



اثرات نانوپلاستیک پلی استایرن بر شاخص های بافت شناسی کبد و شاخص های رشد و بقاء ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

ملیکا میرزائی نشترودی^۱، کامران رضایی توابع^{۲*}، امیررضا عابدعلم دوست^۳، غلامرضا رفیعی^۴،
حسن رحیمیان^۵، بهزاد شیرکوند هداوند^۶

۱. فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۵. دانشیار گروه علوم جانوری، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۶. استاد گروه رزین و مواد افزودنی، پژوهشکده علوم رنگ و تکنولوژی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۱۱

چکیده

علی‌رغم توسعه استفاده از نانوپلاستیک پلی‌استایرن در حوزه‌های مختلف نانوفناوری، محیط‌زیست و صنایع و با وجود احتمال راهیابی آن‌ها به بوم‌سازگان‌های آبی، اطلاعات موجود در ارتباط با نانوبوم‌سم‌شناسی آن در آبزیان هنوز بسیار محدود است. در تحقیق حاضر، به‌منظور سمیت‌سنجی، نانوپلاستیک پلی‌استایرن NPsPS از راه جیره غذایی، در چهار تیمار با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۰/۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلو غذا، به بدن بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، در یک تیمار مزمن ۲۸ روزه و پس از گذشت یک هفته دوره سازگاری، در سه تکرار (در هر تکرار از هر غلظت، ۱۵ عدد بچه‌ماهی)، منتقل شد. نمونه‌گیری از ماهیان بسته به آزمون هدف، ۲۴ ساعت پس از قطع غذا صورت پذیرفت. نتایج نشان دادند که در بالاترین غلظت تغذیه با نانوپلاستیک پلی‌استایرن، نرخ بقا (SR) کاهش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت ($P < 0/05$) ولی سایر شاخص‌های رشد تفاوت آماری معنی‌داری نشان ندادند ($P > 0/05$). از منظر آسیب‌شناسی بافتی نانوپلاستیک پلی‌استایرن در بافت کبد در تیمار ۳ و ۴، ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان جراحاتی نظیر، واکوئولاسیون، نکروز، اتساع سینوزوئیدی و هسته پیکنوتیک مشاهده گردید. براساس نتایج به‌دست آمده، اثرات منفی رهایش نانوپلاستیک پلی‌استایرن بر سلامت و ایمنی در سطح سلولی در بافت‌شناسی کبد در نمونه آبی مورد مطالعه مشاهده شد. به‌صورت کلی این مطالعه نشان داد، ورود ذرات نانوپلاستیک از طریق لوله گوارش باعث تغییر در پارامترهای بافت‌شناسی کبد می‌شود. با این وجود مطالعات جامع‌تری در این زمینه مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: نانوپلاستیک پلی‌استایرن، بقاء، بافت‌شناسی کبد، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان



Effects of Polystyrene Nanoplastics on Liver Histological Indices and Growth and Survival Indices of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Melika Mirzaei Nashtoroudi¹, Kamran Rezaei Tavabe^{2*}, Amirreza Abed Elmdoust³, Gholamreza Rafiee⁴, Hassan Rahimian⁵, Behzad Shirkavand Hadavand⁶

1. M.Sc. graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2. Associate professor of Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Kara
4. Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
5. Professor, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Tehran, Tehran, Iran
6. Professor, Department of Resin and Additives, Institute for Color Science and Technology, Tehran, Iran

Received: 01-Jun-2023

Accepted: 07-Jan-2024

Abstract

Despite the development of polystyrene nanoplastics (PSNPs) in different fields, including nanotechnology, environment, industries, and their possible approach to aquatic ecosystems, a few studies have been conducted on nanoecotoxicology in aquatic animals. Therefore, this study was designed and conducted to measure the effect of toxicity of the PSNPs while transferring from the diet to the body of the fish (food concentrations= 0.1, 10, and 100 mg/kg) on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in a 28-day chronic treatment and the control group (food concentration = 0 mg/kg) after the 7-day adaptation period, in three repetitions (15 juvenile trout were included in each repetition per concentration). Depending on the target test, fish sampling in the treatment group was taken after 24 h without food. According to the results, the survival rate (SR) ($84.44 \pm 3.14\%$) was significantly reduced with the highest dose of PSNPs compared to other treatments ($P < 0.05$). But other growth indices did not show statistically significant difference ($P > 0.05$). From the point of view of tissue pathology of polystyrene nanoplastic in the liver tissue in treatment 3 and 4, injuries such as vacuolation, necrosis, sinusoidal expansion and pyknotic nucleus were observed in rainbow trout. Based on the obtained results, the negative effects of polystyrene nanoplastic release on health and immunity at the cellular level were seen in liver histology in the studied aquatic sample. In general, this study showed that the entry of nanoplastic particles through the digestive tract causes changes in the histological parameters of the liver. However, more comprehensive studies are needed in this field.

Keywords: Polystyrene Nanoplastics, survival, Liver histology, *Oncorhynchus mykiss*

۱. مقدمه

جامع بوده که می‌تواند به صورت دقیق وضعیت سلامت ماهی و تجمع بیش از حد معمول مواد آلاینده را در محیط‌زیست آبی مشخص نماید (Van der Oost *et al.*, 2003). همچنین با توجه به نوظهور بودن فناوری نانو هنوز خطرات احتمالی این ذرات برای گونه‌های مهمی مانند ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به صورت دقیق مورد بررسی قرار نگرفته است و درک فعلی ما در مورد اثرات این نانوذرات بر مکانیسم‌های مختلف و سلامت این ماهی محدود است، در نتیجه ارزیابی دقیق اثرات نانوپلاستیک پلی‌استایرن بر این گونه از ماهی ضروری به نظر می‌رسد و هدف از این پژوهش می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه ماهی، آماده‌سازی و تیمار بندی

