

علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره بیست و دوم، شماره هشت، آبان ماه ۹۹

بررسی اثر مواجهه با غلظت های تحت کشنده نانو اکسید مس بر فاکتور های رشد و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

حسن صحرایی^{۱*}

Hasansahraei22@gmail.com

سیدعباس حسینی^۲

سیدعلی اکبر هدایتی^۳

رسول قربانی^۳

تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به کاربرد روز افزون نانو ذرات در فعالیت های انسانی، همچنین جایگاه آن در کاهش اثرات نامطلوب فلزات سنگین در بدن موجودات زنده، در تحقیق حاضر به بررسی اثر غلظت های تحت کشنده نانو اکسید مس بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه در ماهی کپور معمولی پرداخته شد.

روش بررسی: ابتدا ۸۴ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی 42 ± 2 گرم تهیه و پس از سازگاری با محیط آزمایشگاهی، به مدت ۴۲ روز و در سه تیمار و سه تکرار بترتیب با غلظت های ۸۰، ۴۰، ۱۰ میلی گرم بر لیتر و یک گروه شاهد با سه تکرار تحت تاثیر غلظت های تحت کشنده نانو اکسید مس قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج آنالیز شاخص های رشد نشان داد که تمامی شاخص های رشد در تیمارهای فلزی نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی داری بودند ($P < 0.05$). به طوری که گروه شاهد دارای بیشترین میانگین افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ SGR، کارایی غذایی و واجد بهترین ضریب تبدیل غذایی با میانگین ۲/۹۳ بود. از طرفی کمترین نرخ رشد ویژه و بیشترین نرخ تبدیل غذایی مربوط به تیمار شماره سه (۸۰ میلی گرم بر لیتر) بود. کمترین میزان درصد خاکستر، چربی، پروتئین و بیشترین درصد رطوبت در گروه شاهد مشاهده شد. همچنین بیشترین درصد خاکستر، پروتئین و چربی در بین تیمارها مربوط به تیمار شماره ۳ با غلظت ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانو اکسید مس بود که از این نظر با گروه شاهد دارای اختلاف معنی داری بود ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: نتایج فوق نشان می دهد که حضور نانو ذرات اکسید مس در اکوسیستم های آبی حتی در غلظت های تحت کشنده اثرات منفی بر روی شاخص های رشد و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهیان داشته که با افزایش میزان غلظت این نانو ذرات در اکوسیستم های آبی تاثیر این اثرات بیش تر نمایان می گردد.

واژه های کلیدی: نانو اکسید مس، ترکیب بیوشیمیایی لاشه، کپور معمولی، نرخ رشد ویژه.

۱- دکترای گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. * (مسئول مکاتبات)

۲- استاد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.

۳- دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.

Sub-Lethal Effects of Exposure to Copper Oxide Nanoparticles on Growth Indices and Body Biochemical Composition of Common Carp (*Cyprinus Carpio*)

Hasan Sahraei ^{1*}

Hasansahraei22@gmail.com

Seyyed Abbas Hoseini ²

Seyyed Aliakbar Hedayati ³

Rasoul Ghorbani ³

Admission Date: May 1, 2018

Date Received: December 2, 2015

Abstract

Background and Objective: Due to the increasing use of nanoparticles in human activities, as well as its role in reducing the adverse effects of heavy metals on living organisms, at this study the effects of sub-lethal concentrations of copper nanoparticles were discussed on growth factors and biochemical composition carcass of common carp.

Method: 82 carp with an average weight of 42 ± 2 g was prepared and after adaptation for the laboratory condition, were exposed at 42 days at three treatments (10, 40, 80 ppm) and three replicates respectively, also a control group were prepared with three replications under the affect of sub-lethal concentrations of copper oxide nanoparticles.

Findings: Analysis of growth indices showed that all growth indices had significantly different ($P < 0/05$) with metal treatments in compared to the control group. So the control group had the highest average body weight, percent of body weight, SGR rate, and feed conversion efficiency with averaging 2.93. The lowest specific growth rate and the highest rate of conversion were related to the treatment number three (80 ppm), respectively. The amount of ash, fat, protein and maximum moisture was observed at the control group. The highest percentage of protein and fat was at treatment (3) and concentration of 80 milligrams per litre of copper oxide nanoparticles that in this regard showed significant differences ($P < 0.05$) with the control group.

Discussion and Conclusion: The results indicate that the presence of copper oxide nanoparticles in aquatic ecosystems have negative effects on growth and biochemical composition of fish carcasses even at sub-lethal concentrations, that by increasing the concentration of the nanoparticles in aquatic ecosystems, the influence of these effects will become clearer.

Keywords: Carcass Biochemical Composition, Common Carp, Copper Oxide Nanoparticles, Specific Growth Rate.

1- Ph.D., Student, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. *(Corresponding Author)

2- Professor, Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3- Associate Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

مقدمه

دریای خزر هر ساله با تکثیر مصنوعی چند میلیون عدد بچه ماهی انگشت قد در رودخانه های منتهی به دریای خزر رهاسازی می گردد، لیکن میزان صید برخی از گونه ها در طی سال های اخیر رو به کاهش نهاده است که این امر گویای کاهش ذخایر آن ها در دریای خزر است. با توجه به بررسی های به عمل آمده عوامل مختلفی می توانند در این امر دخیل باشند، اما از مهم ترین عواملی که امروزه بیشترین توجه محافل علمی را به خود جلب نموده، آلودگی محیط زیست به ویژه افزایش روزافزون فاضلاب های صنعتی حاوی ترکیبات مختلف آلاینده های پایدار فلزات سمی و آفت کش های کشاورزی است که در راستای توسعه صنعتی و پیشرفت بشر قرار دارد. در مطالعه ای که توسط ژو و همکاران (۲۰۰۹) بر روی اثر منابع مختلف سلنیوم غذایی (نانو ذرات سلنیوم و سلنومتیونین) بر عملکرد رشد، ترکیب عضلانی و فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز در ماهی کاراس (*Carassius auratus* RGR) انجام شد. نتایج اختلاف معنی داری را در نرخ $P > 0.05$ و وزن نهایی تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به گروه شاهد نشان داد. ولی نرخ بقا و FCR در بین تیمارهای ۱ و ۲ نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

