

## بررسی اثرات میکرو و نانوپلاستیک پلی استایرن بر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)

عرفان سلمرودی<sup>۱</sup>، کامران رضایی توابع<sup>۱\*</sup>، غلامرضا رفیعی<sup>۱</sup>، محمود محسنی<sup>۲</sup>، بهزاد شیرکوند<sup>۳</sup>  
هداوند<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.  
<sup>۲</sup>انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

<sup>۳</sup>گروه رزین و مواد افزودنی، پژوهشکده علوم رنگ و تکنولوژی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۹

### چکیده

وجود گسترده میکرو و نانوپلاستیک‌ها (MPs/NPs) در اکوسیستم‌های آبی، نگرانی‌های بسیار زیادی در مورد اثرات بالقوه آنها بر موجودات آبزی ایجاد کرده است. با این حال، اثرات MPs/NPs بر ماهیان همچنان بحث‌برانگیز است و درک جامعی در مورد چگونگی تأثیر آنها بر اساس طرح‌های آزمایشی وجود ندارد. در این تحقیق ماهی ازون‌برون با میانگین وزنی  $131 \pm 5/47$  گرم در معرض ۳ اندازه از میکروپلاستیک (با میانگین اندازه ۱۰-۱۰۰ میکرومتر) و نانوپلاستیک (با میانگین اندازه‌های ۱۰۰-۲۰۰ و ۵۰-۱۰۰ نانومتر) به همراه گروه شاهد قرار گرفت. پس از گذشت ۴۵ روز و در پایان دوره آزمایش، با کاهش اندازه پلاستیک از میکرو به نانو شاخص‌های رشد از جمله وزن نهایی کاهش و ضریب تبدیل غذایی افزایش معنی‌داری را در بین تیمارها و همچنین در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند ( $P < 0/05$ ) ولی در شاخص بازماندگی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ). در شاخص‌های خونی نیز اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول قرمز (RBC)، هموگلوبین (HB)، هماتوکریت (HCT)، حجم متوسط گلبولی (MCV) و نوتروفیل ثبت شد ( $P < 0/05$ ). در مجموع با توجه به نتایج این پژوهش افزودن میکروپلاستیک باعث کاهش شاخص‌های رشد از جمله وزن نهایی نسبت به گروه شاهد در ماهی ازون‌برون شد در حالی که افزودن نانوپلاستیک در اندازه‌های ۱۰۰-۲۰۰ و ۵۰-۱۰۰ نانومتر باعث ایجاد تغییرات محسوس‌تری هم در شاخص‌های رشد و هم در شاخص‌های خونی ماهی شد و نیاز به مطالعات جامعی در مورد شکل، اندازه و مواد افزودنی آزاد شده از میکرو و نانوپلاستیک‌ها می‌باشد.

**کلید واژگان:** میکروپلاستیک، نانوپلاستیک، شاخص رشد، خون‌شناسی، ازون‌برون

## مقدمه

محصولات پلاستیکی به طور مداوم در حال افزایش هستند، به طوری که تولید جهانی پلاستیک از ۱/۷ میلیون تن در سال ۱۹۵۰ به ۳۵۹/۱ میلیون تن در سال ۲۰۲۰ رشد چشمگیری داشته است. بنابراین نیاز به توجه فوری برای کاهش خطرات اکولوژیک و زیست محیطی دارند (Plastics Europe, 2022). دفع نادرست زباله های پلاستیکی منجر به تخلیه مقادیر قابل توجهی از این مواد در محیط های آبی می شود (Pabortsava and Lampitt 2020; Nava et al., 2023) و در ادامه می توانند تکه تکه شوند و به ذرات با اندازه های کوچکتر تجزیه شوند که به عنوان میکروپلاستیک (کمتر از ۵ میلی متر) و نانوپلاستیک (کمتر از ۱۰۰۰ نانومتر) شناخته می شوند (Hartmann et al., 2019). هر دو اندازه ذرات پلاستیکی به راحتی توسط موجودات آبی جذب می شوند و در نهایت باعث ایجاد اثرات سمی مختلف می شوند (Brun et al., 2019; Liu et al., 2019; Pelegrini et al., 2023; Liu et al., 2023). پرکاربردترین پلیمرها در پلاستیک ها عمدتاً پلی استایرن (PS)، پلی اتیلن (PE)، پلی پروپیلن، پلی وینیل کلراید (PVC) و پلی اتیلن ترفتالات هستند.

میکروپلاستیک ها و نانوپلاستیک ها به دلیل اندازه کوچکشان می توانند (مستقیماً یا از طریق زنجیره غذایی) توسط ماهی ها بلعیده شوند. ذرات پلاستیکی پس از ورود به بدن، عمدتاً در دستگاه گوارش تجمع یافته و به سیستم گردش خون یا بافت های مجاور منتقل می شوند (Lusher et al., 2017) و می توانند برای مدت طولانی در بدن موجود زنده باقی بمانند (Murray and Cowie, 2011; Van Cauwenberghe and Janssen, 2014; Duis and Coors, 2016). مطالعات همچنین نشان داده اند که نانوذرات می توانند در مراحل مختلف رشد، ماهی ها را تحت تأثیر منفی قرار دهند و منجر به تجمع بافت و تأثیر بر فعالیت حرکتی و جستجوی غذا، رشد، ایمنی و متابولیسم لیپید شوند (Ferreira et al., 2019; Barría et al., 2020; Pedersen et al., 2020). اثرات مضر ناشی از میکروپلاستیک ها می تواند به دلیل افزودنی ها و مواد شیمیایی مورد استفاده در طول تولید یا استفاده از آلاینده های جذب شده از محیط باشد (Teuten et al., 2009; Hahladakis et al., 2018; Barboza et al., 2020).

در مطالعه (Lee et al., 2023)، ماهی *Pseudobagrus fulvidraco* در معرض میکروپلاستیک پلی اتیلن در غلظت های کنترل (۰ میلی گرم در لیتر)، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفت. با توجه به نتایج پارامترهای خون شناسی مانند گلبول قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Ht) در غلظت بیش از ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر به طور قابل توجهی کاهش یافتند. نتایج این مطالعه نشان می دهد که قرار گرفتن حاد در معرض پلی اتیلن، تمام تغییرات فیزیولوژیکی را به صورت وابسته به غلظت القا می کند و بر پارامترهای خونی، اجزای پلاسما و پاسخ آنتی اکسیدانی *P. fulvidraco* نوجوان پس از تجمع در بافت های خاص، تأثیر می گذارد (Lee et al., 2023).

