Archive of SID

DOI: 10.22092/vj.2017.109868

شماره ۱۱۶ پاییز ۱۳۹۶

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی شیربت *(Barbus grypus)* پرورشی در استان خوزستان

• سراج بیتا

گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

• مهرزاد مصباح

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

• پریا اکبری(نویسنده مسئول)

گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۲۰ ۰۴ ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۱۴ ۰۶ ۱۳۹۵

Email: paria.akbary@gmail.com

چکیده

تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی شیربت (Barbus gyrpus) صورت گرفت. در این مطالعه، تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی شیربت با میانگین وزنی ۹/۰۱±۴۰/۱۲ گرم در یک طرح کاملا تصادفی با پنج تیمار آزمایشی و سه تکرار (با تعداد ۱۰ قطعه در هر تکرار) مورد استفاده قرار گرفتند که شامل تیمار آزمایشی شاهد (G1)، بدون استفاده از نانوذرات نقره) و تیمارهای آزمایشی G2، G3، G4 و G5 بود که میزان استفاده از نانوذرات نقره در آن‌ها به ترتیب LC50 ۱/۱۰، غلظت LC50 ۱/۲۰ و غلظت LC50 ۱/۴۰ و غلظت LC50 ۱/۸۰ بود و در روز های صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژی اندازه گیری شد. تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای G3، G4 و G5 در روز های هفت، ۱۴ و ۲۱ افزایش معنی داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$). سطح گلوکز در تیمارهای G3، G4 و G5 در روز های هفت، ۱۴ و ۲۱ و تیمار G2 در روز ۱۴ و ۲۱ افزایش معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۵$). سطح اوره و اسید اوریک تفاوت معنی داری را در روز ها و تیمار های مورد بررسی نشان نداد ($p < ۰/۰۵$). سطح کلسترول در تیمار G3 در روز ۱۴ و ۲۱ و در تیمار های G4، G5 در روز های هفت،۱۴ و ۲۱ کاهش معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۵$). سطح تری گلیسرید در تیمار G2 در روز ۲۱، تیمار G3 در روز ۱۴ و ۲۱ و در تیمارهای G4 و G5 در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ کاهش معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۵$). از نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های تحت کشنده نانوذرات نقره علاوه بر اثر بر پاسخ‌های استرسی، تاثیر نسبی بر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم داشته و حتماً باید در مصرف این مواد در آبزی‌پروری با احتیاط عمل کرد.

کلمات کلیدی: ماهی شیربت، نانوذرات نقره، فاکتورهای بیوشیمیایی خون، فاکتورهای خونی

www.SID.ir

Archive of SID

● Veterinary Researches & Biological Products No 116 pp: 170-180

Effect of different concentration levels of silver nanoparticles on blood factors and serum biochemical parameters in farmed shirbut (***Barbus grypus***) in Khuzestan province

By: Bita, S., Fisheries Department, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran. Mesbah, M., Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran. and Akbary, P., (Corresponding Author) Fisheries Department, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

Email: paria.akbary@gmail.com

Received: 2016-07-10 Accepted: 2016-09-04

This experiment was conducted to evaluate the effect of different concentrations of nanoparticles on blood factors and serum biochemical parameters of *Barbus gyrpus*. The experiment was conducted in a completely randomized design with 150 shirbut (with average weight of 40.12±9.01 g) in five treatments and three replicates (n=10 in each replicate). The treatments included control group (G1) without using nonoparticles, and experimental groups (treatments G2, G3, G4 and G5) with nonoparticle concentrations of 1.10 LC50, 1.20 LC50, 1.40 LC50 and 1.80 LC50, respectively. Hematological and biochemical parameters were measured on days 0, 7, 14 and 21. The red blood counts showed a significant increase in G3, G4 and G5 on days 7, 14 and 21 ($P < 0.05$). Glucose level in G3, G4 and G5 on days 7, 14 and 21 and in G2 on days 14 and 21 increased significantly ($P < 0.05$). The urea and uric acid levels did not show significant difference in different days and experimental treatments ($P > 0.05$). Cholesterol level in treatment G3 on days 14 and 21, and treatments G4 and G5 on days 7, 14 and 21 was significantly reduced ($P < 0.05$). Triglyceride level in treatment G2 on day 21 and treatment G3 on days 14 and 21 and G4 and G5 on days 7, 14 and 21 significantly decreased ($P < 0.05$). It can be concluded that sub-lethal concentrations of silver nanoparticles, has a relative impact on blood factors and serum biochemical parameters, in addition to the effect on stress responses, and we should be cautious in the use of these substances in aquaculture.

Key words: *Barbus grypus*, Silver nanoparticles, Blood biochemical parameters, Blood factors

مقدمه

استفاده از نانوذرات در صنایع مختلف از جمله در مبارزه با بیماری‌ها و عوامل بیماری‌زا توسعه‌ی بی‌سابقه‌ای یافته است. در بین نانوذرات فلزی، نانوذرات نقره، با توجه به اثرات ضد باکتریایی بالا، در مبارزه با عوامل بیماری‌زا، بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند (۷،۲۰). خطرات استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضد باکتریایی رایج مثل ایجاد مقاومت‌های باکتریایی، مشکلات زیست محیطی، انتقال مقاومت دارویی به عوامل بیماری‌زای انسانی و هزینه بالای مصرف، باعث گرایش بیشتر محققین به مواد جایگزین شده است. نانوذرات نقره در بسیاری موارد به عنوان جایگزین مناسب برای مواد ضد میکروبی رایج معرفی شده‌اند (۷،۲۰). اخیراً تحقیقاتی در مورد امکان استفاده از نانوذرات نقره در آبزیان نیز انجام شده است (۴). به‌عنوان مثال، سوندی و همکاران (۲۰) و Chopra و همکاران (۷) به ترتیب اثرات ضد باکتریایی مناسب نانوذرات نقره بر باکتری اشرشیاکلی و برخی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی را گزارش نمودند و نیز تحقیقاتی در ارتباط با اثرات سمی نانوذرات نقره در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) با غلظت‌های یک، دو، پنج، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت، ماهی مینو fathead (*Pimephales promelas*) با استفاده از دو محصول نانوذرات نقره تجاری و ماهی مداکای ژاپنی (*Oryzias latipes*) با بیان ژن استرس صورت گرفته است (۶،۱۳،۱۹). از آن جایی‌که کشور ایران یکی از کشورهای پیشرو در علم نانوتکنولوژی است و با توجه به توسعه‌ی آن، شاهد کاربرد بیشتر نانوذرات در صنایع مختلف از جمله صنعت آبزی‌پروری خواهیم بود. هدف از این تحقیق، تعیین میزان سمیت و تاثیر غلظت‌های مختلف تانوذرات نقره بر روی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی ماهی شیربت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی شیربت

تعداد ۲۴۰ قطعه بچه ماهي شيربت با ميانگين وزن گرم ۵۰-۳۰ گرم و اندازه ۲۰ الی ۲۵ سانتي‌متر از مزارع پرورش ماهي اطراف اهواز تهيه

www.SID.ir

Archive of SID

و به دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند. بعد از هم‌دما نمودن آب پلاستیک‌های حمل ماهی با آب موجود در سالن، ماهی‌ها در دو مخزن ۳۰۰ لیتری رها سازی شدند و به‌مدت ۱۴ روز در سالن مرکز سازگار شدند.

