

# تأثیر 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: ۱۳۹۵-۰۴-۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۶-۱۴

Email: paria.akbary@gmail.com



چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی شیربت (*Barbus grypus*) صورت گرفت. در این مطالعه، تعداد ۱۵۰ قطعه ماهی شیربت با میانگین وزنی  $40/12 \pm 9/01$  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 (G۱)، بدون استفاده از نانوذرات نقره) و تیمارهای آزمایشی G۲، G۳، G۴ و G۵ بود که میزان استفاده از نانوذرات نقره در آن‌ها به ترتیب LC۵۰، ۱/۱۰ LC۵۰، غلظت ۱/۲۰ LC۵۰ و غلظت ۱/۴۰ LC۵۰ بود و در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ فاکتورهای بیوشیمیایی و هماتولوژی اندازه گیری شد. تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای G۳، G۴ و G۵ در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ افزایش معنی داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ). سطح گلوکز در تیمارهای G۳، G۴ و G۵ در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ و تیمار G۲ در روزهای ۱۴ و ۲۱ افزایش معنی داری داشت ( $p < 0/05$ ). سطح اوره و اسید اوریک تفاوت معنی داری را در روزهای تیمارهای مورد بررسی نشان نداد ( $p < 0/05$ ). سطح کلسترول در تیمار G۳ در روزهای ۱۴ و ۲۱ و در تیمارهای G۴، G۵ در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ کاهش معنی داری داشت ( $p < 0/05$ ). سطح تری گلیسرید در تیمار G۲ در روز ۲۱، تیمار G۳ در روزهای ۱۴ و ۲۱ و در تیمارهای G۴ و G۵ در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ کاهش معنی داری داشت ( $p < 0/05$ ). از نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که غلظت‌های تحت کشنده نانوذرات نقره علاوه بر اثر بر پاسخ‌های استرسی، تأثیر نسبی بر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی سرم داشته و حتماً باید در مصرف این مواد در آبی‌پروری با احتیاط عمل کرد.

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

- 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 grypus*. 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 nanoparticles, and experimental groups (treatments G2, G3, G4 and G5) with nanoparticle 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

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 (*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 جایی که کشور ایران یکی از کشورهای پیشرو در علم نانو تکنولوژی است و با توجه به توسعه‌ی آن، شاهد کاربرد بیشتر نانوذرات در صنایع مختلف از جمله صنعت آبی‌پرورگی خواهیم بود. هدف از این تحقیق، تعیین میزان سمیت و تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر روی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی ماهی شیربت می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه ماهی شیربت

تعداد ۲۴۰ قطعه بچه ماهی شیربت با میانگین وزن گرم ۰.۵۰-۳۰ گرم و اندازه ۲۰ الی ۲۵ سانتی‌متر از مزارع پرورش ماهی اطراف اهواز تهیه

#### 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 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 آبیان 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

مدت ۹۶ ساعت در غلظت های مورد نظر نگهداری شده و میزان مرگ و میر در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه شد (۹).

مقادیر LC<sub>۵۰</sub> و محدوده اطمینان ۹۵ درصد مطابق بود و رایبیر (۵) با روش Probit analysis بر پایه لگاریتم ۱۰ از غلظت ماده سمی، و مرگ و میر در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ محاسبه شد. محدوده اطمینان ۹۵ درصد با فرمول موهاپترا ورنکاراجان M (۱۵) محاسبه شد.

علاوه بر LC<sub>۵۰</sub>، مقادیر کشنده دیگر شامل LC<sub>۱۰</sub>، LC<sub>۳۰</sub>، LC<sub>۷۰</sub> و LC<sub>۹۰</sub> با استفاده از جدول Probit، جدول مرگ و میر Probit و رگرسیون آن محاسبه شد. مقادیر محدوده اطمینان ۹۵ درصد با فرمول LC<sub>۵۰</sub> (۹۵٪)  $LC_{50} = LC_{50} + 1.96 \cdot (SD) \cdot (LC_{50})$  محاسبه شد. مقادیر SD با فرمول زیر محاسبه شد در حالی که b شیب خط رگرسیون نانوذرات نقره/Probit، p مقدار نانوذرات نقره استفاده شده، n تعداد ماهیان مورد استفاده در هر گروه و w میانگین وزن ماهیان مورد استفاده بود (۸).