فرضیه های مطرح شده نسبت به آسیب های احتمالی حاصل از فناوری نانو به طرز تهدیدآمیزی باعث کندی روند رشد و توسعه فناوری نانو خواهد شد. مگر آن که اطلاعات صحیح، بی طرفانه و قانون مند در باره چپستی خطرها و چگونگی پرهیز از آن ها منتشر شود. از این رو این پژوهش با هدف ارزیابی اثر مواجهه با غلظت های تحت کشنده نانوذرات مس بر فاکتورهای رشد و ترکیب بیوشیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طراحی و اجرا شد.

مواد و روش ها

این تحقیق در پاییز سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه آبی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد جهت انجام آزمایشات سم شناسی نانو ذرات مس از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان تهیه گردید. در

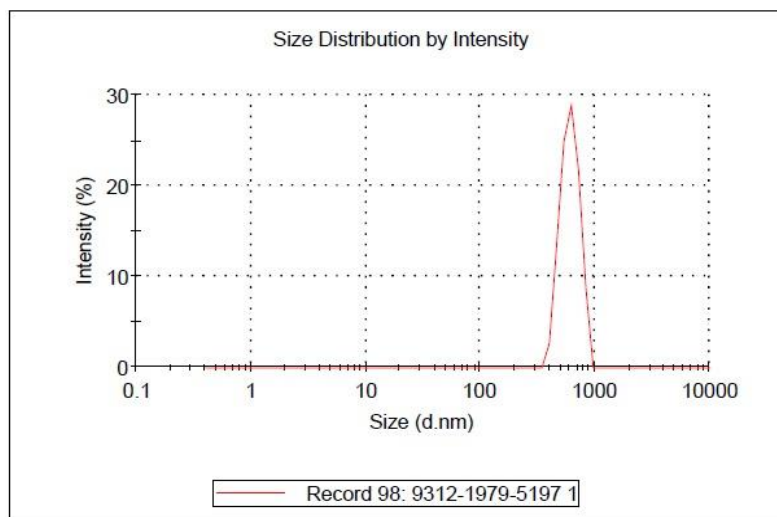
در حال حاضر فناوری نانو یا نانوتکنولوژی یکی از شاخه های علوم است که در حال رشد سریع می باشد. از آنجایی که صنعت تولید نانوذرات و استفاده از آن روز به روز در حال گسترش است، نگرانی در رابطه با اثرات زیست محیطی آن ها نیز سبب گردیده تا محققین تحقیقات گسترده ای در زمینه خطرات بالقوه نانو مواد بر محیط زیست و موجودات زنده طراحی و اجرا نمایند (۱). نانو سمیت شناسی به عنوان یک زیر شاخه از نانوتکنولوژی به مطالعه برهم کنش نانومواد با موجودات زنده می پردازد. از آنجایی که نانومواد دست خوش تحولات متنوعی در محیط زیست و سیستم های زیستی می شوند، از این رو نانو سمیت شناسی تغییرات ایجاد شده در سمیت نانو مواد در ارتباط با این تحولات را نیز پوشش می دهد (۲). امروزه از نانو ذرات در گستره وسیعی از علوم و صنایع مختلف استفاده می شود که از آن جمله: الکترونیک، پزشکی، داروسازی، لوازم آرایشی و بهداشتی، تولید انرژی، محیط زیست و کاتالیزورها را می توان نام برد. از جمله نانو محصولات تولید شده امروزی می توان به دی-اکسید تیتانیوم، نقره، آهن، اکسید روی و مس، همچنین نانولوله های کربنی و گرافن اشاره کرد. نانو ذرات مس به عنوان پوشش های ضد-میکروبی، سلول های سوختی، الکترولیز آب، تصفیه آب و هوا و عوامل کنتراست تصویر برداری پزشکی کاربرد دارد (۳)، مس به عنوان یک کوفاکتور عمل می کند و برای ویژه گی های کاتالیز کننده و ساختار بسیاری از آنزیم های موثر در فرایند های زیستی بدن ضروریست (۴). اگر چه مس به عنوان یکی از عناصر کمیاب ضروری در متابولیسم سلولی و عملکرد بسیاری از آنزیم ها نقش کاربردی دارد (۵) اما در دوز های بالاتر از نیاز بدن می تواند ایجاد مسمومیت کند، که میزان مسمومیت و علائم کلینیکی آن تحت تاثیر عواملی مانند سن ماهی، گونه ماهی، دمای آب پرورش، سختی آب، شرایط پرورش ماهی و میزان اکسیژن محلول، pH، متفاوت است (۶). کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از مهم ترین گونه کپور ماهیان دریای خزر می باشد که با توجه به تلاش های مستمر سازمان شیلات جهت تأمین و حفظ ذخایر آن در

ماهی در معرض نانو ذرات مس به مدت ۴۲ روز قرار گرفت و در مجموع ۸۴ قطعه ماهی مورد استفاده قرار گرفتند.

