Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

بررسی اثرات نانو ذرات نقره بیوسنتز شده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

اسماعیل کرمی[۱]
زهرا طولابی دزفولی[۲*]
سراج بیتا[۳]
مهرزاد مصباح[٤]

۱،۲،۴. گروه آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
۳. گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

***مسئول مکاتبات:**
z.tulaby@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۶۰۲۰۴۵۲
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۱
این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

چکیده

یکی از مهم‌ترین نانو ذراتی که استفاده ازآن‌رو به گسترش است، نانو ذرات نقره می‌باشد و شاید بتوان در حال حاضر آن را پرکاربردترین نانو ماده در صنعت نانو دانست. در این مطالعه نانو ذرات نقره به روش زیستی با استفاده از عصاره آبی جلبک سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*) سنتز شد که برای این منظور از محلول نیترات نقره (یک میلی مولار) به‌عنوان دریافت‌کننده یا پیش‌ساز استفاده گردید و اثرات آن بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی در رویارویی با سه غلظت از نانوذره مذکور (AgNPs) شامل ۰/۱۱، ۱/۱۳ و ۵/۶۷ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره، که انتخاب غلظت‌ها به ترتیب بر مبنای ۱، ۱۰ و ۵۰ درصد غلظت کشنده میانی (LC_{50}) بود به همراه تیمار شاهد به مدت ۱۴ روز موردبررسی قرار گرفت. تعداد گلبول‌های سفید در رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده و گلبول‌های قرمز در تیمار ۱ درصد LC_{50} نانو ذرات نقره سنتز شده در روزهای ۱، ۳ و ۷ و درصد هماتوکریت در تیمار ۱ درصد در روز ۳ در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<$ ۰/۰۵). بیشترین میزان هموگلوبین در روزهای مختلف نمونه‌گیری در تیمار ۵۰ درصد نانو ذرات نقره به‌دست‌آمده آمد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($P<$۰/۰۵). همچنین مقادیر حجم متوسط گلبولی (MCV) در روز ۱ و نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC) در روز ۱۴ در تیمارهای مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده نسبت به گروه شاهد ازنظر آماری افزایش معنی‌داری داشت ($P<$۰/۰۵). نتایج یافته‌های حاصل از بررسی حاضر نشان داد که نانو ذرات سنتز شده از جلبک بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی به‌خصوص در غلظت‌های بالا تأثیرگذار بود ولی اثرات منفی قابل‌توجهی بر روی سلول‌های خونی مشاهده نگردید.

واژگان کلیدی: نانو ذرات نقره، *Sargassum angustifolium*، شاخص‌های خونی، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*).

مقدمه

همواره توسعه صنایع جدید سبب ورود ترکیبات مخاطره‌آمیزی به محیطزیست می‌گردد که در برخی از موارد اثرات آن‌ها بر انسان و محیطزیست جبران‌ناپذیر خواهد بود. امروزه نانو مواد توانسته‌اند به علت ویژگی‌های ممتاز الکتریکی، اپتیکی، مکانیکی و شیمیایی توجه زیادی را به خود جلب کنند (Strunk *et al*., 2009). پژوهش‌ها نشان داده که منابع زیستی موجود در طبیعت می‌توانند به‌عنوان منبع مناسب و جایگزین ترکیبات شیمیایی برای سنتز نانو ذرات، به‌کاربرده شوند. یکی از این منابع که می‌توانند در بحث فناوری نانو و سنتز نانو ذرات مورداستفاده قرار گیرند، گیاهان دریایی یا جلبک‌های دریایی هستند (Mansuya *et al*., 2010).

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

به دلیل افزایش روزافزون استفاده از نانو مواد در محصولات تجاری، نگرانی‌های زیادی در رابطه با سمیت و خطرات ناشی از این مواد در محیط‌زیست و زندگی موجودات وجود دارد. امروزه در ایران از نانوذرات نقره (نانوسید) به‌طور وسیعی به‌عنوان ترکیب ضدعفونی‌کننده در واحدهای دام‌پروری استفاده می‌شود که می‌تواند از طریق فاضلاب به آب‌های زیرزمینی و جاری نفوذ کرده و منجر به بروز مسمومیت در موجودات آبزی گردد (Shaluei *et al.*, 2012). به‌علاوه سمیت نانو ذرات نقره سنتز شده با روش شیمیایی‌بر ماهیان و سایر آبزیان در مطالعات گوناگون توسط پژوهشگران مختلف تائید شده است. به‌تازگی سنتز نانو ذرات نقره با استفاده از گیاهان و جلبک‌های دریایی به خاطر سازگاری این روش با محیط‌زیست، بسیار متداول شده است (Song *et al.*, 2009).

محیط‌زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن نظیر فصل، مواد غذایی، آلودگی، عوامل استرس‌زا بر سلول‌های خونی تأثیر می‌گذارد (Jawad *et al.*, 2004). بر اساس پژوهش‌های انجام‌شده در حیوانات تغییرات شاخص‌های خونی می‌توانند بیانگر اثر مواد بر وضعیت موجود زنده باشند (Fanouraki *et al.*, 2007). در ارتباط با ماهیان نیز شاخص‌های خون‌شناسی شاخص‌های مهمی برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک محسوب می‌شوند. به‌منظور شناخت اثرات نانو ذرات نقره سنتز شده به روش زیستی بر آبزیان و شناخت سازوکارهای احتمالی ایجاد سمیت، ضروری است اثرات این نانو مواد در شرایط آزمایشگاهی بر روی گونه‌های آبزیان موردمطالعه قرار گیرد. در این مطالعه نیز به دلیل اهمیت شاخص‌های خونی به‌عنوان شاخصی از وضعیت سلامت ماهی، به بررسی اثرات نانو ذرات نقره بیوسنتز شده بر برخی از شاخص‌های خونی شامل میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و همچنین حجم متوسط گلبولی و نسبت هموگلوبین گلبولی ماهی کپور معمولی پرداخته‌شده است. نتایج این مطالعه می‌تواند به وضع استانداردها و قوانین زیست‌محیطی نانو ذرات کمک کند.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی کپور معمولی، با میانگین وزنی ۱۶/۴۵± ۷۸/۹۹ گرم، از مزارع پرورش ماهی شهرستان شوشتر تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی بخش بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردیدند. ماهی‌ها برای سازگاری با شرایط آزمایشگاه، به مدت دو هفته در آکواریوم‌های کاملاً ضدعفونی شده با هیپوکلریت سدیم همراه با هوادهی ملایم نگهداری شدند. جهت اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب، میزان اکسیژن با استفاده از دستگاه اکسیژن‌متر (HACH-sension1) به‌صورت روزانه و pH آب به‌صورت هفتگی با استفاده از دستگاه پی اچ متر (SUNTEX-TS1) اندازه‌گیری شد. تعویض آب به میزان ۲۰ درصد حجم آب هر ۴۸ ساعت، یک‌بار انجام می‌شد. غذادهی ماهی‌ها در طول مدت سازگاری به میزان ۲ درصد وزن بدن، در دو نوبت با غذای کنسانتره تجاری (بیومار ساخت کشور فرانسه)، انجام شد.