شرایط فیزیکی‌وشیمیایی آب مورد آزمایش

در این آزمایش از آب فیلتر شده‌ي شهري که ۲۴ ساعت قبل از استفاده در مخازن ۶۰۰ لیتری ذخیره و با استفاده از تیوسولفات سدیم (پنج گرم بر لیتر) کلرزدایی شد، استفاده گردید. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد. در طول دوره آزمایش میانگین دمای آب ۱±۲۷ درجه سانتی‌گراد، pH= ۸/۷±۰/۹ ، شوری ۰/۷۸±۱۲ گرم بر لیتر، میزان اکسیژن محلول برابر۱/۲± ۸ میلی‌گرم در لیتر، میزانNH_3 و NO_2 کمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و میزان NO_3 کمتر از ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بود.

روش تعیین سمیت کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره

ابتدا با استفاده از روش‌هاي طيف سنجي پلاسماي جفت شده القايي و ميكروسكوپ الكتروني عبوري كيفيت نانوذرات نقره از نظر خلوص مورد استفاده ارزيابي گرديد. برای تعیین سمیت نانوذرات نقره از روش استاندارد OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) استفاده گردید (۳). ابتدا اقدام به انجام آزمایشات مقدماتی در سطح کوچک برای به‌دست آوردن حدود غلظت کشنده این ماده گردید و سپس هفت غلظت متوالی (صفر، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۶، ۱/۲۵، ۲/۵، پنج میکروگرم بر لیتر) از محلول نانوذرات نقره (در سه تکرار) (شرکت نانونصب پارس محصول L-۲۰۰۰) در نظر گرفته شد. به‌طوری‌که غلظت ایجادکننده‌ی ۱۰۰درصد تلفات و غلظت غیرکشنده در بین این غلظت‌ها قرار گیرد. به این منظور پس از سازگاری ماهی (بعد از دو هفته) به هر مخزن ۱۰ قطعه ماهی به‌صورت تصادفی معرفی و روزانه ماهی‌ها در دو نوبت هشت صبح و ۱۶ بعد ازظهر به میزان سه درصد وزن بدن تغذیه شدند. با توجه به روش مورد استفاده (Static- renewal test condition) برای جلوگیری از اثر متابولیت‌ها و مواد آلی دفعی ماهی و نگهداری غلظت نانوذرات نقره در حد غلظت اولیه در نظر گرفته شده، آب تمام مخازن هر سه روز یک‌بار با آب حاوی همان غلظت نانوذرات نقره تعویض می‌گردید (۹،۱۴). ماهی‌های بی‌حرکت و فاقد حرکت سرپوش آبششی مرده محسوب شده و از آب خارج می‌گردیدند. ثبت تلفات بصورت روزانه (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) انجام شده و بعد از ثبت تلفات، اقدام به تعیین LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲، و ۹۶ ساعت با استفاده از نرم افزارProbit نسخه ۱/۵گردید. در این روش از رگرسیون بین تعداد تلفات و لگاریتم غلظت نانوذرات نقره استفاده شد (۲). برای مقایسه‌ی مقادیر و تعیین معنی دار بودن اختلاف بین غلظت کشنده‌ی نانوذرات نقره در گونه های مورد بررسی از هم پوشانی حدود مذکور استفاده شد (۹).

حداکثر غلظت مجاز Maximum acceptable concentration (MAC) با تقسیم نمودن غلظت ایجادکننده ۵۰ درصد تلفات در ۹۶ ساعت نانوذرات نقره در هر گونه بر عدد ده محاسبه گردید. تمامی ماهیان به مدت ۹۶ ساعت در غلظت‌های مورد نظر نگهداری شده و میزان مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲و ۹۶ ساعت محاسبه شد (۹).

مقادیر LC_{50} و محدوده اطمینان ۹۵ درصد مطابق بودو و رایبیر (۵) با روش Probit analysis بر پایه لگاریتم ۱۰ از غلظت ماده سمي، و مرگ و میر در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ محاسبه شد. محدوده اطمینان ۹۵ درصد با فرمول موهاپترا ورنگاراجان M (۱۵) محاسبه شد.

علاوه بر LC_{50}، مقادیر کشنده دیگر شامل LC_{10}، LC_{30}، LC_{70} و LC_{90}با استفاده از جدول Probit، جدول مرگ و میر Probit و رگرسیون آن محاسبه شد. مقادیر محدوده اطمینان ۹۵ درصد با فرمول LC_{50} ٪۹۵ = LC_{50} {LC_{50} ± ۱.۹۶ (SD)} محاسبه شد. مقادیر SD با فرمول زیر محاسبه شد در حالی‌که b شیب خط رگرسیون نانوذرات نقره/Probit، مقدار نانوذرات نقره استفاده شده، n تعداد ماهیان مورد استفاده در هر گروه و w میانگین وزن ماهیان مورد استفاده بود (۸).

$$SD\ (LC50) = \frac{1}{\sqrt[b]{pnw}}$$

تیماربندی ماهی

بعد از به‌دست آوردن LC_{50} نانوذرات نقره برای ایجاد مسمومیت مزمن ماهی شیربت، چهار تیمار با غلظت‌هاي G_2 (۱/۱۰)، G_3 (۱/۲۰)، G_4 (۱/۴۰) و G_5 (۱/۸۰) میزان LC_{50} در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره و غلظت صفر نیز به‌عنوان تیمار شاهد G_1 (در مجموع پنج تیمار و هر کدام با سه تکرار) در ۱۵ آکواریوم ۲۰۰ لیتری در نظر گرفته شد. به هر آکواریوم ۱۰ قطعه ماهی با وزن متوسط حدود ۳۵-۳۰ گرم اضافه گردید. هر سه روز یک بار آب آکواریوم ها با همان غلظت مواد تعویض شدند. در روز های صفر، هفت ، ۱۴ و ۲۱ ازشروع آزمایش، از چهار ماهی از هر تکرار (۱۲ ماهی از هر تیمار) نمونه خون تهیه شد و آزمایش‌ها روی نمونه‌ها انجام گرفت.