$$SD (LC_{50}) = \frac{1}{b \sqrt{pnw}}$$

#### تیمار بندی ماهی

بعد از به دست آوردن LC<sub>۵۰</sub> نانوذرات نقره برای ایجاد مسمومیت مزمن ماهی شیربت، چهار تیمار با غلظت های (G<sub>۱</sub>) ۱/۱۰، (G<sub>۲</sub>) ۱/۲۰، (G<sub>۳</sub>) ۱/۴۰، (G<sub>۴</sub>) ۱/۸۰ و (G<sub>۵</sub>) ۱/۸۰ میزان LC<sub>۵۰</sub> در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره و غلظت صفر نیز به عنوان تیمار شاهد (G<sub>۱</sub>) (در مجموع پنج تیمار و هر کدام با سه تکرار) در ۱۵ آکوارיום ۲۰۰ لیتری در نظر گرفته شد. به هر آکوارיום ۱۰ قطعه ماهی با وزن متوسط حدود ۳۵-۳۰ گرم اضافه گردید. هر سه روز یک بار آب آکوارיום ها با همان غلظت مواد تعویض شدند. در روز های صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ از شروع آزمایش، از چهار ماهی از هر تکرار (۱۲ ماهی از هر تیمار) نمونه خون تهیه شد و آزمایش ها روی نمونه ها انجام گرفت.

#### خون گیری

از هر تیمار چهار قطعه ماهی در فواصل زمانی یک، هفت، ۱۴ و ۲۱ روز از آکوارיום خارج شده و پس از بیهوشی با داروی ۲- فنوکسی اتانول (۱۲۵ میلی گرم بر لیتر) به روش حمام بیهوش شدند (۳). ابتدا ماهیان با یک حوله خشک و تمیز پاک شده تا کاملاً آب آن گرفته شود. سپس از ناحیه ساقه دم ماهیان با استفاده از سرنگ های هپارینه شده و هپارینه نشده (سرنگ پنج سی سی و سرسوزن شماره ۲۱) خون گیری صورت گرفت (۱). نمونه های خون فاقد ماده ضد انعقاد پس از لخته شدن به مدت پنج دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند و پس از تفکیک سرم از سلول های خون، سرم برای اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون برداشت گردید. نمونه سرم در میکروتیوب های ۲/۵ میلی لیتری تخلیه و تا زمان انجام آزمایش بیوشیمیایی در فریزر دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند و از نمونه های خون دارای ماده ضد انعقاد برای اندازه گیری شاخص های گلبولی خون استفاده شد.

#### اندازه گیری پارامترهای خون شناسی

هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین مورد سنجش

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

#### شرایط فیزیکی و شیمیایی آب مورد آزمایش

در این آزمایش از آب فیلتر شده شهری 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 به طور روزانه اندازه گیری شد. در طول دوره آزمایش میانگین دمای آب  $27 \pm 1$  درجه سانتی گراد،  $pH = 7.9 \pm 0.1$ ، شوری  $12 \pm 0.78$  گرم بر لیتر، میزان اکسیژن محلول برابر  $8 \pm 1.2$  میلی گرم در لیتر، میزان  $NH_3$  و  $NO_2$  کمتر از  $0.01$  میلی گرم در لیتر و میزان  $NO_3$  کمتر از  $0.1$  میلی گرم در لیتر بود.

#### روش تعیین سمیت کشندگی (LC<sub>۵۰</sub>) نانوذرات نقره

ابتدا با استفاده از روش های طیف سنجی پلاسما جفت شده القایی و میکروسکوپ الکترونی عبوری کیفیت نانوذرات نقره از نظر خلوص مورد استفاده ارزیابی گردید. 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 به دست 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. به طوری که غلظت ایجادکننده ۱۰۰ درصد تلفات و غلظت غیرکشنده در بین این غلظت ها قرار گیرد. به این منظور پس از سازگاری ماهی (بعد از دو هفته) به هر مخزن ۱۰ قطعه ماهی به صورت تصادفی معرفی و روزانه ماهی ها در دو نوبت هشت صبح و ۱۶ بعد از ظهر به میزان سه درصد وزن بدن تغذیه شدند. با توجه به روش مورد استفاده (Static-renewal test condition) برای جلوگیری از اثر متابولیت ها و مواد آلی دفعی ماهی و نگهداری غلظت نانوذرات نقره در حد غلظت اولیه در نظر گرفته شده، آب تمام مخازن هر سه روز یک بار با آب حاوی همان غلظت نانوذرات نقره تعویض می گردید (۹، ۱۴). ماهی های بی حرکت و فاقد حرکت سرپوش آبششی مرده محسوب شده و از آب خارج می گردیدند. ثبت تلفات بصورت روزانه (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) انجام شده و بعد از ثبت تلفات، اقدام به تعیین LC<sub>۱۰</sub>، LC<sub>۵۰</sub> و LC<sub>۹۰</sub> در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با استفاده از نرم افزار Probit نسخه ۱/۵ گردید. در این روش از رگرسیون بین تعداد تلفات و لگاریتم غلظت نانوذرات نقره استفاده شد (۲). برای مقایسه ی مقادیر و تعیین معنی دار بودن اختلاف بین غلظت کشنده ی 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

اکسیداز) ، تري گلیسرید (به‌روش آنزیم گلیسروفسفات دهیدروژناز) و کراتینین به روش‌های آزمایشگاهی زیر با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی ساخت شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت (۱۱). همچنین اندازه‌گیری کلر به‌روش کلریمتری انجام شد و میزان فسفر به روش فتومترى اندازه‌گیری شد. سطح سرمی منیزیم به‌وسیله اسید تری کلرواستیک مورد سنجش قرار گرفت، در این روش با استفاده از تری کلرو استیک پروتئين 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 O-Cresolphthalein (CPC) با کیت زیست شیمی اندازه‌گیری شد. یون کلسیم در محیط قلیایی با ارتوکروزولفتالین کمپلکسون رنگ ارغوانی ایجاد می‌کند که با غلظت کلسیم موجود در نمونه رابطه مستقیم دارد و در طول موج‌های ۵۸۰-۵۵۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری می‌باشد (۱۶).

