

Study on the Sub-Lethal Effect of Nano Zinc Oxide (Nano-ZnO) on Some Hematological Indices of *Capoeta capoeta gracilis*

Zohre Soltani ¹, Rasoul Ghorbani ¹, Seyed Aliakbar Hedayati ^{1*}, Afshin Adeli ¹,
Mohammad Mazandarani ¹

¹ Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 28 May 2022 Accepted: 15 July 2022

Abstract

Background and Aim: Zinc is one of the heavy metals in aquatic ecosystems. Currently, nanotechnology has made significant progress in various industries, in the present study, the toxicity of nano-zinc oxide on the blood indices of *Capoeta capoeta gracilis* (Capoeta) was investigated.

Methods: This research was conducted with concentrations of 0, 5, 20, 100 and 400 mg/L of nano-zinc oxide (Nano-ZnO) for 14 days on 70 Capoeta with a mean weight of 20 ± 5 grams. After the experiment, blood samples were taken from the Capoeta and various blood indices were measured including leukocytes, lymphocytes, neutrophils, eosinophils, erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH and MCHC.

Results: All blood erythrocyte indices in Capoeta showed significant changes, but leukocyte indices did not change. Also, with the increase of nano-zinc oxide in different treatments, the number of red blood cells, hemoglobin and hematocrit decreased and the number of white blood cells increased in Capoeta.

Conclusion: With rising the concentration of nano-zinc oxide, the level of hematological adverse effects increased and the concentration of 100 mg/l has the most adverse effects in Capoeta. Nano-zinc oxide causes anemia and disrupts Capoeta's immune system, which may be due to its destructive effects on hematopoietic organs such as the liver and kidney.

Keywords: Nano-zinc oxide, *Capoeta capoeta gracilis* (Capoeta), Heavy Metal, Hematological Indices.

*Corresponding author: Seyed Aliakbar Hedayati, Email: hedayati@gau.ac.ir
Address: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

بررسی اثرات تحت کشنده نانواکسیدروی بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی سیاه‌ماهی (*Capoeta capoeta gracilis*)

زهره سلطانی^۱، رسول قربانی^۱، سیدعلی اکبر هدایتی^{۱*}، افشین عادل^۱، محمد مازندرانی^۱

^۱ دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۴/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: روی یکی از فلزات سنگین موجود در اکوسیستم‌های آبی است. در حال حاضر فناوری نانو دارای پیشرفت چشمگیری در صنایع مختلف شده است، در مطالعه حاضر میزان سمیت نانواکسید روی بر شاخص‌های خونی سیاه‌ماهی بررسی شد.

روش‌ها: این تحقیق با غلظت‌های ۰، ۵، ۲۰، ۴۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسیدروی به مدت ۱۴ روز بر تعداد ۷۰ قطعه سیاه‌ماهی با میانگین وزنی 20 ± 5 گرم انجام شد. پس از اتمام آزمایش، شاخص‌های خونی شامل تعداد کل گلبول‌های سفید، لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، تعداد کل گلبول‌های قرمز، محتوای هموگلوبین، سطح هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی (MCV)، وزن هموگلوبین داخل گلبولی (MCH) و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی (MCHC) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تمامی شاخص‌های اریتروسیتی خون تغییرات معنی‌داری از خود نشان دادند ولی شاخص‌های لوکوسیتی هیچ‌گونه تغییری نداشتند. همچنین با افزایش غلظت نانواکسید روی در تیمارهای مختلف میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت کاهش و میزان گلبول‌های سفید افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: با افزایش غلظت نانواکسیدروی میزان تاثیر نامطلوب خون‌شناسی بالاتر بوده و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر دارای بیشترین عوارض نامطلوب است. نانواکسیدروی باعث بروز کم‌خونی و ایجاد اختلال در سیستم ایمنی ماهی می‌شود که ممکن است به دلیل اثرات مخرب آن بر اندام‌های خون‌ساز مانند کبد و کلیه باشد.

کلیدواژه‌ها: نانواکسید روی، سیاه‌ماهی، فلز سنگین، شاخص‌های خون‌شناسی.

