسید فلزی می‌توانند وارد رگ‌ها و بافت‌های مغز شوند و از این طریق می‌توانند قابلیت دسترسی زیستی را افزایش دهند. این مسئله ممکن است منجر به تأثیرات سمی و پاسخ‌های التهابی در مغز و تخریب سیستم عصبی مرکزی شود (Chang *et al.*, 2012).

از نانوذرات به‌طور گسترده در موارد مختلفی مانند پوشاک (جهت جلوگیری از ایجاد بوی بد)، ظروف مواد غذایی (جهت کاهش فعالیت‌های باکتریایی)، اسباب‌بازی کودکان (جهت جلوگیری از شیوع بیماری) و ماشین‌های لباس‌شویی (جهت ممانعت از فعالیت‌های باکتریایی) استفاده می‌شود. نانوذرات فلزی به خصوص نانوآکسید روی، نانوآکسید مس و نانودی‌اکسید تیتانیوم در کنار نانوذرات نقره از پرکاربردترین نانوذرات هستند. استفاده از محصولات حاوی نانوذره مانند شستشوی

آن‌ها، می‌تواند موجب رهایش و ورود غلظت‌های بالای آن‌ها به منابع آبی شود. برای مثال، یک پیراهن ورزشی شسته‌شده در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب لوله‌کشی، موجب رهایش ۲۷ میکروگرم نانوذره می‌گردد که در نهایت این مقدار وارد اکوسیستم‌های آبی و آبریان می‌شود (Revell, 2006).

با توجه به نوظهور بودن فناوری نانو هنوز در مورد خطرات احتمالی این ذرات برای محیط زیست ارزیابی دقیقی صورت نگرفته است. نانوذرات به طور طبیعی از ابتدا در کره زمین وجود داشته‌اند و موجودات زنده در طی تکامل، با نانوذرات طبیعی سازگار شده‌اند. با این حال، از آنجا که نانوذرات مصنوعی تولید بشر هستند و در فرآیند تکامل وجود نداشته‌اند، در حال حاضر نگرانی زیادی پیرامون آلودگی موجودات زنده با آن‌ها وجود دارد (Herre Dasht and Mirvaghefi, 2013). می‌توان انتظار داشت که سایز بسیار کوچک نانوذرات نقش مهمی در سمیت این مواد داشته باشد، به‌خصوص اگر سایز این ذرات کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر با سایر اجزا بیولوژیکی بدن انسان مانند گلبول‌های قرمز ۷۰۰ نانومتر مورد مقایسه قرار گیرد. نانوذرات توانایی این را دارند که غشاء سلولی را پشت سر گذاشته و وارد سلول‌ها شوند (Tolstoshev, 2006). از آنجا که آبشش اولین مکان بعد از پوست است که ماهی‌ها از آن طریق در معرض مستقیم سموم یا آلاینده‌ها قرار دارند، بنابراین بررسی تغییرات ساختار آبشش شاخص مناسبی برای سموم یا آلاینده‌ها تحت شرایط استرس است (Bais and Lokhande, 2012). آبشش ماهی‌ها به‌عنوان اندام مبادله گاز، تنظیم اسمزی، تنظیم اسید-باز، دفع مواد زائد نیتروژنی و تنظیمات درون‌ریز است و به دلیل داشتن سطح وسیع و لایه اپیتلیالی نازک، یکی از راه‌های جذب

مواد سمی محیطی مانند نانوذرات می باشد. لذا بررسی بافت آبشش، یکی از روش های ارزیابی چگونگی اثرگذاری آلاینده های محیطی است (Farkas *et al.*, 2011).

شتاب روزافزون نانو تکنولوژی و تولید مواد و وسایل نانو ساخت، موجب راه یابی و نفوذ بسیاری از نانو ذرات به درون طبیعت و اکوسیستم های آن شده که نتیجه نهایی آن در بیشتر موارد، اختلالات متعدد فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در بدن موجودات زنده مقیم آن نواحی می باشد. در این مطالعه به آسیب شناسی بافتی آبشش ماهی قرمز و کپور معمولی در مواجهه با غلظت کشنده نانو اکسید روی، نانو اکسید مس و نانوذرات تیتانیوم پرداخته شده است.