در میان ۱۱۰ گونه از ماهیان دریای خزر، از جمله گونه های مهم ماهیان خاویاری شامل ماهیان خاویاری ایرانی (*Acipenser persicus*)، خاویاری روسی (*Acipenser gueldenstaedti*)، خاویاری ستاره ای (ازون برون) (*Acipenser stellatus*)، خاویاری شیپ (*Acipenser nudiventris*) و فیل ماهی بلوگا (*Huso huso*) می باشند (Eagderi et al., 2022). ماهیان خاویاری به دلیل تقاضای بالا برای تخم آنها، با ارزش ترین گونه ماهی هستند و صید آنها از نظر تاریخی مهم ترین صید در دریای خزر بوده است. صید بی رویه و آلودگی اکوسیستم، جمعیت ماهیان خاویاری را به شدت تحت تأثیر قرار داده است به طوری که این پنج گونه ماهیان خاویاری در دریای خزر توسط اتحادیه بین المللی حفاظت از طبیعت (IUCN, 2022) به عنوان «گونه های بحرانی در خطر انقراض» طبقه بندی شده اند. همچنین نگرانی فزاینده ای در مورد اثرات میکرو و نانوپلاستیک ها بر موجودات دریایی وجود دارد. مطالعات نشان داده است که تولیدات شیلاتی ممکن است تحت تأثیر وجود زباله های پلاستیکی در محیط دریایی قرار گیرد و منجر به کاهش طول عمر ماهی ها شود (Mendenhall, 2018; Gu et al., 2020). ماهیان خاویاری در بستر دریا زندگی می کنند و عادات غذایی آنها، بر اساس مصرف موجودات کفزی موجود در رسوبات، خطر قرار گرفتن در معرض بسیاری از آلاینده ها را افزایش می دهد (Peterson et al., 2006; Poorbagher et al., 2017). علاوه بر این، این گونه از ماهیان معمولاً بین ۵۰ تا ۷۵ سال عمر می کنند

انجام آزمایش انتخاب شد و در معرض میکرو و نانوپلاستیک قرار داده شدند تا شاخص‌های رشدی و خونی ماهی مورد ارزیابی قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

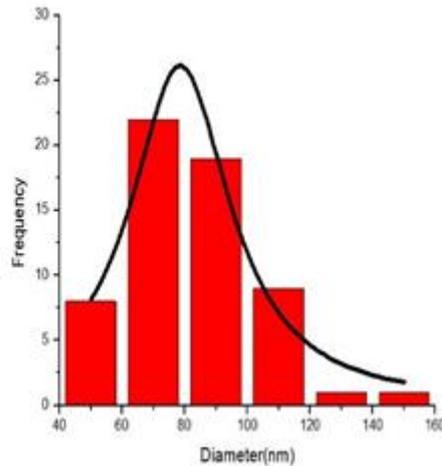
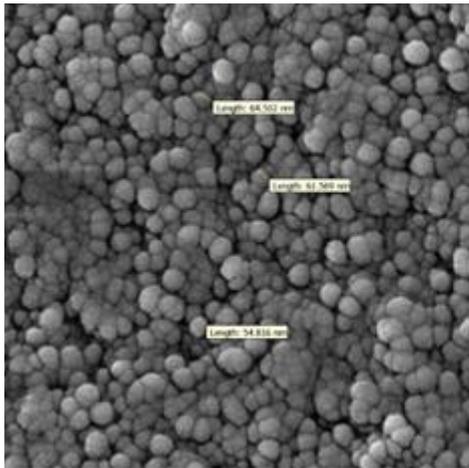
**تهیه ماهی:** در این پژوهش ماهی ازون‌برون با میانگین وزنی  $131 \pm 5/47$  گرم تهیه و پس از بررسی ظاهری و اطمینان از سلامت ماهی‌ها به تانک‌های آزمایشی با حجم آبیگری ۵۰۰ لیتر منتقل شدند. کنترل هوادهی، شوری و دما به صورت روزانه و اسیدیته (pH) به صورت هفتگی مورد ارزیابی قرار گرفتند. ماهیان در ۳ نوبت (۸:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۸:۰۰) براساس نیاز ماهی و تیمار بندی آزمایش به شرح زیر به مدت ۴۵ روز تغذیه شدند:

- تیمار شاهد: بدون افزودن میکرو یا نانوپلاستیک به جیره
- تیمار ۱: افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم میکرو پلاستیک پلی‌استایرن (با میانگین اندازه ۱۰-۱ میکرومتر) در هر کیلوگرم جیره غذای ماهی
- تیمار ۲: افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم نانوپلاستیک پلی‌استایرن (با میانگین اندازه حدود ۲۰۰-۱۰۰ نانومتر) در هر کیلوگرم جیره غذای ماهی
- تیمار ۳: افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم نانوپلاستیک پلی‌استایرن (با میانگین اندازه حدود ۵۰-۱۰۰ نانومتر) در هر کیلوگرم جیره غذای ماهی

**تهیه میکرو و نانوپلاستیک و افزودن آنها به جیره ماهی:** پلی‌استایرن به عنوان ماده مورد استفاده در آزمایش حاضر انتخاب شدند زیرا یکی از رایج‌ترین انواع مواد پلاستیکی آلوده‌کننده آب‌ها هستند (Nugnes *et al.*, 2022). ذرات پلی‌استایرن با میانگین اندازه ۱۰-۱ میکرومتر، ۲۰۰-۱۰۰ نانومتر و ۵۰-۱۰۰ نانومتر از طریق پلیمریزاسیون امولسیون و تعلیقی، مطابق با روش ارائه شده در تحقیقات قبلی ساخته شدند (Shohani *et al.*, 2017). جهت بررسی اندازه میکرو و نانوپلاستیک پلی‌استایرن توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM = Scanning Electron Microscope) عکسبرداری صورت گرفت (شکل ۱). غلظت میکرو و نانوپلاستیک استفاده شده در این تحقیق با توجه به تعیین محدوده  $LC_{50}$  (Lethal Concentration) 50% پس از اعمال غلظت‌های مختلف و با توجه به

(Doroshov, 2019)، به طوری که برای مدت طولانی در معرض آلاینده‌ها قرار دارند و بنابراین می‌توانند به عنوان شاخص‌های زیستی دقیق آلودگی مورد استفاده قرار گیرند. هموستاز ماهی در اثر قرار گرفتن در معرض مواد آلاینده و مواد مختلف (از جمله میکرو و نانو پلاستیک‌ها) تغییر می‌کند و باعث ایجاد مجموعه‌ای از مکانیسم‌های محافظتی مانند تغییرات در پارامترهای خون می‌شود (McCarthy and Shugart, 2018; Sayed and Soliman, 2018). در سال‌های اخیر، بررسی پارامترهای خونی در ماهیان از اهمیت قابل توجهی برخوردار شده و نه تنها در آبی‌پروری، بلکه در ارزیابی ماهیان به عنوان موجوداتی حساس به بار آلاینده‌های انسانی نیز مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در ماهیان، پارامترهای خونی و خونی-شیمیایی، شاخص‌های آزمایشگاهی مهمی هستند که علاوه بر تشخیص بسیاری از بیماری‌ها، برای ارزیابی وضعیت سلامت، وضعیت فیزیولوژیکی ماهی، شرایط غذایی و کیفیت آبی که در آن زندگی می‌کنند، مفید هستند (Fazio *et al.*, 2012; Fazio *et al.*, 2019).