*نویسنده مسئول: سیدعلی اکبر هدایتی. پست الکترونیک: hedayati@gau.ac.ir

آدرس: دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

مقدمه

بخشی از پساب اکثر صنایع به محیط آبی می‌ریزند و بواسطه ماهی‌ها و موجودات آبی، طی چرخه‌های مختلف در نهایت به بدن انسان می‌رسند. بررسی نحوه تاثیرگذاری آلاینده‌ها بر موجودات درون آب، امری ضروری است. کاربردهای مختلف فناوری نانو این پتانسیل را دارد که تأثیر انسان را در محیط زیست محدود کند. فناوری نانو عبارت است از گسترش تکنولوژی در سطح اتمی، مولکولی یا ماکرومولکولی با استفاده از مقیاس طولی حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر، تولید و استفاده از ساختارها، تجهیزات و سیستم‌هایی که خواص و عملکرد جدیدی به علت اندازه کوچک خود داشته باشند. فناوری نانو پتانسیل زیادی برای ارتقاء محیط زیست از دو طریق کاربرد مستقیم نانومواد برای پیشگیری و رفع آلاینده‌ها و کاربرد غیرمستقیم، با استفاده از فرایند طراحی صنعتی و تولید محصولات سازگار با محیط زیست دارد. با استفاده مؤثر از اتم‌ها و انرژی در سرتاسر سیکل تولید، فناوری نانو می‌تواند در کاهش آلودگی یا کاهش مصرف انرژی تولیدات، مشارکت کند (۱). اگرچه نانوذرات دارای کاربردهای فراوانی در همه صنایع هستند، اما دارای خطراتی برای سلامتی و ایمنی نیز می‌باشند. به همین دلیل در نظر گرفتن این خطرات برای استفاده هرچه بهتر از این فناوری امری ضروری است. یکی از مهم‌ترین نانوذرات اکسید فلزی، نانوذرات اکسید روی می‌باشد. این نانوذرات در صنایع مختلف می‌تواند جایگزین ماکرومولکول اکسید روی گردد و خواص ویژه‌ای به محصول نهایی دهد (۲).

آلودگی فلزات سنگین باعث تغییرات مخرب در تعادل اکولوژیکی محیط زیست ماهیان شده و تنوع زیستی موجودات آبی را مورد تهدید قرار می‌دهد. از میان گونه‌های جانداران، ماهی در محل زیست خود توانایی گریز از این مضرات مخرب آلودگی را نداشته و سبب آلودگی زنجیره غذایی می‌شود (۳). فلز سنگین روی (Zn) یکی از مواد معدنی است که در بسیاری از اعمال حیاتی بدن از قبیل رشد، ساخت DNA، ساختمان هورمون‌ها و آنزیم‌ها نقش دارد و به همین دلیل وجود آن در جیره حیوانات ضروری است. این عنصر یکی از محدودکننده‌ترین عناصر در تغذیه حیوانات اهلی است و از آنجا که بدن نمی‌تواند مقدار زیادی از این عنصر را در خود ذخیره کند لذا می‌بایست به صورت روزانه در جیره دام‌ها فراهم شود. هر گونه افزایش یا کمبود این عنصر سبب اثرات سوء و کاهش عملکرد حیوانات می‌شود (۴).

بیت سیاح و همکاران به بررسی تأثیر تجویز خوراکی نانوذرات اکسید روی (ZnO-NPs) بر برخی فراسنجه‌های ایمنی ماهی کپور معمولی پرداختند و اثرات نامطلوب نانوذرات اکسید روی بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی را تایید نمودند (۵). صحرایی و همکاران نیز به بررسی برخی از فاکتورهای رشد ماهی کپور معمولی تغذیه شده با منابع مختلف نانوذرات روی پرداختند و نانوذرات روی را عامل آلاینده محیطی معرفی نمودند (۶).

Rajkumar و همکاران در بررسی عملکرد زیستی نانوذرات اکسید روی به تأثیر سمیت بالقوه این ذرات بر ماهی‌های آب شیرین تأکید نمودند (۴).