مواجهه کیورماهیان با نانوذرات اکسید مس

جهت تهیه محلول نانو ذره مس از محصولات نانوذره تجاری شرکت نانو پیشگامان ایرانیان استفاده شد. نانوذرات در ابتدا با استفاده از دستگاه اولتراسوند با تعداد دور ۴۰۰ دور در دقیقه در حجم مشخص آب مقطر به مدت ۲۰ دقیقه پخش شد تا به صورت همگن درآید. به دلیل این که نانو ذرات مس پس از ۲۴ ساعت در توده آبی ترسیب پیدا میکنند، جهت اختلاط مجدد محلول نانوذره در هر ۲۴ ساعت از دستگاه هموژنایزر با تعداد دور ۱۴۰۰ در دقیقه استفاده شد. هر ۲۴ ساعت یکبار تعویض آب جهت اطمینان یافتن از حصول غلظت همگن مورد نظر از نانو ذرات صورت گرفت. همچنین جهت تعیین پراکندگی نانو ذره در آب موجود در اکواریم ها با استفاده از دستگاه Dynamic light scattering یا DLS اندازه گیری می شد. (شکل ۱).

این تحقیق ۸۴ قطعه ماهی کپور دریایی به مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط محیطی آکواریوم، نگهداری شدند. ۱۲ عدد آکواریوم ۱۵ لیتری در سالن آزمایشگاه آبی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان برای انجام این پژوهش در نظر گرفته شد. بعد از ضدعفونی و آماده سازی آکواریومها، آبیگیری آنها صورت گرفت. در طول دوره ی آزمایش فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب اندازه گیری شد که شامل دمای آب 17 ± 1 درجه سانتی گراد، پی اچ (pH) $8/30 - 8/22$ ، غلظت اکسیژن محلول: $69\% - 67\%$ در لیتر و سختی آب: 210 میلی گرم کربنات کلسیم در لیتر بود. همچنین هریک از آکواریومها به صورت جداگانه به سیستم هوادهی مجهز شدند تا سطح اکسیژن آب در حد استاندارد قرار گیرد. در این پژوهش با توجه به نتایج مطالعات ژائو و همکاران ۲۰۱۱ از سه غلظت تحت کشنده نانو ذرات مس استفاده شد، که عبارتند از: $10, 40, 80$ میلی گرم در لیتر، همچنین غلظت صفر میلی گرم در لیتر (شاهد) نیز در نظر گرفته شد (۸). در این پژوهش ۳ تیمار مختلف وجود داشت که در هر یک از تکرارها (غلظت های مختلف نانو مس) ۷ قطعه



شکل ۱- اندازه ذرات و نحوه پراکنش آنها در نمونه های آب برداشت شده با استفاده از دستگاه Dynamic light scattering یا DLS

Figure 1. Particle size and distribution of water samples taken in using Dynamic light scattering, or DLS

زیست سنجی و بررسی شاخص های رشد ماهیان

گردیده و ۱۰۰ درصد بیومس ماهیان با ترازوی $0/01$ گرم توزین شدند. با توجه به اطلاعات بدست آمده از بیومتری،

عمل زیست سنجی ماهیان هر ۱۴ روز یکبار انجام گرفت. بدین منظور ۲۴ ساعت پیش از بیومتری تغذیه ماهیان قطع

سنجش درصد خاکستر

$100 \times (\text{نمونه/وزن بوته چینی} - \text{وزن بوته همراه با نمونه نهایی}) =$

درصد خاکستر

سنجش درصد پروتئین

وزن نمونه/مقدار اسید مصرفی 0.01 نرمال = درصد ازت $\times 100$

$6/25 \times$ پروتئین خام = درصد ازت

سنجش درصد چربی

وزن خشک/ (وزن کاغذ صافی - وزن نمونه همراه با کاغذ

صافی) - وزن نمونه = درصد چربی خام

محاسبات آماری

طرح کلی این پژوهش در قالب طرح به طور کاملاً تصادفی برنامه ریزی و اجرا گردید. داده‌های به دست آمده از آزمایش با استفاده از نمون آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد با استفاده از نرم افزار Spss20 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و در صورت وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌ها، پس آزمون دانکن برای مقایسه دو به دو داده‌ها استفاده شد و اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ ($P < 0.05$) پذیرفته می‌شد.

نتایج

شاخص های رشد

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد در جدول شماره ۱ ارائه شده است. افزودن غلظت‌های تحت کشنده نانو اکسید مس به آب تفاوت‌های آماری معنی داری را در رابطه با شاخص‌های رشد، در بین تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P < 0.05$). تمامی شاخص‌های رشد در تیمارهایی فلزی نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی داری بودند ($P < 0.05$). درحالی که در بین تیمارهای ۱ و ۲ به ترتیب با غلظت‌های ۱۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر نانو اکسید مس تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). ولی این دو تیمار نسبت به گروه شاهد و تیمار شماره ۳ دارای اختلاف معنی داری بودند ($P < 0.05$). ماهیان گروه شاهد رشد بهتری نسبت به تیمارهایی که نانو اکسید مس به آب محیط پرورش آنها اضافه شده بود را نشان دادند. به طوری که گروه

شاخص های رشد در پایان دوره آزمایش بر اساس منابع موجود از معادلات ریاضی زیر محاسبه شدند (۹).