خون‌گیري

از هر تیمار چهار قطعه ماهی در فواصل زمانی یک، هفت، ۱۴ و ۲۱ روز از آکواریوم خارج شده و پس از بیهوشی با داروی ۲- فنوکسی اتانول (۱۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) به روش حمام بیهوش شدند (۳) . ابتدا ماهیان با یک حوله خشک و تمیز پاک شده تا کاملا آب آن گرفته شود. سپس از ناحیه ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ‌هاي هپارینه شده و هپارینه نشده (سرنگ پنج سی‌سی و سرسوزن شماره ۲۱) خون‌گیری صورت گرفت (۱). نمونه‌های خون فاقد ماده ضد انعقاد پس از لخته شدن به‌مدت پنج دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و پس از تفکیک سرم از سلول‌های خون، سرم آن براي اندازه‌گيري فاکتورهای بیوشیمیایی خون برداشت گردید. نمونه سرم در میکروتیوب‌های ۲/۵ میلی‌لیتری تخلیه و تا زمان انجام آزمایش بیوشیمیایی در فریزر دمای ۲۰- درجه سانتي گراد نگه‌داری شدند و از نمونه‌های خون دارای ماده ضد انعقاد برای اندازه‌گیری شاخص‌های گلبولی خون استفاده شد.

اندازه گیری پارامترهای خون‌شناسی

هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین مورد سنجش

www.SID.ir

Archive of SID

قرار گرفت. ۰/۰۲ میلی‌لیتر خون با پنج میلی‌لیتر محلول تجارتی درآبکین (معرف سیانومت هموگلوبین) مخلوط گردید. پس از گذشت ۱۰ دقیقه از زمان مخلوط نمودن، به‌منظور رسوب ذرات هسته با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و جذب نوری محلول فوقانی در طول موج ۵۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و میزان هموگلوبین بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه گردید (۱۷).

حجم فشرده گلبولی یا PCV (Packed cell volume) یا هماتوکریت به روش میکرو با استفاده از لوله‌های موئینه صورت گرفت. لوله‌های موئینه به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه برای متراکم ساختن گلبول‌های قرمز خون سانتریفوژ گردیدند و برحسب درصد میلی‌لیتر خون بیان شدند (۴). شمارش کلی گلبول‌های قرمز ماهی به‌روش دستی و با استفاده از لام هماسیتومتر نئوبار صورت گرفت. تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌لیتر مکعب خون محاسبه شد (۱۶).

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون

پارامترهاي بيوشيميايي سرم خون شامل گلوکز (به‌روش اکسیداسیون گلوکز توسط گلوکز اکسیداز)، اوره (به‌روش آنزیماتیک)، اسیداوریک (به‌روش اسید فسفوتنگستیک)، کلسترول (به روش آنزیم کلسترول اکسیداز) ، تري‌گليسريد (به‌روش آنزیم گلیسروفسفات دهیدروژناز) و کراتینین به روش‌هاي آزمايشگاهي زير با استفاده از کيت‌هاي آزمايشگاهي ساخت شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت (۱۱). همچنین اندازه‌گيري کلر به‌روش کلري‌متري انجام شد و ميزان فسفر به روش فتومتری اندازه‌گیری شد. سطح سرمي منيزيم به‌وسيله اسيد تری کلرواستیک مورد سنجش قرار گرفت، در این روش با استفاده از تری کلرو استیک پروتئین حذف می‌شود. در ادامه با افزودن زرد تیتان کمپلکسی بین این ماده و منیزیم تشکیل می‌شود که در حضور پلی وینیل الکل این رنگ تثبیت می‌شود. با افزودن هیدروکسید سدیم رنگ بهتر حل شده و در نتیجه بر شدت رنگ افزوده می‌شود. جذب نوری رنگ حاصله در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید. کلسیم به روش complexon (CPC) O-Cresolphthalein با کيت زيست شيمي اندازه‌گيري شد. يون کلسيم در محيط قليايي با ارتوکرزول‌فتالئين‌کمپلکسون رنگ ارغواني ايجاد مي‌کند که با غلظت کلسيم موجود در نمونه رابطه مستقيم دارد و در طول موج‌هاي ۵۸۰-۵۵۰ نانومتر قابل اندازه گيري مي‌باشد (۱۶).

آنالیز آماری

برای آنالیز اطلاعات از نرم افزار SPSS ۱۶ استفاده گردید. نرمال

جدول ۱- میزان سمیت نانوذرات نقره (میکروگرم بر لیتر) در ماهی شیربت بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۶۹ ساعت مجاورت با استفاده از آنالیز Probit

غلظت کشنده	۲۴ساعت	۴۸ساعت	۷۲ساعت	۹۶ساعت
LC۱۰	۰/۱۲۹	۰/۰۵۸	۰/۰۳۹	۰/۰۳۴
LC۵۰	۰/۱۸۸	۰/۱۳۱	۰/۲۰۵	۰/۱۲۷
LC۹۰	۲/۷۳	۲/۳۱۹	۲/۲۹۴	۱/۲۵۸
LC۹۹	۲/۹۹	۲/۴۷۱	۲/۴۷۳	۱/۴۵۸

جدول ۲- تغییرات میانگین (±SE) تعداد گلبول قرمز (میلیون در هر میکرولیتر) خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف آزمایش

تیمار/روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G۱	۱/۳۰± ۰/۱۰ a	۱/۳۰± ۰/۰۶ a	۱/۵۰± ۰/۰۵ a	۱/۴۳± ۰/۱۳ a
G۲	۱/۳۴± ۰/۰۴ a	۱/۴۰± ۰/۰۲ a	۱/۵۰± ۰/۰۶ a	۱/۵۳± ۰/۲۰ a
G۳	۱/۳۳± ۰/۱۳ a	۱/۴۲± ۰/۰۸ b	۱/۵۵± ۰/۰۷ b	۱/۶۰± ۰/۱۱ b
G۴	۱/۳۵± ۰/۱۵ a	۱/۴۰± ۰/۱۰ b	۱/۵۸± ۰/۰۷ b	۱/۷۶± ۰/۱۱ c
G۵	۱/۳۵± ۰/۰۴ a	۱/۴۵± ۰/ b۱۰	۱/۷۴± ۰/۰۸ c	۱/۸۰± ۰/c۱۰

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) می‌باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگرف اسمیرنف و همچنین برابری واریانس‌ها توسط تست لون مورد بررسی قرار گرفت. از آنووای یک‌طرفه برای بررسی تفاوت میانگین بین تیمار-های تحقیق استفاده گردید. برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها از تست تکمیلی دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. نمودارها وجداول آماری با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم شد.