پراکنش سیاه‌ماهی (*Capoeta gracilis*) در ایران در حوضه‌های جنوب دریای خزر، حوضه دریاچه ارومیه، اطراف اصفهان و در جنوب شرقی خراسان می‌باشد (۷). این گونه در حوضه جنوب خزر یکی از فراوان‌ترین گونه‌ها بوده و در برخی از کشورهای آسیایی اقدام به پرورش آن نموده‌اند (۷). این ماهی از دیاتومه‌ها و سایر جلبک‌های چسبیده به بستر رودخانه به همراه برخی حشرات آبی مانند شیرونومید تغذیه می‌کند. مطالعات خون‌شناسی روش ارزشمندی برای ارزیابی آثار محیطی آلاینده‌ها روی ماهیان می‌باشد (۶). از آنجا که شاخص‌های خون‌شناسی برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهی مهم هستند، برای سنجش این شاخص‌ها در سیاه‌ماهی نیز از تغییرات آن استفاده می‌شود. افزایش فلزات سنگین در محیط آبی باعث بروز تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خون می‌شود. هدف تحقیق حاضر تعیین تاثیرات نانواکسید روی بر شاخص‌های خون‌شناسی سیاه‌ماهی بود.

روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ به مدت ۱۴ روز بر روی تعداد ۷۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی 20 ± 5 گرم تحت تاثیر نانواکسید روی با ۴ تیمار (۵، ۲۰، ۴۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ۳ تکرار در هر تیمار در سالن تحقیقات آبی پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. همچنین دو تیمار شاهد نیز در همان شرایط نگهداری شد. ماهی‌ها در تانک‌های ۳۰ لیتری در دمای $21-19$ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول $7/2-8$ میلی‌گرم در لیتر، pH بین $6/5-7/5$ بطور یکسان در غلظت‌های ۵، ۲۰، ۴۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، به مدت ۱۴ روز تحت تاثیر نانوذرات روی قرار گرفتند. نحوه انتخاب غلظت‌های آزمایش پس از انجام LC50 و تعیین میزان سمیت کشندگی حاد بود. قبل از شروع آزمایش تحت کشنده ۱۴ روزه، ماهیان به مدت ۲ هفته سازگار شدند. در دوران آدپتاسیون غذایی روزی یکبار انجام شد. در طول دوره سازگاری و آزمایش آب تانک‌ها هوادهی و کلرزدایی شد. برای انحلال نانوذرات روی در آب از دستگاه اولتراسوند استفاده شد. غلظت‌های ذکر شده به یک مخزن ۳۰ لیتری اضافه گردید.

میزان هوادهی، غذادهی، شرایط فیزیکیوشیمیایی آب در طول دوره آزمایش کنترل شد. در طول دوره آزمایش، مرگ‌ومیری مشاهده نشد. پس از اتمام آزمایش، ماهی‌ها به منظور خون‌گیری با عصا به گل میخک ۲ گرم در لیتر بیهوش شدند (۵) و خون‌گیری انجام شد. در هر تیمار ماهی‌ها را بیهوش کرده و پس از آن سطح بدن از موکوس و آب پاک شد. برای خون‌گیری ساقه دمی قطع شد و خون در لوله هپارینه حاوی EDTA که همان ماده ضد انعقاد است ریخته شد. برای جلوگیری از لیز شدن خون در حد امکان از

تکان شدید لوله هپارینه خودداری شد. نمونه‌های خون درون لوله در یک محفظه یخ نگهداری گردید. خون درون لوله برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی مربوطه در یک جای ساکن قرار داده شد تا لخته شود، سپس سرم بالایی آن از گلبول‌های زیرین جدا گردید. این نمونه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و در نهایت آنالیزهای مربوطه بر روی آن انجام گرفت (۵).

شاخص‌های قابل اندازه‌گیری خون شامل تعداد کل گلبول‌های قرمز (اریتروسیت)، تعداد کل گلبول‌های سفید (لوکوسیت)، نوتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل، محتوای هموگلوبین، سطح هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی (MCV)، وزن هموگلوبین داخل گلبولی (MCH) و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی بود (۷). شمارش گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز به روش هموسیتمتری انجام گرفت (۸). گسترش خونی بر روی لام برای شمارش گلبول‌های سفید تهیه و با گیمسا رنگ‌آمیزی شد. مقدار هماتوکریت و غلظت هموگلوبین نیز به روش میکروهماتوکریت و سیانومتهموگلوبین سنجیده شد (۸). موارد بدست آمده از آزمایش با استفاده از نرم افزار SPSS-17 و با انجام آزمون آنووا یک طرفه و تست دانکن در سطح معناداری ۵ درصد ($P < 0.05$) تجزیه و تحلیل شد.

