جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۵، شماره۳، پاییز ۱۳۹۳، ۲۷۲-۲۶۳

اثر نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی گربه ماهی رنگین‌کمان (*Pangasius hypophthalmus*)

پرستو رزم‌آرا M.Sc. student، فاطمه پیکان حیرتی .Ph.D، سالار درافشان .Ph.D*

– دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: sdorafshan@cc.iut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۷

چکیده

هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر نانوذرات نقره بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی گربه‌ماهی رنگین‌کمان به‌عنوان یک گونه ارزشمند آکواریمی و پرورشی است.

مواد و روش‌ها: ۴۰ قطعه گربه ماهی رنگین کمان (میانگین وزنی ۱۲ گرم) به‌مدت ۱۰ روز تحت شرایط ساکن-تجدید در معرض مقادیر ۱ و ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات‌نقره (میانگین قطر هیدرودینامیکی ۵۴/۸ نانومتر) و نیترات‌نقره قرار گرفتند. یک گروه آزمایشی حاوی ۱۰ قطعه نیز به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. پس از پایان آزمایش، خون‌گیری از ماهیان (۵ قطعه از هر تیمار) صورت گرفت و شاخص‌های مرسوم خون‌شناسی مورد ارزیابی گرفت.

نتایج: میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز (RBC) در دوز ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره در روز اول افزایش یافت ($p<۰/۰۵$)؛ در حالی‌که در روز دهم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). در هر دو زمان بررسی شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی تغییرات معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). دوز ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات‌نقره در روز دهم منجر به افزایش تعداد گلبول سفید (WBC) نسبت به گروه شاهد و روز اول شد ($p<۰/۰۵$). همچنین غلظت بالای نانوذرات‌نقره و نیترات‌نقره در هر دو زمان منجر به تغییر معنی‌دار فراوانی انواع گلبول‌های سفید شد ($p<۰/۰۵$). در هر دو تیمار نانوذرات‌نقره، گلوکز سرم افزایش یافت ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تغییر معنی‌دار RBC، هماتوکریت، هموگلوبین، WBC، فراوانی آن‌ها و میزان گلوکز در دوز بالای نانوذرات‌نقره می‌تواند نشان‌دهنده سمیت ترکیب مورد استفاده و بروز تنش در گونه مورد بررسی باشد.

واژگان کلیدی: آزمون‌های خون‌شناسی، گربه ماهیان، *Pangasius hypophthalmus*، نانوذرات

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

فناوری نانو در معنای ساده استفاده از مواد و ساختارهای در مقیاس نانو (حداقل با قطر ۱ تا ۱۰۰نانومتر) است. توانایی دستکاری ماده در چنین مقیاس اتمی و مولکولی کوچکی، سبب کاربرد وسیع این علم در شیمی، زیست شناسی، فیزیک، داروسازی و علوم مهندسی شده است (۱). افزایش تولیدات و محصولات نانو به ناچار منجر به افزایش فاضلاب نانومواد می‌شوند. این فاضلاب‌ها از طریق هوازدگی اکسید و به‌طور عمدی یا تصادفی وارد محیط می‌شوند. محیط‌های آبی که بسیار آسیب‌پذیر هستند، محل رسوب و تجمع بسیاری از این نانوذرات و فاضلاب‌های شیمیایی هستند. در نهایت این نانوذرات وارد واکنش با موجودات زنده و عوامل غیرزنده می‌شوند، اما اثرات مضر و تخریب کننده آن‌ها هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است و این عدم شناخت کافی منجر به ایجاد نگرانی‌هایی برای سلامت انسان و محیط زیست شده است (۲). از نانومحصولات تولید شده امروزی می‌توان به دی‌اکسید تیتانیوم، نقره، آهن، اکسید روی و همچنین نانولوله‌های کربنی و گرافن اشاره کرد. نانوذرات‌نقره به‌دلیل خاصیت ضدمیکروبی کاربردهای گسترده‌ای داشته‌اند، از جمله در باندهای بهداشتی (۳)، ماشین‌های لباس‌شویی (۴)، فیلترهای تصفیه آب (۵)، پارچه‌ها (۶)، حسگرها (۷) و داروسازی (۸) از نانوذرات‌نقره استفاده شده است.

مطالعات مختلف نشان داد که نانوذرات‌نقره می‌توانند منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی (۳)، ایجاد اکسیژن واکنش پذیر (۷)، کاهش عمل‌کرد میتوکندریایی (۷)، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و تنش اکسیداتیو (۹) شوند. با این وجود مکانیزم سمیت نانوذرات‌نقره در ماهی‌ها به درستی مشخص نیست. بیشتر بودن سمیت نانوذرات‌نقره در مقایسه با یون نقره، ممکن است به‌دلیل شکل و یا اندازه نانوذرات، میزان رهاسازی یون نقره (۱۰)، یا ترکیبی از هر دو باشد (۲). بنابراین در مطالعه اثر سمیت نانوذرات‌نقره همواره لازم است با اثرات حاصله از یون نقره مقایسه شود.

خون یک شاخص مفید در تعیین سلامتی یک ارگانیسم است و شاخص‌های خون‌شناسی در تشخیص وضعیت عمل‌کردی جانورانی که در تماس با مواد سمی بوده‌اند بسیار مهم هستند (۱۱). به‌دلیل اینکه سیستم گردش خون و محیط خارجی با یکدیگر مرتبط هستند، متغیرهای خون‌شناسی برای تشخیص اثرات مواد تنش‌زا و سمی استفاده می‌شود. پیشنهاد شده است خون‌شناسی، تغییرات زیست‌شیمیایی، نرخ رشد و میزان مصرف اکسیژن ماهی در تشخیص سمیت آلاینده‌ها استفاده شود. تخریب خون و اندام‌های خون‌ساز در ماهی ممکن است به‌دلیل شرایط محیط زیست یا آلودگی آب‌ها یا هر دو باشد (۱۲). فاکتورهای سلولی در خون (تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید) شاخص‌های مفیدی در واکنش‌های حاصله از تنش‌های خارجی هستند که در نهایت سبب تغییرات مورفولوژیکی و توزیع سلولی در خون می‌شوند (۱۳). Davis و همکاران (۱۴) گزارش کردند مواد تنش‌آور محیطی سبب ایجاد پاسخ‌های تنشی در پروفیل گلبول‌های سفید می‌شود (). همچنین ناهنجاری‌های مورفولوژیکی در گلبول‌های قرمز شاخص مفیدی در سمیت سلولی هستند (۱۵).