مواد و روش ها

برای انجام این آزمایش از بچه ماهیان سه ماهه ماهی قرمز با طول کل $6/50 \pm 0/43$ سانتی متر و ماهی کپور معمولی با طول کل $7/36 \pm 0/30$ سانتی متر استفاده شد. در سال ۱۳۹۳ بچه ماهیان از مراکز تکثیر بخش خصوصی در گرگان تهیه شده و به سالن تحقیقات آبی پروری دانشگاه علوم کشاورزی گرگان منتقل شد. ۲۱۰ قطعه ماهی در آکواریوم های ۶۰ لیتری قرار داده شدند. در مجموع ۶ تیمار هر کدام با ۳ تکرار در نظر گرفته شد (۱۸ تانک هر کدام با ۱۱ ماهی). هر نانوذره شامل یک تیمار شاهد و یک تیمار ۵۰ درصد سمیت کشنده بود. ماهیان برای سازش با موقعیت جدید به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی جهت طی دوره سازگاری نگه داری گردیدند. در طی دوره تطابق، غذادهی دوبار در روز صورت گرفت و در دوره آزمایش غذادهی قطع شد. پس از زمان غذادهی، غذای

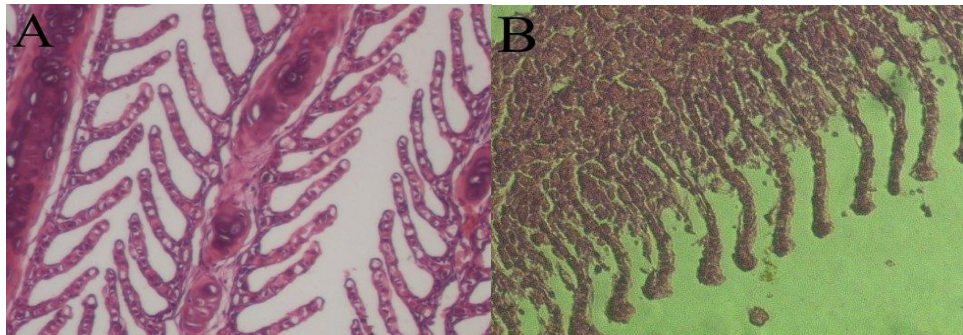
مصرف نشده با سیفون کردن از کف تانکها خارج شد تا از آلودگی آب آکواریومها جلوگیری گردد. اندازه ذرات نانو اکسید روی، نانو اکسید مس و نانوذرات تیتانیوم، طبق مشخصات ارائه شده شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان، مشهد- ایران به ترتیب > 50 ، $30-20$ و $15-10$ نانومتر عنوان شده بود. مقدار استوک مادر تولید شده در همه نانوذرات ۱ گرم در لیتر (ppm) (۱۰۰۰) بوده و از استوک مادر، غلظت های مختلف آزمایش تهیه گردید. در طی آزمایش حتی المقدور شرایط فیزیکی و شیمیایی کنترل گردیده و تمام شرایط طی دوره آزمایش یکسان نگه داری شد تا تنها عامل متغیر دوزهای مختلف آلودگی باشد. هوادهی در تمامی آکواریومها به گونه ای که حداقل آشفستگی در آب ایجاد شود، صورت گرفت. پس از انجام آزمایشات اولیه مقادیر LC_{50} (سمیت کشنده) در نانوذرات تیتانیوم برای کپور معمولی و ماهی قرمز به ترتیب $12523/44 \pm 0/47$ و $19985/34 \pm 2/27$ قسمت در میلیون، میزان سمیت نانوذرات روی برای کپور معمولی و ماهی قرمز به ترتیب $3079/88 \pm 0/33$ و $3120/80 \pm 0/23$ قسمت در میلیون و میزان سمیت برای نانو اکسید مس در کپور معمولی و ماهی قرمز به ترتیب $15897/88 \pm 0/31$ و $19831/41 \pm 1/35$ قسمت در میلیون به دست آمد (مقاله منتشر نشده). نمونه های بافت بچه ماهیان کپور معمولی و ماهی قرمز بعد از ۷ روز قرارگیری در معرض غلظت تحت کشنده (۵۰ درصد غلظت LC_{50}) نانو اکسید روی، نانو اکسید مس و نانوذرات تیتانیوم به همراه بچه ماهیانی که در معرض نانومواد نبودند، برداشت شد. جهت تهیه بافت آبشش، ابتدا بچه ماهیان به طور تصادفی با ساچوک برداشته شده و در داخل تشت های پلاستیکی محتوی آب همسان با آکواریوم که دارای ماده