نرخ رشد ویژه (درصد در روز)

$$\text{SGR}(\% / \text{day}) = \frac{(\ln Wt_2 - \ln Wt_1) / t_2 - t_1}{100} \times$$

$\ln Wt_1$ = لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی

$\ln Wt_2$ = لگاریتم طبیعی نهایی ماهی

$t_2 - t_1$ = طول دوره آزمایش

ضریب تبدیل غذایی

$$\text{FCR} = \frac{\text{dry feed eating}(g)}{\text{live weight gain}(g)}$$

مقدار غذای مصرف شده = $\text{dry feed eating}(g)$

مقدار وزن تولید شده = $\text{live weight gain}(g)$

کارایی غذایی

$$\text{FE} = \frac{Wt_2 - Wt_1}{\text{TF}}$$

Wt_1 = گرم وزن اولیه ماهی

Wt_2 = گرم وزن ثانویه ماهی

کل خوراک مصرفی ماهی TF

افزایش وزن بدن

$$\text{BWI} = Wt_2 - Wt_1$$

Wt_1 = گرم وزن اولیه ماهی

Wt_2 = گرم وزن ثانویه ماهی

درصد افزایش وزن بدن

$$\text{PBWI}(\%) = \frac{(Wt_2 - Wt_1) / Wt_1}{100} \times$$

Wt_1 = گرم وزن اولیه ماهی

Wt_2 = گرم وزن ثانویه ماهی

تجزیه تقریبی لاشه شامل رطوبت، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر از طریق روش استاندارد AOAC اندازه گیری و تعیین شدند (۱۰).

سنجش درصد رطوبت

$100 \times (\text{وزن اولیه} / \text{وزن نهایی} - \text{وزن اولیه}) = \text{درصد رطوبت}$

نتایج فوق نشان می‌دهد که حضور نانو ذرات اکسید مس در آب حتی در غلظت‌های تحت کشنده اثرات منفی بر روی شاخص‌های رشد داشته و باعث کاهش شاخص‌های رشد ماهی می‌گردد.

شاهد دارای بیش‌ترین میانگین وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، کارایی غذایی و واجد بهترین ضریب تبدیل غذایی با میانگین ۲/۹۳ بود. از طرفی کم‌ترین نرخ رشد ویژه و بیش‌ترین نرخ تبدیل غذایی مربوط به تیمار شماره سه (۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید مس) بود.

جدول ۱- عملکرد رشد و بقاء در بچه ماهیان کپور معمولی مواجهه شده با غلظت‌های تحت کشنده نانو اکسید مس

Table1. Common carp growth performance and survival in children exposed to sublethal concentrations of nano copper oxide

تیمار				
T3 ۸۰mg/l	T2 ۴۰mg/l	T1 ۱۰mg/l	تیمار شاهد	شاخص‌های رشد
۴۱/۰۲±۰/۰۱ ^a	۴۰/۸۶±۰/۳۰ ^a	۴۱/۰۲±۰/۱۸ ^a	۴۰/۷۸±۰/۲۷ ^a	میانگین وزن اولیه (گرم)
۵۶/۵۶±۰/۱۴ ^d	۵۷/۰۸±۰/۰۳ ^c	۵۷/۳۴±۰/۱۸ ^b	۵۸/۲۹±۰/۰۷ ^a	میانگین وزن نهایی (گرم)
۱۵/۵۳±۰/۰۷ ^c	۱۶/۲۱±۰/۲۷ ^b	۱۶/۳۱±۰/۰۸ ^b	۱۷/۵۰±۰/۲۰ ^a	افزایش وزن (گرم)
۳۷/۸۷±۰/۲۸ ^c	۳۹/۶۷±۰/۹۶ ^b	۳۹/۷۶±۰/۳۱ ^b	۴۲/۹۲±۰/۷۹ ^a	درصد افزایش وزن بدن (%)
۶/۵۳±۰/۱۰ ^c	۶/۶۳±۰/۴۰ ^b	۶/۶۴±۰/۱۰ ^b	۶/۸۱±۰/۲۰ ^a	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)
۳/۳۲±۰/۰۳ ^a	۳/۱۷±۰/۰۷ ^b	۳/۱۶±۰/۰۲ ^b	۲/۹۳±۰/۰۵ ^c	ضریب تبدیل غذایی
۳۰/۰۶±۰/۲۲ ^c	۳۱/۴۹±۰/۷۶ ^b	۳۱/۶۵±۰/۲۵ ^b	۳۴/۰۷±۰/۶۳ ^a	کارایی غذایی
۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	بقا

اعداد (SD± میانگین با سه تکرار) در هر ردیف با حرف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).

چربی، پروتئین و بیش‌ترین درصد رطوبت در گروه شاهد مشاهده شد و بیش‌ترین درصد خاکستر، پروتئین و چربی در بین تیمارها مربوط به تیمار شماره ۳ با غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید مس بود، که از این نظر با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($P < 0.05$). بین تیمارهایی که واجد غلظت‌های ۱۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره مورد نظر بودند از نظر میزان پروتئین رابطه‌ی معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). ولی این دو تیمار با گروه شاهد و تیمار شماره ۳ دارای رابطه معنی‌داری بودند ($P < 0.05$). همچنین بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب با غلظت‌های ۱۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر از نظر میزان رطوبت رابطه معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). درحالی‌که تیمارهای مذکور با گروه شاهد دارای اختلاف

در حین انجام آزمایشات اصلی در طی دوره ۴۲ روزه هیچ‌گونه تلفاتی در تمامی تیمارها خصوصاً تیمار شماره ۳ که دارای بالاترین غلظت نانو اکسید مورد نظر یعنی ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر بود، مشاهده نشد. بنابراین نرخ بقا در تمامی تیمارها یکسان باقی ماند و هیچ‌گونه اختلافی بین تیمارها از نظر بقا مشاهده نشد.

ترکیب بیوشیمیایی لاشه

طبق جدول ۲ نتایج تأثیر غلظت‌های تحت کشنده نانو اکسید مس (۸۰، ۴۰، ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر آنالیز شیمیایی و لاشه‌ی بچه کپور ماهیان نشان می‌دهد که با افزایش میزان غلظت نانو ذره مورد نظر رابطه معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود دارد ($P < 0.05$). به‌طوری‌که کم‌ترین میزان درصد خاکستر،

ترکیبات بیوشیمیایی بدن آبزبان از جمله ماهیان داشته باشد (جدول ۲).