تحقیق حاضر در ادیبهشت‌ماه سال ۱۴۰۱ و با سازگاری ماهیان به مدت ۱۴ روز آغاز و در خردادماه سال ۱۴۰۱ (مدت ۲۸ روز انجام دوره تحقیق) پایان یافت. به منظور انجام این پژوهش، تعداد ۲۵۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط $17/24 \pm 0/5$ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا، واقع در استان البرز تهیه و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش آبزیان گروه علوم و مهندسی شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران انتقال داده شد. در ادامه، ۱۲ مخزن و نیرو با حجم آب‌گیری ۷۵ لیتر آب‌گیری شد. پانزده قطعه ماهی به صورت تصادفی در هر یک از ۱۲ تانک، شامل چهار تیمار و سه تکرار، قرار داده شدند. همچنین برای اطمینان از شرایط کیفی آب روزانه میزان ۲۰ درصد آب مخازن با آب حاوی اکسیژن جایگزین شد و دما، اسیدیته (pH)، هدایت الکتریکی (EC)^۱ و مقدار کل مواد جامد محلول (TDS)^۲ به صورت هفتگی توسط دستگاه اندازه‌گیری دیجیتال (HANNA/HI 9811-5) اندازه‌گیری و ثبت گردید (جدول ۱).

۲.۲. تهیه نانوپلاستیک پلی استایرن

استایرن به‌عنوان مونومر، پلی‌وینیل الکل^۳ (PVA) با جرم مولکولی ۱۲۸۰۰۰ گرم بر مول به‌عنوان تثبیت‌کننده از شرکت

از اواسط دهه ۱۹۰۰ میلادی، اولین آلاینده‌های پلاستیکی به‌عنوان زباله‌های پلاستیکی شناسایی شدند (Matthews *et al.*, 2021). به‌علت کاربرد بودن این مواد تجمع زباله‌های پلاستیکی در محیط‌های طبیعی اجتناب‌ناپذیر است (Cole *et al.*, 2011). زباله‌هایی که به‌دلیل ساختار مولکولی آن‌ها به راحتی تجزیه نشده بلکه به تدریج و با شکسته شدن به ذرات ریز تا حد نانو تبدیل می‌شوند. در مورد نانوپلاستیک‌ها تعریف ثابتی وجود ندارد اما اغلب ذرات انواع پلاستیک‌ها با اندازه‌های بین ۱ تا ۱۰۰۰ نانومتر را نانوپلاستیک می‌نامند (Gigault *et al.*, 2018).

نانوپلاستیک‌ها ذرات پلاستیکی با شکل و ترکیبات شیمیایی متنوعی هستند (Reynaud *et al.*, 2022) که به‌عنوان آلاینده‌های نوظهور شناخته می‌شوند (Zhang *et al.*, 2017). آن‌ها به‌طور گسترده در اکوسیستم‌های آبی شناسایی شده‌اند، اگرچه اطلاعات کمتری در مقایسه با میکروپلاستیک‌ها در دسترس است ولی در طی چند سال اخیر تحقیقات زیادی بر اثرات سمیت‌شناسی نانوذرات بر آبزیان مدل انجام شده است (Han *et al.*, 2021). اصلی‌ترین راه انتقال ذرات پلاستیکی به جانوران از طریق بلع می‌باشد، بنابراین اثرات سمی آن بر دستگاه گوارش آشکارتر از اثرات آن‌ها بر سایر دستگاه‌ها است (Yin *et al.*, 2021). تجمع ریزپلاستیک‌ها در بدن ماهی‌ها تحت تأثیر عواملی از جمله گونه ماهی، غلظت و مدت زمان در معرض بودن، نرخ تغذیه، اندازه و شکل ذرات قرار دارد (Ding *et al.*, 2020). در مورد الگوی رشد جانوران نیز، اغلب در میان زیستگاه‌های مختلف به‌دلیل تغییرات غیرقابل پیش‌بینی در عوامل محیطی، رفتار آبزیان دچار تغییرات متنوعی می‌شود. بررسی این تغییرات به شناخت چرخه زندگی و اثرات آلاینده‌ها در جانوران در زیستگاه مختلف، کمک می‌کند (Patimar *et al.*, 2009).

اثر محرک‌های داخلی و خارجی، از جمله نانوپلاستیک‌ها، می‌توانند باعث تغییرات و آسیب‌های بافتی در آبزیان شوند که در هر صورت در نتیجه آشفستگی در سطح مولکولی سازماندهی زیستی رخ می‌دهد. بنابراین بررسی بافت‌شناختی یک شاخص

¹ Electrical conductivity

² Total Dissolved Solids

³ Polyvinyl Alcohol

تست‌های ما نشان داد، حتی غلظت‌های بالا در محدوده ۳۰۰ تا ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هم باعث مرگ و میر در مدت زمان ۹۶ ساعت نخواهد شد. پس از مرور منابع در مطالعات پیشین چه در روش‌های میدانی و آزمایشگاهی (Lai et al., 2021; Xu et al., 2022) ۴ تیمار با غلظت‌های شاهد ۰، ۰/۱، ۱۰ و ۱۰۰ mg/kg (NPs) در نظر گرفته شد.

