

اثر نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی گربه ماهی رنگین کمان (*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 پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۳۱

## چکیده

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

**مواد و روش‌ها:** ۴۰ قطعه گربه ماهی رنگین کمان (میانگین وزنی ۱۲ گرم) به مدت ۱۰ روز تحت شرایط ساکن-تجدید در معرض مقادیر ۱ و ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره (میانگین قطر هیدرودینامیکی ۵۴/۸ نانومتر) و نیترات نقره 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 ( $p < 0/05$ )؛ در حالی که در روز دهم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). در هر دو زمان بررسی شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی تغییرات معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0/05$ ). دوز ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره در روز دهم منجر به افزایش تعداد گلبول سفید (WBC) نسبت به گروه شاهد و روز اول شد ( $p < 0/05$ ). همچنین غلظت بالای نانوذرات نقره و نیترات نقره در هر دو زمان منجر به تغییر معنی‌دار فراوانی انواع گلبول‌های سفید شد ( $p < 0/05$ ). در هر دو تیمار نانوذرات نقره، گلوکز سرم افزایش یافت ( $p < 0/05$ ).

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

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

## مقدمه

فناوری نانو در معنای ساده استفاده از مواد و ساختارهای در مقیاس نانو (حداقل با قطر ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) است. توانایی دستکاری ماده در چنین مقیاس اتمی و مولکولی کوچکی، سبب کاربرد وسیع این علم در شیمی، زیست‌شناسی، 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 تخریب‌کننده 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 نانومواد تولید شده امروزی می‌توان به دی‌اکسید تیتانیوم، نقره، آهن، اکسید روی و همچنین نانولوله‌های کربنی و گرافن اشاره کرد. نانوذرات نقره به دلیل خاصیت ضد میکروبی کاربردهای گسترده‌ای داشته‌اند، از جمله در باند‌های بهداشتی (۳)، ماشین‌های لباس‌شویی (۴)، فیلترهای تصفیه آب (۵)، پارچه‌ها (۶)، حسگرها (۷) و داروسازی (۸) از نانوذرات نقره استفاده شده است.

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

خون یک شاخص مفید در تعیین سلامتی یک ارگانیزم است و شاخص‌های خون‌شناسی در تشخیص وضعیت عمل‌کردی جانورانی که در تماس با مواد سمی بوده‌اند بسیار مهم هستند (۱۱). به دلیل 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 به دلیل 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 (۱۵). 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 تیلاپسای موزامبیک *Oreochromis mossambicus* (۱۶) و قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (۱۷) اشاره کرد. نانوذرات آهن سبب ایجاد تغییرات معنی‌دار در تعداد گلبول سفید و قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین خون تیلاپسای شد در حالی که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم اثر معنی‌داری بر شاخص‌های ذکر شده در قزل‌آلای رنگین‌کمان 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 صورتی که موجب تغییرات معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید و آنزیم‌های خونی جوجه نسبت به گروه شاهد نشد (۱۹).

گربه‌ماهی‌رنگین‌کمان *Pangasius hypophthalmus* یک گونه سریع‌الرشد و همه‌چیزخوار است که از آن به‌عنوان غذای ماهی و یک گونه ارزشمند در آبی‌پروری 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 تابلند، هند، چین و میانمار پرورش داده می‌شود (۲۰). همچنین این ماهی از سال ۲۰۰۴ وارد ایران شد و به‌عنوان ماهی آکواریومی از آن استفاده می‌شود (۲۱).

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

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).

شاخص‌های خون‌شناسی گربه ماهی‌رنگین کمان طراحی و اجرا شد.

### مواد و روش‌ها

در این آزمایش از کلونید نانوذرات نقره (Ag-NPs) با نام تجاری Nanocid و غلظت اسمی ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر

جدول ۱: برخی از مشخصات اندازه‌گیری شده کلونید نانوذرات نقره 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 تا ۱۳ نانومتر دارند.
خلوص	EDX		تنها عنصر نقره در کلونید نانوذرات نقره وجود دارد.

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 فیزیکیوشیمیایی 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 (۷/۸ - ۸/۲)، 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 ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بی‌هوش شدند. سپس خون‌گیری از ماهیان پس از خشک کردن ساقه دم، با استفاده از سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتری هیپارینه 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 پمپ ملانژور سفید یا قرمز و لام

طرح آزمایش: ۵۰ قطعه گربه ماهی رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۱۲±۰/۲۶ گرم و طولی ۱۰/۷±۰/۴۶ سانتی‌متر تهیه شد. ماهی‌ها به مدت 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 اکواریوم حاوی ۱۰ 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<sub>3</sub>)، ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره (20Ag-NPs)، ۲۰ میکروگرم بر لیتر نیترات نقره (20AgNO<sub>3</sub>) و گروه شاهد در قالب طرح آزمایش کاملاً تصادفی اجرا شد. غلظت پائین نانوذرات نقره (۱ میکروگرم بر لیتر) به منظور 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 نانوذرات نقره و یون نقره استفاده شد. ماهی‌ها به مدت ۱۰ روز در تماس با این مواد بودند و در طول این مدت تغذیه نشدند (۲۳).

نانوذرات نقره و نیترات نقره قبل از هر بار استفاده به مدت 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 مجدداً قبل از اضافه کردن ماهی به دوز مورد نظر رسیدند تا میزان کاهش دوز ذرات

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  $p > 0.05$  ارزیابی گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS ver 18 انجام شد. جهت رسم نمودارها از Excel 2007 استفاده گردید.