در چند سال گذشته، افزایش قابل توجهی در مطالعات تجربی به امید دستیابی به درک بهتر از تأثیر میکرو و نانوپلاستیک‌ها (MP/NPs) بر موجودات مختلف از جمله ماهیان صورت گرفته است. سمیت نانوذرات در محیط‌های آبی تحت تأثیر دو عامل اصلی قرار دارد: غلظت نانوذرات و اندازه ذرات آنها (Franzellitti *et al.*, 2019). اندازه ذرات یک عامل حیاتی مؤثر بر آسیب نانوذرات به گونه‌های آبی است، به طوری که اندازه‌های مختلف اثرات سمی متفاوتی را اعمال می‌کنند، همان‌طور که در ماهی زبرا (*D. rerio*) (Chen *et al.*, 2017)، دافنی ماگنا (Pashaei *et al.*, 2023) مشاهده شده است. بنابراین، هنگام بررسی تأثیر نانوذرات بر زندگی آبزیان، لازم است هم غلظت و هم اندازه نانوذرات در نظر گرفته شود. چنین ملاحظاتی درک جامع‌تری از خطرات بالقوه ناشی از این آلاینده‌ها ارائه می‌دهد. فعالیت‌هایی که تاکنون صورت گرفته نشان می‌دهد که ارزیابی تأثیر ذرات معلق در زیستگاه‌های آبی باید در مقیاس انبوه و در گونه‌های مختلف ماهی انجام شود تا تصویر روشنی از این خطر به دست آید. در این تحقیق با توجه به موارد ذکر شده و به دلیل دارا بودن ارزش اکولوژیک و اقتصادی بالای ماهیان خاویاری، ماهی ازون‌برون جهت



شکل ۱- تصویر SEM از پلی استایرن و نمودار هیستوگرام توزیع اندازه ذرات

۱۰۰ × (تعداد اولیه ماهیان) / (تعداد نهایی ماهیان - تعداد اولیه ماهیان): شاخص بازماندگی (درصد)

**خونگیری و خون شناسی:** از هر تیمار به صورت تصادفی ۲ ماهی انتخاب و با عصاره گل میخک بیهوش شدند. بار اول حدود ۳ تا ۴ میلی لیتر خون از ناحیه ساقه دمی توسط سرنگ پیستون دار فاقد ماده ضد انعقاد استفاده شد. برای خون گیری بار دوم حدود ۲ میلی لیتر خون از ماهیان توسط سرنگ آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین جهت شمارش گلبولی گرفته شد. نمونه های خون اخذ شده بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و گلبول قرمز توسط محلول Lewis و لام ثوبار، گلبول سفید توسط محلول Lewis در ۰/۱ گرم و لام ثوبار، گلبول ملانژور لام ثوبار، Brilliant crystal blue) به کمک ملانژور لام ثوبار، هموگلوبین با واحد گرم در دسی لیتر با استفاده از محلول درابکین (سیانومت هموگلوبین) در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد، هماتوکریت با سانتریفیوژ Nuve با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه اندازه گیری شد و همچنین تشخیص افتراقی با رنگ آمیزی گیمسا انجام گردید.

**تجزیه و تحلیل آماری داده ها:** نرمال بودن داده های از طریق آزمون شاپیرو-ویلک مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس توسط آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA بررسی شد. از آزمون چند دامنه ای دانکن جهت تعیین سطح معنی داری در بین میانگین ها ( $P < 0.05$ ) استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ استفاده گردید.

مطالعات گذشته انتخاب شد (Lai et al., 2021; Xu et al., 2022).

جهت آماده سازی جیره های حاوی میکرو و نانوپلاستیک ابتدا غذای تجاری تهیه شده و سپس امولسیون های میکرو و نانوپلاستیک تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک با طول موج ۲۰ کیلو هرتز و توان ۱۳۰ وات سونیک شدند (Thiagarajan et al., 2019; Lai et al., 2021). پس از رقیق سازی با آب دیونیزه، برای جلوگیری از جدا شدن میکرو و نانوپلاستیک از غذا محلول ژلاتین گاوی ۱۰ درصد (Ramsden et al., 2009) بر روی غذا اسپری شد.

**سنجش شاخص های رشد ماهی:** در پایان دوره و پس از ۲۴ ساعت قطع غذاهای، جهت آرام سازی ماهی ها برای بررسی شاخص های رشد به مدت ۵ دقیقه در آب حاوی ۲۰۰ میلی گرم در لیتر پودر گل میخک قرار گرفتند. از هر تیمار ۳ عدد ماهی به صورت تصادفی انتخاب و طول و وزن ماهیان ثبت شد. جهت ارزیابی شاخص های رشد و بقاء از رابطه های زیر استفاده شد (Lee et al., 2012):

$100 \times (\text{میانگین وزن اولیه}) / (\text{میانگین وزن نهایی} - \text{میانگین وزن اولیه})$ : درصد افزایش وزن (گرم)

تعداد روز های طول دوره / (لگاریتم وزن نهایی - لگاریتم وزن اولیه): ضریب رشد ویژه (درصد)

(طول ماهی) / (۱۰۰ × وزن ماهی): شاخص وضعیت گرم افزایش وزن ماهی در طول دوره / گرم غذای خورده شده توسط ماهی: ضریب تبدیل غذایی

## نتایج

**عملکرد رشد و بقای ماهی:** با توجه به جدول ۱ شاخص‌های رشد از جمله وزن نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی تغییرات معنی‌داری را در بین تیمارها و همچنین در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان وزن نهایی در تیمار شاهد و کمترین میزان در تیمار دو به ثبت رسید ( $P < 0.05$ ). میزان شاخص بازماندگی نیز در تیمار دو و سه در مقایسه با سایر تیمارها پایین‌تر ولی فاقد تفاوت معنی‌دار بود ( $P \geq 0.05$ ). در بررسی اکثر شاخص‌های رشد اختلاف معنی‌داری بین تیمار دو و سه مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ ) اما در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار یک دارای اختلاف معنی‌دار بودند ( $P < 0.05$ ).

**بررسی تغییرات شاخص‌های خونی:** با توجه به جدول ۲ تغییرات شاخص‌های خونی اختلاف معنی‌دار در تیمارها مشاهده می‌شود. میزان گلبول قرمز (RBC) و هموگلوبین (HB) در تیمار دو و سه نسبت به تیمار یک و شاهد کاهش معنی‌داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بیشترین میزان MCV (حجم متوسط گلبولی) و کمترین میزان هماتوکریت (HCT) و MCHC (میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز) در تیمار سه به ثبت رسید ( $P < 0.05$ ). در شاخص MCH (میانگین هموگلوبین گلبول‌های قرمز) بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P \geq 0.05$ ). بیشترین میزان گلبول سفید (WBC) و نوتروفیل در تیمار سه بود ( $P < 0.05$ ). همچنین تفاوت معنی‌داری در درصد لنفوسیت در میان تیمارها مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ ).

## بحث

بلع پلاستیک‌ها عمدتاً به دلیل رنگ جذاب، چگالی کم، خاصیت شناوری و شباهت آنها به غذا است (Güven et al., 2018; Jovanović et al., 2017). زباله‌های پلاستیکی به دلیل ترکیبات شیمیایی جذب شده روی سطوح پلاستیکی، مانند دی‌متیل سولفید (DMS) و دی‌متیل سولفونوپروپیونات (DMSP) از نظر شیمیایی برای ماهی‌ها جذاب هستند (Savoca et al., 2016, 2017). در تحقیق حاضر شاخص‌های رشد (از جمله وزن نهایی و درصد افزایش وزن) ماهی ازون‌برون در گروه‌های میکروپلاستیک و نانوپلاستیک در مقایسه با گروه شاهد به‌طور قابل توجهی