مرک آلمان و بنزوئیل‌پراکسید^۱ از شرکت آلفا آریزر (آمریکا) خریداری شدند. ذرات پلی‌استایرن با میانگین اندازه ۷۰ نانومتر با پلی‌مریزاسیون امولسیون و تعلیقی، مطابق با روش ارائه شده در تحقیقات قبلی ساخته شد (Shohani et al., 2017). جهت تأیید اندازه امولسیون نانوپلاستیک پلی‌استایرن با میکروسکوپ الکترونی روبشی^۲ (SEM) عکسبرداری انجام گرفت. جهت تعیین محدوده LC₅₀ در ابتدا غلظت‌های بسیاری اعمال شد. پیش

جدول ۱- شاخص‌های فیزیکی‌شیمیایی آب پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

میانگین ± انحراف معیار				
فاکتور	دما (درجه سلسیوس)	pH	(mg/L) TDS	(µmho/cm) EC
مقدار	۱۴/۷۶ ± ۰/۸۷	۸/۲۱ ± ۰/۲۹	۳۴۵/۸۳ ± ۱۶/۰۵	۷۲۳/۳۳ ± ۲۹/۲۴

میزان ۱۰ گرم بر لیتر بیهوش شدند و طول و وزن ماهیان ثبت گردید. در ادامه برای محاسبه شاخص‌های رشد در ماهی‌ها از فرمول‌های زیر استفاده شد (Sharifuzzaman et al., 2014):

میزان وزن ثانویه-میزان وزن اولیه = میزان افزایش وزن^۴ (WG)

$$\text{ضریب چاقی}^5 \text{ (CF)} = \frac{100 \times \text{وزن}}{3 \times \text{طول}}$$

= درصد ضریب رشد ویژه^۶ (SGR)

$$100 \times \frac{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی}}{\text{طول دوره پرورش}}$$

$$\text{درصد بقا}^7 \text{ (SR)} = 100 \times \frac{\text{تعداد ماهی های زنده}}{\text{تعداد کل ماهی ها}}$$

در روز آخر آزمایش پس از گذشت ۲۴ ساعت قطع غذا، سه قطعه ماهی از هر تکرار ابتدا توسط پودر گل میخک بیهوش شدند و سپس با کمک ست جراحی، بافت کبد هر تکرار به تیوپ‌های جداگانه منتقل شدند. نمونه‌های بافتی درون محلول

۳.۲. آماده‌سازی جیره غذایی

برای تهیه و آماده‌سازی جیره غذایی حاوی نانوپلاستیک پلی‌استایرن ابتدا غذا رشد ۲ از شرکت ۲۱ بیضاء تهیه شد. سپس رقت‌های امولسیون نانوپلاستیک برای هر تیمار ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک با طول موج ۲۰ کیلوهرتز و توان ۱۳۰ وات سونیک شدند (Thiagarajan et al., 2019; Lai et al., 2021). سپس با استفاده از سمپلر و آب دیونیزه، رقیق و همراه با محلول ۱۰٪ ژلاتین گاوی (Merck) جهت جلوگیری از ورود نانوذرات به محیط آبی بر روی غذا اسپری شد (Ramsden et al., 2009). غذادهی در طول روز در ساعات ۸ صبح و ۱۵ بعدازظهر به میزان ۵ درصد وزن زیست‌توده درون تانک انجام گرفت.

۴.۲. نمونه‌برداری

جهت انجام زیست‌سنجی در روزهای صفر و پایانی آزمایش، ابتدا ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع غذا شده و سپس پنج قطعه ماهی از هر تکرار با استفاده از ماده بیهوشی پودر گل میخک به

¹ Benzoyl peroxide

² Scanning Electron Microscope

³ Lethal Concentration 50%

⁴ Weight Gain

⁵ Condition Factor

⁶ Specific Growth Rate

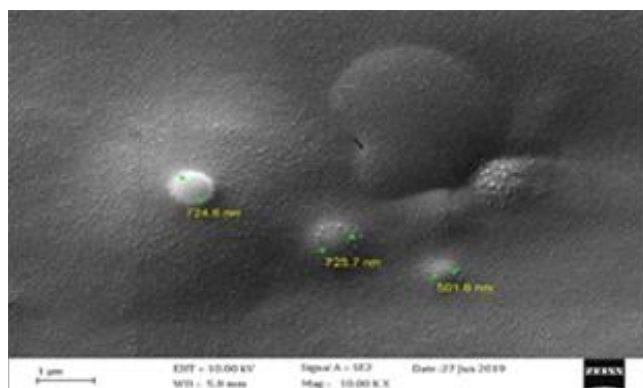
⁷ Survival Rate

۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری

پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف آزمون ANOVA یک‌طرفه و گروه‌بندی دانکن در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد ($P < 0.05$) با استفاده از تجزیه و تحلیل آماری و در محیط نرم‌افزار SPSS 26 انجام شد. نتایج به‌دست آمده به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار محاسبه شدند.

۳. نتایج

از میکروسکوپ الکترونی روبشی، برای آزمایش و آنالیز مورفولوژی نانوذرات پلی‌استایرن و شناسایی آن استفاده شد. تصاویر FE-SEM نشان داد، ذرات ساخته شده نانوپلاستیک پلی‌استایرن کروی شکل و در محدوده ۷۰ نانومتر بودند (آلمان مدل، ZEISS-SIGMA-VP) (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی ذرات امولسیون سنتز شده نانوپلاستیک پلی‌استایرن.

۱.۳. شاخص‌های رشد

نتایج مربوط به طول کل، وزن کل و شاخص‌های رشد در نمودار ۱، ۲ و جدول ۲ ارائه شده است. افزودن غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک پلی‌استایرن به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جز در شاخص نرخ بقاء، تفاوت‌های آماری معنی‌داری در رابطه با شاخص‌های رشد، طول و وزن کل در بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد ($P > 0.05$). نرخ بقاء (SR) در

بالاترین غلظت نانوپلاستیک پلی‌استایرن (تیمار ۴)، به‌صورت معنی‌داری پایین‌ترین میزان بقاء را میان گروه‌های آزمایشی داشت ($P < 0.05$). اما میزان بقاء در سایر تیمارها با غلظت نانوپلاستیک‌های کمتر، تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$).