نتایج

ماهی‌ها در غلظت‌های ۵، ۲۰، ۴۰، ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر به ترتیب دارای میانگین طولی ۱۲/۶۶، ۱۲، ۱۲، ۱۱ و میانگین وزنی ۱۷/۷۰، ۱۴/۵۹، ۱۴/۹۶، ۱۲/۵۷ بودند. همچنین در تیمار شاهد میانگین وزنی ۱۴/۱۳ و میانگین طولی ۱۰/۶۲ اندازه‌گیری شد.

نتایج شاخص‌های خون‌شناسی در جدول ۱- آمده است. میزان گلبول‌های قرمز با افزایش نانواکسیدروی از تیمار اول تا تیمار نهایی کاهش یافت که با تمام غلظت‌های نانوروی اختلاف معنادار دارد ($p < 0.05$). تعداد گلبول‌های سفید افزایش یافته است که این افزایش در گروه شاهد با همه تیمارها بجز تیمار ۲ دارای اختلاف معناداری است ($p > 0.05$). بین تیمار ۱ و سایر تیمارها نیز اختلاف معناداری وجود نداشت اما تیمار ۲ با تیمارهای ۳ و ۴ دارای اختلاف معناداری بود ($p > 0.05$). تیمار ۳ اختلاف معنادار با تیمار ۲ و گروه شاهد داشت و با بقیه تیمارها بدون اختلاف معنادار بود ($p > 0.05$). تیمار ۴ دارای اختلاف معنادار با تیمار ۲ و گروه شاهد بود ($p > 0.05$). همچنین میزان هماتوکریت خون کاهش یافت که این کاهش بین گروه شاهد با سایر تیمارها معنادار بود ($p > 0.05$). میزان هموگلوبین از گروه شاهد تا تیمار ۴ به ترتیب کاهش داشت و گروه شاهد تنها با تیمار ۱ اختلاف معنادار نداشت و با سایر تیمارها کاهش معناداری را نشان داد ($p > 0.05$). M.C.H.C. خون بین شاهد و سایر تیمارها بجز تیمار ۴ اختلاف معنادار نداشت ($p > 0.05$). M.C.V. دارای افزایش بود که این افزایش بین گروه شاهد با تیمارهای ۱ و ۲ معنادار نبوده است اما با تیمارهای ۳ و ۴ دارای اختلاف معناداری بود ($p > 0.05$). بین دو تیمار ۳ و ۴ نیز اختلاف معنادار مشاهده نشد اما این دو با سایر تیمارها دارای اختلاف معناداری بودند ($p > 0.05$). میزان M.C.H. نیز افزایش یافت که گروه شاهد بدون اختلاف معنادار با تیمارهای ۱ و ۲ و دارای اختلاف معنادار با تیمارهای ۳ و ۴ بود ($p > 0.05$). نوتروفیل و لنفوسیت خون نیز در گروه شاهد با سایر تیمارها اختلاف معناداری نشان نداد ($p > 0.05$).

جدول ۱- شاخص‌های خون‌شناسی سیاه‌ماهی در مواجهه با غلظت‌های مختلف نانو اکسید روی

شاخص	گروه شاهد	غلظت ۵	غلظت ۲۰	غلظت ۴۰	غلظت ۱۰۰
گلبول قرمز ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	2.11 ± 0.04^a	2.08 ± 0.12^b	2.06 ± 0.09^b	2.01 ± 0.27^c	1.8 ± 0.05^d
هماتوکریت %	37 ± 0.11^a	35 ± 0.04^b	35 ± 0.02^{bc}	34 ± 0.01^c	34 ± 0.01^c
هموگلوبین (g/dl)	7.8 ± 0.1^a	7.56 ± 0.05^{ab}	$7.4 \pm 0.42^{b\gamma}$	7.1 ± 0.6^c	6.9 ± 0.32^c
گلبول سفید ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	$8533 \pm 251/66^c$	$9266 \pm 66 \pm 57/73^{ab}$	$9333 \pm 152/75^{bc}$	$9266 \pm 66 \pm 251/66^a$	$9566 \pm 66 \pm 152/75^a$
M.C.H.C (g/dl)	$32/47 \pm 0.47^{ab}$	$33/06 \pm 0.11^a$	$32/96 \pm 0.25^a$	$32/11 \pm 0.3^{bc}$	$31/5 \pm 0.3^c$
M.C.V (fl)	$1/82 \pm 0.03^b$	$1/89 \pm 0.03^b$	$1/92 \pm 0.03^b$	$1/93 \pm 0.12^a$	$2/24 \pm 0.02^a$
M.C.H (pg)	0.59 ± 0.05^b	0.62 ± 0.01^b	0.63 ± 0.05^b	0.68 ± 0.03^a	0.7 ± 0.05^a
نوتروفیل %	$6/33 \pm 0.57^a$	$7/66 \pm 0.57^a$	7 ± 1^a	$6/66 \pm 1/15^a$	$7/33 \pm 0.57^a$
لنفوسیت %	$93/33 \pm 0.57^a$	$91/33 \pm 1/52^a$	92 ± 2^a	$93/66 \pm 1/52^a$	91 ± 1^a