بیهوش‌کننده گل‌میخک بود بیهوش گردیدند و پس از آن، از بافت آبشش ماهیان نمونه‌برداری انجام شده و نمونه‌ها در محلول فرمالین بافری ۱۰ درصد تثبیت شدند. نمونه‌های آبشش به‌منظور تهیه مقاطع بافتی جهت مطالعات آسیب‌شناسی به آزمایشگاه پاتولوژی منتقل گردیدند و پس از آماده‌سازی بافتی و تهیه بلوک‌های پارافینی، برش‌های بافتی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و با روش معمول هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

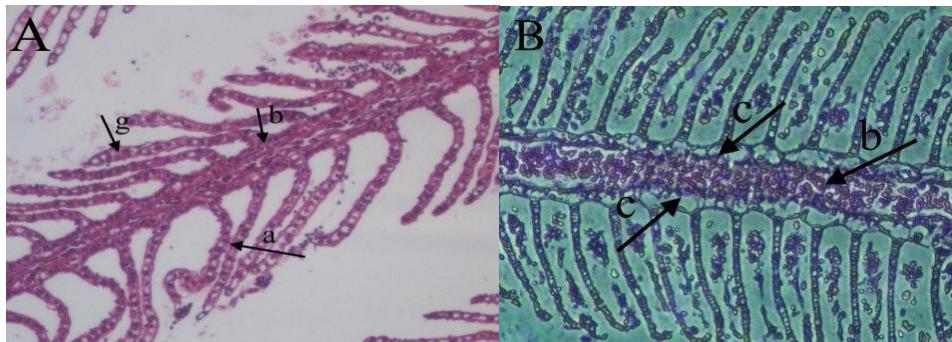
یافته‌ها

تغییرات بافت‌شناسی در نمونه‌های قرارگرفته در معرض نانوآکسید روی، نانوآکسید مس و نانودی اکسید تیتانیوم مشهود بود، در حالی‌که هیچ تغییر قابل تشخیصی در آبشش ماهیان گروه شاهد مشاهده نشد و سلول‌های بافت پوششی لاملاهای ثانویه و اولیه بافت آبشش طبیعی بوده و تغییرات قابل ملاحظه‌ای را نشان ندادند (شکل ۱). جراحات مشاهده‌شده در بافت آبشش ماهی کپور شامل آنوریسم لاملائی، بهم‌چسبیدگی لاملاهای ثانویه، افزایش مقدار موکوس آبشش و پرخونی بود، که بیشترین عارضه‌های مشاهده‌شده شامل هیپرپلازی آبششی و افزایش مقدار موکوس آبشش بود. بافت آبشش در معرض ۵۰ درصد غلظت LC_{50} نانوآکسید مس کمترین آسیب را نشان داد و بیشترین تخریب متعلق به ۵۰ درصد غلظت LC_{50} نانودی اکسید روی بود (شکل‌های ۲ تا ۴). بهم‌چسبیدگی لاملاهای ثانویه کم‌ترین عارضه مشاهده شده بود (جدول ۱ و ۲).