۲.۳. آسیب بافتی کبد

در گروه شاهد، طناب‌های کبدی طبیعی بوده و هیچ نشانه‌ای از اتساع سینوزوئیدی^۴ (شکل ۲) مشاهده نمی‌شود. در

¹ Tissue Processor

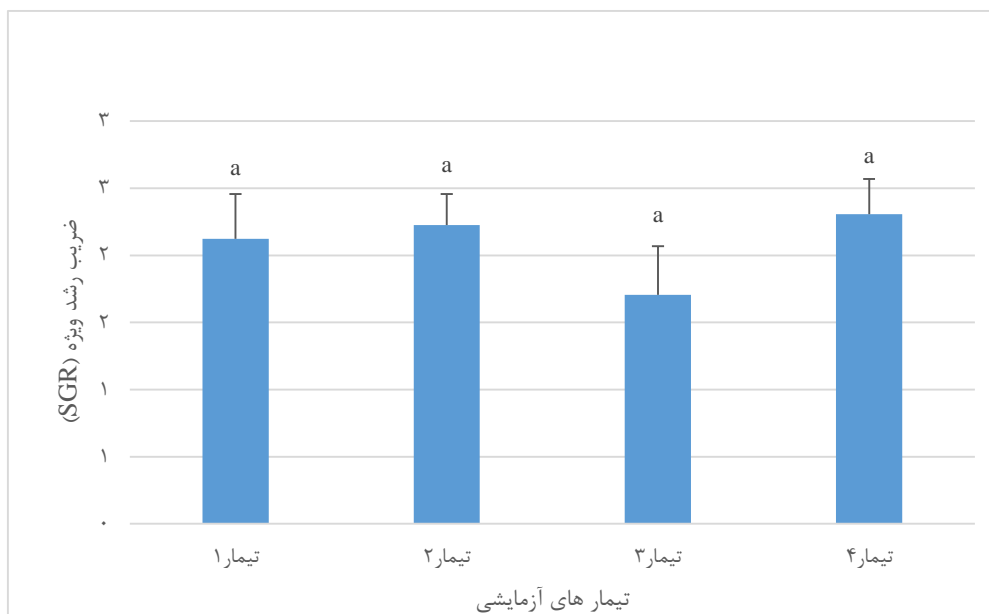
² Rotary Microtome

³ Haematoxylin and Eosin

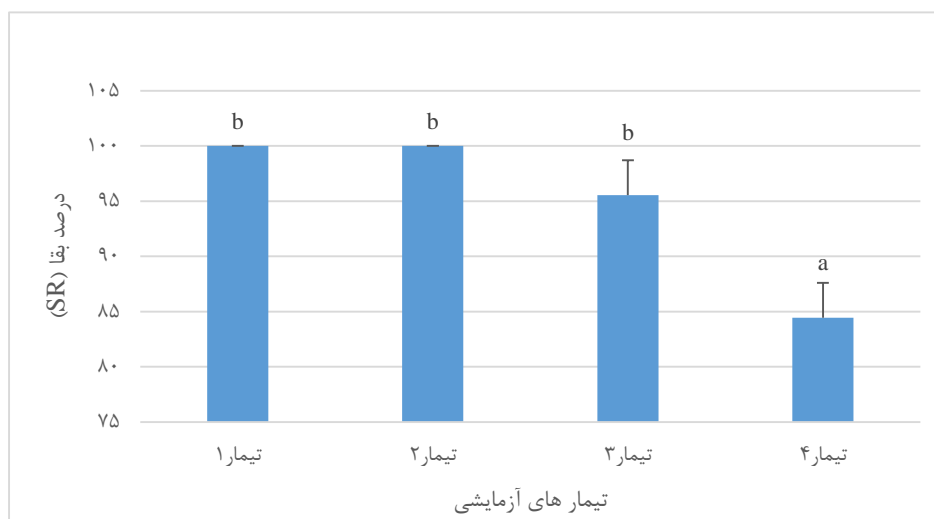
⁴ Sinusoidal distention

مشاهده شد (شکل ۲). شدت عوارض بافت کبد در جدول ۳ ارائه شده است.

گروه‌های تحت تیمار با نانوپلاستیک (غلظت ۱۰ و ۱۰۰)، اتساع سینوزوئیدها، دژنراسیون^۱ متوسط تا شدید سلول‌های کبدی (واکوئولاسیون)، مشاهده هسته^۲ پیکنوتیک^۲ و نکروز^۳ سلولی



نمودار ۱- میانگین ضریب رشد ویژه (SGR) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از مواجهه با سطوح مختلف نانوپلاستیک پلی‌استایرن. اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. حروف متفاوت روی نمودار نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار و حروف مشابه نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).



نمودار ۲- میانگین درصد بقا (SR) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بعد از مواجهه با سطوح مختلف نانوپلاستیک پلی‌استایرن. اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است. حروف متفاوت روی نمودار نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار و حروف مشابه نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