کاهش یافت (جدول ۱)، که نشان می‌دهد هم میکروپلاستیک و هم نانوپلاستیک پلی‌استایرن می‌توانند به‌طور قابل توجهی مانع رشد ماهی ازون‌برون شوند. براساس مطالعات، ذرات پلاستیکی می‌توانند در روده ماهی جمع شوند و در معرض ذرات، سمیت روده‌ای ایجاد کنند (Chen et al., 2018; Qiao et al., 2019; Feng et al., 2019). که نشان می‌دهد ذرات می‌توانند از طریق سیستم گوارش وارد بدن ماهی می‌شوند. در تحقیقی (Liu et al., 2022) مشخص شد که مکمل غذایی حاوی ذرات میکرو و نانوپلاستیک پلی‌استایرن به‌طور قابل توجهی وزن نهایی و نرخ رشد ویژه خیار دریایی را کاهش می‌دهد. همچنین ممانعت از رشد پس از قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک در لاروهای *Cyprinus carpio var* مشاهده شد (Xia et al., 2020). میزان مصرف غذا در گروه نانوپلاستیک با اندازه ۵۰-۱۰۰ نانومتر به‌طور قابل توجهی کمتر از گروه میکروپلاستیک با اندازه ۱۰-۱۰۰ میکرومتر بود، که احتمالاً ناشی از آسیب‌های شدیدتر عملکرد گوارشی (فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ظرفیت جذب مواد مغذی) بوده و این کاهش ممکن است مسئول کاهش رشد باشد. با این حال، در مطالعه دیگر میکروذرات پلی‌وینیل کلراید با اندازه ۴۰ تا ۱۵۰ میکرومتر در رژیم غذایی با غلظت ۱۰۰ یا ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بر عملکرد رشد ماهی شانک سرطالی *Sparus aurata* تأثیری نداشت. علت تفاوت نتایج در مطالعه Espinosa و همکاران (۲۰۱۷) با نتایج تحقیق حاضر را می‌توان به تفاوت در پتانسیل هضم در گونه‌های ماهیان نسبت داد. پلاستیک‌ها می‌توانند به روده‌ها آسیب برسانند و در نتیجه بر هضم، جذب و متابولیسم تأثیر بگذارند و منجر به سوء تغذیه، کاهش ایمنی و عملکرد دفاعی، افزایش ورود عوامل بیماری‌زا و بیماری و مرگ بالقوه شوند (Gu et al., 2020; Li et al., 2022). آزمایش حاضر تأثیر معنی‌داری از تغذیه با میکروپلاستیک بر بقای ماهی ازون‌برون نشان نداد. مطابق با نتایج این تحقیق، در مطالعات دیگر نیز هیچ‌گونه مرگ و میر در ماهی سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*)، ماهی زبرا (*Danio rerio*) و ماهی مداکای ژاپنی (*Oryzias latipes*) که در معرض میکروپلاستیک قرار گرفته بودند، گزارش نشد (Peda et al., 2016; Assas et al., 2020; Lei et al., 2021).

جدول ۱- بررسی تغییرات شاخص های رشد ماهی ازون برون در طول دوره آزمایش در بین تیمارهای مختلف

تیمار	طول اولیه (سانتی متر)	وزن اولیه (گرم)	طول نهایی (سانتی متر)	وزن نهایی (گرم)	درصد افزایش وزن	ضریب رشد ویژه	شاخص وضعیت (CF)	ضریب تبدیل غذایی	بازماندگی (درصد)
تیمار شاهد	۴۳/۳±۰/۵۷	۱۳۲±۲/۷۳	۴۸/۸±۰/۹۷ <sup>a</sup>	۱۸۴±۷/۴۱ <sup>a</sup>	۳۹/۴۳±۵/۸۸ <sup>a</sup>	۰/۲۴±۰/۰۳۲ <sup>a</sup>	۰/۱۶۷۳±۰/۰۰۹ <sup>a</sup>	۱/۵۸±۰/۲۶ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>
تیمار ۱	۴۲/۹±۰/۷۴	۱۳۱±۴/۱۸	۴۵/۸±۱/۷۸ <sup>b</sup>	۱۶۷±۲/۷۳ <sup>b</sup>	۲۷/۵۶±۳/۹۲ <sup>b</sup>	۰/۱۷±۰/۰۱۹ <sup>b</sup>	۰/۱۸۲۷±۰/۰۲۶ <sup>ab</sup>	۲/۲۷±۰/۲۷ <sup>b</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>
تیمار ۲	۴۳±۰/۷۹	۱۳۲±۵/۷	۴۳/۹±۰/۸۲ <sup>c</sup>	۱۵۸±۵/۷ <sup>c</sup>	۱۹/۷۳±۲/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۱۳±۰/۰۱۲ <sup>c</sup>	۰/۱۸۹۲±۰/۰۰۹ <sup>b</sup>	۳/۱۳±۰/۲۴ <sup>c</sup>	۹۳/۳۳±۱۱/۵۴ <sup>a</sup>
تیمار ۳	۴۳±۰/۳۵	۱۳۱±۵/۴۷	۴۴/۱±۰/۷۴ <sup>c</sup>	۱۶۱±۴/۱۸ <sup>bc</sup>	۲۳/۰۵±۵/۵۱ <sup>bc</sup>	۰/۱۵±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۱۸۹۰±۰/۰۰۷ <sup>b</sup>	۲/۷۸±۰/۵ <sup>c</sup>	۹۳/۳۳±۱۱/۵۴ <sup>a</sup>

جدول ۲- بررسی تغییرات شاخص های خونی ماهی ازون برون در طول دوره آزمایش در بین تیمارهای مختلف

شاخص	تیمار	گلبول قرمز (RBC) mm <sup>3</sup> ×10 <sup>3</sup>	هموگلوبین (HB) g/dL	هماتوکریت (HCT) %	حجم متوسط گلبولی (MCV) fL	میانگین هموگلوبین گلبول های قرمز (MCH) pg	میانگین غلظت هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC) g/dL	گلبول سفید (WBC) mm <sup>3</sup> ×10 <sup>3</sup>	نوتروفیل %	لنفوسیت %
تیمار شاهد	۱۰۹۳/۳۳±۱۵/۲۷ <sup>a</sup>	۷/۴۵۳۳±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۳۱/۸۳±۱/۴۵ <sup>a</sup>	۲۹۹±۱/۷۳ <sup>a</sup>	۶۶/۹۳±۰/۷۶ <sup>a</sup>	۲۲/۳۱±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۱۰/۸۶±۰/۴۷ <sup>a</sup>	۱۶±۱/۷۳ <sup>a</sup>	۷۹/۳۳±۲/۵۱ <sup>a</sup>	
تیمار ۱	۱۰۷۶/۶۶±۲۵/۱۶ <sup>a</sup>	۷/۳۲±۰/۱۷ <sup>a</sup>	۳۱/۱۶±۱/۴۱ <sup>ab</sup>	۲۹۹/۳۳±۲/۸۸ <sup>a</sup>	۶۶/۸۸±۰/۵۵ <sup>a</sup>	۲۲/۲۵±۰/۰۵ <sup>ab</sup>	۱۱/۴۶±۰/۸۶ <sup>ab</sup>	۱۷/۳۳±۱/۵ <sup>ab</sup>	۷۸/۶۶±۰/۵۷ <sup>a</sup>	
تیمار ۲	۱۰۰۴/۳۳±۱۳/۶۵ <sup>b</sup>	۶/۷۶±۰/۲۴ <sup>b</sup>	۲۹/۶±۰/۶۲ <sup>ab</sup>	۳۰۰/۶۶±۱/۵۲ <sup>ab</sup>	۶۷/۰۶±۰/۳۷ <sup>a</sup>	۲۲/۲۲±۰/۰۷ <sup>ab</sup>	۱۲/۸۳±۰/۹۵ <sup>bc</sup>	۱۸/۶۶±۱/۱۵ <sup>ab</sup>	۷۶/۶۶±۱/۱۵ <sup>a</sup>	
تیمار ۳	۹۹۴/۶۶±۲/۰۸ <sup>b</sup>	۶/۶۳±۰/۰۹ <sup>b</sup>	۲۹/۲۶±۰/۹۸ <sup>b</sup>	۳۰۳/۶۶±۱/۱۵ <sup>b</sup>	۶۷/۶۶±۰/۲ <sup>a</sup>	۲۲/۱۶±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۱۳/۸۳±۱/۰۰۶ <sup>c</sup>	۱۹/۳۳±۱/۵ <sup>b</sup>	۷۷/۳۳±۳/۷۸ <sup>a</sup>	

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارها می باشد ( $P < 0.05$ ).