نتایج

نتایج مربوط به تعیین سمیت نانوذرات نقره در ماهی شیربت در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲و ۹۶ ساعت در جدول ۱ آورده شده است. LC۵۰ در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره برابر ۰/۱۲۷ میکروگرم بر لیتر بود.

حداکثر غلظت مجاز و سمیت نانوذرات نقره در ماهی شیربت (با اطمینان ۹۵ درصد) با حد بالا و پایین بعد از ۹۶ ساعت مجاورت، به ترتیب ۰/۲۶ و ۰/۴۵ میکروگرم بر لیتر و میزان LC۵۰ نانو ذرات نقره در ماهی شیربت در ۹۶ ساعت برابر با ۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر بود.

تغییرات تعداد گلبول قرمز خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف نانوذرات نقره در زمان‌های صفر، هفت،۱۴ و ۲۱ روز در جدول ۳ آورده شده است. میزان گلبول قرمز در تیمار G۱ و G۲ افزایش و یا کاهش معنی‌داری را در روزهای مختلف نمونه‌گیری نشان نداد ($p > ۰/۰۵$) ولی افزایش معنی‌داری در میزان گلبول های قرمز در تیمارهای G۴،G۳ و G۵ در روز های هفت، ۱۴و ۲۱ در مقایسه با G۱ و G۲ مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). همچنین بیشترین میزان افزایش در تیمار G۵ و در روز ۲۱ و برابر با ۱/۸۰±۰/۱۰ بود.

تغییرات میزان هماتوکریت خون (دسی لیتر) ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ در جدول ۴ نشان داده شده است. اگرچه میزان هماتوکریت در G۵ از نظر عددی افزایش یافته است ولی این میزان افزایش معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$).

جدول ۳- تغییرات میانگین هماتوکریت (±SE) (برحسب درصد میلی‌لیتر خون) ماهی شیربت در تیمارهای مختلف نانوذرات نقره در زمان‌های مختلف آزمایش

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G۱	۴۰/۵±۴/۰ a	۴۰/۵±۵/۰ a	۴۲/۵±۴/۰ a	۴۱/۵±۵/۰ a
G۲	۴۱/۰±۶/۰ a	۴۲/۰±۴/۰ a	۴۱/۳±۶/۰ a	۴۱/۰±۵/۰ a
G۳	۴۰/۰±۳/۰ a	۴۲/۰±۷/۰ a	۴۴/۰±۶/۰ a	۴۲/۰±۵/۰ a
G۴	۴۰/۰±۵/۰ a	۴۲/۰±۶/۰ a	۴۳/۵±۴/۰ a	۴۳/۵±۴/۰ a
G۵	۴۱/۰±۵/۰ a	۴۴/۰±۴/۰ a	۴۴/۵±۵/۰ a	۴۷/۵±۳/۰ a

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) می‌باشند.

جدول ۴- تغییرات میانگین هموگلوبین خون (±SE) (گرم بر دسی‌لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف آزمایش

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G۱	۰/۱۵± ۰/۰۱ a	۰/۱۵± ۰/۰۱ a	۰/۱۶± ۰/۰۱ a	۰/۱۷± ۰/۰۱ a
G۲	۰/۱۶± ۰/۰۳ a	۰/۱۵± ۰/۰۲ a	۰/۱۶± ۰/۰۳ a	۰/۱۷± ۰/۰۴ a
G۳	۰/۱۶± ۰/۰۲ a	۰/۱۶± ۰/۰۲ a	۰/۱۶± ۰/۰۳ a	۰/۱۷± ۰/۰۳ a
G۴	۰/۱۶± ۰/۰۴ a	۰/۱۶± ۰/۰۲ a	۰/۱۸± ۰/۰۲ a	۰/۱۸± ۰/۰۱ a
G۵	۰/۱۶± ۰/۰۳ a	۰/۱۷± ۰/۰۴ a	۰/۱۹± ۰/۰۳ a	۰/۲۰ ± ۰/۰۳ a

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) می‌باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

تغییرات میانگین هموگلوبین خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ در جدول ۵ نشان داده شده است. میزان هموگلوبین بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را در زمان‌های مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵).

تغییرات میانگین گلوکز سرم خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ نمونه برداری در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان گلوکز سرم خون ماهی در تیمار G_2 در روز ۲۱، در تیمار G_3 در روزهای ۱۴ و ۲۱ و در تیمار های G_4 و G_5 در روز های هفت، ۱۴ و ۲۱ نسبت به روز صفر افزایش معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۵$). همچنین با افزایش میزان غلظت و همچنین با افزایش مدت طول تماس ماهی با نانوذرات نقره، میزان گلوکز خون افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش گلوکز سرم خون در روز ۲۱ و مربوط به تیمار G_5 بود.

تغییرات میانگین کلسترول سرم خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ نمونه‌برداری در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان کلسترول در تیمار G_3 در روز های ۱۴ و ۲۱، و در تیمارهای G_4 و G_5 در روز های هفت، ۱۴ و ۲۱ به طور معنی‌داری در مقایسه با G_1 کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$) که نشان می‌دهد با افزایش طول مدت تماس ماهی با نانوذرات نقره و همچنین افزایش غلظت میزان کلسترول کاهش می‌یابد. کمترین میزان کلسترول در تیمار G_5 و در روز ۲۱ مشاهده شد.

تغییرات میانگین تری گلیسرید سرم خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ نمونه‌برداری در شکل ۳ نشان داده شده است. میزان تری‌گلیسرید در تیمار G_2 در روز ۲۱، در تیمار G_3 در روزهای ۱۴و ۲۱ و در تیمار G_4 و G_5 در روزهای هفت، ۱۴ و۲۱ نسبت به روز صفر کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$). بیشترین میزان کاهش در تیمار G_5 و در روز ۲۱ مشاهده شد.