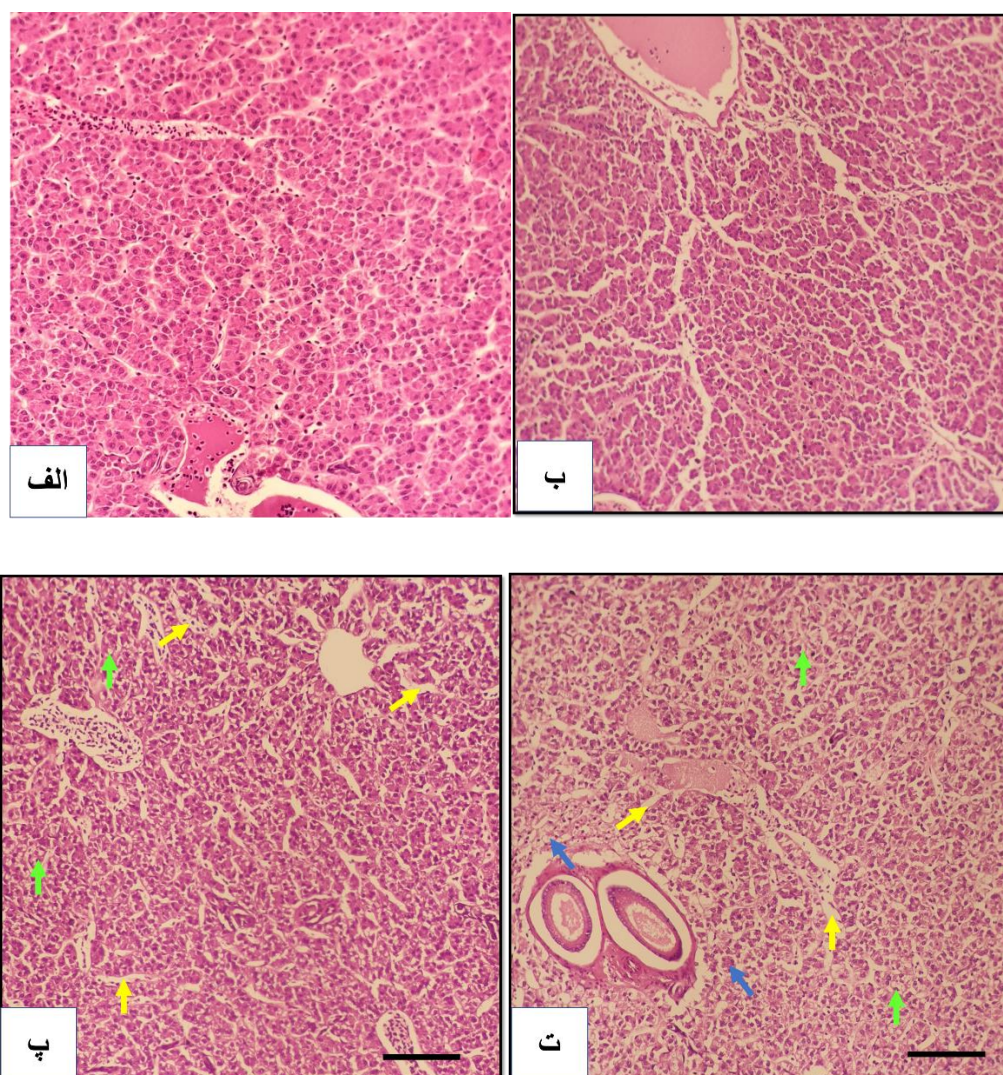
¹ Vacuolation

² Pyknotic nucleus

³ Necrosis

جدول ۲- چهار تیمار برای تعیین تأثیر غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک پلی استایرن روی برخی شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان.

میانگین \pm انحراف معیار				تیمار	شاخص‌های رشد
تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱		
(NPs) (mg/kg غذا) ۱۰۰	(NPs) (mg/kg غذا) ۱۰	(NPs) (mg/kg غذا) ۰/۱	(NPs) (mg/kg غذا) ۰		
۱۷/۲۴ \pm ۱/۰۴	۱۷/۲۴ \pm ۱/۰۴	۱۷/۲۴ \pm ۱/۰۴	۱۷/۲۴ \pm ۱/۰۴		میانگین وزن اولیه (g)
۲۶/۸۶ \pm ۱۲/۰۲	۲۲/۹۵ \pm ۲/۹۲	۲۶/۱۹ \pm ۲/۰۲	۲۵/۷۱ \pm ۲/۹		میانگین وزن نهایی (g)
۱۱/۶۵ \pm ۰/۵۶	۱۱/۶۵ \pm ۰/۵۶	۱۱/۶۵ \pm ۰/۵۶	۱۱/۶۵ \pm ۰/۵۶		میانگین طول اولیه (cm)
۱۳/۰۸ \pm ۵/۵۴	۱۳/۰۶ \pm ۵/۲۴	۱۳/۸۷ \pm ۰/۸۵	۱۳/۷۳ \pm ۰/۲۹		میانگین طول نهایی (cm)
۱۵/۷۴ \pm ۲/۳۵	۱۰/۷۱ \pm ۲/۹۲	۱۴/۹۸ \pm ۲/۰۲	۱۴/۱۴ \pm ۲/۹۸		افزایش وزن (WG) (g)
۱/۰۱ \pm ۰/۱۹	۱/۰۷ \pm ۰/۰۹	۱/۰۳ \pm ۰/۱۲	۱/۰۵ \pm ۰/۰۳		ضریب چاقی (CF)
۲/۳۰ \pm ۰/۲۶	۱/۷۰ \pm ۰/۳۶	۲/۲۲ \pm ۰/۲۲	۲/۱۲ \pm ۰/۳۳		ضریب رشد ویژه (SGR) (%)
۸۴/۴۴ \pm ۳/۱۴ ^a	۹۵/۵۵ \pm ۳/۱۴ ^b	۱۰۰ \pm ۰ ^b	۱۰۰ \pm ۰ ^b		بقاء (SR) (%)



شکل ۲- مقاطع هیستوپاتولوژیک نمونه‌های کبد برداشت شده در گروه‌های آزمایشی مختلف، فلش سبز: واکوئولاسیون، فلش زرد: اتساع سینوزوئیدی و فلش آبی: نکروز. الف: تیمار شاهد، ب: تیمار ۰، پ: تیمار ۳ و ت: تیمار ۴. رنگ آمیزی هماتوکسین و انوزین، مقیاس ۱۰۰ میکرومتر.

جدول ۳- ارزیابی نیمه کمی ضایعات ثبت شده بافت کبد، گروه‌های در معرض سطوح مختلف نانوپلاستیک پلی‌استایرن در طول مدت ۲۸ روز و گروه شاهد.