#### آنالیز آماری

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

قرار گرفت. ۰/۰۲ میلی‌لیتر خون با پنج میلی‌لیتر محلول تجارتي در آبکین (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 نوبار صورت گرفت. تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌لیتر مکعب خون محاسبه شد (۱۶).

#### اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون

پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون شامل گلوکز ( به‌روش اکسیداسیون گلوکز توسط گلوکز اکسیداز)، اوره (به‌روش آنزیماتیک)، اسیداوریک (به‌روش اسید فسفوتنگستیک)، کلسترول (به روش آنزیم کلسترول

جدول ۱- میزان سمیت نانوذرات نقره (میکروگرم بر لیتر) در ماهی شیربت بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مجاورت با استفاده از آنالیز Probit

غلظت کشنده	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
LC <sub>۱۰</sub>	۰/۱۲۹	۰/۰۵۸	۰/۰۳۹	۰/۰۳۴
LC <sub>۵۰</sub>	۰/۱۸۸	۰/۱۳۱	۰/۲۰۵	۰/۱۲۷
LC <sub>۹۰</sub>	۲/۷۳	۲/۳۱۹	۲/۲۹۴	۱/۲۵۸
LC <sub>۹۹</sub>	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
G <sub>۱</sub>	۱/۳۰±۰/۱۰ a	۱/۳۰±۰/۰۶ a	۱/۵۰±۰/۰۵ a	۱/۴۳±۰/۱۳ a
G <sub>۲</sub>	۱/۳۴±۰/۰۴ a	۱/۴۰±۰/۰۲ a	۱/۵۰±۰/۰۶ a	۱/۵۳±۰/۲۰ a
G <sub>۳</sub>	۱/۳۳±۰/۱۳ a	۱/۴۲±۰/۰۸ b	۱/۵۵±۰/۰۷ b	۱/۶۰±۰/۱۱ b
G <sub>۴</sub>	۱/۳۵±۰/۱۵ a	۱/۴۰±۰/۱۰ b	۱/۵۵±۰/۰۷ b	۱/۷۶±۰/۱۱ c
G <sub>۵</sub>	۱/۳۵±۰/۰۴ a	۱/۴۵±۰/ b۱۰	۱/۷۴±۰/۰۸ c	۱/۸۰±۰/۱۰ c

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است ( $P < 0/05$ ). تیمارهای G<sub>1</sub>، G<sub>2</sub>، G<sub>3</sub>، G<sub>4</sub> و G<sub>5</sub> به ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC<sub>50</sub> در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) می‌باشند.

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 زمان های صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ روز در جدول ۳ آورده شده است. میزان گلبول قرمز در تیمار G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> افزایش و یا کاهش معنی داری را در روزهای مختلف نمونه گیری نشان نداد (p > ۰/۰۵) ولی افزایش معنی داری در میزان گلبول های قرمز در تیمارهای G<sub>3</sub>، G<sub>4</sub> و G<sub>5</sub> در روز های هفت، ۱۴ و ۲۱ در مقایسه با G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> مشاهده شد (p < ۰/۰۵). همچنین بیشترین میزان افزایش در تیمار G<sub>5</sub> 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 G<sub>5</sub> از نظر عددی افزایش یافته است ولی این میزان افزایش معنی دار نبود (p > ۰/۰۵).

بودن داده ها توسط آزمون کولموگراف اسمیرنوف و همچنین برابری واریانس ها توسط تست لون مورد بررسی قرار گرفت. از آنوای یک طرفه برای بررسی تفاوت میانگین بین تیمار های تحقیق استفاده گردید. برای بررسی معنی دار بودن تفاوت میانگین ها از تست تکمیلی دانکن (Duncan) در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد. نمودارها و جداول آماری با استفاده از نرم افزار اکسل ترسیم شد.