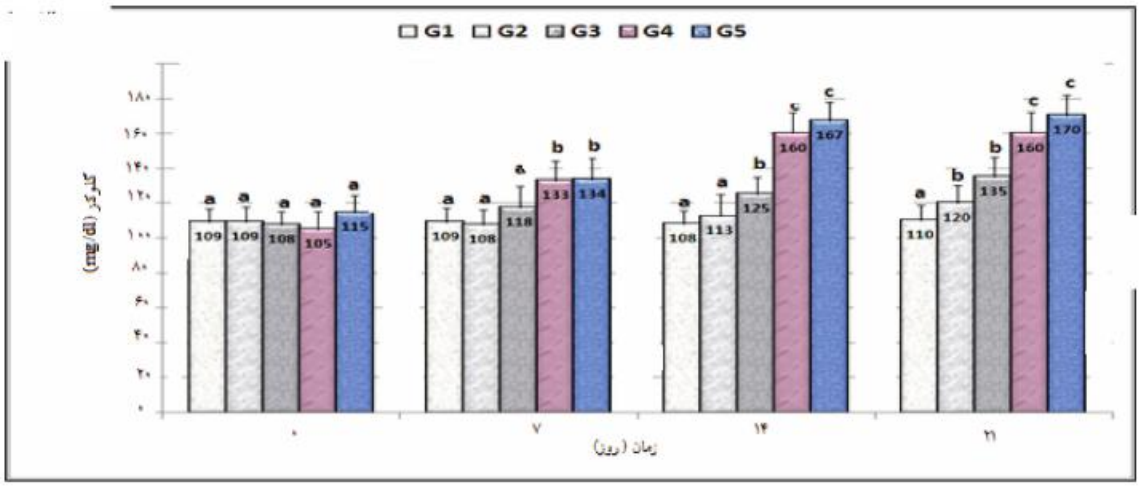
در بررسی میزان اوره طبق شکل ۴ اختلاف معنی‌داری در میزان اوره در بین تیمارها و در روزهای نمونه‌گیری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

تغییرات میانگین اسید اوریک سرم خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ نمونه-برداری در شکل ۵ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

تغییرات میانگین کلسیم، فسفر، منیزیم و کلر به ترتیب در جدول ۶ تا ۹ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میزان کلسیم، فسفر، منیزیم و کلر در بین تیمارها در زمان‌های مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

بحث

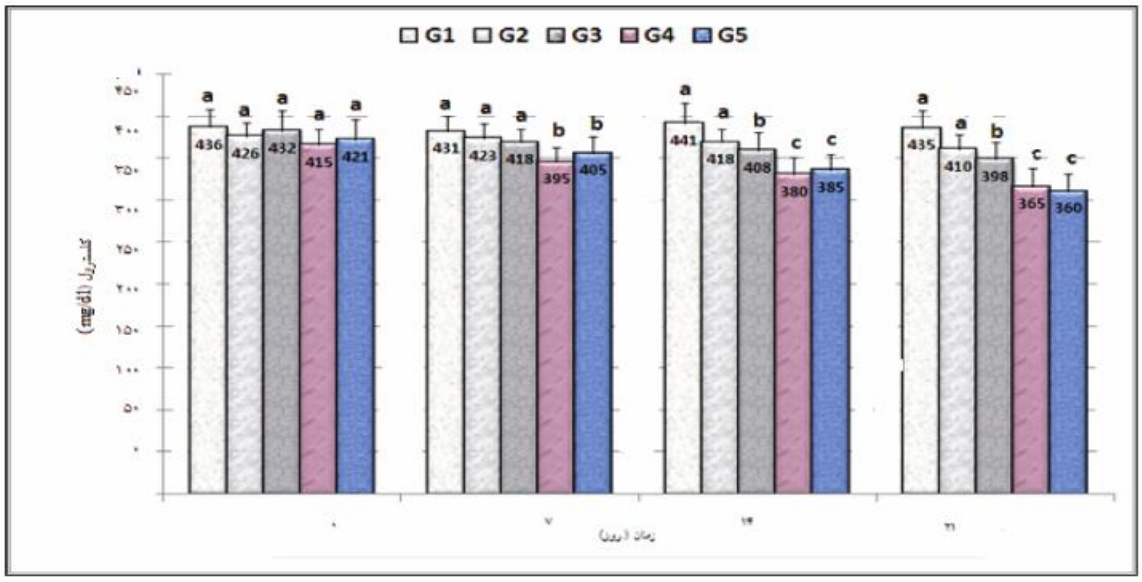
استفاده‌ی زیاد از مواد ضد باکتریایی مثل آنتی بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری به‌عنوان یک معضل در حال گسترش مطرح بوده و یافتن جایگزین‌های مناسب، دغدغه‌ی متولیان این صنعت می‌باشد. از آن‌جایی‌که نانوذرات نقره به‌خاطر اثرات ضد باکتریایی خود معروف می‌باشند، لذا یافتن غلظت کشنده و نیز حداکثر غلظت مجاز این مواد در گونه‌های مختلف ماهی ضروری می-باشد (۱۹). نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که نانوذرات نقره L-۲۰۰۰ دارای سمیت بالایی در ماهی شیربت بوده و LC_{50} بعد از مجاورت ۹۶ ساعته با L-۲۰۰۰ برای



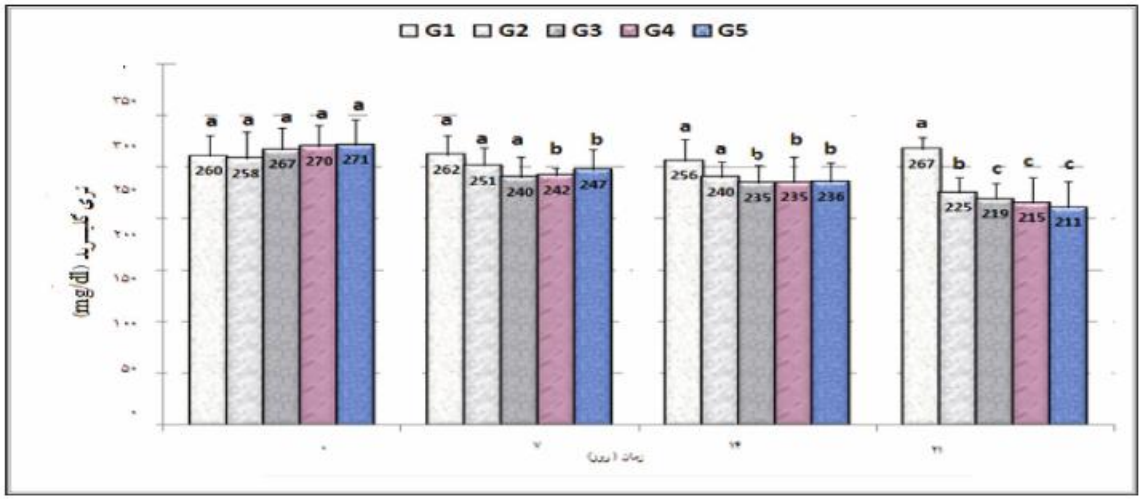
شکل ۱- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) گلوکز سرم (میلی گرم بر دسی‌لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری. حروف نامشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.