جلبک دریایی قهوه‌ای، *Sargassum angustifolium*، از منطقه بین جزر و مدی سواحل بوشهر جمع‌آوری گردید، سپس نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در داخل کیسه‌های پلاستیکی در کنار یخ به آزمایشگاه بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی انتقال داده شدند. چندین بار با آب تمیز و تصفیه‌شده شهری، و سپس با آب مقطر دو بار تقطیرشده، در داخل سبدهای پلاستیکی شستشو داده‌شده و درنهایت با آب مقطر استریل، آبکشی شدند. جلبک‌های شسته شده به‌منظور خشک شدن به مدت یک هفته در سایه قرار داده شدند. نمونه‌های خشک‌شده با استفاده از دستگاه خردکن، به شکل پودر درآورده شدند. به‌منظور تهیه عصاره، ۱۰ گرم از پودر خشک‌شده جلبک با ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر دو بار تقطیرشده در داخل ارلن مایر ۵۰۰ سی‌سی همراه با مگنت، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بر روی هیتر جوشانده شد، سپس محلول حاصل به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت g ×۴۰۰۰ دو بار سانتریفیوژ گردید و محلول رویی با استفاده از کاغذ صافی واتمن NO.1، فیلتر شد، عصاره به‌دست‌آمده برای استفاده‌های بعدی در یخچال نگهداری شد (Singaravelu *et al.*, 2007). برای سنتز نانو ذرات نقره به روش بیولوژیکی خارج سلولی، از محلول نیترات نقره (یک میلی مولار) (سیگما، آمریکا)، به‌عنوان دریافت‌کننده یا پیش‌ساز استفاده شد. مقدار ۱۷ میلی‌گرم نیترات نقره، در ۱۰۰

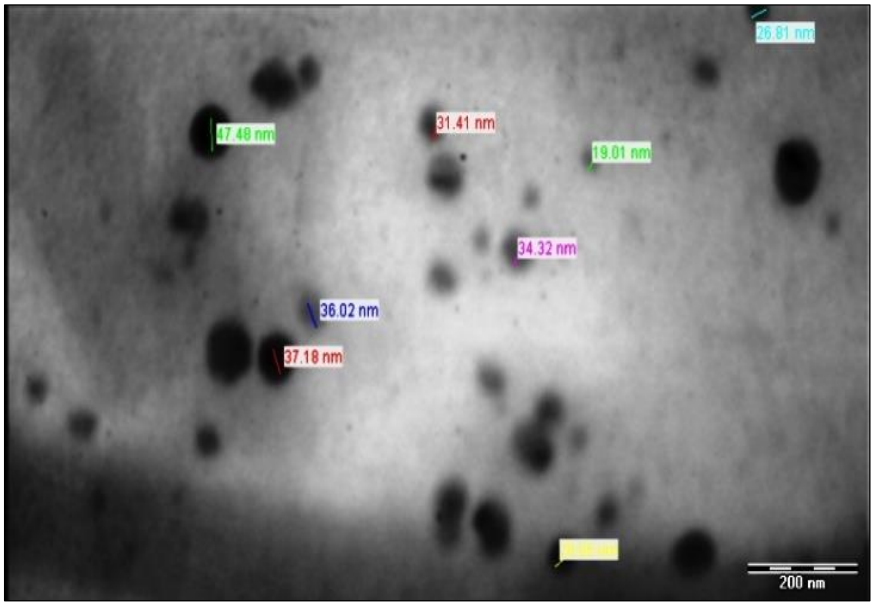
سی‌سی آب مقطر حل و به‌منظور احیاء یون‌های Ag^+، ۱۰ سی‌سی عصاره جلبک به ۹۰ سی‌سی محلول نیترات نقره یک میلی‌مولار اضافه شد (Jegadeeswaran *et al*., 2012) (شکل۱).

در این مطالعه از نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* با غلظت ۱۰۵/۷ میلی‌گرم در لیتر و اندازه ذرات ۳۲/۵۴ نانومتر (Bita *et al*., 2015) برای بررسی تأثیر آن بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) استفاده شد (شکل۲).

شکل ۱: تغییر رنگ محلول با گذشت ۹۰ دقیقه زمان از قهوه‌ای متمایل به زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره پس از اضافه نمودن محلول نیترات نقره (Bita *et al*., 2015).

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021



شکل ۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) از نانو ذرات نقره سنتز شده (Bita *et al.*, 2015).

انتخاب غلظت نانو ذرات نقره سنتز شده در تیمارها بر مبنای غلظت کشنده میانی (LC_{50}) آن در ماهی کپور معمولی انجام شد. مقادیر دقیق غلظت کشنده میانی نانو ذرات نقره سنتز شده از عصاره جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* در ماهی کپور معمولی، در گزارش قبلی (بیتا و همکاران، ۱۳۹۵) به میزان ۱۱/۳۴ میلی‌گرم در لیتر در طی ۹۶ ساعت رویارویی به دست آمد؛ بنابراین بررسی اثر این نانوذره بر شاخص‌های خونی کپور معمولی در ۳ تیمار ذکرشده، ۱۸۰ قطعه ماهی (۲۰ ماهی در ۹ آکواریوم ۱۵۰ لیتری) در غلظت‌هایی شامل ۱ درصد LC_{50} (۰/۱۱AgNP میلی‌گرم در لیتر)، ۱۰ درصد LC_{50} (۱/۱۳AgNP میلی‌گرم در لیتر) و ۵۰ درصد LC_{50} (۵/۶۷AgNP میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۱۴ روز همراه با تیمار شاهد (۶۰ قطعه ماهی در ۳ تکرار) موردبررسی قرار گرفت. از هر تیمار در هر مرحله تعداد ۹ قطعه ماهی به‌صورت تصادفی، در فواصل زمانی روزهای ۱، ۳، ۷ و ۱۴ جهت بررسی شاخص‌های خونی، نمونه‌برداری و ماهیان در طول دوره پژوهش به میزان ۲ درصد وزن بدن غذادهی شدند. تثبیت شرایط فیزیکوشیمیایی آب از قبیل اکسیژن و pH، از طریق هوادهی و تعویض ۲۰ درصد حجم آب هر ۴۸ ساعت، یک‌بار انجام شد.