در پارامترهای خون‌شناسی نشان‌دهنده یک مکانیسم دفاعی به‌عنوان پاسخی به سمیت میکروپلاستیک‌ها است (Osman *et al.*, 2018). تصور می‌شود که ۱ تا ۴ درصد از ذرات میکروپلاستیک جذب‌شده در روده ماهی به جریان خون منتقل می‌شود و پلاستیک‌های میکرو یا نانو در جریان خون می‌توانند باعث التهاب موضعی یا واکنش‌های آلرژیک بافتی شوند (Hwang *et al.*, 2020). میکروپلاستیک‌ها با اندازه ذرات کوچکتر از ۵ میکرومتر ممکن است وارد سیستم گردش خون شوند و مستقیماً بر خواص خون‌شناسی (مانند گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین) تأثیر بگذارند و به‌طور بالقوه باعث پراکسیداسیون لیپید، اختلالات متابولیک و واکنش‌های التهابی شوند (Digka *et al.*, 2018; Hou *et al.*, 2021). همچنین آسیب فیزیکی و شیمیایی به غشای گلبول‌های قرمز ناشی از قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک می‌تواند منجر به همولیز شود که به‌طور مستقیم بر غلظت هموگلوبین و مقادیر هماتوکریت تأثیر می‌گذارد (Choi *et al.*, 2021) و کاهش غلظت هموگلوبین منجر به آسیب احتمالی به عملکرد بافت به‌دلیل تأمین ناکافی اکسیژن به بافت می‌شود. از طرف دیگر میکروپلاستیک‌هایی که وارد سیستم گردش خون ماهی می‌شوند، می‌توانند با پروتئین‌های خون، از جمله آلبومین و گلوبولین، تعامل داشته باشند و ترکیبات پروتئین-پلاستیکی تشکیل دهند که به‌طور بالقوه بر گردش خون تأثیر می‌گذارند. (Yong *et al.*, 2020). Saomadia و همکاران (۲۰۲۴) گزارش دادند که هموگلوبین و هماتوکریت ماهی *O. niloticus* در معرض پلی‌استایرن به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است که به سمیت مواد شیمیایی موجود در پلی‌استایرن نسبت داده شد. قرار گرفتن در معرض پلی‌استایرن می‌تواند با مهار فرآیند اتصال اکسیژن در آبشش‌ها، سطح هموگلوبین و هماتوکریت ماهی را کاهش دهد که این امر غلظت اکسیژن در خون را کاهش می‌دهد. Das و همکاران (۲۰۲۳) نیز گزارش دادند که هموگلوبین و هماتوکریت ماهی *O. niloticus* که در معرض پلی‌استایرن قرار گرفته بودند، به‌طور قابل توجهی کاهش یافت و اظهار داشتند که این کاهش در نتیجه رقیق شدن خون به‌دلیل همولیز ناشی از میکروپلاستیک و آسیب بافتی بوده است (Das *et al.*, 2023). در تحقیقی (Vineetha *et al.*, 2024) پیامدهای احتمالی نانوذرات پلی‌استایرن بر

اما در تیمارهای حاوی نانوپلاستیک درصد بقا کاهش یافت اما فاقد تفاوت معنی‌دار بود، که با نتایج محققین مطابقت دارد (Lee *et al.*, 2019; Sendra *et al.*, 2021). در تحقیق Lai و همکاران (۲۰۲۱) نیز مشخص شد که بقا و رشد ماهی شوریده (*Larimichthys crocea*) نیز پس از قرار گرفتن در معرض نانوپلاستیک پلی‌استایرن کاهش می‌یابد (Lai *et al.*, 2021) اما در مطالعات مشابه (Lee *et al.*, 2019; Sendra *et al.*, 2021) بازماندگی در ماهی زیرا به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر نانوذرات پلی‌استایرن با اندازه ۵۰ نانومتر یا ۱ میکرومتر قرار نگرفت با این حال لاروهای ماهی زیرا که در معرض نانوپلاستیک بودند، هنگام مواجهه با پاتوژن باکتریایی *A. hydrophila*، بقای آنها در مقایسه با لاروهای گروه کنترل به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. تفاوت در نتایج شاخص بقا در گونه‌های مختلف ماهی‌ها ممکن است ناشی از مدت زمان قرار گرفتن در معرض نانوپلاستیک‌ها، تفاوت در میزان افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب (Yu *et al.*, 2018)، تفاوت در میزان کاهش فعالیت‌های تغذیه‌ای و ظرفیت گوارشی (Sendra *et al.*, 2020) آنها باشد.

در این تحقیق افزودن پلاستیک به جیره غذایی ماهی باعث پدید آمدن تغییراتی در شاخص‌های خونی نسبت به تیمار شاهد شد و با کاهش اندازه پلاستیک از میکرو به نانو این تغییرات محسوس‌تر بود. با توجه به نتایج شاخص‌های خون‌شناسی، کمترین میزان گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمار ۳ (جیره حاوی نانوپلاستیک ۱۰۰-۵۰ نانومتر) و در مقابل افزایش میزان گلبول سفید و نوتروفیل مشاهده شد. در این راستا، مطالعات قبلی روی گونه‌های مختلف ماهی، تغییرات قابل توجهی را در پارامترهای خون‌شناسی به‌دلیل قرار گرفتن در معرض آلاینده‌های مختلف نشان داده‌اند. نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه‌ای که توسط Hamed و همکارانش (۲۰۱۹) بر روی ماهی تیلاپیا نیل (*O. niloticus*) انجام شد، کاهش قابل توجهی در گلبول‌های قرمز (RBC)، غلظت هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (HCT) غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) پس از قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک‌ها نشان داد که با تحقیق حاضر مطابقت دارد. در مقابل، حجم متوسط گلبولی (MCV) و هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) افزایش قابل توجهی را نشان دادند. این تغییرات

سم‌شناسی احتمالی ایفا می‌کند، مطالعه رفتار نانوذرات نه تنها در محیط‌های آزمایشگاهی، بلکه در مایعات زیستی مانند پلاسما نیز مهم است. در مایعات خارج سلولی، خواص سطحی و اندازه نانوذرات نقش مهمی در فرآیند اتصال پروتئین‌ها به نانوذرات ایفا می‌کنند و منجر به تشکیل کروماتین‌های پروتئینی می‌شوند (Tenzer et al., 2013) که می‌توانند سیستم کمپلمان را تحریک کنند که در نهایت منجر به آماده‌سازی نانوذرات برای فاگوسیتوز می‌شود (Jovanović and Palić, 2012).

