



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره سوم، شماره دوم، تابستان ۹۴

<http://jair.gonbad.ac.ir>

## بررسی تأثیر سمیت نانو ذرات نقره (نانوکا) بر برخی از پارامترهای خون شناسی

ماهی کاراس طلایی (*Carassius auratus* (Linnaeus, 1758)

صفورا ابرقویی<sup>\*</sup>، سیدعلی اکبر هدایتی<sup>۲</sup>، رسول قربانی<sup>۳</sup>، حامد کلنگی میاندره<sup>۲</sup>

و طاهره باقری<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۲</sup> استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۳</sup> دانشیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

<sup>۴</sup> دانش‌آموخته دکتری شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ ارسال: ۹۲/۱۲/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۲۸

### چکیده

محیط آبی، بستری برای ورود انواع آلاینده‌هاست و اکثر ماهیان در طول زندگی در تماس با مواد داخل آب هستند، در این مطالعه ماهی کاراس طلایی *C. auratus* به دلیل مقاوم بودن و شباهت آناتومیک و فیزیولوژیک با دیگر گونه‌های خانواده کپور ماهیان، به عنوان مدل زیستی جهت بررسی تأثیر سمیت نانو ذرات نقره بر شاخص‌های خونی انتخاب گردید. برای تست‌های خون‌شناسی گروه‌های مورد آزمایش، ۹ ماهی به طور تصادفی از هر تیمار آزمایش که به طور جداگانه در معرض غلظت‌های مؤثر ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۵ میلی‌گرم در لیتر نانو نقره بودند انتخاب شدند. شاخص‌های مورد اندازه‌گیری شامل: تعداد کل گلبول‌های سفید (لوکوسیت)، لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، تعداد کل گلبول‌های قرمز (اریتروسیت)، محتوای هموگلوبین، سطح هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی (MCV)، وزن هموگلوبین داخل گلبولی (MCH) و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی و گلوکز سرم بود. نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز تمام غلظت‌های نانو نقره نسبت به گروه شاهد، کاهش یافت (p<۰/۰۵). همچنین میزان هماتوکریت، MCHC و هموگلوبین خون کاهش پیدا کرد و بین گروه شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت (p<۰/۰۵). اما بین شاخص‌های لوکوسیتی خون ماهی شاهد و سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (p>۰/۰۵). بین گلوکز گروه شاهد و سایر گروه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p>۰/۰۵). به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های مختلف نانو نقره بر

\*نویسنده مسئول: [s.abarghouei@gmail.com](mailto:s.abarghouei@gmail.com)

فاکتورهای اریتروسیتی خون ماهی کاراس طلایی تأثیرگذار است اما بر فاکتورهای لوکوسیتی خون تأثیر چندانی ندارد. غلظت‌های تحت کشنده نانو نقره عامل ایجاد استرس در ماهی کاراس نیستند که امر ممکن است به دلیل مقاوم بودن این ماهی نسبت به ماهیان دیگر باشد.