### نتایج

نتایج مربوط به تعیین سمیت نانوذرات نقره در ماهی شیربت در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و 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

جدول ۳- تغییرات میانگین هماتوکریت (±SE) (برحسب درصد میلی لیتر خون) ماهی شیربت در تیمارهای مختلف نانوذرات نقره در زمان های مختلف آزمایش

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G <sub>1</sub>	۴۰/۵±۴/۰ a	۴۰/۵±۵/۰ a	۴۲/۵±۴/۰ a	۴۱/۵±۵/۰ a
G <sub>2</sub>	۴۱/۰±۶/۰ a	۴۲/۰±۴/۰ a	۴۱/۳±۶/۰ a	۴۱/۰±۵/۰ a
G <sub>3</sub>	۴۰/۰±۳/۰ a	۴۲/۰±۷/۰ a	۴۴/۰±۶/۰ a	۴۲/۰±۵/۰ a
G <sub>4</sub>	۴۰/۰±۵/۰ a	۴۲/۰±۶/۰ a	۴۳/۵±۴/۰ a	۴۳/۵±۴/۰ a
G <sub>5</sub>	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 معنی دار داده ها در بین غلظت های مختلف نانوذرات نقره است (P < ۰/۰۵). تیمارهای G<sub>1</sub>، G<sub>2</sub>، G<sub>3</sub>، G<sub>4</sub> و G<sub>5</sub> به ترتیب حاوی صفر، ۰/۱۰، ۰/۲۰، ۰/۴۰، ۱/۸۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) می باشند.

جدول ۴- تغییرات میانگین هموگلوبین خون (±SE) (گرم بر دسی لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان های مختلف آزمایش

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G <sub>1</sub>	۰/۱۵±۰/۰۱ a	۰/۱۵±۰/۰۱ a	۰/۱۶±۰/۰۱ a	۰/۱۷±۰/۰۱ a
G <sub>2</sub>	۰/۱۶±۰/۰۳ a	۰/۱۵±۰/۰۲ a	۰/۱۶±۰/۰۳ a	۰/۱۷±۰/۰۴ a
G <sub>3</sub>	۰/۱۶±۰/۰۲ a	۰/۱۶±۰/۰۲ a	۰/۱۶±۰/۰۳ a	۰/۱۷±۰/۰۳ a
G <sub>4</sub>	۰/۱۶±۰/۰۴ a	۰/۱۶±۰/۰۲ a	۰/۱۸±۰/۰۲ a	۰/۱۸±۰/۰۱ a
G <sub>5</sub>	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 معنی دار داده ها در بین غلظت های مختلف نانوذرات نقره است (P < ۰/۰۵). تیمارهای G<sub>1</sub>، G<sub>2</sub>، G<sub>3</sub>، G<sub>4</sub> و G<sub>5</sub> به ترتیب حاوی صفر، ۰/۱۰، ۰/۲۰، ۰/۴۰، ۱/۸۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) می باشند.

G۳ در روزهای ۱۴ و ۲۱ و در تیمار G۴ و G۵ در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ نسبت به روز صفر کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0/05$ ). بیشترین میزان کاهش در تیمار G۵ 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 ( $P > 0/05$ ). تغییرات میانگین اسید اوریک سرم خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ نمونه‌برداری در شکل ۵ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

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 ( $P > 0/05$ ).

### بحث

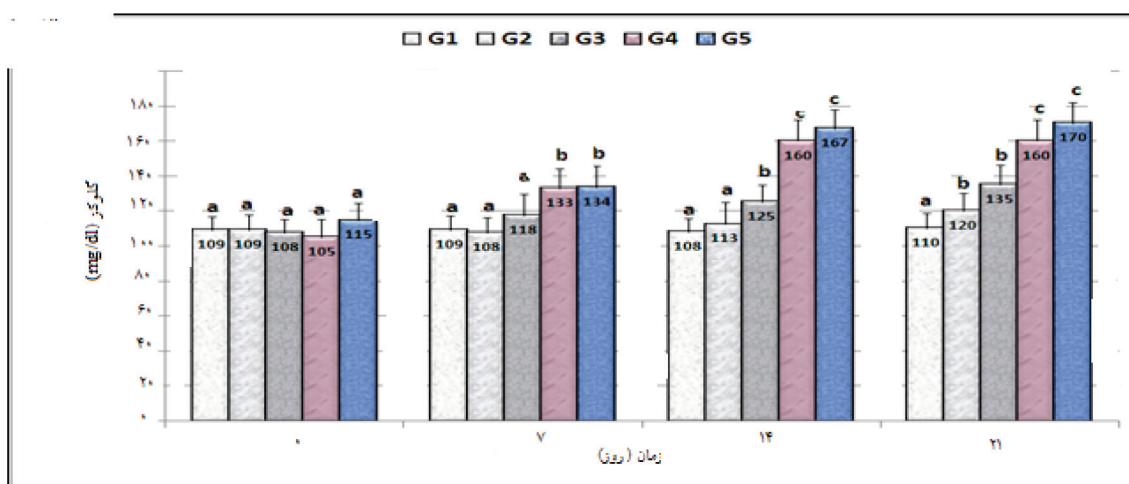
استفاده‌ی زیاد از مواد ضد باکتریایی مثل آنتی بیوتیک‌ها در آبی‌پروری به‌عنوان یک معضل در حال گسترش مطرح بوده و یافتن جایگزین‌های مناسب، دغدغه‌ی متولیان این صنعت می‌باشد. از آنجایی‌که نانوذرات نقره به‌خاطر اثرات ضد باکتریایی خود معروف می‌باشند، لذا یافتن غلظت‌کننده و نیز حداکثر غلظت مجاز این مواد در گونه‌های مختلف ماهی ضروری می‌باشد (۱۹). نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که نانوذرات نقره LC۵۰-۲۰۰۰ دارای سمیت بالایی در ماهی شیربت بوده و LC۵۰ بعد از مجاورت ۹۶ ساعته با LC۵۰-۲۰۰۰ برای

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 ( $P > 0/05$ ).