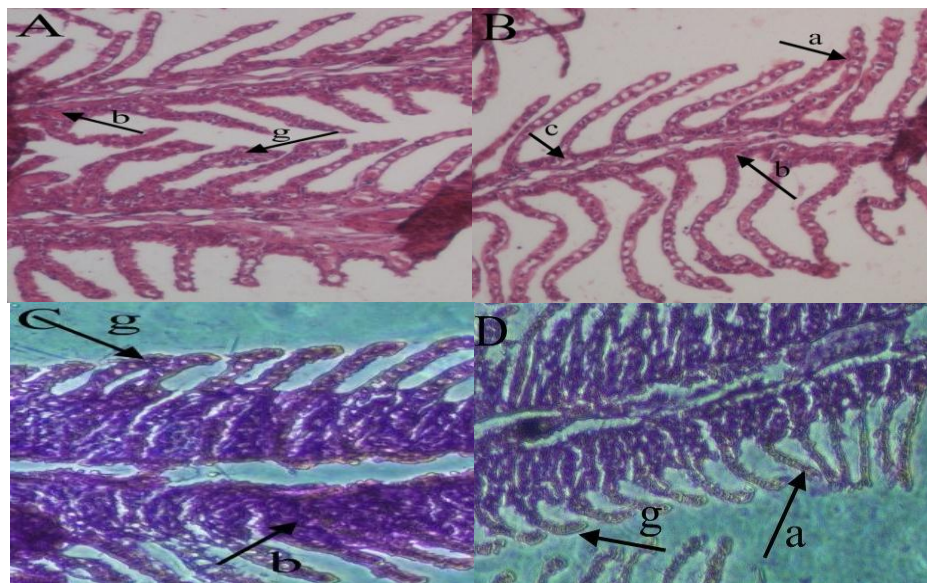
اتصال تیغه‌های ثانویه مجاور (به‌هم چسبیدگی لاملائی ثانویه) در هر سه تیمار نانودی اکسید تیتانیوم، نانوآکسید مس و نانوذرات روی با آسیب خفیف مشاهده شد (شکل ۴-B). عارضه آنوریسم لاملائی و افزایش مقدار موکوس آبشش در ماهی کپور معمولی در غلظت ۵۰ درصد LC_{50} نانودی اکسید تیتانیوم و نانوذرات روی با آسیب متوسط تا شدید مشاهده شد و در ماهی قرمز عارضه آنوریسم لاملائی در تیمار نانوآکسید روی و افزایش مقدار موکوس آبشش در هر دو تیمار نانودی-اکسید تیتانیوم و نانوذرات روی بیشترین آسیب را نشان داد (جدول ۲ و شکل‌های ۳ و ۴). عارضه پرخونی در بافت آبشش در تیمار نانوآکسید روی بیشترین آسیب در ماهی کپور معمولی را نشان داد (جدول ۱ و شکل ۲) و در بچه ماهیان قرمز عارضه پرخونی تنها در تیمارهای نانودی اکسید تیتانیوم و نانوذرات روی با آسیب خفیف مشاهده شد و در تیمار نانوآکسید مس این عارضه دیده نشد. جراحات مشاهده‌شده در بافت آبشش ماهی قرمز شامل آنوریسم لاملائی، بهم‌چسبیدگی لاملاهای ثانویه، افزایش مقدار موکوس آبشش و پرخونی بود، که بیشترین عارضه‌های مشاهده‌شده شامل آنوریسم لاملائی و افزایش مقدار موکوس آبشش در غلظت تحت‌کشنده نانوآکسید روی بود. بافت آبشش در معرض ۵۰ درصد غلظت LC_{50} نانوآکسید مس کمترین آسیب را نشان داد و بیشترین تخریب متعلق به ۵۰ درصد غلظت LC_{50} نانوآکسید روی بود. بهم‌چسبیدگی لاملاهای ثانویه و پرخونی کمترین عارضه مشاهده شده بود.