واژه‌های کلیدی: *C. auratus*، نانو نقره، سم شناسی، خون شناسی

#### مقدمه

با استفاده از فناوری نانو، فلز نقره را به ذراتی کمتر از ۱۰۰ نانومتر تبدیل می‌کنند که به آن نانو-نقره می‌گویند. نانو ذرات نقره عمدتاً به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای که از خود نشان می‌دهند در مصارف الکترونیکی، نوری، دارویی و بهداشتی و کاتالیتیکی کاربرد فراوان دارند. اثر ضد باکتریایی نانو نقره به اثبات رسیده و امروزه در صنایع مختلف کاربرد فراوان دارد (Gong *et al.*, 2007). در واقع نانو ذرات نقره برای عوامل بیماری‌زا یک سم تلقی می‌شود ولی برای بدن انسان، غذاها و بافت‌ها بی‌ضرر است (Blaise *et al.*, 2008). گرایش به استفاده از این مواد در سال‌های اخیر گسترش یافته و کاربرد این مواد در زمینه‌های مختلف در حال گسترش است (Chen and Schluesener, 2008). نانو ذرات نقره به دلیل سایز کوچک خود می‌توانند از کوچک‌ترین مویرگ‌های موجود در بدن و نیز غشاهای بیولوژی عبور کرده و روی فیزیولوژی هر نوع سلول در بدن مؤثر باشند (Sharma *et al.*, 2009). مطالعات خون‌شناسی روش ارزشمندی برای ارزیابی آثار محیطی آلاینده‌ها روی ماهیان می‌باشد (Luskova *et al.*, 1995). خون، شاخص مهمی برای وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت یا بیماری موجودات زنده، از جمله ماهی می‌باشد (Mojabi, 2000).

کورتیزول معمول‌ترین هورمون شاخص استرس در ماهیان می‌باشد و اندازه‌گیری آن می‌تواند نشان‌دهنده بروز استرس و شدت آن باشد، استرس و میزان آن در مدت زمان‌های مختلف، بر میزان کورتیزول ترشح شده اثر گذاشته که به دنبال آن بر میزان گلوکز خون نیز تأثیر می‌گذارد. کاهش گلوکز خون باعث افزایش کورتیزول از ناحیه قشری غده فوق کلیه می‌شود تا با تأثیر بر سایر ذخایر بدن امکان افزایش گلوکز خون فراهم شود. این مکانیزم یک عامل مهم برای حفظ درازمدت میزان گلوکز خون می‌باشد. وجود همبستگی منفی و معنی‌دار بین این دو عامل نیز حاکی از همین مسئله است (Lehninger, 1975). بنابراین با به حداقل رساندن عوامل استرس‌زای غیر از سم (نظیر: تغذیه، زمان خونگیری، استرس دستکاری، تعلل در جدا سازی سرم) می‌توان تغییرات غلظت گلوکز را مستقیماً با تغییرات غلظت‌های نانو نقره مرتبط ساخت.

با توجه به اینکه محیط آبی، بستری برای ورود انواع آلاینده‌هاست و اکثر ماهیان در طول زندگی در تماس با مواد داخل آب هستند، ماهی به‌عنوان یک آبی برای ارزیابی اثر آلاینده‌های محیطی در بوم

سامانه‌های آبی در نظر گرفته می‌شود. در این تحقیق ماهی کاراس طلایی علاوه بر مقاوم بودن، از لحاظ آناتومیک و فیزیولوژیک، بسیار شبیه دیگر گونه‌های کپور ماهیان می‌باشد، لذا به‌عنوان مدل زیستی انتخاب گردید.

## مواد و روش‌ها

تعداد ۱۰۵ قطعه ماهی کاراس طلایی، از مرکز فنی و حرفه‌ای آق‌قلا، با میانگین وزنی  $61/66 \pm 14/57$  گرم و طول کل  $16/33 \pm 0/57$  سانتی‌متر تهیه و به مرکز تحقیقات آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد، ماهیان به‌طور تصادفی در ۱۵ مخزن فایبرگلاس (۴۰۰ لیتری) قرار گرفتند و برای سازگاری به مدت ۲ هفته در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند و با غذای تجاری گلدفیش، به میزان ۲٪ وزن بدن غذادهی شدند. در دوره سازگاری و آزمایش، آب هوادهی شد و برخی مشخصات فیزیوشیمیایی آب به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد. در طول دوره سازگاری و آزمایش ماهیان تحت یک رژیم نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. نانوکلوئید مورد استفاده، از محصولات شرکت نانو کا ساخت کشور ایران، با نام تجاری آنتی میکروبیال پروداکت ۲ با غلظت ۴۰۰۰ ppm نانو نقره، از هر لیتر محلول ضدعفونی کننده تهیه شد.