معنی داری بودند $P > 0.05$. از یافته های فوق می توان نتیجه گرفت که وجود نانو ذرات مس در اکوسیستم های آبی حتی در غلظت های تحت کشنده می تواند نقش بالقوه ای در تغییر

جدول ۲- آنالیز تقریبی لاشه (بر اساس درصد وزن تر) در بچه ماهیان کپور معمولی.

Table 2. Proximate analysis (based on the percentage of fresh weight) in children, common carp

تیما	پروتئین خام	چربی خام	رطوبت	خاکستر
شاهد	۱۷/۹۲±۰/۰۷ ^c	۹/۷۰±۰/۰۶ ^d	۶۸/۴۵±۰/۳۹ ^a	۱/۷۹±۰/۰۳ ^d
تیما ۱	۱۸/۵۲±۰/۳۱ ^b	۱۰/۲۷±۰/۰۳ ^c	۶۶/۶۸±۰/۳۸ ^b	۲/۴۳±۰/۰۷ ^c
تیما ۲	۱۸/۸۴±۰/۰۸ ^b	۱۰/۴۱±۰/۰۳ ^b	۶۶/۵۹±۰/۲۵ ^b	۲/۸۸±۰/۰۶ ^b
تیما ۳	۱۹/۳۸±۰/۱۷ ^a	۱۰/۶۹±۰/۰۵ ^a	۶۶/۶۵±۰/۲۴ ^b	۳/۵۶±۰/۲۷ ^a

حروف انگلیسی مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار میان گروه های آزمایشی می باشد ($P > 0.05$).

بحث و نتیجه گیری

را روی میزان شاخص های رشد می گذارند. به طوری که آنالیز داده های شاخص رشد کپور ماهیانی که به مدت ۴۲ روز در معرض غلظت های تحت کشنده ی نانو ذرات اکسید قرار گرفته بودند رابطه ی معنی داری را بین تیمارها نشان داد. ماهیان گروه شاهد در تمامی شاخص های رشد نسبت به تیمارهایی که به ترتیب در معرض غلظت های ۱۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم بر لیتر نانوذره ی مورد نظر قرار گرفته بودند، دارای تفاوت معنی داری بودند. به طوری که گروه شاهد دارای بیشترین میانگین وزن نهایی، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، کارایی غذایی و واجد بهترین ضریب تبدیل غذایی با میانگین ۲/۹۳ بود. از طرفی کمترین نرخ رشد ویژه و بیشترین نرخ تبدیل غذایی مربوط به تیمار شماره سه (۸۰ میلی گرم بر لیتر نانو اکسید مس) بود. قبادی و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی اثرات سطوح مختلف نانوذره آهن (Fe) بر فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی قزل آلا ی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به این نتیجه دست یافتند که استفاده از نانوذره آهن خنثی در سطح ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم غذای خشک، سبب افزایش عملکرد رشد و تغذیه بچه ماهی قزل آلا ی رنگین کمان پرورشی می گردد (۱۳). در طی یک بررسی ۶۰ روزه، که اثر نانو آهن پراکنده بر شاخص های زیستی ماهی

امروزه آلودگی محیط زیست آبزبان به یک مساله مهم تبدیل شده است. ماهیان از مهترین گروه آبزبان هستند که آسیب پذیر بوده و آسیب به آنها نماینده و بیومارکر مهمی در آلودگی های محیط زیست محسوب می شود. غذاهای دریایی منبع اصلی روی و مس هستند (۱۱) می توانند نقش مثبت یا منفی مهمی را در زندگی انسان ایفا نمایند. فلزات روی و مس بر اساس مقدارشان در فرآیندهای زیستی ایفای نقش می کنند (محرک یا بازدارنده) همچنین زمانی که مقادیر فلزات ضروری افزایش یابد می توانند اثرات سمی داشته باشند. این فلزات از جمله عناصر ضروری واکنش های بیولوژیک می باشند، و به صورت هومواستاتیک تنظیم می شوند. غلظت های این عناصر در بافت های یکسان از گونه های متفاوت می تواند تغییرات زیادی داشته باشد. پاسخ ماهیان در مواجهه با مواد آلوده کننده در مرحله اول مقابله ای بوده ولی اگر آلودگی ادامه یابد منجر به تغییر در فیزیولوژی ماهی می شود و این تغییرات منجر به کاهش در مهارت زندگی و رشد ماهی می شود (۱۲). بررسی و مقایسه شاخص های رشد کپور ماهیان گروه شاهد و تیمارهایی که در معرض غلظت های تحت کشنده ی نانو ذرات اکسید مس قرار گرفته بودند، نشان داد که حضور این نانو ذرات حتی در غلظت های تحت کشنده موجب کاهش رشد شده و اثرات سوئی