تیما	بافت کبد			
	واکوئولاسیون	نکروز	اتساع سینوزوئیدی	هسته پیکنوتیک
تیما ۱ ۰ (غذا/kg (NPs)	-	-	-	-
تیما ۲ ۰/۱ (غذا/kg (NPs)	-	-	+	-
تیما ۳ ۱۰ (غذا/kg (NPs)	+	-	++	-
تیما ۴ ۱۰۰ (غذا/kg (NPs)	++	++	++	+

*بدون تغییر (-)، تغییر خفیف (+)، تغییر متوسط (++) و تغییر شدید (+++).

۴. بحث

بودند، تغذیه نمودند. بلع نانوپلاستیک از طریق آرتیمیا تأثیری بر بقاء و رشد لارو ماهی مورد مطالعه نداشت. همچنین مطالعات دیگری نشان داد که نرخ بقاء ماهی با افزایش میزان نانوپلاستیک پلی‌استایرن در رژیم غذایی کاهش می‌یابد (Lai et al., 2021). نتایج مشابهی نیز در مطالعات مختلف (Chen et al., 2017) و (Greven et al., 2016) گزارش شده است. شواهد فزاینده‌ای وجود دارد که نانوپلاستیک‌ها ممکن است اثرات نامطلوب بالقوه‌ای بر رشد و نمو ماهی داشته باشد (Bury et al., 1995; Sun et al., 2012). در این رابطه مطالعات قبلی نشان داده‌اند که اختلالات غدد درون‌ریز تیروئید در فرزندان نسل یک ماهی گورخری ناشی از تجمع بین نسلی ایجاد شده است. نانوپلاستیک‌ها، همچنین باعث بیان غیر طبیعی ژن‌ها در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- تیروئید شده‌اند، که در نهایت منجر به مهار رشد شده است. Liu و همکاران (۲۰۱۴) دریافتند که انتقال نانوپلاستیک پلی‌استایرن از طریق والد مادری باعث کندی رشد در فرزندان نسل یک می‌شود و بیان ژن‌های بالادست و پایین‌دست محور هیپوفیز-هیپوتالاموس را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهد. این مطالعات نشان می‌دهد که نانوپلاستیک‌ها باعث ایجاد اختلال در بیان طبیعی ژن‌های مرتبط با رشد جاندار شده و اثرات نامطلوبی بر رشد ماهی گورخری دارند (Liu et al., 2014). در مطالعه دیگر بقاء ماهی *Sebastes schlegelii* در همه تیمارها ۱۰۰٪ بود. با این حال، شاخص‌های رشد ماهی پس از قرار گرفتن در معرض

محیط‌زیست جانداران و آلاینده‌های مختلف موجود در آن طی سالیان بر فیزیولوژی، رفتار و سمیت در سطح سلولی و مولکولی اثرگذار است. در دهه‌های اخیر نانوتکنولوژی، به‌عنوان یک فناوری کاربردی توسعه زیادی یافته است. بنابراین، آلودگی با نانوذرات به‌عنوان مسئله‌ای جدید و بالقوه خطرناک بین محققین مطرح شده است (Zhang et al., 2017). الگوی رشد موجودات اغلب در زیستگاه‌های مختلف به‌دلیل تغییرات غیرقابل پیش‌بینی در عوامل محیطی، متفاوت است. بررسی این تغییرات به شناخت چرخه زندگی هر موجود و وجود آلاینده‌ها در زیستگاه مختلف، کمک می‌کند. تنوع در میانگین اندازه (طول و وزن) افراد جمعیت یک گونه تحت تأثیر الگوهای مختلف بهره‌برداری و شرایط زیست‌محیطی است (Patimar et al., 2009).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که تیمارهای مختلف غذایی نانوپلاستیک پلی‌استایرن طی مدت ۲۸ روز هیچ گونه تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ندارد. اما نرخ بقاء (SR) در بالاترین غلظت نانوپلاستیک پلی‌استایرن، به‌صورت معنی‌داری پایین‌ترین میزان بقاء را میان تمام گروه‌های آزمایشی داشت. همچنین نرخ بقاء در سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. در بررسی مشابه Thorpe و Katzenberger (۲۰۱۵)، لاروهای ماهی گورخری به‌مدت ۱۴ روز با آرتیمیایی که در معرض غلظت‌های مختلف نانوپلاستیک پلی‌استایرن حاوی فلورسنت قرار گرفته

مستقیم دارد (Lu *et al.*, 2016; Deng *et al.*, 2017). اثرات مخرب و سمی ذرات پلاستیکی بیشتر زمانی ظاهر می‌شود که این ذرات از طریق بلع وارد بدن جانوران شوند (Cole *et al.*, 2011). نانوپلاستیک‌ها نیز همچون سایر مواد پس از گذر از دیواره روده و ورود به جریان خون از کبد می‌گذرد (Van der Oost *et al.*, 2003). کبد یکی از حیاتی‌ترین اندام‌ها جهت دفع سموم بدن است بنابراین در این مطالعه بافت‌شناسی کبد پس از تیمار تغذیه با نانوپلاستیک بررسی شد. آسیب‌های مشاهده شده در پژوهش حاضر شبیه به پاتولوژی مشاهده شده در کبد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) قرار گرفته در معرض ذرات پلاستیکی بود (Erkmen *et al.*, 2017). در مطالعه‌ای که توسط Rochman و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد؛ نشان دادند که ذرات پلاستیکی موجب آسیب کبدی در ماهی برنج ژاپنی (*Oryzias latipes*) به صورت واکنش‌دهنده شدن، کاهش گلیکوژن کبد و نکرور سلولی می‌شود. به صورت کلی نتایج این مطالعه نشان داد، ورود ذرات نانوپلاستیک از طریق لوله گوارش باعث کاهش معنی‌دار بقاء در بالاترین غلظت نانوپلاستیک پلی‌استایرن می‌شود. همچنین تیمار غذایی این ذرات باعث تغییر در پارامترهای بافت‌شناسی کبد در تیمار ۳ و ۴، از جمله ایجاد اتساع سینوزوئیدها، دژنراسیون متوسط تا شدید سلول‌های کبدی، مشاهده هسته پیکنوتیک و نکرور سلولی می‌شود. با این وجود در آینده تحقیقات بیشتری در مورد جنبه‌های مختلف قابلیت اثرگذاری بر اجزای مختلف سیستم ایمنی و در بافت‌های مختلف ضروری به نظر می‌رسد.

