



## اثر نانو سیلور با غلظت و اندازه های متفاوت بر خصوصیات بافت شناسی بیضه

### جوجه های گوشتی

اسحق نخبه زعیم<sup>۱</sup>، جعفر یدی<sup>۲\*</sup>، ابوالفضل زارعی<sup>۱</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، گروه علوم دامی، کرج، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، گروه دامپزشکی، ساوه، ایران

\* Email: amiryadi@yahoo.com

### چکیده

نانو تکنولوژی به عنوان یکی از پیشرفته ترین علوم در علم حاضر، در تمام زوایای حیات جانوری، گیاهی، زیست محیطی و صنعتی نفوذ نموده و افق جدیدی را در علوم طبیعی باز کرده است. با تغییر اندازه ذرات از میکرومتر به نانومتر به خاطر افزایش نسبت سطح به حجم تمام خواص فیزیکی و شیمیایی تغییر نموده و واکنش پذیری ذره به شدت افزایش می یابد. پس از تهیه نانو سیلور جوجه ها را از سن ۱۱ روزگی تیمار بندی کرده و بسته به آزمایش مقادیر مختلف نانو سیلور که از قبل با غذای آن ها ترکیب شده (اسپری شده) در دسترس آن ها قرار داده و تا ۴۲ روزگی که سن کشتار است ادامه داده شد سپس از هر تکرار ۲ جوجه انتخاب نموده و از نواحی مختلف بافت بیضه که پس از جدا نمودن این قطعات داخل فرمالین به آزمایشگاه ارسال کرده و بررسی بافت شناسی و نیز پاتولوژیک این بافت صورت گرفت. در پایان با جمع آوری و مرتب کردن داده ها و با استفاده از نرم افزار آماری spss19 آنالیز آماری انجام شد و آزمون مقایسه میانگین ها به روش دانکن صورت پذیرفت. در نتیجه پرخونی، نکروز اسپرmatوسیت اولیه و ثانویه، کم شدن سلول های منی ساز، مرگ و نکروز سلول های بینابینی، دژنراسانس، عدم وجود اسپرmatوزوآ جوجه هایی که مقدار نانو بیشتری استفاده کرده اند مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: نانو نقره، جوجه گوشتی، بافت شناسی، بیضه.

### مقدمه

امروزه علم تغذیه طیور از اساسی ترین علوم مرتبط با پرورش طیور بوده که تأثیر بسزایی را در افزایش کارایی پرورش طیور و در پی آن زندگی انسان داراست. تا به امروز پیشرفت های بالایی در عرصه تهیه خوراک طیور و افزایش بهره وری آن به وجود آمده است.

نانو سیلور از طریق کنترل فعالیت عوامل بیماری زا در عرصه های مختلف پزشکی، دامپزشکی، صنایع مختلف مثل کشاورزی و دامپروری و غیره کاربرد زیادی دارد. استفاده از نانو ذرات نقره در علم دامپروری و پرورش دام و طیور نمود بیشتری یافته است، به گونه ای که حتی توصیه شده در درمان بعضی از بیماری های ویروسی غیرقابل درمان در دام و طیور مثل نیوکاسل و آنفلوانزا مورد استفاده قرار گیرند. (Ahari et al., 2015)

نانو نقره نیز از افزودنی ها به جیره غذایی بوده و اساساً یک ترکیب ضد عفونی کننده است که بر روی ترکیبات غشاهای باکتریایی اثر می گذارد و منجر به تغییر ساختار و در نتیجه مرگ میکروارگانیزم ها می شود. عمل نقره به عنوان



یک کاتالیزور، آنزیم هایی را که باکتری های تک سلولی، ویروس ها و قارچ ها برای متابولیسم اکسیژن احتیاج دارند، غیرفعال می کند. نتیجه حاصله تخریب موجودات عامل بیماری در بدن و در غذاها است. (Kim et al., 2007)

در مطالعه ای نشان داده شد که نقره در فرم نانو ذرات ها هیچ تأثیری بر روی افزایش وزن جوجه های گوشتی نداشته است. جذب یون های نقره از دستگاه گوارش از طریق ورود به کبد بوده و ممکن است بر روی کبد تأثیرگذار باشد و از آنجاکه کبد اولین علامت برای هر چیزی قبل از جذب سیستمیک است بنابراین آن ها برونش ها و طحال بزرگ تری نسبت به تحقیقات ثبت نمودند. (Ahmadi, et al 2010)

در مطالعات نشان داده شده که نانو نقره در استخوان جنین انباشته شده است اما بر ساختار و خواص مکانیکی استخوان تأثیر نمی گذرد. تمایل به افزایش مواد معدنی، نانو ذرات ها ممکن است مواد معدنی استخوان را تحت تأثیر قرار دهد. (Sikorsla, 2010)