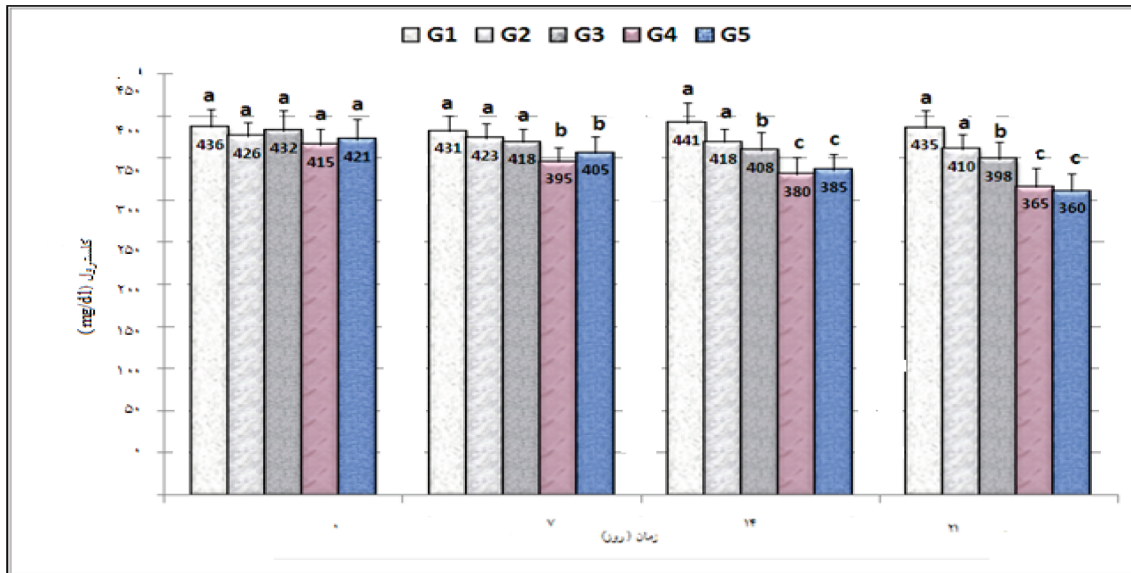
تغییرات میانگین گلوکز سرم خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ نمونه‌برداری در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان گلوکز سرم خون ماهی در تیمار G۲ در روز ۲۱، در تیمار G۳ در روزهای ۱۴ و ۲۱ و در تیمارهای G۴ و G۵ در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ نسبت به روز صفر افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ). 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 G۵ بود.

تغییرات میانگین کلسیول سرم خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ نمونه‌برداری در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان کلسیول در تیمار G۳ در روزهای ۱۴ و ۲۱، و در تیمارهای G۴ و G۵ در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ به طور معنی‌داری در مقایسه با G۱ کاهش یافت ( $P < 0/05$ ) که نشان می‌دهد با افزایش طول مدت تماس ماهی با نانوذرات نقره و همچنین افزایش غلظت میزان کلسیول کاهش می‌یابد. کمترین میزان کلسیول در تیمار G۵ و در روز ۲۱ مشاهده شد.

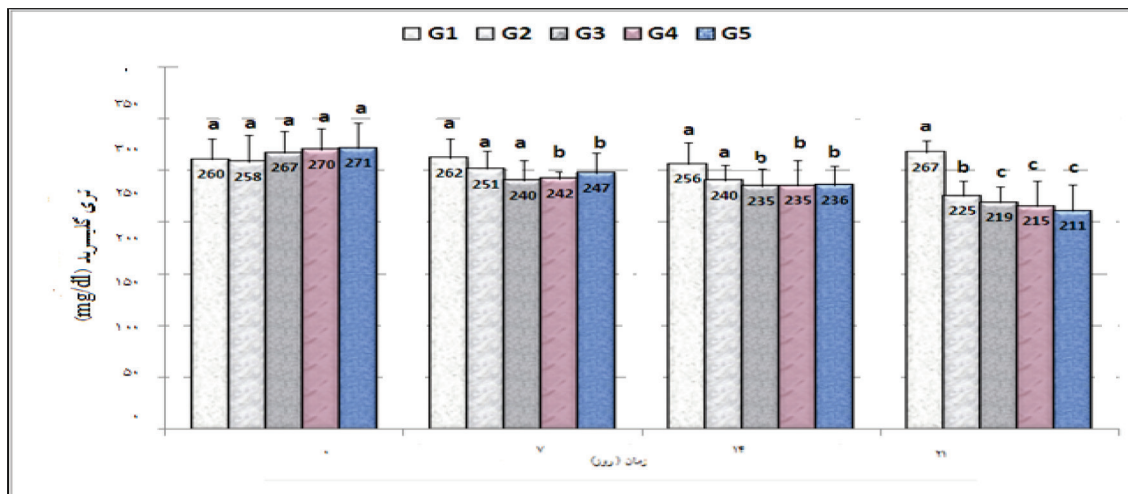
تغییرات میانگین تری‌گلیسرید سرم خون ماهی شیربت در تیمارهای مختلف در روزهای صفر، هفت، ۱۴ و ۲۱ نمونه‌برداری در شکل ۳ نشان داده شده است. میزان تری‌گلیسرید در تیمار G۲ در روز ۲۱، در تیمار