تاکنون اطلاعات اندکی در مورد اثر نانوذرات بر روی خون ماهی گزارش شده است از جمله آن می‌توان به مطالعات انجام شده بر تیلاپیای موزامبیک Oreochromis mossambicus (۱۶) و قزل‌آلای‌رنگین‌کمان Oncorhynchus mykiss (۱۷) اشاره کرد. نانوذرات آهن سبب ایجاد تغییرات معنی‌دار در تعداد گلبول سفید و قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین خون تیلاپیا شد در حالی‌که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر معنی‌داری بر شاخص‌های ذکر شده در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان نداشت. نانوذرات-نقره موجب کاهش میزان تری‌گلیسیرید و تعداد گلبول‌های سفید در موش‌هایی که از این ماده به‌جای آب آشامیدنی استفاده کرده بودند، شد (۱۸)، در صورتی‌که موجب تغییرات معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید و آنزیم‌های خونی جوجه نسبت به گروه شاهد نشد (۱۹).

گربه‌ماهی‌رنگین‌کمان *Pangasius hypophthalmus* یک گونه سریع‌الرشد و همه چیزخوار است که از آن به‌عنوان غذای ماهی و یک گونه ارزشمند در آبزی‌پروری آسیا نام برده می‌شود و به بسیاری از رودخانه‌ها و دریاچه‌های قاره آسیا وارد شده است. این گونه به‌طور گسترده در مزارع تجاری پرورش ماهی تایلند، هند، چین و میانمار پرورش داده می‌شود (۲۰). همچنین این ماهی از سال ۲۰۰۴ وارد ایران شد و به‌عنوان ماهی آکواریمی از آن استفاده می‌شود (۲۱).

با توجه به محدودیت مطالعات علمی در زمینه تاثیر نانوذرات بر آبزیان، این تحقیق با هدف ارزیابی اثر نانوذرات‌نقره بر

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

شاخص‌های خون‌شناسی گربه ماهی‌رنگین کمان طراحی و اجـرا شد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از کلوئید نانوذرات نقره (Ag-NPs) با نام تجاری Nanocid و غلظت اسمی ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر شرکت نانونصب پارس (تهران- ایران به شماره ثبت اختراع ۲۰۰۹۰۰۱۳۸۲۵) استفاده گردید. مشخصات نانوذره مورد استفاده در این تحقیق بر اساس آنالیزهای صورت گرفته پیشین به شرح جدول ۱ بود (۲۲).

جدول۱ : برخی از مشخصات اندازه‌گیری شده کلوئید نانوذرات‌نقره توسط سالاری‌جو و همکاران (۲۲)

پارامتر	روش سنجش	نوع یا مقدار	توضیحات
غلظت	ICP-AES	۳۹۸۰ میلی‌گرم بر لیتر	با غلظت اعلام شده از کارخانه تولیدی اختلاف ناچیزی دارد.
شکل	TEM	کروی	-
اندازه ذرات(قطر هیدرودینامیکی)	Zetasizer	۳/۹ تا ۱۶۳/۵ نانومتر	۵۴/۱ درصد از ذرات قطر هیدرودینامیکی کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر دارند.
میانگین قطر هیدرودینامیکی	Zetasizer	۵۴/۸ نانومتر	-
قطر بیشینه	TEM	۱۲۹ نانومتر	۶۵/۱۴ درصد از ذرات قطری بین ۱ تا۱۳ نانومتر دارند.
خلوص	EDX		تنها عنصر نقره در کلوئید نانوذرات نقره وجود دارد.

طرح آزمایش: ۵۰ قطعه گربه ماهی رنگین‌کمان با میانگین وزنی۱۲±۰/۲۶ گرم و طولی۱۰/۷±۰/۴۶ سانتی‌متر تهیه شد. ماهی‌ها به‌مدت دو هفته مرحله تطابق را طی کرده و سپس به اکواریوم با حجم کلی ۱۰۰ لیتر و هوادهی شده با سنگ هوای ۲ سانتی‌متری و پر شده با آب شیر بدون کلر مستقر شدند. هر آکواریوم حاوی۱۰ قطعه ماهی بود و آزمایش در ۵ تیمار شامل: غلظت‌های ۱ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره (1Ag-NPs)، ۱ میکروگرم بر لیتر نیترات نقره ($1AgNO_3$)، ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره (20Ag-NPs)، ۲۰ میکروگرم بر لیتر نیترات نقره (20AgNO3) و گروه شاهد در قالب طرح آزمایش کاملا تصادفی اجرا شد. غلظت پائین نانوذرات نقره (۱میکروگرم بر لیتر) به‌منظور ارزیابی اثرات سمیت این مواد در محیط طبیعی و غلظت بالا (۲۰ میکروگرم بر لیتر) به منظور پی‌بردن به سمیت بحرانی یا کم‌ترین غلظتی که سبب کاهش زنده‌مانی می‌شود، انتخاب شد (۲). نیترات نقره به‌منظور مقایسه اثر نانوذرات‌نقره و یون نقره استفاده شد. ماهی‌ها به‌مدت ۱۰ روز در تماس با این مواد بودند و در طول این مدت تغذیه نشدند (۲۳).

نانوذرات‌نقره و نیترات‌نقره قبل از هر بار استفاده به‌مدت ۳۰ دقیقه به‌منظور یکنواخت پخش شدن، در محلول سونیکاسیون شدند. تانک‌های آزمایش ۲۴ ساعت قبل از اضافه کردن ماهی به دوز مورد نظر رسیدند، سپس شسته شده و مجددا قبل از اضافه کردن ماهی به دوز مورد نظر رسیدند تا میزان کاهش دوز ذرات مورد نظر که در اثر چسبیدن به سنگ‌هوا و شیشه تانک ایجاد می‌شود، به حداقل برسد. تعویض آب و تنظیم دوز مورد نظر هر ۴۸ ساعت یک‌بار تحت شرایط ساکن- تجدید انجام شد (۲۴). شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره ارزیابی شدند که شامل دما (۲۹/۸- ۳۱/۲ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (۶/۱-۷/۲ میلی‌گرم بر لیتر)، pH (۸/۲-۷/۸)، هدایت الکتریکی (۴۸۲/۲ میکروزیمنس بر سانتی‌متر)، آمونیوم (۱/۳۷ میلی‌گرم بر لیتر)، فسفات کل (۰/۰۹ قسمت در میلیون) و سختی (۱۸۲ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم) بود.