### نتیجه‌گیری

در مجموع در این تحقیق مواجهه ماهی ازون‌برون با میکرو و نانوپلاستیک باعث تغییرات فیزیولوژیکی مختلفی می‌شود و مشخص شد که نه تنها غلظت میکرو و نانوپلاستیک، بلکه اندازه ذرات نیز از عوامل مهم هستند. با افزودن نانوپلاستیک به جیرا ماهی در اندازه‌های ۲۰۰-۱۰۰ و ۱۰۰-۵۰ نانومتر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی ماهی ازون‌برون دچار تغییرات محسوسی شد که می‌تواند رشد و سلامت ماهی در مراحل بعدی زندگی را تحت تاثیر قرار دهد. با توجه به اینکه عرضه و تقاضای جهانی برای پلاستیک همچنان رو به افزایش است و این مواد در نهایت پس از تجزیه به میکرو و نانوپلاستیک از طریق مسیرهای مختلفی (مانند پساب‌های فاضلاب، رواناب‌های ناشی از آب‌های سطحی و غیره) وارد اکوسیستم‌های آبی می‌شوند، آنها را به یک تهدید بالقوه برای تمامی موجودات آبی تبدیل می‌کند. در آینده، تحقیقات جزئی‌تر در مورد اثرات سمی میکرو و نانوپلاستیک‌ها در رابطه با موارد مختلف مانند اندازه، نوع پلیمر و گروه عاملی سطحی و همچنین غلظت مواجهه مورد نیاز است. علاوه بر این، مطالعات کاربردی در مورد رابطه بین سمیت ذرات پلاستیکی در ترکیب با سایر مواد نیز ضروری تلقی می‌شود.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از زحمات کلیه اساتید و پرسنل محترم انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری (گیلان-رشت) و ایستگاه تحقیقات کاربردی ماهیان خاویاری (چابکسر) تشکر و قدردانی می‌گردد.

خون‌شناسی در ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) بررسی شد. طبق نتایج آنها عملکرد رشد و پارامترهای خون‌شناسی مانند گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و لکوسیت‌ها کاهش یافت، در حالی که ترومبوسیت‌ها با نانوذرات پلی‌استایرن به‌صورت وابسته به دوز افزایش یافتند (Vineetha et al., 2024).

سیستم ایمنی ممکن است تحت تاثیر مواد شیمیایی سمی موجود در میکرو و نانو پلاستیک‌ها قرار گیرد (Holmes et al., 2012). سیستم ایمنی ماهی شاخص مفیدی برای پاسخ منفی به عوامل استرس‌زای محیطی است (Tort, 2011). اثرات میکرو و نانوپلاستیک‌ها بر کموکاین‌ها، سیتوکین‌ها و فاگوسیت‌ها و افزایش سطح گلوبولین‌ها و ایمونوگلوبولین‌ها (Karami et al., 2016) در مطالعه قبلی توسط Jacob و همکارانش (۲۰۲۰) و همچنین تغییرات در پارامترهای خون‌شیمیایی ناشی از قرار گرفتن در معرض میکرو و نانو پلاستیک‌ها در گونه‌های مختلف ماهی مشاهده شده است (Oliveira et al., 2013; Espinosa et al., 2017; Nematdoost Haghi and Banaee, 2019; Hamed et al., 2019). در این تحقیق با افزودن میکرو و نانو پلاستیک میزان گلبول‌های سفید و نوتروفیل افزایش یافت. نتایج مطالعه حاضر این فرضیه را تأیید می‌کند که پلی‌استایرن‌ها می‌توانند با افزایش نوتروفیل، بر سیستم ایمنی ماهی تاثیر بگذارند. این امر پتانسیل پلی‌استایرن‌ها را به‌عنوان عوامل استرس‌زا برای موجوداتی که آنها را در خود جای می‌دهند، نشان می‌دهد. پیش از این، نشان داده شده است که سرعت فاگوسیتوز ذرات پلی‌استایرن برای ذراتی با قطر بین ۱/۷ میلی‌متر تا ۳ میلی‌متر بیشترین مقدار را دارد (Tabata and Ikada, 1988; Champion et al., 2008). با این حال، سرعت فاگوسیتوز نه تنها تحت تاثیر اندازه فیزیکی ذرات پلی‌استایرن، بلکه تحت تاثیر ویژگی‌های مشخص چین‌خوردگی‌های غشایی سلول‌های فاگوسیتیک و همچنین فرآیند اتصال قرار می‌گیرد (Champion et al., 2008). این بدان معناست که تجمعات با اندازه میکرو ایجاد شده توسط ذرات کوچک پلی‌استایرن در اندازه نانو از طریق تجمع سریع، برای فاگوسیتوز توسط سلول‌های فاگوسیتیک ترجیح داده می‌شوند. از آنجا که برهمکنش نانوذرات با ترکیبات در سیستم گردش خون نقش مهمی در شناسایی اثرات

منابع

- Assas M., Qiu X., Chen K., Ogawa H., Xu H., Shimasaki Y., Oshima Y. 2020. Bioaccumulation and reproductive effects of fluorescent microplastics in medaka fish. *Marine Pollution Bulletin* 158, 111446.
- Barboza L.G.A., Lopes C., Oliveira P., Bessa F., Otero V., Henriques B., Raimundo J., Caetano M., Vale C., Guilhermino L. 2020. Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure. *Science of The Total Environment* 717, 134625.
- Brun N.R., Van Hage P., Hunting E.R., Haramis A.P.G., Vink S.C., Vijver M.G., Schaaf M.J., Tudorache C. 2019. Polystyrene nanoplastics disrupt glucose metabolism and cortisol levels with a possible link to behavioural changes in larval zebrafish. *Communications Biology* 2(1), p.382.
- Champion J.A., Walker A., Mitragotri S. 2008. Role of particle size in phagocytosis of polymeric microspheres. *Pharmaceutical Research* 25, 1815-1821.
- Chen H., Zhao R., Wang B., Zheng L., Ouyang H., Wang H., Zhou X., Zhang D., Chai Z., Zhao Y., Feng W., 2018. Acute Oral Administration of Single-Walled Carbon Nanotubes Increases Intestinal Permeability and Inflammatory Responses: Association with the Changes in Gut Microbiota in Mice. *Advanced Healthcare Materials* 7(13), 1701313.
- Chen Q., Gundlach M., Yang S., Jiang J., Velki M., Yin D., 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.
- Choi D., Hwang J., Bang J., Han S., Kim T., Oh Y., Hwang Y., Choi J., Hong J. 2021. In vitro toxicity from a physical perspective of polyethylene microplastics based on statistical curvature change analysis. *Science of the Total Environment* 752, 142242.
- Das B.C., Gorakh S.S., Pillai D., Jayadradhan R.K.V. 2023. Sub-chronic exposure of Oreochromis niloticus to environmentally relevant concentrations of smaller microplastics: Accumulation and toxico-physiological responses. *Journal of Hazardous Materials* 458, 131916.
- Digka N., Tsangaris C., Torre M., Anastasopoulou A., Zeri C. 2018. Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea. *Marine Pollution Bulletin* 135, 30
- Doroshov S.I. 2019. Biology and culture of sturgeon Acipenseriformes. In *Recent advances in Aquaculture* (pp. 251-274). Routledge.
- Duis, K. and Coors, A., 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental Sciences Europe* 28(1), p.2.
- Eagderi S., Mouludi-Saleh A., Esmaeli H.R., Sayyadzadeh G., Nasri M. 2022. Freshwater lamprey and fishes of Iran; a revised and updated annotated checklist-2022. *Turkish Journal of Zoology* 46(6), 500-522.
- Espinosa C., Cuesta A., Esteban M.Á. 2017. Effects of dietary polyvinylchloride microparticles on general health, immune status and expression of several genes related to stress in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 68, 251-259.
- Fazio F., Filiciotto F., Marafioti S., Di Stefano V., Assenza A., Placenti F., Buscaino G., Piccione G., Mazzola S. 2012. Automatic analysis to assess haematological parameters in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 45(1), 63-73.
- Fazio F., Saoca C., Costa G., Zumbo A., Piccione G., Parrino V. 2019. Flow cytometry and automatic blood cell analysis in striped bass *Morone saxatilis* (Walbaum, 1792): A new hematological approach. *Aquaculture* 513, 734398.
- Fazio F., Saoca C., Sanfilippo M., Capillo G., Spanò N., Piccione G. 2019. Response of vanadium bioaccumulation in tissues of Mugil cephalus (Linnaeus 1758). *Science of the Total Environment* 689, 774-780.
- Feng Z., Zhang T., Li Y., He X., Wang R., Xu J., Gao G. 2019. The accumulation of microplastics in fish from an important fish farm and mariculture area, Haizhou Bay, China. *Science of the Total Environment* 696, 133948.
- Ferreira I., Venâncio C., Lopes I., Oliveira M. 2019. Nanoplastics and marine organisms: what has been studied?. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 67, 1-7.