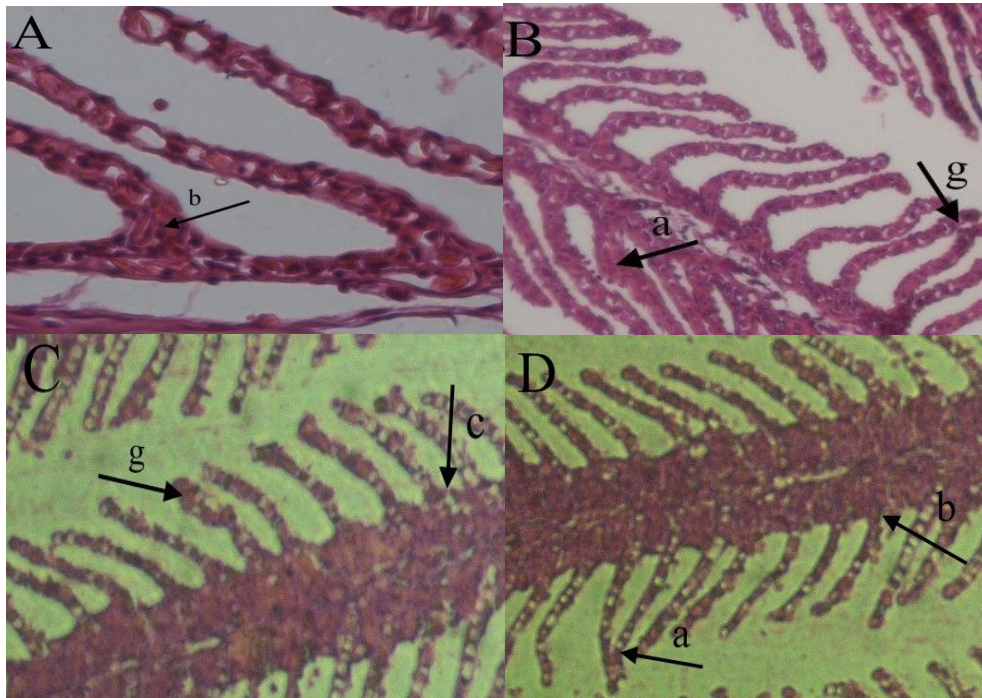
شکل ۱- A: بافت آبشش نمونه شاهد ماهی کپور معمولی، B: بافت آبشش نمونه شاهد ماهی قرمز (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×).



شکل ۲- A: جراحات بافت آبشش ماهی قرمز، B: جراحات بافت آبشش ماهی کپور معمولی در معرض ۵۰ درصد غلظت LC_{50} نانودی اکسید تیتانیوم (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×). چسبندگی لاملایهای ثانویه (a)، پرخونی (b)، افزایش مقدار موکوس آبشش (c)، آنوریسیم لاملایی (g).



شکل ۳- A و B: جراحات بافت آبشش ماهی قرمز، C و D: جراحات بافت آبشش ماهی کپور معمولی در معرض ۵۰ درصد غلظت LC_{50} نانواکسید روی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×). چسبندگی لاملایهای ثانویه (a)، هایپرپلازی (c) آنوریسیم لاملایی (g)، پرخونی (b).



شکل ۴- A و B: جراحات بافت آبشش ماهی قرمز، C و D: جراحات بافت آبشش ماهی کپور معمولی در معرض ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ نانواکسید مس (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگ‌نمایی ۱۰۰×). چسبندگی لاملاهای ثانویه (a)، آنوریسم لاملائی (g)، پرخونی (b)، افزایش مقدار موکوس آبشش (c).

جدول ۱- آسیب‌های بافت آبشش بچه ماهیان کپور معمولی در معرض ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ نانوذرات تیتانیوم، نانواکسید مس و نانوذرات روی

شاهد	نانودی‌اکسید تیتانیوم	نانواکسید مس	نانو ذرات روی
-	++	+	+++
-	+	+	+
-	++	+	+++
-	+	+	++

علائم: بدون آسیب (-)، آسیب خفیف (+)، آسیب متوسط (++) و شدید (+++).

جدول ۲- آسیب‌های بافت آبشش بچه ماهیان قرمز در معرض ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ نانوذرات تیتانیوم، نانواکسید مس و نانوذرات روی

شاهد	نانودی‌اکسید تیتانیوم	نانواکسید مس	نانو ذرات روی
-	+	+	++
-	+	+	+
-	++	+	+++
-	+	-	+

علائم: بدون آسیب (-)، آسیب خفیف (+)، آسیب متوسط (++) و شدید (+++).

بحث و نتیجه گیری

مطالعات آسیب شناسی بافتی به عنوان ابزاری حساس برای تشخیص اثرات مستقیم مواد شیمیایی بر اندام های هدف ماهیان در شرایط آزمایشگاهی محسوب می شود. به طور کلی، آبشش ماهیان به عنوان شاخص کارآمدی از کیفیت آب در نظر گرفته می شود، چرا که علاوه بر وسیع بودن سطح، آبشش ها عملکردهای مختلفی دارند که شامل تنفس، تنظیم اسمزی، دفع مواد زائد نیتروژن-دار و تعادل اسید و باز می باشد. بنابراین، اختلال عملکرد آبششی ناشی از آلاینده ها به طور قابل توجهی به بهداشت و سلامت ماهی مرتبط می شود و آبشش ماهی به عنوان مهم ترین شاخص سطوح آلودگی آب در نظر گرفته می شود (Alazemi et al., 1996).