در پایان روز اول و دهم (۵ قطعه از هر تیمار) ماهی‌ها با استفاده از گل‌میخک با غلظت ۱۰۰میلی‌گرم در لیتر بی‌هوش شدند. سپس خون‌گیری از ماهیان پس از خشک کردن ساقه دمی، با استفاده از سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتری هپارینه انجام شد و ویژگی‌های مرسوم خون‌شناسی مطابق روش‌های استاندارد خون‌شناسی برگرفته از Houston, 1990 به شرح زیر اندازه‌گیری شد (۲۵).

شمارش تعداد گلبول سفید (هزار در میلی‌مترمکعب) و قرمز (میلیون در میلی‌مترمکعب) پس از رقیق سازی نمونه خون با استفاده از محلول دیس (Dace)، شامل رنگ بریلیانت کریزل آبی (Brilliant cresyl blue) (۰/۱ گرم)، سیترات سدیم (۳/۸ گرم)، فرمالین ۳۷ درصد (۰/۲ میلی لیتر) و آب مقطر تا حجم ۱۰۰ میلی لیتر با استفاده از پیپت ملانژور سفید یا قرمز و لام

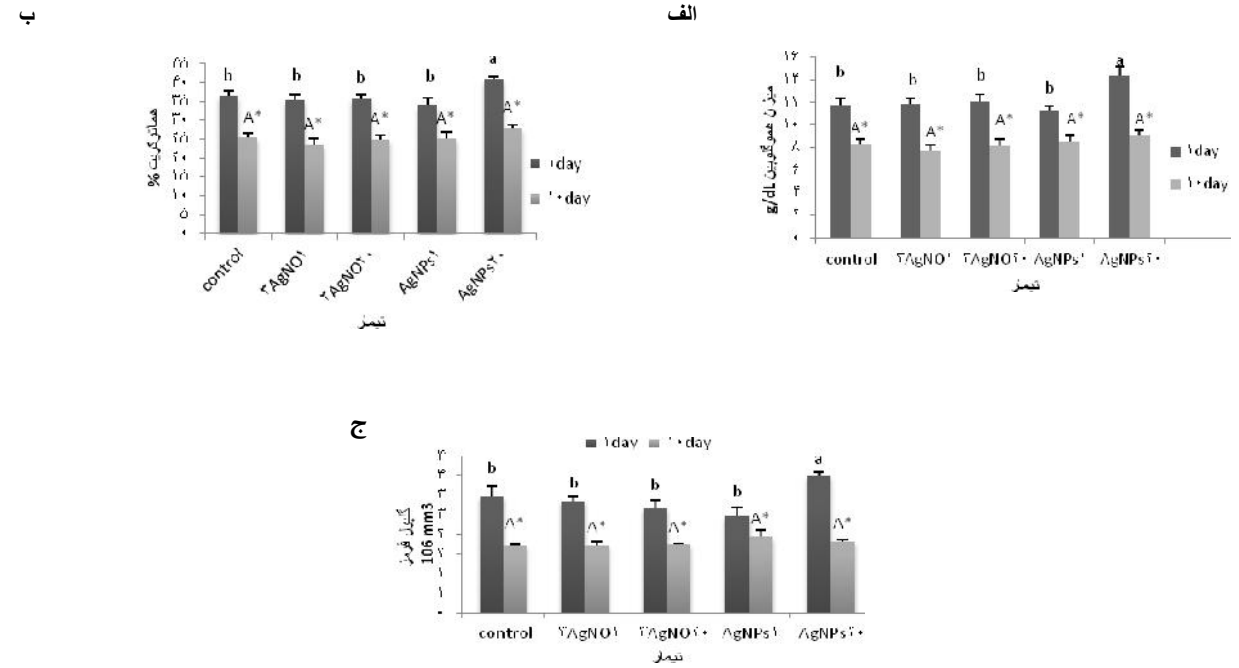
هموسایتومتر به صورت دستی اجرا شد. درصد هماتوکریت (Hct) با پر کردن لوله‌های میکروهماتوکریت به‌میزان حداقل ۲/۳ حجم لوله از خون کامل و سانتریفیوژ (Sigma; Germany) ۵ دقیقه در ۷۰۰۰ rpm تعیین گردید. همچنین میزان هموگلوبین (Hb گرم در دسی لیتر)، با استفاده از روش سیان‌مت‌هموگلوبین (Cyan methemoglobin) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PerkinElmer lambda Z 800; USA) طول موج ۵۴۰ نانومتر در آزمایشگاه تشخیص طبی میلاد، اصفهان اجرا شد. به‌منظور شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، لام اسمیر (گسترش خونی) تهیه و سپس با رنگ‌آمیزی توسط محلول گیمسا سلول‌های خونی قابل شناسایی شدند. شمارش افتراقی گلبول‌ها با استفاده گسترش خونی رنگ‌آمیزی شده و مطابق شکل گلبول‌ها با کلید شناسایی مرتبط صورت گرفت (۲۶). میزان گلوکز خون نیز در پایان روز دهم با استفاده از کیت‌های شرکت پارس نانومتر در آزمایشگاه تشخیص طبی میلاد اندازه‌گیری شد. حجم متوسط گلبول‌های قرمز (MCV)، مقدار متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) بر اساس روابط زیر محاسبه شد (۱۶ و ۲۷).

MCV= (HCT/RBC)×10, MCH= (Hb/RBC)×10, MCHC= (Hb/RBC)×100

آزمایش با استفاده از آنالیز آماری یک‌طرفه (ANOVA) مشخص و سپس با استفاده از آزمون دانکن (Duncan) و T-Test معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین تیمارها به تفکیک در سطح اعتماد p>۰/۰۵ ارزیابی گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌کمک نرم‌افزار SPSS ver 18 انجام شد. جهت رسم نمودارها از Excel 2007 استفاده گردید.