مس ما شاهد افزایش میزان تغییرات در فاکتورهای رشد بودیم که این خود نشان گر ارتباط بین دوز نانو ذرات و میزان تغییرات فاکتورهای رشد می باشد، که هرچه میزان این نانو ذرات افزایش یابد، میزان تغییرات در فاکتورهای رشد نیز می تواند سیر صعودی داشته باشد. بین سوخت و ساز مس و روی ارتباط وجود دارد، به نحوی که روی، جذب و ابقای مس را مهار کرده و کلسترول پلاسما را افزایش می دهد این آنتاگونیسم بین روی و مس در ابتدا در مرحله فرایند جذب است. ظاهراً روی سبب افزایش غلظت متالوتیونین در مخاط روده ای می شود و این پروتئین مس را قوی تر از روی باند می کند. مس باند شده به متالوتیونین جذب نمی شود و همراه با سلول های مخاطی جدا و دفع می گردد. در این آزمایش ۱۰۰۰ واحد فیتاز در جیره بدون مکمل مس سبب بهبود رشد و ضریب تبدیل خوراک گردید که احتمالاً به واسطه رهایی فسفر، روی و سایر کاتیون ها می باشد. با افزودن مکمل مس به جیره ۱۰۰۰ واحد فیتاز احتمالاً به دلیل اثر آنتاگونیستی مس و روی، آثار سوئی را بر معیارهای فوق الذکر داشته است. علاوه بر آن احتمال دارد مسمومیت مزمن با مس نیز به وجود آمده باشد، زیرا جیره پایه، محتوی ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم مس بوده است، البته احتمالاً مقداری از این مس به صورت فیتاتی است که قابل دسترسی نمی باشد ولی افزودن فیتات و رهایی مس از کمپلکس فیتات، املاح به همراه ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم مکمل مس احتمالاً مسمومیت مزمن را افزایش داده است. در مقایسه با خوک (۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم مس در جیره) میزان تحمل مس توسط کپور بیش از ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره نمی باشد، به علاوه گزارش شده که ۱۶ تا ۳۲ میلی گرم مس در جیره کپور سبب کاهش رشد و کم خونی مزمن شده است (۱۸). طی تحقیقی دیگر که چن و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثر نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر رشد و برخی از پارامترهای بافتی گورخر ماهی پرداختند. نتایج نشان داد که وزن بدن تقریباً در تمامی غلظت های (۴، ۵ و ۷ میلی گرم بر لیتر) که ماهی در معرض نانو ذره مورد نظر قرار گرفته بود کاهش می یابد، که با نتایج این تحقیق هم خوانی دارد. در طول ۲ ماه اولیه آزمایش، وزن بدن گورخر ماهی در معرض نانو ذرات TiO_2 تغییر

کپور و ماهی خاوباری، مورد مطالعه قرار گرفت و افزایش نرخ رشد در این ماهیان، مشاهده شد (۱۴). همچنین طی تحقیقی دیگر، از نانو آهن به عنوان ماده افزودنی به غذای ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) استفاده شد. در این تحقیق، در ۳ نوع تیمار مختلف، اثرات نانو ذره اکسید آهن (تیمار ۱) و سولفات فرروس (تیمار ۲) در این ماهی بررسی گردید و تفاوت معنی داری در وزن نهایی این دو گروه در مقایسه با تیمار شاهد (تیمار ۳) مشاهده شد (۱۵). در آزمایشی دیگر لین و شیائو (۲۰۰۵)، بیان کردند مس موجود در جیره فاقد سلنیوم می تواند باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در ماهی *Epinephelus malabaricus* شود که باعث کاهش رشد و افزایش مالون دی آلدئید در بدن این ماهیان می شود (۱۶). در تحقیق حاضر نیز با افزایش میزان نانو ذرات شاهد کاهش فاکتورهای رشد نسبت به گروه شاهد به گروه شاهد بودیم که خود نشان دهنده تاثیر این نانو ذرات بر فاکتورهای رشد به خصوص در دوزهای بالا می باشد. عبدل تواب و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تغییرات رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن در معرض غلظت های تحت کشنده روی طی دوره های مختلف در ماهی کپور معمولی پرداختند، نتایج نشان داد فاکتورهای رشد با افزایش غلظت روی کاهش می یابد که با نتایج پایانی تحقیق حاضر هم خوانی دارد. یک فرضیه برای این مشاهدات این است که قرار گرفتن در معرض غلظت های بالای فلز روی به نوبه خود منجر به کاهش اشتها ماهی، در نتیجه کاهش مصرف خوراک و رشد ماهی می شود. فرضیه دیگر این است که با توجه به اینکه مصرف خوراک کاهش می یابد، انرژی مورد نیاز از طریق تجزیه مواد مغذی ذخیره سازی شده در بدن تأمین می شود (۱۷). شیرمحمد و همکاران (۱۳۸۳) طی تحقیقی به بررسی اثر مکمل فیتاز و مس مازاد جیره بر رشد و ترکیب لاشه کپور معمولی پرداختند. بدون مکمل مس، آنزیم فیتاز سبب بهبود برخی معیارهای رشد از قبیل افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در کپور معمولی گردید ($P < 0.05$). ولی افزودن مکمل مس همراه با آنزیم فیتاز باعث تفاوت معنی دار افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و وزن نسبی لاشه نشد ($P > 0.05$). در تحقیق حاضر نیز با افزایش میزان نانو ذرات

دوره‌های مختلف در ماهی کپور معمولی پرداختند، که در طی آن بچه ماهیان ۱۸/۱ و ۱۹/۱ گرمی به مدت ۷، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ روز در ۳ تیمار به ترتیب تحت تأثیر غلظت‌های ۵، ۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز روی قرار گرفتند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت روی محتوای رطوبت کل بدن و خاکستر کل به‌طور قابل توجهی افزایش یافته، در حالی که پروتئین خام و محتویات چربی کل به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (۱۷). در تحقیق حاضر با افزایش غلظت نانو اکسید مس میزان درصد خاکستر، پروتئین و چربی افزایش یافت ولی درصد رطوبت لاشه کاهش یافت، به طوری که بیش‌ترین میزان رطوبت مربوط به تیمار شاهد بود و بیش‌ترین درصد خاکستر در تیمار شماره ۳ با غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذره مس مشاهده شد.