جهت بررسی اثرات نانو نقره بر پارامترهای خونی ماهی کاراس طلایی، یک گروه به‌عنوان شاهد و چهار گروه تحت غلظت‌های مختلف نانو نقره قرار گرفتند. انتخاب غلظت‌ها، با توجه به مدت زمان آزمایش و پس از تعیین  $LC_{50}$  (سمیت کشندگی حاد)، صورت گرفت.  $LC_{50}$  نانو نقره مورد استفاده در مدت ۹۶ ساعت محاسبه شد که میزان آن، ۲۴/۴ ppm بود. غلظت‌های مؤثر به ترتیب ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۵ بودند و مدت دوره آزمایش دو هفته بود. هر غلظت ذکر شده به یک مخزن ۵۰ لیتری اضافه شد و پیش از انجام آزمایش آب به مدت ۲ دقیقه به شدت هوادهی شد (در هر تیمار ۲۱ قطعه ماهی و برای هر تیمار ۳ تکرار ۷ تایی در نظر گرفته شد). آزمایش به‌طور پویا انجام شد و شرایط فیزیوشیمیایی آب به‌طور روزانه کنترل شد. غذادهی در حد سیری و تعویض آب به صورت یک روز در میان با سیفون کردن از کف به اندازه ۵۰ درصد حجم آب انجام شد و پس از آن غلظت‌ها طبق فرمول  $M_1V_1=M_2V_2$  به مخازن اضافه شد. هیچ‌گونه مرگ و میری در طول آزمایش مشاهده نشد و پس از پایان دوره آزمایش، ماهیان به‌منظور خون‌گیری با پودر گل میخک به اندازه ۲ گرم در لیتر بیهوش شدند (Shaluei *et al.*, 2012).

برای آزمایش‌های بیوشیمیایی و خون‌شناسی، ۹ ماهی به‌طور تصادفی از هر تیمار انتخاب شد که به‌طور جداگانه در معرض غلظت‌های مؤثر ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۵ نانو نقره قرار گرفته بودند. نمونه شاهد در معرض هیچ غلظتی از نانو نقره قرار نگرفت. وقتی ماهیان به مرحله بیهوشی عمیق رسیدند،

سطح بدن خشک و سپس خون‌گیری با قطع ورید ساقه دمی انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی EDTA به‌عنوان ماده ضد انعقاد قرار گرفتند. شاخص‌های مورد اندازه‌گیری شامل: تعداد کل گلبول‌های سفید (لوکوسیت)، لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، تعداد کل گلبول‌های قرمز (اریتروسیت)، محتوای هموگلوبین، سطح هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی (MCV)، وزن هموگلوبین داخل گلبولی (MCH) و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی بود (Svobodova and Vykusová, 1991). شمارش گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز به روش هموسیتومتری انجام گرفت (Rabitto *et al.*, 2005). مقدار هماتوکریت و غلظت هموگلوبین نیز به روش میکروهماتوکریت و سیانومت هموگلوبین سنجش گردید. به منظور شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، گسترش خونی بر روی لام تهیه و گسترش‌های تثبیت شده با استفاده از رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شدند.

برای اندازه‌گیری گلوکز، گلبول‌های قرمز در لوله قرار داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتی‌گراد) فرصت داده شد تا لخته شود. نمونه سرم پس از سانتریفیوژ از لخته جدا شد و به مدت زمان ۵ دقیقه در دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد منجمد شد تا زمانی که آنالیزها روی آن انجام شود. گلوکز خون به‌وسیله روش اسپکتوفتومتری (WPAS2000-UV/VIS کمبریج انگلستان) و با استفاده از کیت پارس آزمون اندازه‌گیری شد. اطلاعات حاصله با استفاده از نرم‌افزار SPSS-20 و با انجام آزمون ANOVA یک‌طرفه و تست توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد ( $p < 0.05$ ) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

## نتایج

طبق نتایج آماری هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در وزن کل و طول کل ماهیان تیمارهای مختلف با گروه شاهد مشاهده نشد (جدول ۱) ( $p > 0.05$ ).