در مطالعات نشان داده شده که بهبود قابل توجهی در افزایش وزن، نرخ بازده غذای مصرفی در جوجه های گوشتی که با نانو ذرات نقره تغذیه شده اند وجود داشته است. (Andi et all., 2011)

در مطالعه ای نشان داده شده است نتایج نشان داد که سطوح مختلف نانو ذرات نقره هیچ تغییر قابل ملاحظه ای بر روی تغییرات سلولی بافت کبد ندارد. (Loghman et all., 2012)

محققان نشان دادند که مصرف دهانی یک روز نانو ذرات مس موجب توزیع این ذرات در اندام های مختلف شده که غالباً اندام های هدف، کلیه، خون و به خصوص کبد بوده اند. لذا نانو ذرات نقره نیز مانند نانو ذرات مس پس از مصرف در بافت های بدن به خصوص در دستگاه گوارش، کبد و عضلات پراکنده شده و اثرات سمی خود را بروز می دهند. (Lortez 2007)

محققان نشان دادند نانو ذرات نقره میزان نسبی کل دستگاه گوارش و کبد را افزایش و چربی احشایی را در لاشه جوجه های گوشتی به طور معنی داری کاهش می دهد. هم چنین بقایای نانو ذرات نقره در بافت کبد و گوشت سینه جوجه های گوشتی که سطوح مختلف نانو ذرات نقره را در جیره و یا آب آشامیدنی دریافت کرده بودند، مشاهده شد. آن ها نشان دادند استفاده از ذرات نانو نقره به عنوان افزودنی در تغذیه طیور مناسب نیست. (زرگران اصفهانی و همکاران ۱۳۸۹)

## مواد و روش ها

جوجه ها را از سن ۱۱ روزگی جدا کرده و در هر تکرار ۱۵ قطعه که مجموعاً ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی را در برمی گیرد. پن ها را بر اساس تکرار و تیمارهای مختلف شماره گذاری نموده و بسته به آزمایش مقادیر مختلف نانو سیلور که از قبل با غذای آن ها ترکیب شده است (اسپری شده است) را در دسترس آن ها قرار داده و هرروز تمامی تکرارها را چک نموده تا سن ۴۲ روزگی که سن کشتار است.

تمامی جوجه ها از نژاد راس ۴ منفی بوده که قبل از ورود به سالن، سالن ها را تجهیز نموده و ضدعفونی های مختلف نیز انجام شده و پس از اتمام کار ضدعفونی و تهیه ی بستر مناسب برای جوجه ها (پوشال) جوجه ها را وارد سالن نمودیم. پس از اتمام دوره پرورش از هر تکرار ۲ جوجه کشتار شد و به ۵ تیمار ۴ تکرار هر تکرار ۱۵ جوجه گوشتی، سپس از نواحی مختلف بیضه جدا شد و با سرنگ فرمالین به داخل بیضه تزریق شد و سپس به داخل فرمالین ۱۰٪ غوطه



ور نموده و پس از انتقال به آزمایشگاه از نمونه ها بلوک های پارافینی تهیه شد و سپس آن ها را با دستگاه میکروتوم برش داده پس از برش آن ها را رنگ امیزی کرده و لام تهیه شده را به وسیله ی میکروسکوپ مشاهده و اسلایدهای تهیه شده را از نظر بافت شناسی و نیز پاتولوژیک بافت و پرخونی، نکروز اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه ، کم شدن سلول های منی ساز، مرگ و نکروز سلول های بینابینی ، دژنرسانس ، عدم وجود اسپرماتوزوا مورد بررسی قرار داده شد. در پایان با جمع آوری و مرتب کردن داده ها با استفاده از نرم افزار آماری spss19 آنالیز آماری انجام شد و آزمون مقایسه میانگین ها نیز به روش دانکن محاسبه گردید.

### نتایج و بحث

در این جدول به بررسی تغییرات پاتولوژیک بافت بیضه جوجه های گوشتی نر در ۵ گروه پرداخته شده است . پرخونی ، نکروز اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه ، کم شدن سلول های منی ساز ، مرگ و نکروز سلول های بینابینی ، دژنرسانس ، عدم وجود اسپرماتوزوا جوجه هایی که مقدار نانو بیشتری استفاده کرده اند مشاهده گردید. در سلول های منی سازه علت عدم وجود اسپرماتوزوا فرآیند اسپرماتوزن متوقف است. تمامی لوله های موجود تحت تاثیر نانو قرار گرفته اند . سلول های بینابینی (لیدیک) دچار کاهش جمعیت شده اند و سلول های اسپرماتید که در تمام طول لایه دچار نکروز شده، که نشان دهنده ی این موضوع است که نانو نقره با مقدار ۴٪ و ۶٪ ppm روی یک رده ی سلولی خاص اثر نگذاشته است. سپس فرایند اسپرم سازی در لوله منی ساز متوقف شده است . (مرگ برنامه ریزی شده) در اسپرماتیدها به علت تاثیر نانو بر روی بیضه کاهش تعداد لایه های سلولی نشانگر آتروفی و کوچک شدن بیضه است که هم وزن و هم اندازه ی بیضه را شامل می شود. در لوله های منی ساز اسپرماتوسیت ها با هسته های فراوان (پلی نوکلوتر) مشخص می باشد که بیانگر توقف تقسیم سلول های اسپرماتوسیت می باشد این علامت بارز دژنره شدن بافت بیضه است اسپرماتوسیت ها در حال تقسیم هستند که این اختلال نشانگر تاثیر نانو است .