در ابتدا ماهیان با استفاده از عصاره‌ی گل میخک به میزان ۳۰۰ قسمت در میلیون بی‌هوش شده و از ناحیه‌ی ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه، اقدام به خون‌گیری گردید. شمارش کلی گلبول‌های سفید و قرمز به روش دستی (با استفاده از لام نئوبار) و با رقیق کردن خون، به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده نات هریک (Natt-Herrick)، صورت گرفت (Thrall, 2004).

شمارش تفریقی انواع گلبول‌های سفید (هتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت) پس از تهیه گسترش و رنگ‌آمیزی با رنگ گیمسا صورت پذیرفت. برای اندازه‌گیری هموگلوبین از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین استفاده شد (Feldman *et al.*, 2000).

اندازه‌گیری هماتوکریت (PCV) به روش میکروهماتوکریت و با استفاده از لوله‌های موئینه و سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه و دور g × ۵۰۰۰ انجام شد. حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های استاندارد محاسبه گردیدند (Thrall, 2004).

MCV = (درصد) هماتوکریت × ۱۰/(میلیون در میلی‌متر مکعب) تعداد گلبول‌های قرمز

MCHC = ۱۰× (گرم در دسی لیتر) هموگلوبین/ (درصد) هماتوکریت

MCH = ۱۰ × (گرم در دسی لیتر) هموگلوبین/ (میلیون در میلی‌متر مکعب) تعداد گلبول‌های قرمز

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

برای آنالیز داده‌های به‌دست‌آمده از نرم‌افزار SPPS نسخه ۱۶ استفاده گردید. ابتدا از آزمون Leven statistic test برای بررسی همگن بودن انحراف معیار اطلاعات و از آنالیز واریانس یک‌طرفه برای بررسی تفاوت میانگین تیمارها استفاده گردید. میانگین داده‌ها در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن باهم مقایسه گردیدند.

نتایج

در این مطالعه بیشترین میزان هماتوکریت در روز ۳ نمونه‌برداری در تیمار ۱ درصد نانو ذرات نقره سنتز شده از جلبک سارگاسوم به‌دست آمد که در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) اما در روزهای ۷ و ۱۴ بین تیمارهای مختلف ازنظر میزان هماتوکریت اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$) (جدول ۱). علی‌رغم تغییرات کاهشی و افزایشی در میزان هماتوکریت برخی تیمارها، همه‌ی اعداد در مقایسه با گروه شاهد در دامنه‌ی طبیعی قرار دارند. میانگین و انحراف معیار شاخص‌های خون‌شناسی در جدول‌های (۱، ۲، ۳ و ۴) آورده شده است.

طبق نتایج بیشترین میزان هموگلوبین در روزهای مختلف نمونه‌گیری در تیمار ۵۰ درصد نانو ذرات نقره سنتز شده به دست آمد که در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱: نتایج حاصل از تغییرات هماتوکریت و هموگلوبین در ماهی کپور معمولی پس از رویارویی با نانو ذرات نقره سنتز شده از جلبک سارگاسوم.

شاخص‌ها	روز	شاهد	۱ درصد نانو نقره جلبک	۱۰ درصد نانو نقره جلبک	۵۰ درصد نانو نقره جلبک
هماتوکریت (PCV) (درصد)	۱	۴۴/۱ ±۸/۶^{Aa}	۴۵/۸۵±۵/۶^{Aa}	۳۳/۷ ±۵/۱^{Ab}	۳۶/۷ ±۵/۳^{Ab}
	۳	۳۹/۳ ±۸/۲^{Aa}	۴۵/۶۶ ±۸/۳^{Ab}	۳۴/۵ ±۵/۳ ^{Aa}	۴۰/۶ ±۷/۹ ^{Aa}
	۷	۴۳ ±۷/۹^{Aa}	۴۵/۲۸ ±۶/ ۶^{Aa}	۳۷/۹۴ ±۷/۱^{Aa}	۳۶/۵۷ ±۸/۱ ^{Aa}
	۱۴	۴۵/۸ ±۱۰/۴ ^{Aa}	۳۷ ±۷/۶ ^{Ba}	۳۷/۴ ±۶/۷ ^{Aa}	۴۳/۱ ±۵/۶ ^{Aa}
هموگلوبین (Hb) گرم در دسی لیتر	۱	۶/۶۷ ±۱/ ۳^{Aa}	۶/۹۲ ±۰/ ۸^{Aa}	۴/۶۳ ±۱/۴^{Aa}	۱۲/۵۳±۱/۷^{Ab}
	۳	۵/۹±۲/۱^{Aa}	۶/۶ ±۱/ ۱^{Aa}	۶/۰۶ ±۰/۱^{Aa}	۱۰/۰۹±۱/۶^{Bb}
	۷	۶/۹±۱/۳^{Aa}	۷/۶۴±۲/۲^{Aa}	۵ ±۱/۹^{Ab}	۱۰/۳ ±۱/۴^{Bc}
	۱۴	۷/۱±۲/۳^{Aa}	۷/۶ ±۱/۲ ^{Aa}	۵/۰۴ ±۱/۹ ^{Ab}	۸/۷ ±۱/۶^{Bc}

حروف غیر همنام کوچک در ردیف‌ها، نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در هر شاخص بین تیمارها ($P<۰/۰۵$) و حروف غیر همنام بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در بین روزهای مختلف نمونه‌گیری ($P<۰/۰۵$) برای هر تیمار می‌باشند.

وزن متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) در تیمار ۵۰ و ۱ درصد LC_{50} نانو ذرات نقره سنتز شده در روزهای ۷ و ۱۴ در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲). نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC) در روزهای ۱، ۳ و ۷ نمونه‌برداری فقط در تیمار ۵۰ درصد به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد و سایر تیمارهای نانو ذرات نقره بیوسنتزی بود اما در روز ۱۴ هر ۳ تیمار نانو ذرات نقره سنتز شده با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشتند. حجم متوسط گلبولی (MCV) در روز ۱ نمونه‌برداری در تیمارهای۱ و ۱۰ درصد LC_{50} مقادیر عددی کمتری از گروه شاهد و تیمار ۵۰ درصد LC_{50} داشتند و ازلحاظ آماری نیز این اختلاف معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). طبق نتایج، در روزهای ۳ و ۱۴ نمونه‌برداری، حجم متوسط گلبولی (MCV) در رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره، در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p> ۰/۰۵$).