جدول ۱ - نتایج زیست‌سنجی ماهیان ماهی کاراس طلائی *C. auratus* در آزمایش نانو نقره

زیست‌سنجی ماهیان	گروه شاهد	غلظت ۵ (قسمت در میلیون)	غلظت ۱۰ (قسمت در میلیون)	غلظت ۲۰ (قسمت در میلیون)	غلظت ۳۰ (قسمت در میلیون)
طول کل (سانتی‌متر)	۰/۵۷±۱۶/۳۳	۱/۹۳±۱۴/۹۰	۰/۷۶±۱۵/۸۳	۰/۲۸±۱۵/۶۶	۰/۷۶±۱۶/۱۶
وزن کل (گرم)	۱۴/۵۷±۶۱/۶۶	۱۴/۱۵±۴۵/۶۶	۱۴/۷۳±۵۶	۱۰/۰۱±۵۶/۶۶	۳/۵۱±۶۲/۶۶

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

فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب به طور روزانه اندازه گیری شد و مشخصات فیزیوشیمیایی به صورت زیر بود: دما  $19.5 \pm 1$  سانتی گراد، اکسیژن محلول  $8.80 \pm 0.06$  میلی گرم در لیتر، پی اچ  $7.56 \pm 0.45$  سختی کل  $293 \pm 2/35$  میلی گرم در لیتر.

آب به صورت روزانه تعویض و پارامترهای کیفی آب دو بار در هفته اندازه گیری شد. اثر غلظت‌های مختلف نانو نقره بر فاکتورهای خونی ماهی قرمز در جدول ۲ ارائه شده است. تعداد گلبول‌های قرمز نسبت به گروه شاهد در تمام غلظت‌های نانو نقره کاهش معنی دار داشت ( $p < 0.05$ ) اما بین غلظت‌های مختلف نسبت به هم، اختلافی مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). همچنین میزان هماتوکریت کاهش پیدا کرد و بین گروه شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشت ( $p < 0.05$ ) در حالی که غلظت  $5 \text{ ppm}$  نسبت به سایر غلظت‌ها کاهش بیشتری داشت ( $p < 0.05$ ). هموگلوبین خون گروه شاهد با سایر غلظت‌ها اختلاف معنی دار داشت به طوری که بیشترین کاهش را در بالاترین غلظت نشان داد ( $p < 0.05$ )؛ اما بین دو غلظت  $0.5 \text{ ppm}$  و  $1$  کاهش معنی داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ).

جدول ۲- میزان پارامترهای خونی ماهی کاراس طلایی *C. auratus* تحت کشته نانو نقره نانوکا