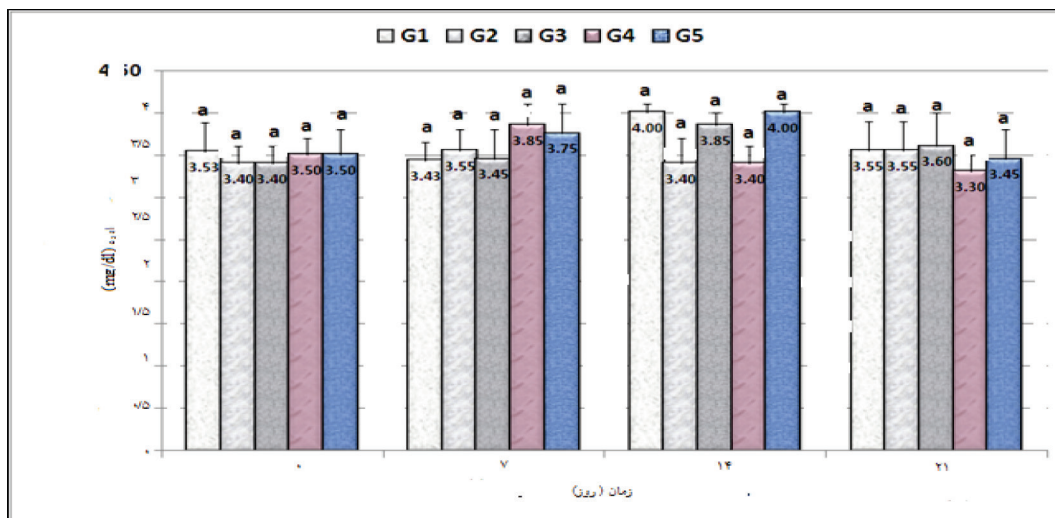
شکل ۱- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) گلوکز سرم (میلی گرم بر دسی‌لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری. حروف نامشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0/05$ ). تیمارهای G1، G2، G3، G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰ و ۱/۸۰ میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره (۰/۰۸۶ میکروگرم بر لیتر) بودند.



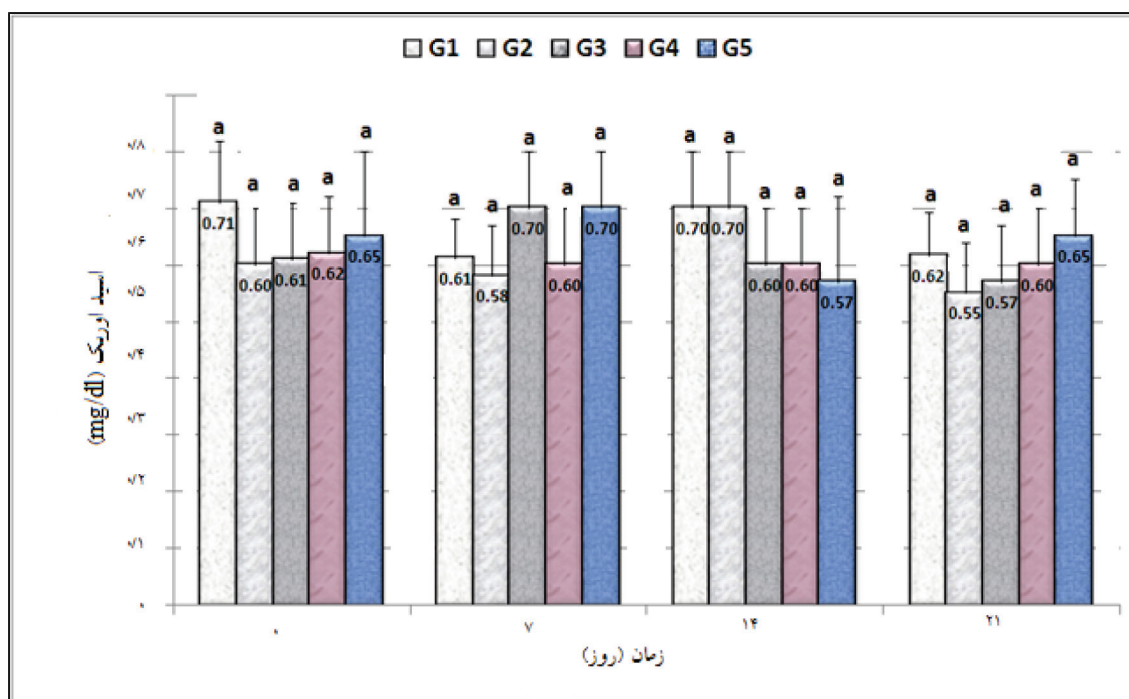
شکل ۲- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) کلسترول سرم (میلی گرم بر دسی لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان های مختلف نمونه گیری. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد ( $P < 0.05$ ). تیمارهای G1، G2، G3، G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ میکروگرم بر لیتر) بود.