محققان در گذشته ضایعات آبششی را در دو گروه تقسیم بندی کرده اند: ۱- اثرات آسیب مستقیم مواد محرک و ۲- پاسخ دفاعی ماهی. نکرور آبششی و ریزش اپی تلیوم آبشش، پاسخ های مستقیم ناشی از عمل سموم است. پاسخ دفاعی شامل هیپرپلازی اپی تلیوم و اتصال تیغه های مجاور می باشد. هیپرپلازی، افزایش غیرطبیعی در تعداد سلول های اپی تلیوم آبشش است. این عارضه بر تبادل گاز و تنفس تأثیر گذاشته و در حالات شدیدتر می تواند به اتصال تیغه های مجاور به یکدیگر و جلوگیری از تبادل گاز منجر شود. در واقع هیپرپلازی به عنوان یک مکانیسم دفاعی منجر به کاهش سطح تنفسی و افزایش فاصله سطح انتشار سم در خون می شود. پوسته پوسته شدن اپی تلیال در تیغه های آبششی به دلیل عدم فیلتراسیون مایع میان بافتی ایجاد شده که باعث کاهش مبادله گاز از طریق افزایش فاصله انتشار و کاهش فاصله بین لاملایی می شود. همچنین، این عارضه می تواند موجب کاهش جذب مواد سمی گردد. به

عبارت دیگر برآمدگی اپیتلیوم فاصله رسیدن ماده سمی به جریان خون را افزایش می دهد (Cengiz and Unlu, 2006).

مطالعه حاضر نشان داد که نانوذرات فلزی (دی اکسید تیتانیوم، مس و روی) باعث آسیب هایی در بافت آبشش نظیر به هم چسبیدن تیغه های ثانویه، آنوریسسم لاملایی، پرخونی و افزایش مقدار موکوس آبشش می شود. این نتایج مشابه یافته های آل بروتی و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مورد مواجهه قزل آلای رنگین کمان با نانوذرات فلز مس بود. همچنین آسیب های بافتی مشابه آسیب های حاصل از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در گربه ماهی رنگین کمان (Razmara et al., 2014) و کپور معمولی (Hao et al., 2009) بود. تحقیقات نشان داده است مواجهه با ذرات دی اکسید تیتانیوم و مس نیز به ترتیب سبب ایجاد ادم و افزایش ترشح موکوس در آبشش قزل آلای رنگین کمان و افزایش تعداد سلول های پوششی در آبشش ماهی گورخری می شود (Griffitt et al., 2010). در مقایسه با سایر مطالعات، شکل آسیب بافتی در آبشش ماهی کپور معمولی و ماهی قرمز توسط نانوذرات روی شدت بیشتری دارد. اغلب آسیب های آبشش به علت قرارگیری ها در معرض آلاینده ها در غلظت تحت کشنده می باشد که اپی تلیوم آبشش را تحت تاثیر قرار می دهند (Hinton and Laurén, 1990). اگرچه وقتی ماهیان دچار استرس های شدید می شوند، احتمالاً تغییراتی در رگ های خونی نیز رخ می دهد. در این حالت، سلول های آسیب دیده پیلاز (pillar) می توانند در نتیجه افزایش جریان خون در لاملا، سبب اتساع کانال های حاشیه ای، خونریزی یا حتی آنوریسسم شوند (Takashima and Hibya, 1995). کامارو و مارتینز در سال ۲۰۰۷ با بررسی تاثیر آلودگی آب بر

بافت آبشش ماهی ضایعاتی چون برآمدگی اپی تلیوم تیغه ثانویه، هیپرپلازی و هیپرتروفی اپی تلیوم تنفسی، تخریب لاملا و آنوریسم را گزارش کردند که این صدمات می تواند بازتاب تاثیر مستقیم عوامل سمی بر بافت آبشش باشد (Camargo and Martinez, 2007).