فاکتورهای اندازه گیری شده	گروه شاهد	غلظت ۰/۱ (قسمت در میلیون)	غلظت ۰/۵ (قسمت در میلیون)	غلظت ۱ (قسمت در میلیون)	غلظت ۵ (قسمت در میلیون)
گلبول قرمز ( $\times 10^6$ میکرولیتر)	$114 \pm 0.5^a$	$0.99 \pm 0.00^b$	$0.98 \pm 0.00^b$	$0.96 \pm 0.02^b$	$0.96 \pm 0.00^b$
هماتوکریت (درصد)	$22.83 \pm 0.25^a$	$22.13 \pm 0.11^b$	$21.86 \pm 0.11^{bc}$	$21.70 \pm 0.10^{bc}$	$21.50 \pm 0.10^d$
هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	$7.56 \pm 0.11^a$	$7.13 \pm 0.11^b$	$6.86 \pm 0.11^c$	$6.70 \pm 0.10^c$	$6.50 \pm 0.10^d$
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	$22.06 \pm 1.01^{ab}$	$15.63 \pm 3.35^b$	$21.8 \pm 1.35^a$	$34.1 \pm 4.39^{ab}$	$24.3 \pm 8.70^a$
گلبول سفید ( $\times 10^4$ میکرولیتر)	$6566.6 \pm 115.70^a$	$7366.6 \pm 321.5^a$	$5173.3 \pm 385.79^a$	$5256.6 \pm 3975.01^a$	$8.33 \pm 3.33 \pm 239.15$
MCHC (گرم بر دسی لیتر)	$33.23 \pm 0.57^a$	$32.20 \pm 0.34^b$	$31.40 \pm 0.34^c$	$30.90 \pm 0.30^c$	$32.23 \pm 0.35^d$
MCV (فمتو لیتر)	$199.36 \pm 7.54^b$	$222.21 \pm 0.38^a$	$221.75 \pm 0.3^a$	$224.45 \pm 0.6^a$	$221.56 \pm 0.69^a$
MCH (پیکو گرم)	$66.03 \pm 2.14^b$	$71.61 \pm 0.91^a$	$69.63 \pm 0.80^a$	$69.96 \pm 0.75^a$	$66.98 \pm 0.53^b$
نوتروفیل (درصد)	$7.66 \pm 0.57^a$	$4.66 \pm 0.57^b$	$6.66 \pm 1.15^a$	$6.33 \pm 0.57^a$	$7.00 \pm 1.00^a$
لنفوسیت	$92 \pm 0.0^a$	$94.66 \pm 0.57^a$	$93.00 \pm 1.00^a$	$93.00 \pm 1.00^a$	$64.66 \pm 4.82^a$
اوتونوفیل (درصد)	$0.33 \pm 0.57^a$	$0.66 \pm 0.57^a$	$0.33 \pm 0.57^a$	$0.66 \pm 0.57^a$	$1.33 \pm 0.57^a$

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

گلوکز خون در غلظت‌های پایین کاهش و در غلظت‌های بالاتر افزایش یافت اما بین گروه شاهد و سایر گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). تعداد گلبول‌های سفید خون در بالاترین و پایین‌ترین غلظت افزایش یافتند ولی بین گروه شاهد با تمام غلظت‌ها، اختلاف معنی داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). MCHC خون گروه شاهد نسبت به سایر غلظت‌ها کاهش یافت ( $p < 0.05$ ) اما بین دو غلظت

۰/۵ppm و ۱ کاهش معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). MCV گروه شاهد نسبت به سایر تیمارها افزایش داشت ( $p < 0/05$ )، اما بین غلظت‌های مختلف نسبت به هم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). MCH گروه شاهد نسبت به غلظت‌های ۰/۵، ۰/۱ و ۱ افزایش معنی‌دار داشت ( $p < 0/05$ ) اما با غلظت ۵ ppm، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). نوتروفیل گروه شاهد به جز غلظت ۰/۱ با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نداشت ( $p > 0/05$ ). لنفوسیت و ائوزینوفیل گروه شاهد با سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌دار نداشت ( $p > 0/05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

نانو مواد تولید شده از مسیرهای مختلف وارد اکوسیستم آب، خاک و هوا می‌شوند و نهایتاً موجودات زنده، به‌دلیل تعامل با این اکوسیستم‌ها در معرض نانو مواد قرار می‌گیرند (Helland *et al.*, 2008). محیط زیست ماهیان و شرایط حاکم بر آن (نظیر آلودگی) بر مقادیر سلول‌های خونی و سایر فاکتورهای خونی تأثیر می‌گذارد که این تغییرات می‌تواند به‌عنوان شاخص زیستی مد نظر قرار گیرد. با توجه به اینکه پارامترهای خونی شرایط نامطلوب محیطی را برای ماهیان سریع‌تر از پارامترهای دیگر نشان می‌دهند، تا حد زیادی برای تعیین وضعیت سلامت و نظارت بر پاسخ‌های استرسی ماهیان برای پیش‌بینی سازگاری‌های فیزیولوژیکی آن‌ها استفاده می‌شود (Luskova *et al.*, 1995).