www.SID.ir

Archive of SID



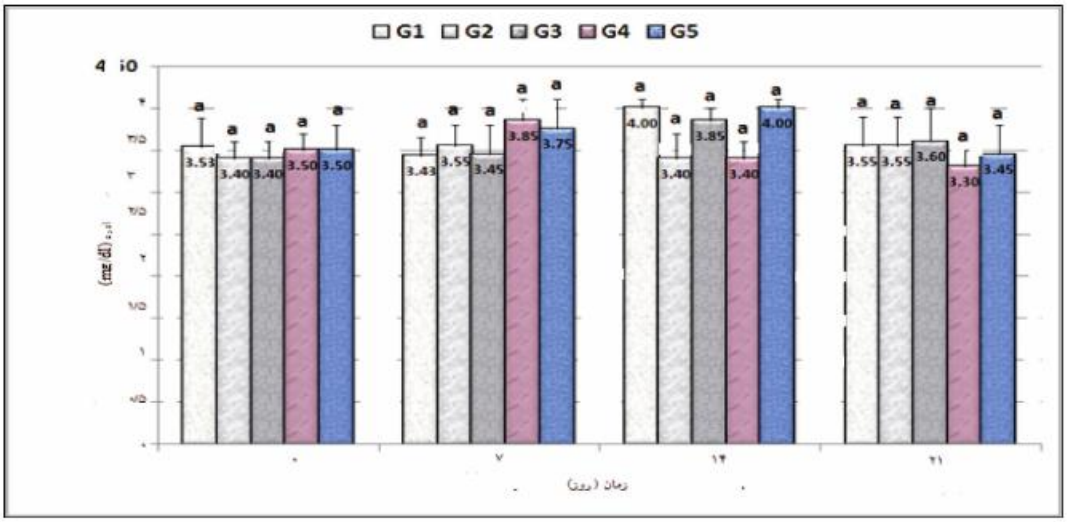
شکل ۲- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) کلسترول سرم (میلی‌گرم بر دسی لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری. حروف نامشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.



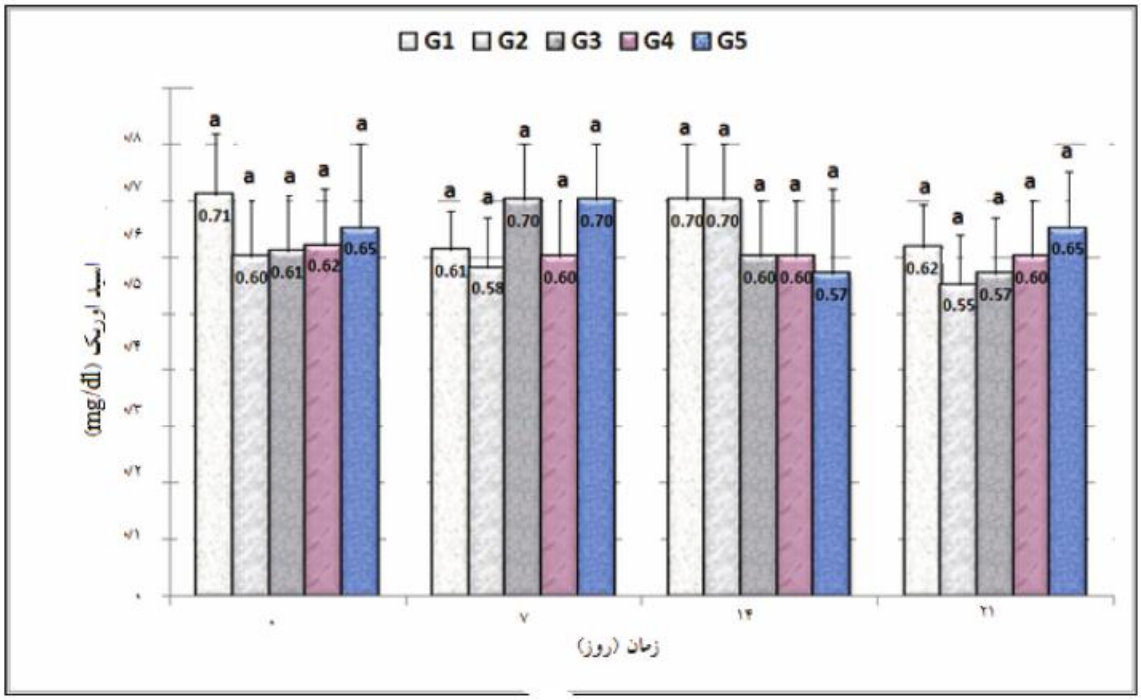
شکل ۳- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) تری گلیسیرید سرم (میلی‌گرم بر دسی لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری. حروف نامشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به‌ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ ۱/۸۰ ۸ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۴- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) اوره سرم (میلی‌گرم بر دسی لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری. حروف نامشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.



شکل ۵- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) اسید اوریک سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان-های مختلف نمونه‌گیری. حروف نامشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به‌ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

ماهی شیربت برابر ۰/۰۸۶ میلی‌گرم در لیتر مشخص گردید. شهباززادهو همکاران (۱۹) غلظت نانوذرات نقره برای ماهی قزل‌آلا را حدود پنج میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند که نشان‌دهنده مقاومت بالاتر ماهي قزل‌آلا نسبت به ماهي‌هاي مورد مطالعه دراين تحقيق نسبت به نانوذرات نقره مي‌باشد. همچنين بارايلان و همكاران (۴) با بررسی سمیت نانوذرات نقره در جنین ماهی زبرا *(Danio rerio)*، سمیت بالای نانوذرات نقره را در این ماهی گزارش نمودند. در تحقیق چا و همکاران (۶)، غلظت کشنده نانوذرات نقره با اندازه ذرات نزديك با نانوذرات تحقيق جاري در ماهي مداكاي ژاپني *(Oryzias latipes)* ۵۰ ميلي‌گرم در ليتر بعد از ۲۴ ساعت بود كه مقاومت بالاي اين ماهی را نسبت به سمیت این ماده نشان می دهد. اندازه ذرات نانونقره با سمیت آن‌ها مرتبط است و هر چه اندازه ذرات نانو کوچکتر باشد كارايي آن‌ها بيشتر و سمیت آن‌ها نیز بالاتر خواهد بود.