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

جدول ۲: نتایج شاخص‌های گلبولی در ماهی کپور معمولی در رویارویی با نانو ذرات نقره سنتز شده از جلبک سارگاسوم.

	روز	شاهد	۱ درصد نانو نقره جلبک	۱۰ درصد نانو نقره جلبک	۵۰ درصد نانو نقره جلبک
وزن متوسط هموگلوبین گلبولی ((MCH(پیکوگرم)	۱	۳۸/۲ ±۶/ ۴Aa	۲۹/۱ ±۱۱/۵ Aa	۲۶/۳±۱۰/۲ Aa	۱۰۶/۹ ±۳۲/۴Ab
	۳	۴۹/۵ ±۱۳/۸ Aa	۳۹/۳ ±۵/۸ Aa	۴۳/۳ ±۶/۲ Aa	۶۹/۹±۱۲/۱Bb
	۷	۴۰/۵ ±۹/۲Aa	۶۶/۲۷ ±۱۰/۵ Bb	۳۲/۹ ±۲۵/۸ Aa	۶۲/۹ ±۹/۵Bb
	۱۴	۴۲/۹ ±۹/۲Aa	۶۶/۳ ±۱۲/۲ Bb	۴۳/۳ ±۱۳/۸ Aa	۶۴/۳ ±۱۲/۳Bb
نسبت هموگلوبین گلبولی (MCHC) (درصد)	۱	۱۴/۲ ±۶/۳ Aa	۱۴/۱ ±۲Aa	۱۵/۹ ±۱۴/۷ Aa	۳۵/۳ ±۱۲/۳Bb
	۳	۱۷/۱ ±۵/۸ Aa	۱۹/۵ ±۵/۶ ABa	۱۸/۲۵ ±۵/۷ Aa	۲۷/۳۰ ±۵/۱ Ab
	۷	۱۵/۸۳ ±۵/۲ Aa	۲۰/۸۵±۳/۳ ABa	۱۸/۲ ±۵/۹ Aa	۲۸ ±۵/۳ABb
	۱۴	۱۳/۶ ±۴/۸ Aa	۲۲/۳ ±۵/۳ Bb	۱۹/۲۷ ±۴/۸ Ab	۲۱ ±۴/۲Ab
حجم متوسط گلبولی (MCV) (فمتولیتر)	۱	۲۹۸/۹ ±۶۷/۷ Aa	۲۲۱ ±۳۶/۴ Ab	۱۷۴/۷ ±۲۵/۷ Ab	۲۷۳/۹ ±۸۷/۷Aa
	۳	۲۵۴/۱ ±۸۲/۷ Aa	۲۴۲ ±۵۶/ ۶Aa	۲۴۳/۹ ±۶۲/۹ ABa	۲۷۳/۲ ±۵۹/۴Aa
	۷	۲۸۴/۶ ±۵۶/۲ Aa	۳۱۷/۹ ±۴/ ۵Ba	۲۲۰ ±۴۹/۲ ABb	۲۲۷ ±۵۵/۷ Ab
	۱۴	۲۸۸/۶ ±۵۲/۲ Aa	۲۹۲ ±۱۹/۲ Ba	۲۷۵/۳ ±۷۵/۵ Ba	۲۶۹ ±۶۱/۵Aa

حروف غیر همنام کوچک در ردیف‌ها، نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در هر شاخص بین تیمارها (P<۰/۰۵) و حروف بزرگ یکسان و حروف بزرگ دوتایی در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در بین روزهای مختلف نمونه‌گیری (P>۰/۰۵) برای هر تیمار می‌باشند.

جدول ۳: نتایج شمارش تام گلبول‌های سفید و قرمز در ماهی کپور معمولی در رویارویی با نانو ذرات نقره سنتز شده از جلبک سارگاسوم.

شاخص‌ها	روز	شاهد	۱ درصد عصاره جلبک	۱۰ درصد عصاره جلبک	۵۰ درصد عصاره جلبک
گلبول قرمز (RBC) ($10^6/\mu L^{-1}$)	۱	۱/۶۶ ±۰/۳Aab	۲/۰۶ ±۰/۲۴Ab	۱/۹۹ ±۰/۱۴Ab	۱/۳۳±۰/۱۴Bc
	۳	۱/۶ ±۰/۴ Aab	۱/۸۹ ±۰/۲۵Ab	۱/۲۷ ±۰/۳۸Ba	۱/۵ ±۰/۲۱Aa
	۷	۱/۵ ±۰/۲Aa	۱/۷۸ ±۰/۰۱Ab	۱/۶۸ ±۰/۲۳ Aab	۱/۶۶ ±۰/۱۹ Aab
	۱۴	۱/۵ ±۰/۲ Aa	۱/۳۹ ±۰/۲۴Ba	۱/۳۷ ±۰/۲Ba	۱/۵۹±۰/۳۵Aa
گلبول سفید (WBC) ($10^4/\mu L^{-1}$)	۱	./۹۷ ±۰/۱۸Aa	۲/۷۵ ±۰/۹Ab	۲/۶ ±۰/۶۴ Ab	۱/۴±۰/۶۹ Aa
	۳	۱/۳ ±۰/۸۶ Aa	۲ ±۰/۳ ABa	۳/۷ ±۰/۹۹Bb	۲/۰۴±۰/۶۲Ba
	۷	۱/۱ ±۰/۱۹Aa	۲/۰۳ ±۰/۷۷ABb	۱/۹۳±۰/۲۸Ab	۱/۶۷ ±۰/۲۵ABb
	۱۴	۱/۱ ±۰/۱۹ Aa	۱/۳۶ ±۰/۴۹Ba	۱/۹۹ ±۰/۹Aa	۱/۵۱±۰/۳۲Aa

حروف غیر همنام کوچک در ردیف‌ها، نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در هر شاخص بین تیمارها (P<۰/۰۵) و حروف بزرگ یکسان و حروف بزرگ دوتایی در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در بین روزهای مختلف نمونه‌گیری (P>۰/۰۵) برای هر تیمار می‌باشند.

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

جدول ٤: نتایج شمارش افتراقی (درصد) گلبول‌های سفید در ماهی کپور معمولی در رویارویی با نانو ذرات نقره سنتز شده از جلبک سارگاسوم.