نتایج

نتایج فراسنجه‌های خونی نشان داد در روز اول میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز در دوز ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت و به‌ترتیب معادل ۰/۹۰± ۱۴/۲۶گرم بر دسی‌لیتر، ۰/۷۳±۴۱ درصد و ۰/۱۱ ±۳/۴۹ میلیون در متر مکعب بود (شکل۱، p<۰/۰۵)؛ در حالی‌که در روز دهم تفاوت معنی‌داری از نظر این شاخص‌ها بین تیمارها مشاهده نشد (p>۰/۰۵). مقایسه مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز بین روز اول و دهم نشان داد میزان این سه فاکتور در همه تیمارها در روز دهم به طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) نسبت به روز اول کاهش یافته است (شکل ۱).



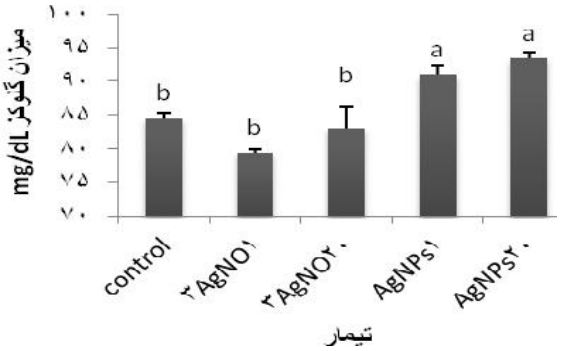
*شکل ۱: میانگین ± خطای استاندارد (mean ± SE) الف: هموگلوبین، ب: هماتوکریت، ج: تعداد گلبول‌های قرمز در گربه‌ماهی رنگین‌کمان پس از مواجهه با نانوذرات نقره و نیترات نقره. علائم انگلیسی کوچک و بزرگ به‌ترتیب برای تفاوت معنی‌دار در بین تیمارهای مختلف در روز اول و دهم است. علامت * نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین روز اول و دهم خون‌گیری در یک تیمار است (p< ۰/۰۵).*

شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی شامل متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) در روز اول به‌ترتیب در گستره ۱۲۰/۱۲-۱۳۹/۳۳، ۴۰/۷۱-۴۵/۸۹، ۳۲/۱۵-۳۴/۲ و در روز دهم به‌ترتیب در گستره ۱۳۵/۴-۱۴۷/۲۲ فمتولیتر، ۴۳/۸۷-۴۸/۰۷ پیکوگرم و ۳۲/۴۶-۳۲/۷۱ درصد بود. نتایج مقایسه آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری در هیچ‌یک از این شاخص‌های مورد بررسی بین گروه‌های مختلف آزمایشی وجود نداشت (جدول۲، p>۰/۰۵). همچنین در مقایسه بین دو زمان مورد بررسی در هیچ یک از شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲، p>۰/۰۵).

جدول۲: میانگین ± خطای استاندارد (mean ± SE) شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی اندازه‌گیری شده در گربه ماهی رنگین‌کمان پس از مواجهه با نانوذرات نقره و نیترات نقره. در هر ردیف، وجود حداقل یک حرف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (p> ۰/۰۵).

تیمار / فاکتور	زمان (روز)	شاهد	نیترات نقره ۱ میکروگرم بر لیتر	نیترات نقره ۲۰ میکروگرم بر لیتر	نانوذرات نقره ۱ میکروگرم بر لیتر	نانوذرات نقره ۲۰ میکروگرم بر لیتر
(fL)MCV	۱	۱۲۶/۲۹ ± ۱۳/۹۵[a]	۱۲۶/۴۹ ± ۱۴[a]	۱۲۵/۷۷ ± ۸[a]	۱۳۹/۳۳ ± ۱۱/۸۲[a]	۱۲۰/۱۲ ± ۴/۵۶[a]
	۱۰	۱۴۷/۲۲ ± ۸/۷۶[a]	۱۳۶/۶۶ ± ۱۱/۲۸[a]	۱۴۴/۸۱ ± ۱۱/۰۵[a]	۱۳۵/۴ ± ۹/۰۴[a]	۱۴۳/۵۹ ± ۱۹/۸۷[a]
(Pg)MCH	۱	۴۰/۷۱ ± ۴/۸۶[a]	۴۲/۳۹ ± ۵/۵۵[a]	۴۲/۵۵ ± ۳/۱[a]	۴۵/۸۹ ± ۲/۸۱[a]	۴۰/۹۶ ± ۱/۳۶[a]
	۱۰	۴۸/۰۷ ± ۳/۱۵[a]	۴۴/۶۸ ± ۴/۲۲[a]	۴۷/۱۹ ± ۳/۹۰[a]	۴۳/۸۷ ± ۲/۶۲[a]	۴۶/۵۹ ± ۵/۶۰[a]
(%)MCHC	۱	۳۲/۱۵ ± ۰/۳۷[a]	۳۳/۳۵ ± ۰/۸۹[a]	۳۳/۸۲ ± ۰/۶۲[a]	۳۲/۹ ± ۰/۲۴[a]	۳۴/۲۰ ± ۰/۸۵[a]
	۱۰	۳۲/۶۲ ± ۰/۶۴[a]	۳۲/۹۴ ± ۰/۶۱[a]	۳۲/۵۴ ± ۰/۳۴[a]	۳۲/۴۶ ± ۰/۵۰[a]	۳۲/۷۱ ± ۰/۶۵[a]

در روز اول بررسی تعداد گلبول‌های سفید (WBC) در زمان یکسان و همچنین در تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌دار بود. در روز اول بیش‌ترین تعداد گلبول سفید (۱۰۳ cell/mm3 × ۱۱/۲۲±۱۲۲) در ماهیان تیمار شده با دوز ۱ میکروگرم بر لیتر نیترات‌نقره مشاهده شد، اگرچه تفاوت معنی‌داری بین این گروه از ماهیان با سایر تیمارهای آزمایشی (به جز ماهیان گروه ۲۰AgNPs) مشاهده نشد (جدول۳، p>۰/۰۵). در روز دهم تعداد گلبول سفید در دوز ۲۰ AgNPs معادل ۱۴/۷ ±۱۳۵ هزار در مترمکعب بود و نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت (جدول۳، p<۰/۰۵). در مقایسه بین دو زمان نمونه‌برداری، تفاوت معنی‌داری در هیچ از یک شاخص‌های مورد بررسی به‌جز افزایش معنی‌دار WBC در گروه ۲۰AgNPs مشاهده نشد (جدول۳، p>۰/۰۵). در گسترش خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا، انواع گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل قابل تفکیک بودند که به‌ترتیب در گستره ۴۷/۶۶-۶۶، ۱۰/۳۳-۲۴/۵، ۱۰/۵-۳۹/۶۶ و ۱/۳۳-۳/۵ درصد قرار داشتند (جدول ۳). نانوذرات‌نقره و نیترات‌نقره اثر معنی‌داری بر درصد ائوزینوفیل نداشت (p>۰/۰۵). درصد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها به‌طور معنی‌داری در بین گروه‌های مختلف آزمایشی متفاوت بود (p<۰/۰۵). به‌طوری‌که غلظت‌های بالای هر دو ترکیب نیترات‌نقره و نانوذرات‌نقره منجر به کاهش فراوانی نسبی لنفوسیت و افزایش درصد نوتروفیل در مقایسه با گروه شاهد شد (جدول۳، p>۰/۰۵). درصد مونوسیت نیز در روز اول و دهم در هر دو تیمار نیترات‌نقره کاهش پیدا کرد (جدول۳، p>۰/۰۵). میزان گلوکز اندازه‌گیری شده در روز دهم در هر دو تیمار ۲۰ و۱ میکروگرم بر لیتر نانوذرات‌نقره نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت (p>۰/۰۵) (شکل ۲).