علی‌رغم ویژگی‌های مناسب نانوذرات نقره، به‌ویژه اثرات ضد باکتریایی و ضد ویروسی، که در تحقیقات مختلف گزارش شده است (۷،۲۰) در این تحقیق، مشخص شد که تاثیر غلظت‌های تحت کشنده نانوذرات نقره بر فاکتورهای خونی ماهی شیربت، متفاوت و متغیر بود به‌طوری‌که میزان هموگلوبین و هماتوکریت تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در مراحل مختلف نمونه‌گیری نشان نداد (P>۰/۰۵). در صورتی‌که تعداد گلبول‌های قرمز خونی در تیمارهای G۳، G۴ و G۵ افزایش معنی‌داری نسبت به کنترل نشان داد (p < ۰/۰۵). راجکومور و همکاران (۱۷) با بررسی سمیت ناشی از نانوذرات نقره در کپور روهو *(Labeo rohita)* نشان دادند که استفاده از غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذرات نقره منجر به کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون ماهی کپور روهو در مقایسه با شاهد گردید و با افزایش میزان غلظت نانوذرات نقره (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) پارامترهای خونی نیز افزایش یافت ولی معنی‌دار نبود. در تحقیق مذکور دلیل این تغییرات مواجهه با استرس نانوذرات نقره است که بر عملکرد طبیعی فیزیولوژی و متابولیسم ماهی تاثیر می‌گذارد (۱۷). ایمانی و همکاران (۱۰) با بررسی اثر نانوذرات نقره بر هماتولوژی

جدول ۵- تغییرات میانگین (± خطای استاندارد) کلسیم (میلی مول بر لیتر) خون در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G۱	۱۰/۳±۱/۰ a	۱۰/۵±۱/۰ a	۱۰/۶±۱/۰ a	۱۰/۳±۱/۵ a
G۲	۱۰/۳±۱/۰ a	۱۰/۶±۲/۰ a	۱۰/۳±۱/۰ a	۱۱/۰±۲/۰ a
G۳	۱۰/۴±۲/۰ a	۱۰/۳±۳/۰ a	۱۰/۴±۱/۰ a	۱۰/۸±۱/۰ a
G۴	۱۰/۴±۲/۰ a	۱۰/۳±۳/۰ a	۱۰/۷±۱/۰ a	۱۱/۰±۲/۰ a
G۵	۱۰/۴±۳/۰ a	۱۱/۱±۳/۰ a	۱۰/۴±۲/۰ a	۱۱/۱±۲/۰ a

حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است (P<۰/۰۵). تیمار G4,G3,G2,G1 و G5 به‌ترتیب حاوی ۰، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) می‌باشد.

جدول ۶- تغییرات میانگین (± خطای استاندارد) فسفر (میلی‌مول بر لیتر) خون در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G۱	۲۰/۲±۲/۰ a	۲۱/۲±۳/۰ a	۲۲/۲±۱/۰ a	۲۰/۸±۲/۰ a
G۲	۲۲/۴±۳/۰ a	۲۱/۲±۱/۰ a	۲۱/۵±۲/۰ a	۲۰/۶±۲/۰ a
G۳	۲۱/۰±۲/۰ a	۱۸/۷±۱/۰ a	۱۷/۸±۳/۰ a	۱۷/۳±۲/۰ a
G۴	۲۱/۴±۱/۰ a	۱۸/۶±۱/۰ a	۱۷/۹±۱/۰ a	۱۶/۵±۲/۰ a
G۵	۲۰/۱±۱/۰ a	۱۸/۵±۲/۰ a	۱۷/۶±۲/۰ a	۱۵/۵±۲/۰ a

حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است (P<۰/۰۵). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به‌ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نتایج مشابهی را در زمینه تعداد گلبول‌های قرمز با تحقیق حاضر به‌دست آوردند. آن‌ها گزارش نمودند که غلظت ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره منجر به افزایش معنی‌دار میزان هموگلوبین، گلبول‌های قرمز و هماتوکریت شد. این محققین دلیل افزایش مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت را نیاز اکسیژنی بالای بدن ماهی بعد از مواجهه با نانوذرات نقره ذکر کردند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی نداشت. می‌توان گفت که سمیت نانوذرات نقره به غلظت آلاینده و مدت زمان مجاورت با آلاینده بستگی دارد (۱۰).

در مورد فاکتورهای بیوشیمیایی سرم شامل گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، اوره و اسید اوریک، میزان گلوکز سرم خون تحت تاثیر غلظت‌های تحت کشنده نانوذرات نقره در تیمارهای G۲، G۳، G۴ و G۵ نسبت به گروه شاهد G۱ افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < ۰/۰۵$). در تحقیقی که در بر روی ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio* L) انگشت قد انجام شد، غلظت تحت کشنده‌ی سیفلوترین باعث افزایش میزان گلوکز سرم خون شد. نانوذرات نقره به‌دلیل سمیتی که برای ماهی داشته تحت عنوان یک عامل استرس‌زا عمل کرده و باعث استرس در ماهی می‌شود که در نهایت افزایش معنی‌دار در میزان گلوکز در تیمارهای در معرض با نانوذرات نقره G۲، G۳، G۴ و G۵ را توجیه می‌کند (۱۸). بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون تحت تأثیر نانوذرات نقره نشان دادند که استرس ناشی از آلودگی نانوذرات نقره در تست تحت کشنده منجر به افزایش گلوکز خون شده است.

همچنین میزان کلسترول و تری گلسیرید در تیمارهای G۳، G۴ و G۵ کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل پیدا کرد. در مطالعه‌ای که فارکاس و همکاران (۱۲) بر روی سلول‌های کبد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام داد مشخص گردید که نانوذرات نقره باعث آسیب کبدی و همچنین کاهش متابولیت‌های داخل سلولی سلول‌های کبدی می-شود. میزان تری گلیسرید سرم ماهی به‌علت کاهش میزان تولید کلسترول در اثر کاهش فعالیت‌های داخل سلولی سلول‌های

جدول ۷- تغییرات میانگین (± خطای استاندارد) منیزیم (میلی مول بر لیتر) خون در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G۱	۶۷±۸ a	۶۰±۹ a	۶۰±۸ a	۷۰±۷ a
G۲	۶۷±۹ a	۶۰±۶ a	۶۰±۶ a	۶۴±۷ a
G۳	۶۵±۹ a	۶۸±۷ a	۶۳±۶ a	۶۱±۵ a
G۴	۶۵±۸ a	۶۸±۷ a	۶۴±۷ a	۶۲±۸ a
G۵	۶۵±۶ a	۶۵±۷ a	۶۳±۸ a	۶۴±۳ a

حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است ($P<۰/۰۵$). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به‌ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.