شاخص‌ها	روز	شاهد	۱ درصد نانو نقره جلبک	۱۰ درصد نانو نقره جلبک	۵۰ درصد نانو نقره جلبک
لنفوسیت (درصد)	۱	۹۵/۳±۱/۵۲^{Aa}	۸۱±۲/۳۲^{Aa}	۸۶±۷/۶^{Aa}	۸۶±۵/۲^{Aa}
	۳	۹۵/۳±۱/۵۲^{Aa}	۹۶±۲/۳^{Aa}	۸۱±۷/۲^{Aa}	۹۸±۲/۳^{Aa}
	۷	۹۵/۳±۱/۵۲^{Aa}	۸۶±۷^{Aa}	۸۲±۷/۳^{Aa}	۹۲±۷/۶^{Aa}
	۱۴	۹۵/۳±۱/۵۲^{Aa}	۹۳/۳±۲/۲^{Aa}	۹۶±۱/۲^{Aa}	۹۶±۱/۲^{Aa}
هتروفیل (درصد)	۱	۴/۵۷±۱/۱^{Aa}	۱۸/۶۵±۱/۴^{Aa}	۱۰/۲۶±۰/۵^{Aa}	۱۰/۳۲±۱/۱^{Aa}
	۳	۴/۵۷±۱/۱^{Aa}	۳/۳±۲/۱^{Aa}	۱۸/۳±۱/۱^{Aa}	۱/۳±۱/۴^{Aa}
	۷	۴/۵۷±۱/۱^{Aa}	۱۳/۳±۱/۱ ^{Aa}	۱۴/۳±۱/۱ ^{Aa}	۳/۳±۱/۰۴ ^{Aa}
	۱۴	۳/۵±۱/۱^{Aa}	۶/۳±۱/۱^{Aa}	۳/۶±۱/۱^{Aa}	۲/۳±۱/۱^{Aa}
مونوسیت (درصد)	۱	۰/۰۰۱±۰ ^{Aa}	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}	۳±۱/۱^{Ba}	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}
	۳	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}	۰/۳±۰/۱ ^{Aa}	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}
	۷	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}	۰/۰۰۱±۰^{Aa}	۳±۱/۱^{Bb}	۱±۰/۸^{Bab}
	۱۴	۰/۶±۰/۰۱^{Aa}	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}	۰/۰۰۱ ±۰ ^{Aa}

حروف همنام کوچک و حروف کوچک دوتایی در ردیف‌ها، نشان‌دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌دار در هر شاخص بین تیمارها (P>۰/۰۵) و حروف غیر همنام بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در بین روزهای مختلف نمونه‌گیری (P<۰/۰۵) برای هر تیمار می‌باشند.

تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار ۱ درصد LC_{50} نانو ذرات نقره سنتز شده در روز ۷ نمونه‌برداری با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت، ولی در روز ۱۴ نمونه‌برداری بین تیمارهای نانو ذرات نقره سنتز شده و گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

طبق آزمون آماری در روز ۷ نمونه‌برداری تعداد گلبول‌های سفید در رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده با تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (P< ۰/۰۵) ولی در روز ۱۴ نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مقادیر گلبول‌های سفید در بین روزهای مختلف پژوهش در برخی تیمارهای نانو ذرات نقره سنتز شده ازنظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) به‌طوری‌که در تیمار ۱ درصد LC_{50} بیشترین مقادیر گلبول‌های سفید در روز ۱ و در تیمار ۱۰ و ۵۰ درصد LC_{50} نیز حداکثر مقادیر گلبول‌های سفید در روز سوم آزمایش مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

اخیراً سنتز نانوذرات با استفاده از گیاهان و جلبک‌های دریایی به خاطر سازگاری این روش با محیطزیست و کاهش دادن سمیت نانو ذرات رایج گردیده است (Song *et al.*, 2009). مطالعات نشان داده‌اند که برخی مولکول‌های بزرگ ازجمله پروتئین‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها و برخی دیگر از ترکیبات شیمیایی گیاهی موجود در جلبک‌های دریایی قادر به احیاء یون‌های فلزی به فرم نانو می‌باشند و علاوه بر این در پوشش نانو ذرات سنتز شده و پایداری آن‌ها نیز اهمیت دارند (Vedpriya, 2010).

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه درمجموع می‌توان گفت شاخص‌های اریتروسیت (گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت) در این آزمایش هرچند در روزهای ابتدایی افزایش یافتند ولی در روز ۱۴ نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل نشان ندادند، تنها استثنا میزان هموگلوبین در روز ۱۴ آزمایش بود که در تیمار ۵۰ درصد LC_{50} نسبت به گروه شاهد افزایش و نسبت به تیمار ۱۰ درصد LC_{50} کاهش‌یافته بود. مطالعات نشان داده است که نانو ذرات با چسبیدن به سطوح آبشش و آسیب به لایه‌های سطحی آبشش می‌توانند موجب هیپوکسی و اختلال