* داده‌ها به وسیله میانگین $\pm$ انحراف معیار محاسبه شدند. مقادیر به دست آمده برای هر ویژگی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

بحث

افزایش کاربردهای نانوتکنولوژی در موارد مختلف میزان ورود آنها را به اکوسیستم آبی افزایش داده است. به همین دلیل بررسی میزان تاثیرگذاری آن بر ماهی بویژه خون شناسی ماهی بسیار با اهمیت است. نکته مهمی که نانوتکنولوژی را از سایر علوم متمایز می کند این است که مواد در اندازه نانو خصوصیتی از خود نشان می دهند که در اندازه های بالا قادر به بروز آن نیستند. علاوه بر مزایای نانوذرات، نگرانی هایی نیز وجود دارد، یکی از این نگرانی ها این است که نانوذرات می توانند به دیگر آلاینده های خطرناک در آب یا هوا متصل شوند یا با آنها واکنش دهند که ورود آنها را به بدن آسان تر سازند (۹). نانواکسیدروی در سرامیک و لاستیک سازی، و قارچ کش کاربرد دارد (۱۰). به طور کلی فلز روی در غلظت های پایین جزو عناصر ضروری می باشند اما در صورتی که به مقدار زیاد وجود داشته باشند با اعمال اثرات سمی بر موجودات آبی می ممکن است به آلاینده تبدیل شوند (۱۱).

بررسی های خون شناسی در ماهی ها می تواند در تشخیص و پیشگیری بیماری ماهی ها مفید باشد. تغییرات در سطوح گلبول های سفید و قرمز می تواند نشانه کم خونی و نقص در سیستم ایمنی بدن باشد (۱۲). در مطالعه حاضر، میزان گلبول های قرمز و هموگلوبین کاهش یافته که این کاهش نشان دهنده کم خونی یا خونریزی شدید است. هموگلوبین پایین در حیوانات به معنی کم خونی است (۸). کاهش هماتوکریت نیز در مطالعه حاضر مشهود بود. بنایی و همکاران عوامل کاهش هماتوکریت را همان عوامل کاهش اندازه یا تعداد گلبول های قرمز می دانند و اگر آلاینده ای توانایی ایجاد این تاثیرات را در گلبول های قرمز داشته باشد، هماتوکریت خون نیز کاهش می یابد و سنجش آن می تواند در تشخیص بیماری موثر باشد (۱۲).

نتایج تحقیق حاضر مشابه تحقیقات پیشین در زمینه تغییرات خون شناسی ماهیان آب شیرین در مواجهه با نانوذرات روی می باشد. بیت سیاح و همکاران اثرات نامطلوب نانوذرات اکسید روی بر شاخص های خون شناسی ماهی کپور معمولی را تایید نمودند (۵). همچنین صحرایی و همکاران نشان دادند که برخی از فاکتورهای رشد ماهی کپور معمولی تغذیه شده با منابع مختلف نانوذره روی عملکرد متفاوتی نسبت به گروه کنترل دارند (۶). Rajkumar و همکاران در بررسی عملکرد زیستی نانوذرات اکسید

روی بر ماهی کپور معمولی به تأثیر سمیت بالقوه این ذرات بر بسیاری از شاخص های فیزیولوژیکی و خون شناسی ماهی های آب شیرین تاکید نمودند. محققان بیان کردند که افزایش میزان گلبول های سفید قرار گرفته در معرض استرس ممکن است به دلیل این باشد که موجود توانسته سیستم ایمنی خود را در مواجهه با آلاینده تقویت کند و با شرایط سازگار شود (۴). میزان سمیت فلز روی بر میزان قلیایی شدن و سختی آب و تاثیر آن بر شاخص های خونی کپورماهیان نشان دهنده تاثیرات سوء فلز روی و کاهش شاخص های خونی می باشد. این کاهش مانند تحقیق حاضر ممکن است به دلیل آسیب به اندام های خون ساز همچون کبد و کلیه باشد (۱۳).