به طور کلی، عمده ترین تغییرات بافتی که در بررسی حاضر در بافت آبشش ماهی قرمز در مواجهه با نانو اکسید روی، دی اکسید تیتانیوم و مس مشاهده شد، شامل آنوریسم لاملایی، بهم چسبیدگی لاملاهای ثانویه، افزایش مقدار موکوس آبشش و پرخونی بود که بیشترین عوارض مشاهده شده شامل آنوریسم لاملایی و افزایش مقدار موکوس آبشش در غلظت تحت کشنده نانو اکسید روی بود. بافت آبشش در معرض ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ نانو اکسید مس کمترین آسیب را نشان داد و بیشترین تخریب متعلق به ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ نانو اکسید روی بود. به هم چسبیدگی لاملاهای ثانویه و پرخونی نیز کمترین عارضه مشاهده شده بود. عارضه های مشاهده شده در بافت آبشش ماهی کپور هم شامل آنوریسم لاملایی، بهم چسبیدگی لاملاهای ثانویه، افزایش مقدار موکوس آبشش و پرخونی بود که بیشترین عارضه های مشاهده شده شامل هیپرپلازی آبششی و افزایش مقدار موکوس آبشش بود. بافت آبشش در معرض ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ نانو اکسید مس کمترین آسیب را نشان داده و بیشترین تخریب متعلق به ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ نانو اکسید روی بود. به هم چسبیدگی لاملاهای ثانویه نیز کمترین عارضه مشاهده شده بود. به نظر می رسد بروز این تغییرات در بافت آبشش در مرحله اول به عنوان یک مکانیسم دفاعی برای ممانعت از ورود مواد آلاینده به درون بدن باشد. تغییرات گسترده در اپی تلیوم تیغه های ثانویه ممکن

است ضخامت اپی تلیوم را افزایش داده و در نهایت منجر به کاهش ورود نرخ آلاینده ها به گردش خون شود و یا آن را با تاخیر مواجه کند (Roberts, 1989). بنابراین، به نظر می رسد آسیب های بافتی ایجاد شده در آبشش ماهی کپور معمولی و ماهی قرمز پس از مواجهه با نانوذرات روی، مس و دی اکسید تیتانیوم نوعی پاسخ فیزیولوژیک باشد که جاندار برای ممانعت از ورود این مواد به بدن خود و جلوگیری از آسیب های بیش تر ایجاد کرده است که با افزایش مدت زمان تاثیر پذیری ماهیان از نانوذرات اکسید روی، تغییرات ساختاری و آسیب سلولی وارد بر بافت ها تشدید یافت.

ریول در سال ۲۰۰۶ گزارش کرد نانوذرات همراه با فعالیت زیاد احتمالاً در بافت های هدف نفوذ می کنند و سبب عملکرد نامطلوب اندام ها می شوند (Revell, 2006). هنگامی که نانوذرات در یک بافت انباشته شوند، ممکن است به درون سلول ها جذب شده و یا این که جذبی صورت نگیرد. اگر نانوذره در سیتوپلاسم مستقر شود، حضور برخی مواد درشت دانه می تواند باعث ایجاد آسیب مستقیم یا مرگ سلول در اثر برخی تعاملات شود (Shi et al., 2006). موقعیت آبشش ها به عنوان یک اندام خارجی موجب می شود تا به عنوان اندام هدف اولیه آلاینده ها محسوب شوند. اثرات هیستوپاتولوژی به عنوان سطح بالاتری از پاسخ، منعکس کننده تغییرات اولیه در عملکرد فیزیولوژیکی یا بیوشیمیایی بافت ها هستند. به همین دلیل آسیب های وارد شده به آبشش ها با اختلال تنفسی، نارسایی تنظیم یونی و غیره همراه است. این اختلال به نوبه خود زنگ خطری برای سلامت ماهیان محسوب می شود و می تواند بر تداوم حیات آن ها آثار مخربی بگذارد (Sweety et al., 2007).

ساختار، نحوه پراکنش، پتانسیل زتا (Zeta potential) یا بار الکتریکی سطح غشا نانوذرات و چسبندگی نانوذرات مورد مطالعه بوده است.