شکل۲: میانگین ± خطای استاندارد (mean ± SE) گلوکز اندازه‌گیری شده در گربه ماهی رنگین کمان پس از ۱۰ روز مواجهه با نانوذرات نقره و نیترات نقره.

جدول ۳: میانگین ± خطای استاندارد (mean ± SE) تعداد گلبول سفید و شمارش افتراقی گلبول سفید در گربه‌ماهی رنگین‌کمان (P hypophthalmus) بر اساس خون‌گیری پس از مواجهه با نانوذرات نقره و نیترات نقره.

تیمار / فاکتور	زمان (روز)	شاهد	نیترات نقره µg/L۱	نیترات نقره µg/L۲۰	نانوذرات نقره µg/L۱	نانوذرات نقره µg/L۲۰
WBC ($۱۰^{۳}$ $mm^{۳}$)	۱	۱۰۲/۵±۹ ^{ab}	۱۲۲±۱۱/۲۲ ^{a}	۱۱۰±۱۴/۴۴ ^{a}	۷۸±۸/۸ ^{ab}	۵۸±۴/۸۹ ^{b*}
	۱۰	۶۸ ± ۹/۱^{b}	۱۰۲/۵ ± ۸/۵۳^{ab}	۱۰۷/۵ ± ۱۳/۱^{ab}	۸۰ ± ۴/۰۸^{b}	۱۳۵ ± ۱۴/۷^{a}
لنفوسیت (%)	۱	۶۴/۶۶ ± ۱/۲^{a}	۵۹/۵ ± ۰/۵^{b}	۴۷/۶۶ ± ۰/۸۸^{c}	۶۳/۵ ± ۰/۵^{a}	۵۷ ± ۲^{b}
	۱۰	۶۶ ± ۱^{a}	۶۱/۷۵ ± ۱/۰۳^{a}	۵۲ ± ۲/۰۴^{b}	۶۲/۲۵ ± ۰/۸۵^{a}	۵۶/۲۵ ± ۱/۹۳^{b}
مونوسیت (%)	۱	۲۳/۳۳ ± ۰/۸۸^{a}	۲۵ ± ۰/۱۲^{a}	۱۰/۳۳ ± ۰/۸۸^{c}	۲۴ ± ۱^{a}	۱۷ ± ۰/۱۵^{b}
	۱۰	۲۱/۶ ± ۱/۷۴^{a}	۲۴/۲۵ ± ۰/۲۵^{a}	۱۳/۵ ± ۱/۷۸^{b}	۲۴/۵ ± ۰/۸۶^{a}	۲۰/۲۵ ± ۱/۶۵^{a}
نوتروفیل (%)	۱	۱۰/۶۶ ± ۰/۳۳^{c}	۱۳/۵ ± ۰/۵^{c}	۳۹/۶۶ ± ۰/۶۶^{a}	۱۰/۵ ± ۱/۵^{c}	۲۲/۵ ± ۰/۵^{b}
	۱۰	۱۱ ± ۰/۹۴^{c}	۱۲ ± ۱/۰۸^{c}	۳۲/۵ ± ۱/۷^{a}	۱۱/۵ ± ۰/۸۶^{c}	۲۰/۷۵ ± ۱/۱^{b}
ائوزینوفیل (%)	۱	۱/۳۳ ± ۰/۳۳^{a}	۲ ± ۰/۱۲^{a}	۲/۳۳ ± ۰/۳۳^{a}	۲ ± ۰/۵^{a}	۳/۵ ± ۰/۹۸^{a}
	۱۰	۱/۴ ± ۰/۵^{a}	۱/۵ ± ۰/۶۴^{a}	۲ ± ۰/۷^{a}	۱/۷۵ ± ۰/۸۵^{a}	۲/۷ ± ۰/۴۷^{a}

در هر ردیف، وجود حداقل یک حرف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵).

علامت * نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ بین روز اول و دهم در یک تیمار است.

بحث

نانوذرات‌نقره به‌دلیل اندازه بسیار کوچک و نسبت سطح به حجم زیاد (۲) واکنش‌پذیری بالایی با غشای سلول دارند و به‌عنوان یک عامل تنش‌زا عمل می‌کنند. پاسخ به تنش در ماهیان شامل سه مرحله است که توسط سیستم پیچیده عصبی- درون ریز کنترل می‌شود. اولین تغییری که معمولا پس از بروز تنش رخ می‌دهد، تحریک محور هیپوتالاموس- هیپوفیز -کلیه است که باعث آزادسازی کورتیزول و کاته‌کولامین می‌شود. پاسخ ثانویه شامل تغییرات ایمونولوژیکی، هماتولوژیکی و متابولیکی است که ناشی از عملکرد کورتیزول و کاته‌کولامین است و باعث تنظیم اسمزی، افزایش قند خون و افزایش فشار خون می‌شود. پاسخ سوم در مرحله نهایی بروز می‌کند، در این مرحله، بیماری، کاهش رشد و در نهایت مرگ پدید خواهد آمد (۲۸).

تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین پس از یک روز مواجهه با دوز ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات‌نقره افزایش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۵). این سه شاخص خون‌شناسی اطلاعات با ارزشی را برای زیست‌شناسان شیلاتی و پرورش‌دهندگان آبزیان به عنوان شاخص مناسبی از وضعیت سلامت ماهی و واکنش به تنش‌های محیطی فراهم می‌کند (۲۹). به‌نظر می‌رسد افزایش نیاز اکسیژنی ماهی در مواجهه با

تنش منجر به بروز این تغییرات شده باشد. افزایش نیاز اکسیژنی در مواجه با تنش محیطی در آبزیان مختلف نظیر افزایش مصرف اکسیژن در قزل‌آلای‌رنگین‌کمان پس از تغذیه با غذای آلوده به مس گزارش شده است (۳۰ و ۳۱) که معمولا به‌دلیل افزایش تقاضای انرژی برای مواجهه با شرایط تنش‌زا است (۲۹). از آنجایی‌که قسمت اعظم اکسیژن به‌صورت اتصال با هموگلوبین در گلبول قرمز منتقل می‌شود، در شرایط تنش‌زا معمولا تعداد گلبول قرمز افزایش می‌یابد که خود منجر به افزایش هموگلوبین و هماتوکریت خواهد شد. مشابه با نتایج این تحقیق Karthikeyeni و همکاران (۱۶)، افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین را پس از یک روز مواجه با نانوذرات - اکسید آهن گزارش کردند. با این وجود، تفاوت معنی‌داری در سه شاخص مورد بررسی در روز دهم مشاهده نشد که می‌تواند ناشی از ایجاد حالت تطابق در ماهی پس از گذشت زمان باشد. مستندات بسیاری مبتنی بر ایجاد حالت تطابق و سازگاری در جانداران پس از مواجهه با عوامل تنش‌زا وجود دارد. به‌عنوان مثال، ارزیابی اثر نانوذرات‌نقره بر آنزیم کبدی آلانین‌آمینو-ترانسفراز در موش ویستار جنس نر (۳۲) نشان داد پس گذشت ۳ روز این آنزیم در سرم خون افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت در صورتی‌که پس از گذشت ۸ و ۱۲ روز میزان آن به‌حالت طبیعی بازگشت که علت را می‌توان به ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی در جاندار و در نتیجه کاهش اثر سمیت ترکیب پس از گذشت زمان نسبت داد. نانوذرات‌نقره و نیترات نقره در هیچ یک از تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر شاخص‌های ثانویه متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین هرگلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) در روز اول و دهم نداشتند. نتایج متناقضی در خصوص تاثیر عوامل تنش‌زا از جمله آلاینده‌های محیطی بر شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی وجود دارد. به‌عنوان مثال، مواجهه با نانوذرات اکسید آهن پس از ۹۶ ساعت سبب افزایش MCV و MCH در تیلاپیای موزامبیک شد (۱۶). درحالی‌که مواجه تاس‌ماهی استرلیاد، Acipenser ruthenus با کادمیوم محلول در آب منجر به تغییر معنی‌دار در شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی نشد (۳۳). به‌نظر می‌رسد پاسخ شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی به عوامل تنش‌زای محیطی متاثر از عوامل مختلفی هم‌چون نوع گونه، شرایط زیستی، نوع و غلظت مواد آلاینده باشد.

تعداد گلبول سفید در تیمار ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات‌نقره در روز دهم افزایش یافت. همچنین دوز ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات‌نقره سبب کاهش درصد لنفوسیت و افزایش درصد نوتروفیل شد. گلبول‌های سفید نقش مهمی را در ایمنی غیراختصاصی ایفا می‌کنند و تعداد آن‌ها شاخصی از میزان سلامتی در ماهیان است. مطالعات مختلف نشان داده است که معمولا شرایط تنش‌زا منجر به افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌شود که احتمالا نشان دهنده تغییرات فیزیولوژیک آبزی در مواجه با عامل تنش‌زا است (۳۴). تعداد گلبول‌های سفید در روز اول در تیمارهای مختلف با گروه شاهد تفاوتی را نشان نداد. این مساله می‌تواند ناشی از کوتاه بودن دوره در معرض‌گذاری باشد، چراکه معمولا تغییرات در تعداد گلبول‌های سفید در مقایسه با تعداد گلبول قرمز با تاخیر رخ می‌دهد. نتایج این تحقیق در روز دهم نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید در دوز بالای نانوذرات-نقره نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است ($p<۰/۰۵$). بر اساس مطالعات صورت گرفته، تاکنون گزارشی مبنی بر تاثیر نانوذرات نقره بر تعداد گلبول‌های سفید در ماهیان منتشر نشده است و لذا امکان مقایسه دقیق این نتایج با سایر مطالعات وجود ندارد. با این وجود، افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون موش‌های تزریق شده با نانوذرات‌نقره پس از گذشت ۱۲ روز گزارش شده است. این پدیده، شاید به‌دلیل نقش گلبول‌های سفید در فاگوسیتوز نانوذرات‌نقره باشد (۳۲). با این وجود، به‌نظر می‌رسد که پاسخ فیزیولوژیک افزایش تعداد گلبول سفید در مواجهه با آلاینده‌ها متاثر از دوره در معرض گذاری و شدت (غلظت) آلاینده باشد. در درازمدت ممکن است به‌دلیل تاثیر نامطلوب آلاینده‌ها بر بافت‌های تامین کننده گلبول‌های سفید در خون، تعداد این دسته از گلبول‌ها کاهش یابد. به‌عنوان مثال، رضویان و همکاران (۱۹) گزارش کردند که ۶ ماه استفاده از آب حاوی نانوذرات نقره به‌عنوان آب آشامیدنی موش‌های صحرایی نژاد ویستار (Vistar rats) منجر به کاهش معنی‌دار تعداد گلبول سفید می‌شود که دلیل آن‌را مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوزیس سلولی) عنوان کرده‌اند. تغییر در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی ایمنی بدن در مواجه با مواد آلاینده مورد استفاده قرار گیرد (۳۵). تغییرات ناشی از تنش می‌تواند تعادل هومئوستازی بدن را به‌هم‌زده و منجر به نابسامانی‌هایی در سیستم ایمنی بدن شود. تغییر در میزان کورتیکواستروئیدها متاثر از بروز تنش می‌تواند