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

در تنفس گردند (Li *et al*., 2009). افزایش شاخص‌های اریتروسیت اغلب به دلیل دهیدراته شدن و هیپوکسی اتفاق می‌افتد و به دنبال آن افزایش رهاسازی گلبول‌های قرمز را به درون جریان خون موجب می‌شود. به‌علاوه در شرایط استرس، گلبول‌های قرمز نابالغ از طحال رهاسازی می‌شوند و میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت افزایش خواهد یافت (Di Giulio *et al*., 2008). به نظر می‌رسد در این مطالعه نیز افزایش نیاز اکسیژنی ماهی در رویارویی با استرس منجر به بروز این تغییرات شده باشد که معمولاً به دلیل افزایش تقاضای انرژی برای رویارویی با شرایط استرس‌زا است. به دلیل آنکه قسمت اعظم اکسیژن به‌صورت اتصال با هموگلوبین در گلبول قرمز منتقل می‌شود، در شرایط استرس‌زا معمولاً تعداد گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد که خود منجر به افزایش هموگلوبین و هماتوکریت خواهد شد. کاهش در میزان هموگلوبین و هماتوکریت می‌تواند ناشی از تغییر در بافت آب‌شش به دلیل سمیت نانو ذرات باشد، همچنین افزایش در میزان هموگلوبین و هماتوکریت انعکاس‌دهنده افزایش نیاز اکسیژنی ناشی از سمیت نانو ذرات نقره است؛ افزایش میزان هموگلوبین در تیمار ۵۰ درصد LC_{50} نانو ذرات نقره سنتزی نشان‌دهنده سمیت بیشتر این غلظت می‌باشد. در یک پژوهش Khabbazi و همکاران (۲۰۱۵)، گزارش کردند ماهی قزل الا در معرض نانو ذرات مس، افزایش در میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت را نشان داد، ولی در مطالعه‌ی حاضر اختلاف معنی‌داری در این شاخص‌ها (به‌جز هموگلوبین در تیمار ۵۰ درصد LC_{50}) با گروه کنترل مشاهده نگردید و این می‌تواند به دلیل کاهش سمیت نانو ذرات نقره‌ی بیوسنتزی باگذشت زمان باشد. در موافقت با نتایج مطالعه حاضر، رزم‌آرا و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه‌ای اثر نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی گربه‌ماهی *(Pangasius hypophthalmus)* را بررسی و گزارش کردند که در روز اول رویارویی با نانو ذرات نقره تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هماتوکریت و هموگلوبین افزایش یافت اما در روز دهم اختلافی با گروه شاهد مشاهده نگردید. مشابه با نتایج این پژوهش، Karthikeyeni و همکاران (۲۰۱۳) افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین را پس از رویارویی با نانو ذرات اکسید آهن درماهی تیلاپیای موزامبیک گزارش کردند، بااین‌وجود، آن‌ها تفاوت معنی‌داری در سه شاخص موردبررسی در روز دهم مشاهده نکردند که این وضعیت می‌تواند ناشی از ایجاد حالت سازگاری درماهی تیلاپیای موزامبیک پس از گذشت زمان باشد. از سوی دیگر این محققان گزارش کردند که رویارویی با نانو ذرات اکسید آهن پس از ۹۶ ساعت سبب افزایش MCV و MCH در تیلاپیای موزامبیک شد. Remya و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که نانو ذرات اکسید آهن باعث کاهش اندیس‌های گلبولی در ماهی کپور هندی (*Labeor ohita*) گردید. در مطالعه انجام‌شده بر روی سمیت نانوذرات اکسید مس در گورخر ماهی توسط Griffitt و همکاران (۲۰۰۷)، مشخص گردید که در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر پس از ۴۸ ساعت تلفات رخ می‌دهد. Kannan و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که نانو نقره سنتز شده به روش زیستی، اختلاف معنی‌داری را در شمارش گلبول‌های قرمز خون با گروه کنترل موجب نگردید و تأثیری بر پروسه خون‌سازی ماهی زبرا (*Danio rerio*) نداشت. در مطالعه حاضر در طی دوره آزمایش مرگ‌ومیری رخ نداد ولی در غلظت‌های بالای نانو ذرات بیوسنتز شده، تغییرات رفتاری ازجمله عدم تعادل و بلع هوا مشاهده گردید. در ابتدای این مطالعه افزایش در تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هماتوکریت و هموگلوبین مشاهده شد که می‌تواند ناشی از استرس و درنتیجه تحریک بافت خون‌ساز باشد اما در انتهای پژوهش اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد که نشانگر ایجاد حالت سازگاری در ماهیان پس از برخورد با عوامل استرس‌زا است. در توجیه افزایش میزان هموگلوبین در تیمار ۵۰ درصد LC_{50} نسبت به سایر تیمارها می‌توان اظهار داشت در غلظت بیشتر، سمیت نانو ذرات افزایش‌یافته و در پاسخ به افزایش نیاز متابولیکی بدن، میزان هموگلوبین افزایش‌یافته است.

در این مطالعه مقدار هماتوکریت و هموگلوبین نسبت به تیمار شاهد دارای نوسانات افزایشی و کاهشی است، به‌طوری‌که MCV در روز اول پژوهش به دلیل افزایش گلبول‌های قرمز نسبت به سایر تیمارهای نانو ذرات نقره سنتزی افزایش یافت اما در روز ۱۴ آزمایش هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. همچنین MCH نیز با توجه به افزایش قابل‌توجه هموگلوبین در غلظت ۵۰ درصد کشندگی (LC_{50}) در روزهای ۱ و ۳ نسبت به سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت. کاهش مقادیر MCV بیان می‌دارد که افزایش تعداد گلبول‌های قرمز با افزایش هماتوکریت همراه نبوده، بنابراین اندازه‌ی سلول‌ها کوچک‌تر از اندازه‌ی آن‌ها در گروه شاهد است. این وضعیت می‌تواند بیانگر تولید بالای گلبول‌های قرمز در شرایط هیپوکسی باشد. از سوی دیگر کاهش مقادیر MCH نسبت به تیمار شاهد نشان می‌دهد که سرعت ساخت هموگلوبین با سرعت

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

ساخته‌شدن گلبول‌های قرمز متناسب نبوده است، یا به‌بیان‌دیگر سرعت تکثیر سلول‌های دودمانی گلبول قرمز بالاتر از میزان سنتز هموگلوبین در سلول بوده است. نتایج متناقضی در خصوص تأثیر عوامل استرس‌زا ازجمله آلاینده‌های محیطی بر شاخص‌های گلبولی وجود دارد. به‌طورکلی پاسخ‌های بافت‌های مختلف موجودات آبزی به نانوذرات وابسته به خصوصیات فیزیکی شیمیایی آن‌ها، غلظت مورداستفاده و طول دوره رویارویی است. علاوه بر این نانو ذرات کوچک‌تر به دلیل واکنش‌پذیرتر بودن و نفوذ راحت‌تر به درون سلول‌ها سمیت بیشتری در مقایسه با ذرات بزرگ‌تر دارند (Liu *et al*., 2014).

تغییرات در کیفیت و کمیت سلول‌های خونی زمانی اتفاق می‌افتد که امر غیرعادی در ترکیبات خون رخ‌داده باشد و یا در وظایف نرمال آن‌ها مشکل ایجاد شود (Griffin *et al*., 2007). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت این تغییرات در شاخص‌های گلبول‌های قرمز ناشی از پاسخ به جذب ناقص اکسیژن به‌واسطه سمیت نانو ذرات نقره اثرگذاری مستقیم بر بافت آبشش می‌باشد.

Johari وهمکاران (۲۰۱۳) اثرات نانوذرات کلوئیدی نقره در مراحل مختلف زندگی قزل‌آلای رنگین‌کمان و نیز برخی شاخص‌های خونی را بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که بیشترین سمیت این ماده به ترتیب مربوط به جنین، لارو و ماهیان نوجوان بود و LC50 ۹۶ ساعته در آن‌ها به ترتیب ۰/۲۵، ۰/۷۱ و ۲/۱۶ میلی‌گرم در لیتر گزارش گردید. همچنین آن‌ها نشان دادند که با افزایش غلظت نانو ذرات میزان یون‌های کلر و پتاسیم پلاسمای خون کاهش و کورتیزول و کولین استراز افزایش می‌یابند.

Shaluei و همکاران (۲۰۱۳) LC50 ۹۶ ساعته‌ی نانوذرات نقره در کپور نقره‌ای را ۰/۲۰۲ میلی‌گرم در لیتر گزارش کرده و ۱۰ و ۲۰ درصد از LC50 (۰/۰۴ و ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر) را برای ارزیابی برخی شاخص‌های خونی به مدت ۱۴ روز بررسی کردند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در هر دو غلظت به‌طور قابل‌توجهی کاهش و تعداد گلبول‌های سفید، MCH، MCHC، کورتیزول و گلوکز در طی دوره‌ی آزمایش به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافتند.