بنابر این اسپرماتوزوا وجود ندارد ، جمعیت سلول های بینابینی کاهش یافته است که نشانگر تاثیر نانو بر روی سلول های لایدیک است . در لوله های منی ساز سلول های نکروزه و جمعیت کاهش یافته ی سلول های منی ساز مشاهده می گردد. هسته ی نکروزه هم در سلول های بینابینی و هم در سلول های لوله منی ساز منی ساز نشان دهنده ی مرگ سلولی است . نانو نقره به شدت بر روی بافت بیضه تاثیر منفی گذاشته است که اولین تغییر توقف فعالیت اسپرم سازی است . عوارض پیشرفته قابل رویت شامل مرگ سلول های اسپرم ساز در تمامی سطوح است که حتی باعث از بین رفتن سلول های بینابینی و کاهش جمعیت آن ها در تمامی جوجه ها گردیده است.

تقسیم سلولی	وجود اسپرماتوزوا	دژنرسانس	مرگ و نکروز سلول های بینابینی	کم شدن سلول های منی ساز	نکروز اسپرماتوسیت ثانویه	نکروز اسپرماتوسیت اولیه	نفوذ سلول های التهابی	خونریزی	پرخونی	گروه های آزمایش
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	شاهد



+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4ppm+50nm
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6ppm+50nm
-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	0.4ppm+100nm
-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	0.6ppm+100nm

\*بررسی تغییرات پاتولوژیک بافت بیضه جوجه خروس ها در گروه های آزمایشی

### نتیجه گیری کلی

۱. استفاده از نانو سیلور به اندازه 50nm و با غلظت 0.6ppm بر روی پرخونی، نکروز اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه، کم شدن سلول های منی ساز، مرگ و نکروز سلول های بینایی، دژنرسانس و عدم وجود اسپرماتوزا اثرات مخرب نداشته است.

### منابع

۱. زرگران ا. ح.، شریفی س.، برین ع.، افضل ز. ا.، پردیس ا. & دانشگاه ت. ۱۳۸۹. اثر نانو ذرات نقره بر عملکرد و خصوصیات لاشه جوجه های گوشتی. مجله علوم دامی ایران. دوره ۴۱، شماره ۲. صفحات ۱۳۷-۱۴۳

- Ahari, H., Dastmalchi, F., Ghezelloo, Y., Paykan, R., Fotovat, M., Rahmannya, J., (2008): The application of silver nanoparticles to the reduction of bacterial contamination in poultry and animal production. Food Manufacturing Efficiency. 2, 1: 49-53 4- Braydich Stolle
- Ahmadi, F., Kurdestani, A.H., 2010. The impact of silver nano particles on growth performance, lymphoid organs and oxidative stress indicators in broiler chicks. Global Veterinaria 5, 366-370.
- Andi, M.A., Mohsen H., Farhad, A., 2011. Effects of Feed Type With /Without Nanosil on Cumulative Performance, Relative Organ Weight and Some Blood Parameters of Broilers. Global Veterinaria 7, 605-609
- Kim, Y.S., Kim, J.S., Cho, H.S, Rha, D.S, Kim, J.M., Park, J.D., Choi, B.S., Lim, R., Chang, H.K, Chung, Y.H, Kwon, I.H, Jeong, J., Han, B.S., Yu, J.J., (2008): Twenty-eight day oral toxicity, genotoxicity, and gender related issue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. Inhalation Toxicology. 20:575\_583.
- Loretz, B. & Bernkop-Schnürch, A. (2007). In vitro cytotoxicity testing of non-thiolated and thiolated chitosan nanoparticles for oral gene delivery. Nanotoxicology, 1, 139 – 148.
- Loghman, A., Sohrabi, H.I., Djeddi, A.N., Mortazavi, P., 2012. Histopathologic and apoptotic effect of nanosilver in liver of broiler chickens. African Journal of Biotechnology 11, 6207-6211.