- Franzellitti S., Canesi L., Auguste M., Wathsala R.H., Fabbri E. 2019.** Microplastic exposure and effects in aquatic organisms: a physiological perspective. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 68, 37-51.
- Gu H., Wang S., Wang X., Yu X., Hu M., Huang W., Wang Y. 2020.** Nanoplastics impair the intestinal health of the juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea*. *Journal of Hazardous Materials* 397, 122773.
- Güven O., Gökdağ K., Jovanović B., Kideys A.E. 2017.** Microplastic litter composition of the Turkish territorial waters of the Mediterranean Sea, and its occurrence in the gastrointestinal tract of fish. *Environmental Pollution* 223, 286-294.
- Hahladakis J.N., Velis C.A., Weber R., Iacovidou E., Purnell P. 2018.** An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials* 344, 179-199.
- Hamed M., Soliman H.A., Osman A.G., Sayed A.E.D.H. 2019.** Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile: I. blood biomarkers. *Chemosphere* 228, 345-350.
- Hartmann N.B., Hüffer T., Thompson R.C., Hassell'ov M., Verschoor A., Daugaard A.E. 2019.** Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris. *Environmental Science & Technology* 53(3), 1039-1047.
- Holmes L.A., Turner A., Thompson R.C. 2012.** Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment. *Environmental Pollution* 160, 42-48.
- Hou B., Wang F., Liu T., Wang Z. 2021.** Reproductive toxicity of polystyrene microplastics: in vivo experimental study on testicular toxicity in mice. *Journal of Hazardous Materials* 405, 124028.
- Hwang J., Choi D., Han S., Jung S.Y., Choi J., Hong J. 2020.** Potential toxicity of polystyrene microplastic particles. *Scientific Reports* 10(1), 7391.
- IUCN 2022.** The IUCN red list of threatened species. Accessed 19 Jan 2023
- Jacob H., Besson M., Swarzenski P.W., Lecchini D., Metian M. 2020.** Effects of virgin micro-and nanoplastics on fish: trends, meta-analysis, and perspectives. *Environmental Science & Technology* 54(8), 4733-4745.
- Jovanović B., Palić D. 2012.** Immunotoxicology of non-functionalized engineered nanoparticles in aquatic organisms with special emphasis on fish—Review of current knowledge, gap identification, and call for further research. *Aquatic Toxicology* 118, 141-151.
- Jovanović B., Gökdağ K., Güven O., Emre Y., Whitley E.M., Kideys A.E. 2018.** Virgin microplastics are not causing imminent harm to fish after dietary exposure. *Marine Pollution Bulletin* 130, 123-131.
- Karami A., Romano N., Galloway T., Hamzah H. 2016.** Virgin microplastics cause toxicity and modulate the impacts of phenanthrene on biomarker responses in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Environmental Research* 151, 58-70.
- 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.
- Lee D.H., Ra C.S., Song Y.H., Sung K.I., Kim J.D. 2012.** Effects of dietary garlic extract on growth, feed utilization and whole body composition of juvenile sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25(4), 577.
- Le, J.H., Kang J.C., Kim J.H. 2023.** Toxic effects of microplastic (Polyethylene) on fish: Accumulation, hematological parameters and antioxidant responses in Korean Bullhead, *Pseudobagrus fulvidraco*. *Science of The Total Environment* 877, 162874.
- Lee W.S., Cho H.J., Kim E., Huh Y.H., Kim H.J., Kim B., Kang T., Lee J.S., Jeong, J., 2019.** Bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effect on the toxicity of Au ions in zebrafish embryos. *Nanoscale* 11(7), 3173-3185.
- Lei L., Wu S., Lu S., Liu M., Song Y., Fu Z., Shi H., Raley-Susman K.M., He D., 2018.** Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science of the total environment* 619, 1-8.
- Li W., Chen X., Li M., Cai Z., Gong H., Yan M. 2022.** Microplastics as an aquatic pollutant affect gut microbiota within aquatic animals. *Journal of Hazardous Materials* 423, 127094.

- Liu J., Xu D., Chen Y., Zhao C., Liu L., Gu Y., Ren Y., Xia B. 2022.** Adverse effects of dietary virgin (nano) microplastics on growth performance, immune response, and resistance to ammonia stress and pathogen challenge in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Journal of Hazardous Materials* 423, 127038.
- Liu Z., Yu P., Cai M., Wu D., Zhang M., Huang Y., Zhao Y. 2019.** Polystyrene nanoplastic exposure induces immobilization, reproduction, and stress defense in the freshwater cladoceran *Daphnia pulex*. *Chemosphere* 215, 74-81.
- Liu Z., Zhang Y., Zheng Y., Feng Y., Zhang W., Gong S., Lin H., Gao, P., Zhang H., 2023.** Genome-wide identification glutathione-S-transferase gene superfamily in *Daphnia pulex* and its transcriptional response to nanoplastics. *International Journal of Biological Macromolecules* 230, 123112.
- Lusher A., Hollman P., Mendoza-Hill J. 2017.** Microplastics in Fisheries and Aquaculture: Status of Knowledge on Their Occurrence and Implications for Aquatic Organisms and Food Safety; FAO: Rome, Italy.
- McCarthy J.F., Shugart L.R. 2018.** Biological markers of environmental contamination. In Biomarkers of environmental contamination (pp. 3-14). CRC Press.
- Mendenhall E. 2018.** Oceans of plastic: A research agenda to propel policy development. *Marine Policy* 96, 291-298.
- Murray F., Cowie P.R. 2011.** Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine Pollution Bulletin* 62(6), 1207-1217.
- Nava V., Chandra S., Aherne J., Alfonso M.B., Antão-Geraldes A.M., Attermeyer K., Bao R., Bartrons M., Berger S.A., Biernaczyk M., Bissen R. 2023.** Plastic debris in lakes and reservoirs. *Nature* 619(7969), 317-322.
- Nematdoost Haghi B., Banaee M. 2017.** Effects of micro-plastic particles on paraquat toxicity to common carp (*Cyprinus carpio*): biochemical changes. *International Journal of Environmental Science and Technology* 14(3), 521-530.
- Oliveira M., Ribeiro A., Hylland K., Guilhermino L. 2013.** Single and combined effects of microplastics and pyrene on juveniles (0+ group) of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae). *Ecological Indicators* 34, 641-647.
- Osman A.G., AbouelFadl K.Y., Abd El Baset M., Mahmoud U.M., Kloas W., Moustafa M.A., 2018.** Blood biomarkers in Nile tilapia *Oreochromis niloticus niloticus* and African catfish *Clarias gariepinus* to evaluate water quality of the river Nile. *Journal of Fisheries Sciences* 12(1), 1-15.
- Pabortsava K., Lampitt, R.S. 2020.** High concentrations of plastic hidden beneath the surface of the Atlantic Ocean. *Nature Communications* 11(1), 4073.
- Pashaei R., Dzingelevičienė R., Putna-Nimane I., Overlinge D., Błaszczyk A., Walker T.R. 2023.** Acute toxicity of triclosan, caffeine, nanoplastics, microplastics, and their mixtures on *Daphnia magna*. *Marine Pollution Bulletin* 192, 115113.
- Peda C., Caccamo L., Fossi M.C., Gai F., Andaloro F., Genovese L., Perdichizzi A., Romeo T., Maricchiolo G. 2016.** Intestinal alterations in European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) exposed to microplastics: preliminary results. *Environmental Pollution* 212, 251-256.
- Pelegri K., Pereira T.C.B., Maraschin T.G., Teodoro L.D.S., Basso N.R.D.S., De Galland G.L.B., Ligabue R.A., Bogo M.R. 2023.** Micro- and nanoplastic toxicity: A review on size, type, source, and test-organism implications. *Science of The Total Environment* 878, 162954.
- Peterson D.L., Vecsei, P., Jennings C.A. 2007.** Ecology and biology of the lake sturgeon: a synthesis of current knowledge of a threatened North American Acipenseridae. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 17, 59-76.
- Plastics Europe 2022.** Plastics - the facts 2022. An analysis of European plastics production, demand, conversion and end-of-life management. PlasticEurope
- Poorbagher H., Hosseini S.V., Hosseini S.M., Aflaki F., Regenstein J.M. 2017.** Metal accumulation in Caspian sturgeons with different feeding niches, condition factor, body size and age. *Microchemical Journal*, 132, 43-48.
- Qiao R., Sheng C., Lu Y., Zhang Y., Ren H., Lemos B. 2019.** Microplastics induce intestinal inflammation, oxidative stress, and disorders of metabolome and microbiome in zebrafish. *Science of the Total Environment* 662, 246-253.