در مطالعه حاضر، تعداد گلبول‌های قرمز تمام غلظت‌های نانو نقره نسبت به گروه شاهد، کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). همچنین میزان هماتوکریت، MCHC و هموگلوبین خون کاهش پیدا کرد و بین گروه شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0/05$ ). تحت شرایط استرس‌زا، گلبول‌های قرمز نابالغ از طحال آزاد شده و با افزایش متابولیسم، اکسیژن رسانی به ارگان‌های مهم افزایش می‌یابد که به دنبال آن گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و سطح هماتوکریت افزایش می‌یابد (Molinero and Gonzalez, 1995; Shaluei *et al.*, 2012). کاهش شاخص‌های اریتروسیتهی خون به دلیل کم‌خونی رخ می‌دهد. در حالت کم‌خونی، کاهش در تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (Hedayati *et al.*, 2013). شاخص‌های لوکوسیتهی خون شامل گلبول‌های سفید از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها یکی از بخش‌های سیستم ایمنی غیر اختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آن‌ها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس مطرح باشد (Stoskopf, 1993). در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی، کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب ایمنی موجود و افزایش میزان آن‌ها نشان دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد (Adams, 2002). در مطالعه حاضر بین شاخص‌های لوکوسیتهی خون ماهی شاهد و سایر غلظت‌ها اختلاف

معنی دار وجود نداشت اما در پایین ترین غلظت نانو نقره (0/1 ppm) تعداد گلبول های سفید افزایش یافت، در غلظت های 0/5 ppm و 1 کاهش و در غلظت 5 ppm افزایش تعداد گلبول های سفید مشاهده شد هرچند این تغییرات معنی دار نبود اما با مطالعات رضائی زارچی (Rezaei zarchi, 2010) مطابقت دارد که بیان می کند ابتدا بدن، جهت مقابله با نانو ذرات ورودی تولید گلبول های سفید را افزایش می دهد اما از آن جایی که افزایش غلظت نانو نقره، می تواند موجب تغییر در تعداد گلبول های سفید شود، با افزایش از 1 ppm تا 1 گلبول های سفید کاهش پیدا کرد که با مطالعات چن و همکاران (Chen *et al.*, 2006) مطابقت دارد که بیان می کنند افزایش درگیری سلول ها در فرآیند ایمنی، موجب کاهش سلول های خونی می گردد.

به طور کلی نتایج آزمایش حاصل نشان داد که غلظت های مختلف نانو نقره بر فاکتورهای اریتروسیتهی خون ماهی کاراس طلایی تأثیرگذار بود، اما بر فاکتورهای لوکوسیتهی خون تأثیر چندانی نداشت. این امر ممکن است به دلیل مقاوم بودن این ماهی نسبت به ماهیان دیگر باشد و با مطالعات مرتبط که با مقایسه سمیت نانو ذرات نقره در سایر ماهیان نتیجه گرفتند که ماهیان آکواریومی در برابر نانو ذرات نقره مقاومت بیشتری نسبت به ماهیان پرورشی و ماهیان وحشی داشتند مطابقت دارد. همچنین با توجه به اینکه بین گلوکز گروه شاهد و سایر گروهها اختلاف معناداری وجود نداشت می توان نتیجه گرفت که غلظت های تحت کشنده نانو نقره عامل ایجاد استرس در ماهی کاراس طلایی نیستند. در رابطه با سازگاری زیستی نانو ذرات نقره تناقض هایی وجود دارد که می تواند ناشی از ویژگی های خاص ذرات مورد استفاده (اندازه، شکل، غلظت نانو ذرات به کار رفته، پایدار کننده حامل ذرات و غیره) و نوع سلول مورد بررسی و تفاوت در روش های به کار رفته باشد. با توجه به اهمیت موضوع پیشنهاد می شود تا مطالعات بیشتری بر سمیت این ماده توسط محققین انجام پذیرد. پیشنهاد می گردد به دلیل نوظهور بودن نانوذرات و بروز اثرات احتمالی آنها بر اکوسیستم های آبی، طیف وسیعی از این مواد بر آبزیان شاخص و مدل مورد بررسی قرار گیرند تا بتوان ارزیابی جامعی از کاربرد نانو ذرات در فعالیت های انسانی و تعیین مقادیر استاندارد مربوطه نمود.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و با حمایت های مادی و معنوی آن دانشگاه صورت گرفت. همچنین بدین وسیله از شرکت نانوکا و جناب آقای مهندس نظری به خاطر مساعدت در تهیه محلول نانو نقره سپاسگزاری می گردد.