شکل ۳- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) تری گلیسیرید سرم (میلی گرم بر دسی لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان های مختلف نمونه گیری. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد ( $P < 0.05$ ). تیمارهای G1، G2، G3، G4 و G5 به ترتیب حاوی صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ میکروگرم بر لیتر) بود.



شکل ۴- تغییرات میانگین (±خطای استاندارد) اوره سرم (میلی گرم بر دسی لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری. حروف نامشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ). 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 (میلی گرم بر دسی لیتر) در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری. حروف نامشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ). 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.



(۷،۲۰) در این تحقیق، مشخص شد که تأثیر غلظت های تحت کشنده نانوذرات نقره بر فاکتورهای خونی ماهی شیربت، متفاوت و متغیر بود به طوری که میزان هموگلوبین و هماتوکریت تفاوت معنی داری بین تیمارها در مراحل مختلف نمونه گیری نشان نداد ( $P > 0/05$ ). در صورتی که تعداد گلبول های قرمز خونی در تیمارهای  $G_3$ ،  $G_4$  و  $G_5$  افزایش معنی داری نسبت به کنترل نشان داد ( $p < 0/05$ ). راجکومور و همکاران (۱۷) با بررسی سمیت ناشی از نانوذرات نقره در کپور روهو (*Labeo rohita*) نشان دادند که استفاده از غلظت ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم نانوذرات نقره منجر به کاهش معنی دار تعداد گلبول های قرمز و هموگلوبین خون ماهی کپور روهو در مقایسه با شاهد گردید و با افزایش میزان غلظت نانوذرات نقره (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) پارامترهای خونی نیز افزایش یافت ولی معنی دار نبود. در تحقیق مذکور دلیل این تغییرات مواجهه با استرس نانوذرات نقره است که بر عملکرد طبیعی فیزیولوژی و متابولیسم ماهی تأثیر می گذارد (۱۷). ایمانی و همکاران (۱۰) با بررسی اثر نانوذرات نقره بر هماتولوژی

ماهی شیربت برابر ۰/۰۸۶ میلی گرم در لیتر مشخص گردید. شهپازاده و همکاران (۱۹) غلظت نانوذرات نقره برای ماهی قزل آلا را حدود پنج میلی گرم در لیتر گزارش نمودند که نشان دهنده مقاومت بالاتر ماهی قزل آلا نسبت به ماهی های مورد مطالعه در این تحقیق نسبت به نانوذرات نقره می باشد. همچنین بارایلان و همکاران (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 نزدیک با نانوذرات تحقیق جاری در ماهی مداکای ژاپنی (*Oryzias latipes*) ۵۰ میلی گرم در لیتر بعد از ۲۴ ساعت بود که مقاومت بالای این 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 کارایی آنها بیشتر و سمیت آنها نیز بالاتر خواهد بود. علی رغم ویژگی های مناسب نانوذرات نقره، به ویژه اثرات ضد باکتریایی و ضد ویروسی، که در تحقیقات مختلف گزارش شده است

جدول ۵- تغییرات میانگین ( $\pm$  خطای استاندارد) کلسیم (میلی مول بر لیتر) خون در تیمارهای مختلف در زمان های مختلف نمونه برداری

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G1	۱۰/۳±۱/۰ a	۱۰/۵±۱/۰ a	۱۰/۶±۱/۰ a	۱۰/۳±۱/۵ a
G2	۱۰/۳±۱/۰ a	۱۰/۶±۲/۰ a	۱۰/۳±۱/۰ a	۱۱/۰±۲/۰ a
G3	۱۰/۴±۲/۰ a	۱۰/۳±۳/۰ a	۱۰/۴±۱/۰ a	۱۰/۸±۱/۰ a
G4	۱۰/۴±۲/۰ a	۱۰/۳±۳/۰ a	۱۰/۷±۱/۰ a	۱۱/۰±۲/۰ a
G5	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 نشان دهنده اختلاف معنی دار داده ها در بین غلظت های مختلف نانوذرات نقره است ( $P < 0/05$ ). تیمار G5 و G4، G3، G2، G1 به ترتیب 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) می باشد.