توجیه کننده تغییر در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید باشد. در بسیاری از موارد، تنش‌های فیزیولوژیک می‌تواند منجر به کاهش تعداد لنفوسیت‌ها و افزایش نسبت نوتروفیل‌ها شود (۳۶). در این تحقیق افزایش درصد نوتروفیل و کاهش درصد لنفوسیت و مونوسیت در دوز بالای نانوذرات‌نقره و نیترات‌نقره مشاهده شد. با توجه به این‌که تاثیر نانوذرات بر شمارش افتراقی گلبول‌های سفید ماهیان تاکنون مورد اشاره قرار نگرفته است، لذا امکان مقایسه نتایج با سایر تحقیقات وجود ندارد. با این وجود Mekkawy و همکاران (۱۲) با در معرض قراردادن گربه ماهی- آفریقایی Clarias gariepinus با ماده سمی ۴- نونیل فنل، کاهش فراوانی لنفوسیت و افزایش فراوانی نوتروفیل و ائوزینوفیل را گزارش کردند. در صورتی‌که غلظت‌های مختلف کادمیوم اثر معنی‌داری بر شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در بچه‌ماهی استرلیاد نداشت (۳۳). اگرچه نقش‌های متعددی برای انواع گلبول‌های سفید تاکنون گزارش شده است (۲۹). اما یکی از نقش‌های اصلی نوتروفیل‌ها، فاگوسیتوز است. شاید افزایش تعداد آن‌ها در تیمارهای مواجه شده با دوز بالای یون و نانوذرات‌نقره به‌منظور فاگوسیتوز ذرات و یون‌های وارد شده به پیکره آبزی باشد، با این وجود نتیجه گیری قطعی در این خصوص نیازمند مطالعات تکمیلی است.

میزان گلوکز در هر دو تیمار نانوذرات نقره پس ۱۰ روز مواجهه نسبت به سایر گروه‌ها روند افزایشی داشت. مشاهدات نشان داده است که تنش به‌عنوان یک فرآیند انرژی‌خواه باعث تجزیه گلیکوژن کبدی و در نتیجه افزایش گلوکز خون می‌شود. این عمل در پاسخ به افزایش کاته‌کولامین رخ می‌دهد (۲۸). افزایش میزان گلوکز خون در اثر نانوذرات‌نقره پس از ۳ ماه تغذیه موش با آب محتوی این ترکیب نیز مشاهده شده است (۱۹). همچنین افزایش میزان گلوکز در تیمارهای نانوذرات‌نقره نسبت به نیترات- نقره می‌تواند ناشی از بیشتر بودن سمیت نانوذرات‌نقره نسبت به یون نقره آزادشده از نیترات نقره در آب باشد (۲).

نتیجه گیری

با توجه به تغییرات ایجاد شده در تعداد گلبول‌های قرمز، سفید و شمارش افتراقی آنها و همچنین میزان گلوکز سرم تنها پس از ۱۰ روز در معرض‌گذاری می‌توان به اثر نامطلوب و تنش‌زای نانوذرات نقره خصوصا در دوزهای بالا در مقایسه با نیترات نقره و گروه شاهد اذعان نمود. چنین تغییراتی شاید در دراز مدت بتواند با تاثیر بر بخش های مختلف فیزیولوژیک آبزی، منجر به بروز پاسخ‌های تنشی مرحله سوم و در نهایت کاهش رشد و مرگ آبزی شود. با این وجود، نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص نیازمند تحقیقات بیشتر و وسیع‌تر بر روی همین گونه و گونه‌های دیگر است.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از مهندس مهتاب خلجی، مژگان زارع، مهسا برهانی، بهزاد پورنوری (دانشجویان کارشناسی ارشد بوم شناسی آبزیان شیلاتی دانشگاه صنعتی اصفهان) و مهندس صمد بهرامی (دانشجوی کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه صنعتی اصفهان) به‌سبب همکاری‌های ارزنده ایشان سپاسگزاری می‌نماید. بخشی از هزینه‌های انجام این تحقیق از محل پژوهانه شماره ۵۰۲/۹۱/۲۵۲۴۸ پرداختی از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی‌اصفهان به دکتر سالار درافشان تامین شده است.

منابع

1. 1. Masciangioli T, Zhang W. Environmental technologies at the nanoscale, Environ. Sci. Technol. 2003; 37(5): 102-108.
2. 2. Scown TM, Santos, EM, Johnston BD, Gaiser B, et al. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. Toxicol. Sci. 2010; 115(2): 521-534.
3. 3. Arora S, Jain J, Rajwade JM, Paknikar KM. Cellular responses induced by silver nanoparticles: in vitro studies, Toxicol. Let. 2008; 179(2): 93–100.

4. Jung WK, Kim SH, Koo HC, Shin S, et al. Antifungal activity of the silver ion against contaminated fabric, Mycoses. 2007; 50(4): 265–269.

5. Li QL, Mahendra S, Lyon DY, Brunet L, et al. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications, Water Res. 2008; 42(18): 4591–4602.

6. Perelshtein I, Applerot G, Perkas N, Guibert G, et al. Sonochemical coating of silver nanoparticles on textile fabrics (nylon, polyester and cotton) and their antibacterial activity, Nanotechnology. 2008; 19: 245705.

7. Schrand AM, Braydich-Stolle LK, Schlager JJ, Dai L, et al. Can silver nanoparticles be useful as

potential biological labels, Nanotechnol. 2008; 19(23): 235104.

8. Sun L, Singh AK, Vig K, Pillai SR, et al. Silver nanoparticles inhibit replication of respiratory syncytial virus, J. Biomed. Nanotechnol. 2008; 4: 149–158.

9. Hussain SM, Hess KL, Gearhart JM, Geiss KT, et al. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells, Toxicol. 2005; 19(7): 975–983.

10. Mayer GD, Leach A, Kling P, Olsson PE, et al. Activation of the rainbow trout metallothionein-a promoter by silver and zinc, Biochem. Mol. Biol. 2003; 134(1): 181–188.

11. Joshi PK, Bose M, Harish D. Changes in haematological parameters in asiluroid catfish Clarias batrachus (Linn) exposed to mercuric choloride, Pollut. Rec. 2002; 21 (2): 129–131.

12. Mekkawy IA, Mahmoud UM, Sayed AH. Effects of 4-nonylphenol on blood cells of the African catfish Clarias gariepinus (Burchell, 1822), Tissue and cell. 2011; 43(4): 223-229.

13. Srivastava S, Choudhary SK. Effect of artificial photoperiod on the blood cell indices of the catfish, Clarias batrachus. J. Stress Physiol. Biochem. 2010; 6(1): 22-32.