جدول ۸- تغییرات میانگین (± خطای استاندارد) کلر (میلی‌مول بر لیتر) خون در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G۱	۱۰۱±۱۲ a	۱۰۰±۱۵ a	۱۰۵±۱۰ a	۱۰۲±۱۲ a
G۲	۱۰۱±۱۳ a	۱۰۴±۱۵ a	۱۰۱±۱۴ a	۹۸±۱۳ a
G۳	۱۰۴±۱۳ a	۱۰۹±۱۶ a	۱۰۶±۱۲ a	۹۶±۱۲ a
G۴	۱۰۶±۱۵ a	۱۰۹±۱۲ a	۱۰۰±۱۴ a	۱۰۴±۱۳ a
G۵	۱۰۵±۱۲ a	۱۰۰±۱۲ a	۹۸±۱۳ a	۱۰۴±۱۱ a

حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است ($P<۰/۰۵$). تیمارهای G1،G2،G3،G4 و G5 به‌ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

کبدی کاهش معنی‌داری پیدا کرد. سایر فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق تغییر محسوسی را نشان نداده و فقط میزان عددی فسفر در تیمارهای در معرض نانوذرات نقره نسبت به تیمار کنترل کاهش عددی نشان داد که معنی‌دار نبود ($P>0/05$).

نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج این تحقیق نانوذرات نقره در غلظت‌های بالا سمیت نسبتاً بالایی در ماهی شیربت داشته و باعث القای برخی تغییرات استرسی در فاکتورهای بیوشیمیایی سرم ماهی می‌گردند. لذا در استفاده از این نانوذرات باید به غلظت‌های اعلام شده از طرف مراکز تحقیقاتی توجه نموده و حتی‌الامکان زمان مصرف نانوذرات نیز حداقل باشد. در ضمن استفاده زیاد نانوذرات می‌تواند به‌عنوان تهدیدی برای محیط زیست نیز مطرح باشد.

منابع مورد استفاده

1. Ademuyiwa, O., R. Ugbaja, S. Rotimi, E. Abam, B. Okediran, O. Dosumu and B. Onunkwor. 2007. Erythrocyte acetylcholinesterase activity as a surrogate indicator of lead-induced neurotoxicity in occupational lead exposure in Abeokuta, Nigeria. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 24: 183–188.

2. Aydın, R. and K. Köprücü. 2005. Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 82 (3): 220–225.

3. Banaee, M., A. Sureda, A. R. Mirvaghefi and K. Ahmadi. 2010. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss). Pesticide Biochemistry and Physiology* 99: 1-6.

4. Bar-Ilan, O., R.M. Albrecht, V.E. Fako and D.Y. Furgeson. 2009. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebra fish embryos. *Small* 5: 1897-1910.

5. Boudou, A. and F. Ribeyre. 1997. Aquatic ecotoxicology: From the ecosystem to the cellular and molecular levels. *Environmental Health Perspectives* 105: 21–35.

6. Chae,Y. J., C. H. Pham, J. Lee, E. Bae, J. Yi and M. B. Gu. 2009. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka *(Oryzias latipes) Aquatic Toxicology* 94: 320-327.

7. Chopra, I. 2007.The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: A useful development or a cause for concern. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59: 587-590.

8. Di Giulio, R. T. and D. E. Hinton. 2008. The Toxicology of Fishes. CRC Press, New York.

9. Hogstrand, C. and C. M. Wood. 1998. Toward a better understanding of the bioavailability, physiology, and toxicity of silver in fish: Implications for water quality criteria. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17: 547–561

10. Imani, M., M. Halimi and H. Khara. 2014. Effects of silver nanoparticles (AgNPs) on hematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss. Comparatve Clinical Pathology* 24: 491-495.

11. Izadkhast, Z. 2008. Evaluation of serum electrolyte parameters in farmed grypus (Barbus grypus) in Khuzestan. Ph.D. thesis. Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

12. Farkas, J., P. Christianc, J. Alberto, G. Urread, N. Roose, M. Hassel, K. E. Tollefsena and K. V. Thomasa. 2009. Effects of silver and gold nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. Aquatic Toxicology 96: 44-52.

13. Laban, G., L. F. Nies, R. F. Turco, J. W. Bickham and M. S. Sepúlveda. 2010. The effects of silver nanoparticles on fathead minnow *(Pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology* 19: 185-195.

14. Mohammadi, A. 2011. Effects of exposure to diazinon on some hematological parameters and serum lysozyme activity benni (Barbus sharpeyi). Ph.D. thesis. Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

15. Mohapatra, B. C. and K. Rengarajan 1995. A Manual of Bioassays in the Laboratory and their Techniques. CMFRI Special Publication, Cochin, India.

16. Pereira, L., M. N. Fernandes and C. B. R. Martinez. 2013. Hematological and biochemical alterations in the fish *Prochilodus lineatus* caused by the herbicide clomazone. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 36: 1-8.

17. Rajkumar, K. S., N. Kanipandian and R. Thirumurugan. 2016. Toxicity assessment on haemotology, biochemical and histopathological alterations of silver nanoparticles-exposed freshwater fish Labeo rohita. *Applied Nanoscience* 6: 19–29.

18. Sepici-Dinçel, A., A. Çağlan Karasu Benli, M. Selvi, R. Sarıkaya, D. Şahin, I. Ayhan Özkul and F. Erkoç. 2009. Sublethal cyfluthrin toxicity to carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings: Biochemical, hematological, histopathological alterations. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 1433-1439.

19 Shahbazzadeh, D. A., H. B. Ahari, N. M. Rahimi, F. Dastmalchiand and M. Soltani. 2009. The effects of Nano silver on survival percentage of rainbow trout. *Pakistan Journal of Nutrition* 8: 1178-1180.

20. Sondi, I. and B. Salopek-Sondi. 2004. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Advances in Colloid Interface Science* 275: 177-182.

www.SID.ir