سیاسگزاری

از کلیه افراد، سازمان‌ها و ارگان‌هایی که در انجام این کار پژوهشی همکاری داشته‌اند، صمیمانه قدردانی می‌گردد. نویسندگان اعلام می‌دارند که در این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافی وجود ندارد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که ۵۰ درصد غلظت LC₅₀ نانوذرات تیتانیوم، نانوآکسید مس و نانوذرات روی می‌تواند باعث آسیب و تخریب ساختار بافتی آبشش در ماهی کپور و ماهی قرمز شود. همچنین، سمیت تحت‌کشنده نانوآکسید روی نسبت به نانوآکسید مس و نانودی‌اکسید تیتانیوم بیشتر بوده و باعث جراحات وسیع‌تری بر بافت آبشش ماهی کپور معمولی می‌شود. بنابراین، توصیه می‌گردد از ورود این گونه مواد به اکوسیستم آبی جلوگیری گردد. دلیل اختلاف شدت جراحات در مواجهه با نانوذرات مختلف در این مطالعه علاوه بر ماهیت متفاوت فلزات مورد بررسی، شکل،

منابع

- Alazemi, B.M., Lewis, J.W. and Andrews, E.B. (1996). Gill damage in the freshwater fish *Gnathonemus petersii* (family: Mormyridae) exposed to selected pollutants: an ultrastructural study. *Environmental Technology*, 17: 225-238.
- Bais, U.E. and Lokhande, M.V. (2012). Effect of cadmium chloride on histopathological changes in the freshwater fish *Ophiocephalus striatus* (Channa). *International Journal of Zoology Research*, 8(1): 23-32.
- Camargo, M.M.P. and Martinez, C.B.R. (2007). Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, 5(3): 327-336.
- Cengiz, E.I. and Unlu, E. (2006). Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish *Gambusia affinis*, A microscopic study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(3): 246-253.
- Chang, Ya., Xia, L., Zhang, M., Zhang, J. and Xing, G. (2012). The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. *Materials*, 5(12): 2850-2871.
- Farkas, J., Christian, P., Gallego-Urrea, J.A., Roos, N., Hasselov, M., Tollefsen, K.E., *et al.* (2011). Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. *Aquatic Toxicology*, 101: 117-125.
- Griffitt, R.J., Hyndman, K., Denslow, N.D. and Barber, D.S. (2010). Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles. *Toxicology sciences*, 107: 404-415.
- Hao, L., Wang, Z. and Xing, B. (2009). Effect of sub-acute exposure to TiO nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Environmental Sciences*, 21(10): 1459-1466.

-
- Herre Dasht, M. and Mirvaghefi, A.R. (2013). Applications of nanotechnology in fisheries. *Journal of Nanotechnology*, 11(6): 13-15.
 - Hinton, D.E. and Laurén, D.J. (1990). Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure. In: *Biomarkers of Environmental Contamination*. McCarthy, J.F. and Shugart, L.R. editors. Boca Raton, Lewis Publishers, pp: 51-65.
 - Razmara, P., Dorafshan, S., Peykan Heyrati, F., Talebi, M. and Ranjbar, M. (2014). Effect of water-born colloidal silver nanoparticles and silver nitrate on gill histopathology of Rainbow catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Journal of Aquatic Ecology*, 3(3): 18-10.
 - Revell, P.A. (2006). The biological effects of nanoparticles. *Nanotechnology Perceptions*, 2: 283-298.
 - Roberts, R.J. (1989). *Fish Pathology*. 2nd ed., UK: London, Balliere Tindall, pp: 21.
 - 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.
 - Sweetey, R.R., Sajwan, K.S. and Kumar, K.S. (2007). Influence of zinc on cadmium induced hematological and biochemical responses in freshwater teleost fish *Catlacatla*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 34(2): 169-174.
 - Takashima, F. and Hibya, T. (1995). *An atlas of fish histology: normal and pathological features*, 2nd ed., Verlag GmbH & Co. pp: 195.
 - Tolstoshev, A. (2006). *Nanotechnology, Assessing the Environmental Risks for Australia*. 1st ed., Earth Policy Centre, pp: 317.