جدول ۶- تغییرات میانگین ( $\pm$  خطای استاندارد) فسفر (میلی مول بر لیتر) خون در تیمارهای مختلف در زمان های مختلف نمونه برداری

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
G1	۲۰/۲±۲/۰ a	۲۱/۲±۳/۰ a	۲۲/۲±۱/۰ a	۲۰/۸±۲/۰ a
G2	۲۲/۴±۳/۰ a	۲۱/۲±۱/۰ a	۲۱/۵±۲/۰ a	۲۰/۶±۲/۰ a
G3	۲۱/۰±۲/۰ a	۱۸/۷±۱/۰ a	۱۷/۸±۳/۰ a	۱۷/۳±۲/۰ a
G4	۲۱/۴±۱/۰ a	۱۸/۶±۱/۰ a	۱۷/۹±۱/۰ a	۱۶/۵±۲/۰ a
G5	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 نشان دهنده اختلاف معنی دار داده ها در بین غلظت های مختلف نانوذرات نقره است ( $P < 0/05$ ). 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.

میزان گلوکز سرم خون شد. نانوذرات نقره به دلیل 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  $G_1, G_2, G_3, G_4$  و  $G_5$  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 گلیسرید در تیمارهای  $G_3, G_4$  و  $G_5$  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 می‌شود. میزان تری گلیسرید سرم ماهی به علت کاهش میزان تولید کلسترول در اثر کاهش فعالیت‌های داخل سلولی سلول‌های

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نتایج مشابهی را در زمینه تعداد گلبول‌های قرمز با تحقیق حاضر به دست آوردند. آن‌ها گزارش نمودند که غلظت  $0/1$  و  $0/2$  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 تأثیر غلظت‌های تحت کشنده نانوذرات نقره در تیمارهای  $G_1, G_2, G_3, G_4$  و  $G_5$  نسبت به گروه شاهد  $G_0$  افزایش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ). در تحقیقی که در بر روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio* L) انگشت قد انجام شد، غلظت تحت کشنده‌ی سیفلوترین باعث افزایش

جدول ۷- تغییرات میانگین ( $\pm$  خطای استاندارد) منبیزیم (میلی مول بر لیتر) خون در تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
$G_1$	$67 \pm 8$ a	$60 \pm 9$ a	$60 \pm 8$ a	$70 \pm 7$ a
$G_2$	$67 \pm 9$ a	$60 \pm 6$ a	$60 \pm 6$ a	$64 \pm 7$ a
$G_3$	$65 \pm 9$ a	$68 \pm 7$ a	$63 \pm 6$ a	$61 \pm 5$ a
$G_4$	$65 \pm 8$ a	$68 \pm 7$ a	$64 \pm 7$ a	$62 \pm 8$ a
$G_5$	$65 \pm 6$ a	$65 \pm 7$ a	$63 \pm 8$ a	$64 \pm 3$ a

حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است ( $P < 0/05$ ). تیمارهای  $G_1, G_2, G_3, G_4$  و  $G_5$  به ترتیب حاوی صفر،  $0/10$ ،  $0/20$ ،  $0/40$  و  $1/80$  میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره ( $0/86$  میکروگرم بر لیتر) بودند.

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

تیمار/ روز	۰	۷	۱۴	۲۱
$G_1$	$101 \pm 12$ a	$100 \pm 15$ a	$105 \pm 10$ a	$102 \pm 12$ a
$G_2$	$101 \pm 13$ a	$104 \pm 15$ a	$101 \pm 14$ a	$98 \pm 13$ a
$G_3$	$104 \pm 13$ a	$109 \pm 16$ a	$106 \pm 12$ a	$96 \pm 12$ a
$G_4$	$106 \pm 15$ a	$109 \pm 12$ a	$100 \pm 14$ a	$104 \pm 13$ a
$G_5$	$105 \pm 12$ a	$100 \pm 12$ a	$98 \pm 13$ a	$104 \pm 11$ a

حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار داده‌ها در بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره است ( $P < 0/05$ ). تیمارهای  $G_1, G_2, G_3, G_4$  و  $G_5$  به ترتیب حاوی صفر،  $0/10$ ،  $0/20$ ،  $0/40$  و  $1/80$  میزان LC50 در ۹۶ ساعت بعد از مجاورت با نانوذرات نقره ( $0/86$  میکروگرم بر لیتر) بودند.

*ology 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*. *Comparative Clinical Pathology* 24: 491-495.
11. Izadkhash, Z. 2008. Evaluation of serum electrolyte parameters in farmed gypus (*Barbus gypus*) 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 haematology, 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. Sankaya, 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.

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 Toxi-*