## منابع

- Adams S.M. 2002. Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress. American Fisheries Society, CABI, 720 p.
- Blaise C., Gagne F., Ferard J.F., Eullaffroy P. 2008. Ecotoxicity of selected nanomaterials to aquatic organisms. *Environmental toxicology*, 23(5): 591-598.
- Chen X., Schluesener H.J. 2008. Nanosilver: a nanoparticle in medical application. *Toxicology letters*, 176(1): 1-12.
- Chen Z., Meng H., Xing G., Chen C., Zhao Y., Jia G., Wan L. 2006. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology letters*, 163(2): 109-120.
- Gong P., Li H., He X., Wang K., Hu J., Tan W., Yang X. 2007. Preparation and antibacterial activity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@ Ag nanoparticles. *Nanotechnology*, 18(28): 604-611.
- Hedayati A., Jahanbakhshi A., Ghaderi ramazi F. 2013. Aquatic Toxicology. GAU Publication, 142 p. (In Persian).
- Helland A., Wick P., Koehler A., Schmid K., Som C. 2008. Reviewing the environmental and human health knowledge base of carbon nanotubes. *Ciência & Saúde Coletiva*, 13(2): 441-452.
- Lehninger A.L. 1975. Biochemistry: the Molecular Basis of Cell Structure and Functions. Worth, New York, 659 p.
- Luskova V., Halacka K., Lusk S. 1995. Dynamics of the haemogram in the nase, *Chondrostoma nasus*. *Folia Zoologica*, 44: 69-74.
- Mojabi A. 2000. Veterinary Clinical Biochemistry. Noorbakhsh Press, Tehran, Iran, pp: 477- 479. (In Persian).
- Molinero A., Gonzalez J. 1995. Comparative effects of MS 222 and 2-phenoxyethanol on gilthead sea bream (*Sparus aurata L.*) during confinement. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 111(3): 405-414.
- Rabbito I.S., Alves Costa J.R.M., Silva de Assis H.C., Pelletier E., Akaishi F.M., Anjos A., Oliveira Ribeiro C.A. 2005. Effects of dietary Pb (II) and tributyltin on neotropical fish, *Hoplias malabaricus*: histopathological and biochemical findings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(2): 147-156.
- Rezaei zarchi S. 2010. Effect of Titanium dioxide nanoparticles on the amount of blood cells and liver enzymes in the wistar rats. *Journl of Shahid Sadoughi University of Medical Science*, 19(5): 618-26. (In Persian).
- Shalvei F., Hedayati A., Jahanbakhshi A., Baghfalaki M. 2012. Physiological responses of great sturgeon (*Huso huso*) to different concentrations of 2-phenoxyethanol as an anesthetic. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6): 1627-1634.

- Sharma V.K., Yngard R.A. Lin Y. 2009. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145: 83-96.
- Stoskopf M.A. 1993. *Fish Medicine*. Sounders Company, U.S.A, 882 p.
- Svobodova Z., Vykusová B. 1991. Diagnostics, prevention and therapy of fish diseases and intoxications. *Manual for international training course on Fresh water fish disease and intoxication*, pp: 156-157.