نتیجه گیری

طبق یافته های مطالعه حاضر با افزایش غلظت نانواکسید روی میزان تاثیر نامطلوب خون شناسی نیز افزایش یافت و غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر دارای بیشترین عوارض نامطلوب بود. نانواکسید روی باعث بروز کم خونی و ایجاد اختلال در سیستم ایمنی ماهی شد که ممکن است به دلیل اثرات مخرب آن بر اندام های خون ساز مانند کبد و کلیه باشد. در یک نتیجه کلی می توان گفت که نانواکسیدروی باعث بروز تغییرات زیادی در شاخص های خونی سیاه ماهی شده است. این تغییرات شامل کاهش گلبول های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و افزایش گلبول های سفید است. اما به طور جداگانه تغییرات چشمگیری در نوتروفیل و لنفوسیت مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی: این مقاله از پایان نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان استخراج گردیده است.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می کنند که هیچ گونه تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Wardak A, Gorman M E, Swami N, Deshpande S. Identification of Risks in the Life Cycle of Nanotechnology-Based Products. Journal of Industrial Ecology. 2008;12(3), 435-448. doi:10.1111/j.1530-9290.2008.00029.x
2. Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier HC, Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*.

- Chemosphere. 2008; 71(7)1308-1316 doi:10.1016/j.chemosphere.2007.11.047
3. Vinodhini R, Narayanan M, Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). Int. J. Environ. Sci. Tech. 2008; 5:179-182. doi:10.1007/BF03326011
4. Rajkumar KS, Sivagaami P, Ramkumar A, Murugadas A, Srinivasan V, Arun S, Kumar PS, Thirumurugan R. Bio-functionalized zinc oxide nanoparticles: Potential toxicity impact on freshwater

- fish *Cyprinus carpio*. *Chemosphere*. 2022;290: 133220. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.133220
5. Beit Sayah A, Banai M, Nemat Dost B. The effect of oral administration of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on some immune indices of common carp. *Aquatic Ecology*. 2017; 8(3): 17-27.
6. Sahrai H, Asadi A, Rezaei M, Poladi M, Hedayati A. Investigating some growth factors of common carp fed with different sources of iron and zinc (nanoparticles). *Exploitation and aquaculture*. 2019; 9(3): 109-121.
7. Abdoli A. Fishes of the inland waters of Iran, Publications of the Natural and Wildlife Museum of Iran, 1998; 377 p.
8. Rabitto IS, Alves Costa JRM, Silva de Assis HC, Pelletier E, Akaishi FM, et al. Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2005; 60 (2), 147-156. doi:10.1016/j.ecoenv.2004.03.002
9. Wang X, Lu J, Xu M, Xing B. Sorption of pyrene by regular and nanoscaled metal oxide particles: influence of adsorbed organic matter. *Environ Sci Technol*. 2008; 42:7267-7272 doi:10.1021/es8015414
10. Kołodziejczak-Radzimska A, Jesionowski T. Zinc oxide from synthesis to application: a review. *Materials*. 2014; 7(4):2833-2881. doi:10.3390/ma7042833
11. Javed M. Heavy metal contamination of freshwater fish and bed sediment in the Ravi river stretch and related tributaries. *Pakistan J. of Biological Sciences*, 2005; 8(10): 1337-1341. doi:10.3923/pjbs.2005.1337.1341
12. Banaee M, Mirvagefi AR, Rafei GR, Majazi Amiri B. Effect of sub-lethal diazinon concentration on blood plasma biochemistry. *Institute Journal Environmetal. Research*. 2008; 2(2): 189- 198.
13. Ghoti N, Mohammadi S, Mohammadi V. Comparison and investigation of hardness and alkalinity changes with heavy metal zinc poisoning in common carp. *Lagoon Journal*. 2018; 2(8):21-28.