- Saomadia B.T., Setyono B.D.H., Affandi R.I., No P.S., Mataram W.N.T. 2024.** The Effect of Exposure to Microplastic Polystyrene (PS) in Feed on the Haematology of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Fish Health* 4(1), 9-20.
- Savoca M.S., Tyson C.W., McGill M., Slager C.J. 2017.** Odours from marine plastic debris induce food search behaviours in a forage fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284(1860), 20171000.
- Savoca M.S., Wohlfeil M.E., Ebeler S.E., Nevitt G.A. 2016.** Marine plastic debris emits a keystone infochemical for olfactory foraging seabirds. *Science Advances* 2(11), p.e1600395.
- Sayed A., Soliman H.A. 2018.** Modulatory effects of green tea extract against the hepatotoxic effects of 4-nonylphenol in catfish (*Clarias gariepinus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 149, 159-165.
- Sendra M., Pereiro P., Yeste M.P., Mercado L., Figueras A., Novoa B., 2021.** Size matters: Zebrafish (*Danio rerio*) as a model to study toxicity of nanoplastics from cells to the whole organism. *Environmental Pollution* 268, 115769.
- Sendra M., Sparaventi E., Blasco J., Moreno-Garrido I., Araujo C.V. 2020.** Ingestion and bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effects on the microalgal feeding of *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and environmental safety* 188, 109853.
- Shohani N., Pourmahdian S., Hadavand B.S. 2017.** Response surface methodology for design of porous hollow sphere thermal insulator. In IOP Conference Series: *Materials Science and Engineering* 269(1), 012073.
- Tabata Y., Ikada, Y. 1988.** Effect of the size and surface charge of polymer microspheres on their phagocytosis by macrophage. *Biomaterials* 9(4), 356-362.
- Tenzen S., Docter, D., Kuharev J., Musyanovych A., Fetz V., Hecht R., Schlenk F., Fischer D., Kiouptsi K., Reinhardt C., Landfester K. 2020.** Rapid formation of plasma protein corona critically affects nanoparticle pathophysiology. In *Nano-enabled Medical Applications*, 251-278.
- Teuten E.L., Saquing J.M., Knappe D.R., Barlaz M.A., Jonsson S., Björn A., Rowland S.J., Thompson R.C., Galloway T.S., Yamashita R., Ochi D. 2009.** Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal society B: Biological Sciences* 364(1526), 2027-2045.
- Tort L. 2011.** Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology* 35(12), 1366-1375.
- Van Cauwenberghe L., Janssen C.R. 2014.** Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution* 193, 65-70.
- Vineetha V.P., Suresh K., Pillai D. 2024.** Impact of sub-chronic polystyrene nanoplastics exposure on hematology, histology, and endoplasmic reticulum stress-related protein expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 273, 110982.
- Xia X., Sun M., Zhou M., Chang Z., Li L. 2020.** Polyvinyl chloride microplastics induce growth inhibition and oxidative stress in *Cyprinus carpio* var. larvae. *Science of the Total Environment* 716, 136479.
- Yong C.Q.Y., Valiyaveettil S., Tang B.L. 2020.** Toxicity of microplastics and nanoplastics in mammalian systems. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(05), 1509.
- Yu P., Liu Z., Wu D., Chen M., Lv W., Zhao Y. 2018.** Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. *Aquatic Toxicology* 200, 28-36.

## Investigation of the effects of polystyrene micro and nanoplastics on growth and hematological indices of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*)

Erfan Salamroodi<sup>1</sup>, Kamran Rezaei Tavabe\*<sup>1</sup>, Gholamreza Rafiee<sup>1</sup>, Mahmoud Mohseni<sup>2</sup>, Behzad Shirkavand Hadavand<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

<sup>2</sup>International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

<sup>3</sup>Department of Resin and Additives, Institute for Color Science and Technology, Tehran, Iran.

\*Corresponding author: krtavabe@ut.ac.ir

Received: 30.May.2025

Accepted: 22.Jul.2025

### Abstract

The widespread presence of micro- and nanoplastics (MPs/NPs) in aquatic ecosystems has raised great concerns about their potential effects on aquatic organisms. However, the effects of MPs/NPs on fish remain controversial and there is no comprehensive understanding of how they affect them based on experimental designs. In this study, stellate sturgeon fish with an average weight of  $131 \pm 5.47$  g were exposed to three sizes of microplastics (with an average size of 1-10  $\mu\text{m}$ ) and nanoplastics (with average sizes of 100-200 and 50-100 nm) along with a control group. After 45 days and at the end of the experimental period, with the decrease in plastic size from micro to nano, growth indices including final weight loss and feed conversion ratio showed significant increases among treatments and also compared to the control group ( $P < 0.05$ ), but no significant difference was observed in survival index ( $P \geq 0.05$ ). In blood indices, a significant difference was recorded in the number of red blood cells (RBC), hemoglobin (HB), hematocrit (HCT), mean corpuscular volume (MCV), and neutrophils ( $P < 0.05$ ). Overall, according to the results of this study, the addition of microplastics caused a decrease in growth indices, including final weight, compared to the control group in stellate sturgeon fish, while the addition of nanoplastics in sizes of 100-200 and 50-100 nm caused more noticeable changes in both growth indices and blood indices of fish, and comprehensive studies are needed on the shape, size, and additives released from micro and nanoplastics.

**Keywords:** Microplastics, Nanoplastics, Growth index, Hematology, Stellate sturgeon