شیرمحمد و همکاران (۱۳۸۳) طی تحقیقی به بررسی اثر مکمل فیتاز و مس مازاد جیره بر رشد و ترکیب لاشه کپور معمولی پرداختند. آن‌ها طی این آزمایش به مدت ۱۰ هفته ۱۴۴ قطعه کپور معمولی را با جیره شامل ۳ سطح فیتاز، صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ واحد در کیلوگرم جیره و ۲ سطح مس، صفر و ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۳×۲ در ۳ تکرار به کار بردند. نتایج پایانی نشان داد که احتمالاً در کپور اثر آنتاگونیستی بین آنزیم فیتاز و مکمل مس وجود دارد که مانع از بهبود عملکرد و ترکیب لاشه کپور معمولی در اثر استفاده از آنزیم فیتاز می‌شود، بنابراین استفاده از مکمل مس خصوصاً در حضور آنزیم فیتاز در جیره کپور معمولی توصیه نمی‌شود. (۱۷) که نتایج آنها همسو با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد به طوری که نتایج تحقیق حاضر نیز بیان‌گر موثر بودن میزان نانو ذره مورد نظر بر بهبود عملکرد ترکیبات لاشه در تیمارهای مختلف نسبت به گروه شاهد می‌باشد. فلاپی و آماتسرو (۲۰۱۴) اثر فلز سنگین سرب را بر رشد، بازماندگی و ترکیبات لاشه گربه‌ماهی آفریقایی بررسی کردند که نتایج پایانی آنالیز لاشه نشان داد که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین ترکیبات لاشه، قبل و بعد آزمایش وجود ندارد ($P > 0.05$). تنها میزان چربی خام و خاکستر نهایی لاشه نسبت به ترکیب اولیه اندکی کاهش داشت که از این نظر با نتایج

معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشت ($P > 0.05$). با این وجود، پس از تماس دراز مدت بدن گورخر ماهی با نانو ذرات TiO_2 نتایج نشان داد نانو ذره مورد نظر باعث کاهش مقادیر وزن بدن در طی دراز مدت می‌شود (۱۹). نتایج این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط کیم و کانگ (۲۰۰۴) مطابق است که گزارش دادند نرخ رشد ماهی *Sebartes schlegelli* در معرض قرارگیری فلز مس کاهش می‌یابد (۲۰). هیات و همکاران (۲۰۰۷) نیز ماهیان انگشت قد سه‌گونه کپور روپیتا، کاتلا و مریگال را به مدت ۳۰ روز در معرض غلظت‌های تحت کشنده‌ی فلز منگنز قرار دادند. در طول این دوره هر سه‌گونه ماهی رشد منفی نشان دادند (۲۱). همچنین نتایج این تحقیق با یافته‌های موهانتی و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد که اثر سولفات مس را روی بقاء رشد کپور هندی مریگال طی ۶۰ روز مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها اختلاف معنی‌داری برای نرخ رشد ویژه بین گروه شاهد و تیمار فلزی مشاهده کردند ($P < 0.01$). گروه شاهد نرخ رشد ویژه بهتری نسبت به تیمار فلزی داشت (۲۲). با توجه به نتایج این تحقیق و نتایجی که محققین دیگر به آن دست یافته‌اند، فلزات سنگین باعث اثرات سوء بر شاخص‌های رشد ماهیان می‌شوند که این اثرات سوء می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی از جمله بر هم خوردن تعادل یونی و ایجاد اختلال در متابولیسم باشد.

بررسی نتایج آماری ترکیبات لاشه‌ی بچه کپور ماهیان در مواجهه با سطوح مختلف غلظت‌های تحت کشنده نانو ذرات مس در مدت ۶ هفته نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذره مورد نظر تفاوت معناداری در بین گروه شاهد و تیمارهای مواجهه شده با نانو ذرات مس وجود دارد. به طوری که بیش‌ترین میزان پروتئین، درصد خاکستر در تیمار شماره ۳ با بیش‌ترین غلظت نانو ذره مورد نظر مشاهده شد، این در حالی بود که تمامی مقادیر ترکیبات لاشه بجز رطوبت در گروه شاهد نسبت به تیمارهایی که با نانو ذرات مس مواجهه شده بودند در کمترین مقدار بود، در نتایج هم‌سو با نتایج تحقیق حاضر عبدال‌تواب و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تغییرات رشد و ترکیبات بیوشیمیایی بدن در معرض غلظت‌های تحت کشنده روی طی

2. Leigh, K., Bouldin, J., Buchanan, R. Effects of exposure to semiconductor nanoparticles on aquatic organisms, J. Toxicol. doi:10.1155/2012/397657.
3. Perreault, F., Oukarroum, A., Melegari, S. P., Matias, W. G., Popovic, R. 2012. Polymer coating of copper oxide nanoparticles increase nanoparticles uptake and toxicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, Chemosphere. (86) 1388-1394.
4. Griffitt, R. J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J. C., Barber, D. S. 2008. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms, Environ. Toxicol. Chem. (27) 1972-1978.
5. Arora, S., Jain, J., Rajwade, J. M., Paknikar, K. M. 2008 Cellular responses induced by silver nanoparticles: in vitro studies, Toxicol. Let. 179(2): 93-100.
6. Al-Bairuty, G. A., Shaw, B. J., Handy, R. D., Henry, T. B. 2013 Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic toxicology. 126, 104-115.
7. Li, B., Hwang, J.Y., Drelich, J., Popko, D., Bagley, S. 2010. Physical, chemical and antimicrobial characterization of copper-bearing material. Jom Journal of the Minerals, Metals and Materials Society. 62: 80-85.
8. Zhou, X., Wang, Y., Gu, Q., Li, W. 2009. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on

تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین افزایش اندک پروتئین خام لاشه در همه تیمارها در مقایسه با مقدار اولیه گزارش شد (۲۳)، که این نتیجه با تحقیق حاضر همسو نمی‌باشد به طوری که در تحقیق حاضر شاهد افزایش میزان پروتئین خام لاشه در همه تیمارهایی که در معرض نانو ذره مورد نظر قرار گرفته‌اند (نسبت به گروه شاهد) بودیم. تحقیق حاضر یک مطالعه مقدماتی بود که نیازمند تحقیقات بیش‌تر اثرات نانو ذرات مس را بر حیات آبزیان از جمله ماهیان در زمینه‌های اکولوژیکی و بیولوژیکی می‌طلبد. از آنجا که مواد در حالت نانو دارای نسبت سطح به حجم بالاتری می‌باشند، که در نتیجه میزان واکنش‌پذیری بالاتری دارند. هرچه ماده واکنش‌پذیری بیش‌تری داشته باشد تأثیر زودتر و بیش‌تری می‌گذارد، و با توجه به عوارض مشاهده شده در تغییرات ترکیبات لاشه و شاخص‌های رشد ماهی در مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده نانو اکسید مس چنین برداشت می‌شود نانو ذرات اکسید مس حتی در غلظت‌های تحت کشنده می‌توانند اثرات سوئی را بر اندام‌ها و بافت‌های حیاتی آبزیان از جمله ماهیان داشته باشند، که با افزایش غلظت آن‌ها در اکوسیستم‌های آبی تأثیر این اثرات بیش‌تر نمایان می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان این تحقیق از آقایان عابد زیدعلی، خدایار رضایی، مجتبی شاکریاری، عسگر میرزایی و امیرقادرمرزی (دانشجویان کارشناسی ارشد بوم‌شناسی آبزیان شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان) مهندس نعیمی و دکتر جعفر به سبب همکاری ارزنده ایشان سپاس‌گذاری می‌نمایند.

Reference

1. Perreault, F., Bogdan, N., Morin, M., Claverie, J., & Popovic, R. 2012. Interaction of gold nanoglycodendrimers with algal cells (*Chlamydomonas reinhardtii*) and their effect on physiological processes. Nanotoxicology, 6(2), 109-120.

- foresight conference on molecular Nanotechnology.
15. Behara, T., Swain, P., Rangachrulu, P.V., Samanta, M. 2013. Nano-Fe as feed additive improves the hematological and immunological parameters of fish, *Labeo rohita* H. J. Appl Nanosci. 13: 251 – 258.
 16. Lin, Y.H., Shiau, S. Y. 2005. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture. 250: 356–363.
 17. Abdel-Tawwab, M., Mousaad, M. N., Sharafeldin, K. M., Ismaiel, N. E. 2013. Changes in growth and biochemical status of common carp, *Cyprinus carpio* L. exposed to water-born zinc toxicity for different periods. Int Aquat Res, 5, 11.
 18. Shirmohammad, F., Mahboubi Sofiyani, N., Poor Reza, J. 2005. Effect of dietary supplement of phytase and copper on growth and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Agricultural Science and Technology. 8 (4): 142-133 (In Persian).
 19. Chen, J., Dong, X., Xin, Y., Zhao, M. 2011. Effects of titanium dioxide nano-particles on growth and some histological parameters of zebrafish (*Danio rerio*) after a long-term exposure. Aquatic Toxicology, 101(3), 493-499.
 20. Kim, S. G., Kang, J. C. 2004. Effect of dietary copper exposure on accumulation, growth and hematological parameters of the juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. Marine environmental research. 58: 65-82.
 21. Hayat, S., Javed, M., Razzaq, S. 2007. Growth performance of metal stressed growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Aquaculture, 291(1): 78-81.
 9. Zhao, J., Wang, Z., Liu, X., Xie, X., Zhang, K., Xing, B. 2011. Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) and their potential toxicity. Journal of hazardous materials, 197, 304-310.
 10. AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, fifteenth. Association of Official Analytic Chemists, Arlington VA, USA.
 11. Saravanan, M., Kumar, K.P., Ramesh, M. 2011. Haematological and Biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (*Actinoptertgii: Cypriniformes*) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. Pesticide Biochemistry and physiology, 100:206-211.
 12. Fatima, M., Mandiki, S.N.M., Douxifile, J., Silvestre, F., Coppe, P., Kestemont, P. 2007. Combined effect of herbicides on biomarkers reflecting immune-endocrine interactions in gold fish immune and antioxidant effects. Aquatic Toxicology, 81:159-167.
 13. Ghobadi, SH., Rsjabi eslami, H., Hosseini, M., Palangi, L. 2014. Effect of Different Levels of Iron Nanoparticles (Fe) on Growth and Feed Growth Factors of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Quarterly journal of Applied Aquaculture. 3 (9): 82-67 (In Persian).
 14. Prochorov, A. M., Pavlov, G.V., Okpattah, G.A., Kaetanovich. C. 2002. The effect of nano-disperse iron on the biological parameters of fish. 10th

- Environment Contaminate
Toxicology. 82: 559-563.
23. Falayi, B. A., Amatosero, R. B. 2014. The Effects of Lead (Pb) on *Clarias gariepinus* (B.) Juveniles in Captivity. Research Journal of Agriculture and Environmental Management. Vol, 3(8), 353-360.
- major carps viz. *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhina mrigala* reared under semi-intensive culture system. Pakistan Veterinary Journal. 27: 8-12.
22. Mohanty, M., Adhikari, S., Mohanty, P. and Sarangi, N. 2009. Role of waterborne copper on survival, growth and feed Intake of Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* Hamilton.