۵. تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه همکارانی که در اجرای این پروژه با کمک‌ها و زحمات بی‌دریغ خود پشتیبان ما بودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

میکروپلاستیک پلی‌استایرن به تدریج و بسته به میزان ذرات کاهش یافت. این نتایج نشان داد که برای حفظ عملکرد طبیعی بدن در محیط محتوی آلاینده‌های نانوپلاستیک، ماهی‌ها کاهش قابل توجهی در دریافت انرژی حاصل برای رشد از طریق افزایش تقاضای انرژی متابولیکی از خود نشان می‌دهند. همچنین نشان داده شده است که ذخایر انرژی در ماهیان با مصرف پلاستیک‌ها به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (Yin *et al.*, 2019).

تغییرات بافت‌شناسی در اثر محرک‌های داخلی و خارجی ایجاد می‌شود که در هر صورت در نتیجه آشفتنی در سطح مولکولی سازماندهی زیستی رخ می‌دهد. بنابراین بررسی بافت‌شناسی می‌تواند مشابه یک شاخص جامع و به صورت دقیق وضعیت سلامت ماهی و تجمع مواد آلاینده بیش از حد معمول در محیط زیست دریایی را مشخص نماید (Van der Oost *et al.*, 2003). کبد اندامی است که متابولیسم اولیه مواد غیرزیستی در آن انجام می‌شود که با تغییر در ساختار این مواد در برخی موارد سم‌زدایی می‌نماید (Rocha, 1999). اغلب تأثیر مواد آلاینده به صورت افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و آسیب‌های بافتی در کبد بروز می‌کند (Paris-Palacios *et al.*, 2000). به همین دلیل بررسی آسیب‌های بافتی کبد، شیوه‌ای دقیق و مطمئن جهت ارزیابی تأثیر آلاینده‌ها در محیط و شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. در پژوهش حاضر در کبد ماهیان تحت تیمار با نانوپلاستیک (غلظت ۱۰ و ۱۰۰)، اتساع سینوزوئیدها، دژنراسیون متوسط تا شدید سلول‌های کبدی (واکنش‌دهنده)، هسته پیکنوتیک و نکرور سلولی مشاهده شد. تغییرات هیستوپاتولوژیکی در این ماهیان وابسته به غلظت نانوپلاستیک بود و در ماهیانی که در معرض غلظت‌های بالا قرار گرفته بودند، آشکارتر بودند.

پژوهش‌های قبلی نشان از قابلیت تجمع میکروپلاستیک‌ها در بافت‌های جانوران دارند همچنین نشان داده شده است که قابلیت جذب این مواد با اندازه و شکل ذرات آن‌ها ارتباط

References

- Bury, N.R., Eddy, F.B. and Codd, G.A., 1995. The effects of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR, and ammonia on growth rate and ionic regulation of brown trout. *Journal of Fish Biology* 46(6), 1042-1054. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1995.tb01408.x

۶. منابع

- Chen, Q., Gundlach, M., Yang, S., Jiang, J., Velki, M., Yin, D. and Hollert, H., 2017. Quantitative investigation of the mechanisms of microplastics and nanoplastics toward zebrafish larvae locomotor activity. *Science of The Total Environment* 584, 1022-1031. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.01.156
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S., 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Marine Pollution Bulletin* 62(12), 2588-2597. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2011.09.025
- Deng, Y., Zhang, Y., Lemos, B. and Ren, H., 2017. Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. *Scientific Reports* 7(1), 1-10. DOI: 10.1038/srep46687
- Ding, J., Huang, Y., Liu, S., Zhang, S., Zou, H., Wang, Z., Zhu, W., Geng, J., 2020. Toxicological effects of nano-and micro-polystyrene plastics on red tilapia: Are larger plastic particles more harmless? *Journal of Hazardous Materials* 396, 122693. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122693.
- Erkmen, B., Karasu Benli, A.Ç., Ağuş, H.H., Yıldırım, Z., Mert, R., Erkoç, F., 2017. Impact of sublethal di-n-butyl phthalate on the aquaculture fish species Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): histopathology and oxidative stress assessment. *Aquaculture Research* 48(2), 675-685. DOI: 10.1111/are.12914
- Gigault, J., Ter Halle, A., Baudrimont, M., Pascal, P.Y., Gauffre, F., Phi, T.L., El Hadri, H., Grassl, B., Reynaud, S., 2018. Current opinion: what is a nanoplastic? *Environmental pollution*, 235, 1030-1034. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.01.024
- Greven, A.C., Merk, T., Karagöz, F., Mohr, K., Klapper, M., Jovanović, B., Palić, D., 2016. Polycarbonate and polystyrene nanoplastic particles act as stressors to the innate immune system of fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 35(12), 3093-3100. DOI: 10.1002/etc.3501
- Han, Y., Lian, F., Xiao, Z., Gu, S., Cao, X., Wang, Z., Xing, B., 2021. Potential toxicity of nanoplastics to fish and aquatic invertebrates: Current understanding, mechanistic interpretation, and meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials* 42, 127870. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127870
- Johari, S.A., Kalbassi, M.R., Soltani, M., Yu, I.J., 2013. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Science* 12(1), 76-95. DOI: 10.22092/ijfs.2018.114262
- Katzenberger, T.D., Thorpe, K.L., 2015. Assessing the impact of exposure to microplastics in fish: Evidence Report-SC120056. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/411982/Assessing_the_impact_of_exposure_to_microplastics_in_fish_report.pdf.
- Lai, W., Xu, D., Li, J., Wang, Z., Ding, Y., Wang, X., Li, X., Xu, N., Mai, K., Ai, Q., 2021. Dietary polystyrene nanoplastics exposure alters liver lipid metabolism and muscle nutritional quality in carnivorous marine fish large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Journal of Hazardous Materials* 419, 126454. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.126454
- Liu, W., Qiao, Q., Chen, Y., Wu, K., Zhang, X., 2014. Microcystin-LR exposure to adult zebrafish (*Danio rerio*) leads to growth inhibition and immune dysfunction in F1 offspring, a parental transmission effect of toxicity. *Aquatic Toxicology* 155, 360-367. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.07.011
- Lu, Y., Zhang, Y., Deng, Y., Jiang, W., Zhao, Y., Geng, J., Ding, L., Ren, H., 2016. Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. *Environmental Science & Technology* 50(7), 4054-4060. DOI: 10.1021/acs.est.6b00183
- Matthews, S., Mai, L., Jeong, C.B., Lee, J.S., Zeng, E.Y., Xu, E.G., 2021. Key mechanisms of micro- and nanoplastic (MNP) toxicity across taxonomic groups. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 247, 109056. DOI: 10.1016/j.cbpc.2021.109056

- Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S., Vernet, G., 2000. Biochemical and (ultra) structural hepatic perturbations of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sublethal concentrations of copper sulfate. *Aquatic Toxicology* 50(1-2), 109-124. DOI: 10.1016/S0166-445X(99)00090-9
- Patimar, R., Adineh, H. and Mahdavi, M.J., 2009. Life history of the Western crested loach *Paracobitis malapterura* in the Zarrin-Gol River, East of the Elburz mountains (Northern Iran). *Biologia* 64(2), 350-355. DOI: 10.2478/s11756-009-0052-4
- Prust, M., Meijer, J., Westerink, R.H., 2020. The plastic brain: neurotoxicity of micro-and nanoplastics. *Particle and Fibre Toxicology* 17(1), 1-16. DOI: 10.1186%2Fs12989-020-00358-y
- Ramsden, C.S., Smith, T.J., Shaw, B.J., Handy, R.D., 2009. Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): no effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. *Ecotoxicology* 18(7), 939-951. DOI: 10.1007/s10646-009-0357-7
- Reynaud, S., Aynard, A., Grassl, B. and Gigault, J., 2022. Nanoplastics: From model materials to colloidal fate. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 57, 101528. DOI: 10.1016/j.cocis.2021.101528
- Rocha, E., 1999. Histology and cytology of fish liver: a review. *Ichthyology: Recent research advances*, pp. 321-344.
- Rochman, C.M., Kurobe, T., Flores, I., Teh, S.J., 2014. Early warning signs of endocrine disruption in adult fish from the ingestion of polyethylene with and without sorbed chemical pollutants from the marine environment. *Science of The Total Environment*, 493, 656-661. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.051
- Sharifuzzaman, S.M., Al-Harbi, A.H. and Austin, B., 2014. Characteristics of growth, digestive system functionality, and stress factors of rainbow trout fed probiotics *Kocuria* SM1 and *Rhodococcus* SM2. *Aquaculture* 418, 55-61. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.10.006
- Shohani, N., Pourmahdian, S., Hadavand, B.S., 2017, November. Response surface methodology for design of porous hollow sphere thermal insulator. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (269(1), 012073). IOP Publishing.
- Sun, H., Lü, K., Minter, E.J., Chen, Y., Yang, Z. and Montagnes, D.J., 2012. Combined effects of ammonia and microcystin on survival, growth, antioxidant responses, and lipid peroxidation of bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis* larvae. *Journal of Hazardous Materials* 221, 213-219. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.04.036
- Thiagarajan, V., Pavani, M., Archanaa, S., Seenivasan, R., Chandrasekaran, N., Suraishkumar, G.K., Mukherjee, A., 2019. Diminishing bioavailability and toxicity of P25 TiO₂ NPs during continuous exposure to marine algae *Chlorella* Sp. *Chemosphere* 233, 363-372. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.05.270
- Van der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13(2), 57-149. DOI: 10.1016/S1382-6689(02)00126-6
- Xu, K., Ai, W., Wang, Q., Tian, L., Liu, D., Zhuang, Z., Wang, J., 2022. Toxicological effects of nanoplastics and phenanthrene to zebrafish (*Danio rerio*). *Gondwana Research* 108, 127-132. DOI: 10.1016/j.gr.2021.05.012
- Yin, K., Wang, Y., Zhao, H., Wang, D., Guo, M., Mu, M., Liu, Y., Nie, X., Li, B., Li, J., Xing, M., 2021. A comparative review of microplastics and nanoplastics: toxicity hazards on digestive, reproductive and nervous system. *Science of The Total Environment* 774, 145758. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.145758
- Yin, L., Liu, H., Cui, H., Chen, B., Li, L. and Wu, F., 2019. Impacts of polystyrene microplastics on the behavior and metabolism in a marine demersal teleost, black rockfish (*Sebastes schlegelii*). *Journal of Hazardous Materials* 380, 120861. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120861

- Zhang, K., Xiong, X., Hu, H., Wu, C., Bi, Y., Wu, Y., Zhou, B., Lam, P.K., Liu, J., 2017. Occurrence and characteristics of microplastic pollution in Xiangxi Bay of Three Gorges Reservoir, China. *Environmental Science & Technology* 51(7), 3794-3801. DOI: 10.1021/acs.est.7b00369
- Zhang, R., Silic, M.R., Schaber, A., Wasel, O., Freeman, J.L., Sepúlveda, M.S., 2020. Exposure route affects the distribution and toxicity of polystyrene nanoplastics in zebrafish. *Science of The Total Environment* 724, 138065. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138065