طبق نتایج مطالعه حاضر نیز، تعداد گلبول‌های سفید در رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره نسبت به گروه شاهد، افزایش معنی‌داری نشان داد. بیشترین افزایش تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۱۰ درصد LC_{50} نانو ذرات نقره سنتز شده مشاهده گردید. مشخص‌شده است که افزایش تعداد گلبول‌های سفید در رویارویی با نانو ذرات فلزی می‌تواند به‌واسطه اثر ترکیبی هورمون‌های استرس ازجمله کورتیزول بوده (Natale *et al*., 1973) و یا اینکه به دلیل رادیکال‌های آزاد تولیدشده به‌واسطه‌ی نانو ذرات نقره و توانایی این نانو ذرات در القاء پاسخ التهابی در ماهی می‌باشد (Canesi *et al*., 2010). نتایج دیگر پژوهشگران نیز نشان داده است که نانو ذرات فلزی سبب تولید اکسی‌رادیکال‌ها و درنتیجه سبب سمیت سلولی از طریق تولید اکسیژن واکنش‌دهنده می‌شوند (Li *et al*., 2008). تغییرات در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید بیانگر اختلال در عملکرد کلیه و طحال یا وجود بیماری عفونی است. همچنین نوسان در شاخص‌های لکوسیت به‌عنوان ایمنی سلولی غیراختصاصی به‌عنوان یک شاخص مناسب در پاسخ به استرس در ماهی در نظر گرفته‌شده است و مقادیر نرمال گلبول سفید بیانگر سلامت ماهی است. در این مطالعه در غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره سنتز شده، افزایش در تعداد گلبول‌های سفید در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده گردید. پژوهشگران اظهار داشته‌اند که تعداد گلبول‌های سفید در ابتدا به‌منظور مقابله با این نانو ذرات افزایش می‌یابند، اما باگذشت زمان به دلیل ضعف سیستم ایمنی و ضعیف شدن بدن، تعداد گلبول‌های سفید کاهش می‌یابد (رضایی‌زارچی، ۱۳۹۰)، که نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر با این یافته مطابقت ندارد و می‌توان اظهار نمود که در طی مدت ۲ هفته سیستم ایمنی غیراختصاصی بدن توانایی مقابله با غلظت مورداستفاده از نانو ذرات نقره‌ی بیوسنتزی را داشته و البته برای تائید این نتیجه نیاز است تا تعداد گلبول‌های سفید در مدت‌زمان طولانی‌تری موردبررسی قرار گیرند. Jovanovic و همکاران (۲۰۱۱)، با بررسی اثرات نانو ذرات تیتانیوم بر ماهی قنات سر چرب (*Pimephales promelas*) بیان کردند که هیچ اختلاف معنی‌داری در شمارش گلبول‌های سفید ماهیان رویارویی شده با نانو ذرات تیتانیوم با گروه شاهد مشاهده نشد.

Kannan و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش کردند که در ماهی زبرا (*Danio rerio*) در رویارویی با نانو ذرات نقره، تغییرات چشم‌گیری در شمارش گلبول‌های سفید با گروه شاهد مشاهده نشد و تعداد گلبول‌های سفید در محدوده نرمال بودند.

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

تغییر در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی ایمنی بدن در رویارویی با مواد آلاینده مورداستفاده قرار گیرد (Adedeji *et al*., 2009). در این مطالعه اختلاف معنی‌داری در درصد لنفوسیت و هتروفیل در طی روزهای نمونه‌برداری مشاهده نشد ولی میزان مونوسیت در تیمار ۱ و ۱۰ **درصد** LC_{50} در روز ۷ با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد. مطالعات اندکی تأثیر نانو ذرات نقره را برشمارش افتراقی گلبول‌های سفید ماهیان گزارش کرده‌اند. برخلاف نتایج ما، رزم‌آرا و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند که نانو ذرات نقره موجب افزایش درصد نوتروفیل و کاهش درصد لنفوسیت و مونوسیت در گربه‌ماهی رنگین‌کمان گشته است. Khabbazi و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش کردند که نانو ذرات اکسید مس باعث کاهش معنی‌دار در میزان لنفوسیت و باعث نوتروفیلی در قزل الای رنگین‌کمان گردیده است.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نانو ذرات سنتز شده از جلبک بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی در طی ۲ هفته دوره‌ی آزمایش اثر منفی قابل‌توجهی نداشت ولی تغییرات در شمارش گلبول‌های سفید و نوسانات کاهشی و افزایشی در شاخص‌های خونی به‌ویژه هموگلوبین مؤید این امر می‌باشد که سیستم ایمنی ماهی و بافت‌های خون‌ساز تحت تأثیر نانو ذرات نقره قرارگرفته و این امر در غلظت بالاتر نانو ذرات نقره (۵۰ درصد LC_{50}) به‌خوبی روشن است ولی این تغییرات به‌اندازه‌ای نبوده که منجر به تضعیف سیستم ایمنی غیراختصاصی گردد، بنابراین با توجه به سمیت کمتر و غلظت کشنده میانی بیشتر نانو ذرات بیوسنتز شده توسط جلبک‌های دریایی توصیه می‌گردد که این‌گونه نانو ذرات فلزی جایگزین نانو ذرات سنتز شده به روش شیمیایی گردند. همچنین پیشنهاد می‌گردد اثرات مزمن نانو ذرات نقره بیوسنتز شده بر روی سیستم ایمنی اختصاصی و آسیب‌های بافتی ماهیان موردبررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح پژوهانه انجام گردیده است و از اعطای پژوهانه از طرف معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز سپاسگزاری و قدردانی می‌گردد.

منابع

بیتا، س.، مصباح، م.، شهریاری، ع. و قربانپور نجف آبادی ، م.، ۱۳۹۵. بررسی سمیت نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره الکلی جلبک دریایی *سارگاسوم آنگوستیفولیوم* در ماهی کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۷۱، شماره ۲، صفحات ۲۲۷-۲۱۹.

رضایی‌زارچی، س.، ۱۳۹۰. اثر نانو ذرات اکسید تیتانیوم روی میزان سلول‌های خونی و آنزیم‌های کبدی موجود در خون رت‌های نژاد ویستار. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۹ (۵): صفحات ۶۲۶-۶۱۸.