14. Davis AK, Maney DL, Maerz JC. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists, Fun. Ecol. 2008; 22(5): 760-772.

15. Bushra A, Abul farah M, Niamat MA, Waseem A. Induction of micronuclei and erythrocyte alterations in the catfish Clarias batrachus by 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and butachlor, Mutat. Res. 2002; 518: 135-144.

16. Karthikeyeni S, Vijayakumar TS, Vasanth S, Ganesh A, et al. Biosynthesis of Iron oxide nanoparticles and its haematological effects on fresh water fish Oreochromis mossambicus, J. Acad. Indus. Res. 2013; 1(10): 645-649.

17. Federici G, Shaw BJ, Handy RD. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects, Aquat. Toxicol. 2007; 84: 415-430.

18. Ahmadi J. Application of different levels of silver nanoparticles in food on the performance and some blood parameters of broiler chickens, World Appl. Sci. J. 2009; 7: 24-27.

19. Razavian MH, Safarpour E, Roshanai K, Yazdian MR, et al. Study of Biochemical and hematological parameters changes of Wistar rats blood parallel to oral nanosilver consumption, J Babol Univ. Med. Sci. 2011; 13(1): 22-27.

20. Rahman MM, Islam Ms, Halder GC, Tanaka M. Cage culture of sutchi catfish, Pangasius sutchi (Fowler 1937): effects of stocking density on growth, survival, yield and farm profitability, Aqua. Res. 2006; 37: 33-39.

21. Molnar K, Szekely C, Mohamed K, Harrison FSh. Myxozoan pathogens in cultured Malaysian fishes. I. Myxozoan infections of the sutchi catfish Pangasius hypophthalmus in freshwater cage cultures, Dis. Aquat. Org. 2006; 68: 209-218.

22. Salari joo H, Kalbassi MR, Yu IJ, Lee JH, et al. Bioaccumulation of silver nanoparticles in Rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): Influence of concentration and salinity, Aquat. Toxicol. 2013; 15: 398-406.

23. Bernet D, Schmidt H, Meier W, Burkhardt-Holm P, et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution, J Fish Diseases. 1999; 22: 25-34.

24. Kalbassi MR, Abdollahzadeh E, Salari joo H. Effect of colloidal silver nanoparticles on population of gut bacterial flora of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), J. Vet. Res. 2012; 67(2): 181-189.

25.Houston H. Review: are the classical hematological variables acceptable indicators for fish health? Tran Am Fish Soc. 1997; 126(6): 879-894.

26. Blaxhall PC. The haematological assessment of the health of fresh water fish, J fish Biol. 1972; 4: 593-604.

27. Atef M, Attar A. Changes in haematological parameters of the fish, Oreochromis niloticus treated with sub-lethal concentration of cadmium, Pak. J. Boil. Sci. 2005; 8(3): 421-424.

28. Mommsen TP, Vijayan MM, Moon TW. Cortisol in telieosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation, Fish Biol and Fisheries. 1999; 9: 211–268.

29. Kazemi, R, Pourdehghani, M, Yousefi Joudehi, A, Yarmohammadi, M, et al. Cardiovascular system physiology of aquatic animals and applied techniques of fish haematology. 1th Ed. Rasht. Bazargan co; 2010.

30. Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen NPE. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, Environ. Toxicol. Pharmacol. 2003; 13: 57-149.

31. Campbell HA, Handy RD, Sims DW. Shifts in a fish's resource holding power during a contact paired interaction: the influence of a copper contaminated diet in rainbow trout, Physiol. Biochem. Zool. 2005; 78: 706–714.

32. Naghsh N, Noori A, Aqababa H, Amirkhani S, et al. Effect of nanosilver particles on alanin amino transferase (ALT) activity and white blood cells (WBC) level in male Wistar rats, In vivo condition, Zahedan J. Res. Med. Sci. 2012; 14(7): 34-37.

33. Orojali M, Paykan Heyrati F, Mahboobi Soofiani N, Dorafshan S. Cadmium sub-lethal concentration effects on the haematological parameters of sterlet (Acipenser ruthenus), J. Fish. Sci.Tech. 2013; 2(2): 11-22.

34. Roberts, R.J. The pathophysiology and systemic pathology of teleosts, 1th Ed. London. Bailliere Tindal; 1978.

35. Adedeji OB, Adeyemo OK, Agbede SA. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (Clarias gariepinus), Afr. J. Biotechnol. 2009; 8 (16): 3940-3946.

36. Pickering, A.D. The concept of biological stress. 1thEd. London: Academic Press; 1981.

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Autumn 2014; 5(3): 263-272

Original Article

Effect of Silver Nanoparticles on Some Hematological Indices of Rainbow Catfish (*Pangasius hypophthalmus*)

Razmara P, M.Sc. studen, Peykan Heyrati F, Ph.D., Dorafshan S. Ph.D. *

- Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

* Email corresponding author: sdorafshan@cc.iut.ac.ir

Received: 22 Sep. 2013 Accepted: 16 Feb. 2014

Abstract

Aim: This study examined the effect of silver nanoparticles (AgNPs) on some hematological tests of Rainbow catfish as a valuable ornamental and food fish species.

Material and Methods: 40 fish (average size 12 g) were exposed to different concentrations (1 and 20 µg/L) of AgNPs (average hydrodynamic diameter 54.8 nm) and silver nitrate under constant-renewal condition for 10 days plus a control group (10 fish). At the end of the first and tenth days of exposure, blood samples were taken and conventional hematological tests measured.

Results: The mean red blood cell counts (RBC), hematocrit and hemoglobin were increased in 20 µg/L of AgNPs on first day ($P<0.05$). There was, however, no differences between treatments at the last day of exposure ($P>0.05$). In both first and last, there was no changes in the secondary hematological indices ($P>0.05$). High dose of AgNPs in last day led to increase of white blood cell count (WBC) relative to the control group and first day ($P<0.05$). Significant changes in differential white blood cell count (DWBC) were also observed of AgNPs and silver nitrate in both times ($P<0.05$). On the tenth day, glucose in both AgNPs treatments was increased ($P<0.05$).

Conclusion: Significant changes in RBC, hematocrit, hemoglobin, WBC, DWBC and glucose in high dose of AgNPs may indicate toxic effect of AgNPs.

Key words: Hematological tests, Catfishes, *Pangasius hypophthalmus*, Nanoparticles