رزم آرا، پ.، پیکان حیرتی، ف. و درافشان، س.، ۱۳۹۳. اثر نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های خون شناسی گربه ماهی رنگین کمان (*Pangasius hypophthalmus*). مجله سلول و بافت، جلد ۵، شماره ۳، صفحات ۲۷۲-۲۶۳.

Adedeji, O. B., Adeyemo, O. K. and Agbede, S. A., 2009. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clariasgariepinus*). African Journal of Biotechnology, 8 (16): 3940-3946.

Bita, S., Abdollahzadeh Jamalabadi, M. Y. Mesbah, M., 2015. Toxicity study of silver nanoparticles synthesized using seaweed Sargassum angustifolium in common carp, *Cyprinus carpio*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(11): 91-98.

Canesi, L., Ciacci, C., Vallotto, D., Gallo, G., Marcomini, A. and Pojana, G., 2010. In vitro effects of suspensions of selected nanoparticles (C60 fullerene, TiO2, SiO2) on *Mytilus* hemocytes. Aquatic Toxicology, 96: 151-158.

Di Giulio, R. T. and Hinton, D. E., 2008. The Toxicology of Fishes. (1st ed.) CRC Press, Taylor and Francis Group.Boca, Raton, USA.

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

Fanouraki, E., Divanach, P. and Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pagrus pagrus*). Aquaculture, 265(1): 294-304.

Feldman, B. F., Zinkl, J. G. and Jain, N. C., 2000. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins. Pp. 1120-1124 .

Griffin, B. R. and Mitchell, A. J., 2007. Susceptibility of channel catfish, Ictalurus punctatus (Rafinesque), to *Edwardsiellaictaluri* challenge following copper sulphate exposure. Journal of Fish Diseases, 30 (10): 581- 585.

Griffitt, R. J., Weil, R. and Hyndman, K. A., 2007. Exposure to copper nanoparticles causes gill injury and acute lethality in zebrafish (*Danio rerio*). Environmental Science and Technology, 41: 8178–8186.

Jawad, L. A., Al-Mukhtar, M. A. and Ahmed, H. K., 2004. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilisha* (Family: Clopeidae). Animal Biodiversity and Conservation, 27 (2): 47-52.

Jegadeeswaran, P., Shivaraj, R. and Venckatesh, R., 2012. Green synthesis of silver nanoparticles from extract of *Padinatatrastromatica* laef. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 7: 991 – 998.

Johari, S. A., Kalbassi, M. R., Soltani, M. and Yu, I. J., 2013. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 12(1): 76 -95.

Jovanovic, B., Anastasova, L., Rowe, E. W., Zhang, Y., Clapp, A. R. and Palic, D., 2011. Effects of nanosized titanium dioxide on innate immune system of fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). Ecotoxicology Environmental Safety, 74: 675-683.

Kannan, R. R., Jerley, A. J., Ranjani, M. and Gnana Prakash, V. S., 2011. Antimicrobial silver nanoparticle induces organ deformities in the developing Zebrafish (*Danio rerio*) embryos. Journal of Biomedical Science and Engineering, 4: 248-254.

Karthikeyeni, S., Vijayakumar, T. S., Vasanth, S. and Ganesh, A., 2013. Biosynthesis of Iron oxide nanoparticles and its haematological effects on fresh water fish Oreochromis mossambicus. Journal of Academic and Industrial Research, 1(10): 645-649.

Khabbazi, M., Harsij, M., Hedayati, S. A., Gholipoor, H., Gerami, M. H. and Ghafari Farsani, H., 2015. Effect of CuO nanoparticles on some hematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss)* and their potential toxicity. International Journal of Nanomedicine, 2(1): 67-73.

Li, H., Zhou, Q., Wu, Y., Fu, J., Wang, Th. and Jiang, G., 2009. Effects of waterborne nano-iron on medaka (Oryzias latipes): Antioxidant enzymatic activity, lipid peroxidation and histopathology. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72: 684–692.

Li, H. C., Zhang, J .S., Wang, T., Luo, W. R., Zhou, Q. F. and Jiang, G. B., 2008. Elemental selenium particles at nano-size (Nano-Se) are more toxic to medaka (*Oryzias latipes*) as a consequence of hyper-accumulation of selenium: a comparison with sodium selenite. Aquatic Toxicology, 89: 251–256.

Liu, Y., Tourbinf, M., Lachaize, S. and Guiraud, P., 2014. Nanoparticles in wastewaters: hazards, fate and remediation. Powder Technology, 255:149–156.

Mansuya, P., Aruna, P., Sridhar, S., Kumar, J.S. and Babu, S., 2010. Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected seaweeds from Gulf of Mannar Region. Journal of Experimental Science, 1 (8): 23-26.

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 12:32 +0430 on Monday June 21st 2021

Natale, V. M., Brenner, I.K., Moldoveanu, A. I., Vasiliou, P., Shek, P. and Peterson, R.P., Jensen, L. S. and Harrison, P .C., 1973. Effect of Silver-Induced Enlarged Hearts during the First four Weeks of Life on Subsequent Performance of Turkeys. Avian Diseases, 17(4): 802-806.

Remya, A. S., Ramesh, M., Saravanan, M., Poopal, R. K., Bharathi, S. and Nataraj, D., 2015. Iron oxide nanoparticles to an Indian major carp, *Labeo rohita*: Impacts on hematology, iono regulation and gill Na+/K+ ATPase activity. Journal of King Saud University – Science, 27: 151–160.

Shaluei, F., Hedayati, A., Jahanbakhshi, A. and Baghfalaki, M., 2012. Effects of nanometer-sized silver materials on survival response of Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*). Toxicology and Industrial Health, 28: 157-163.

Shaluei, F., Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., Kolangi, H. and Fotovat, M., 2013. Effect of subacute exposure to silver nanoparticle on some hematological and plasma biochemical indices in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Human and Experimental Toxicology, 32(12): 1270–1277.

Singaravelu, G., Arockiamary, J. S., Kumar, V. G. and Govindaraju, K., 2007. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 57(1): 97-101.

Song, K. C., Lee, S. M., Park, T. S. and Lee, B. S., 2009. Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. Korean Journal of Chemistry Engineering, 26: 153-155.

Strunk, J., Kahler, K., Xia, X. and Muhler, M., 2009. The surface chemistry of ZnO nanoparticles applied as heterogeneous catalysts in methanol synthesis. Surface Science, 603 (10-12): 1776-83.

Thrall, M. A., 2004.Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott Whiliams & Wilkins, New York. Pp. 277-288.

Vedpriya, A., 2010. Living Systems: eco-friendly nanofactories. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 5: 9-21.