### نتایج

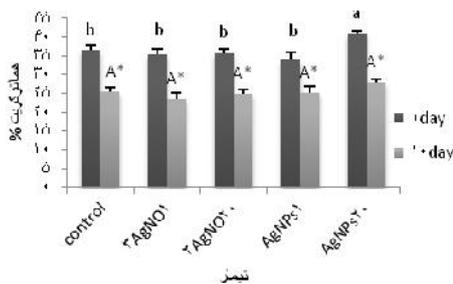
نتایج فراسنجه‌های خونی نشان داد در روز اول میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز در دوز ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت و به ترتیب معادل  $14/26 \pm 0/90$  گرم بر دسی‌لیتر،  $41 \pm 0/73$  درصد و  $3/49 \pm 0/11$  میلیون در متر مکعب بود (شکل ۱،  $p < 0.05$ )؛ در حالی که در روز دهم تفاوت معنی‌داری از نظر این شاخص‌ها بین تیمارها مشاهده نشد

( $p > 0.05$ ). 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 ( $p < 0.05$ ) نسبت به روز اول کاهش یافته است (شکل ۱).

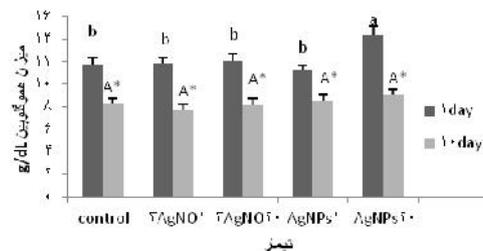
هموسایتومتر به صورت دستی اجرا شد. درصد هماتوکریت (Hct) با پر کردن لوله‌های میکروهیاتوکریت به میزان حداقل  $2/3$  حجم لوله از خون کامل و سانتیفریوژ (Sigma; Germany) ۵ دقیقه در  $7000 \text{ rpm}$  تعیین گردید. همچنین میزان هموگلوبین (Hb) گرم در دسی لیتر، با استفاده از روش سیان‌مت‌هموگلوبین (Cyan methemoglobin) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PerkinElmer lambda Z 800; USA) طول موج  $540 \text{ nm}$  در آزمایشگاه تشخیص طبی میلاد، اصفهان اجرا شد. به منظور 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).

$$MCV = (HCT/RBC) \times 10, \quad MCH = (Hb/RBC) \times 10, \quad MCHC = (Hb/RBC) \times 100$$

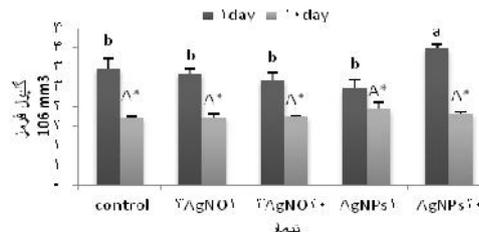
ب



الف



ج



شکل ۱: میانگین  $\pm$  خطای استاندارد ( $mean \pm SE$ ) 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 به ترتیب 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 ( $p < 0.05$ ).

آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری در هیچ‌یک از این شاخص‌های مورد بررسی بین گروه‌های مختلف آزمایشی وجود نداشت (جدول ۲،  $p > 0.05$ ). همچنین در مقایسه بین دو زمان مورد بررسی در هیچ یک از شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲،  $p > 0.05$ ).

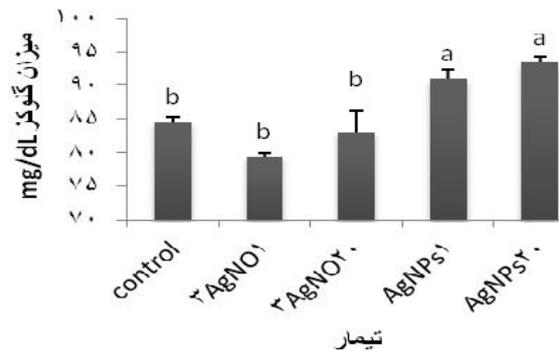
شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی شامل متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) در روز اول به ترتیب در گستره ۱۲۰/۱۲-۱۳۹/۳۳، ۴۰/۷۱-۴۵/۸۹، ۳۲/۱۵-۳۴/۲ و در روز دهم به ترتیب در گستره ۱۳۵/۴-۱۴۷/۲۲ فمتولیتتر، ۴۳/۸۷-۴۸/۰۷ پیکوگرم و ۳۲/۴۶-۳۲/۷۱ درصد بود. نتایج مقایسه

جدول ۲: میانگین  $\pm$  خطای استاندارد ( $mean \pm SE$ ) 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 ( $p > 0.05$ ).

تیما	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 $\pm$ ۱۳/۹۵ <sup>a</sup>	۱۲۶/۴۹ $\pm$ ۱۴ <sup>a</sup>	۱۲۵/۷۷ $\pm$ ۸ <sup>a</sup>	۱۳۹/۳۳ $\pm$ ۱۱/۸۳ <sup>a</sup>	۱۲۰/۱۲ $\pm$ ۴/۵۶ <sup>a</sup>
	۱۰	۱۴۷/۲۲ $\pm$ ۸/۷۶ <sup>a</sup>	۱۳۶/۶۶ $\pm$ ۱۱/۲۸ <sup>a</sup>	۱۴۴/۸۱ $\pm$ ۱۱/۰۵ <sup>a</sup>	۱۳۵/۴ $\pm$ ۹/۰۴ <sup>a</sup>	۱۴۳/۵۹ $\pm$ ۱۹/۸۷ <sup>a</sup>
(Pg)MCH	۱	۴۰/۷۱ $\pm$ ۴/۸۶ <sup>a</sup>	۴۲/۳۹ $\pm$ ۵/۵۵ <sup>a</sup>	۴۲/۵۵ $\pm$ ۳/۱ <sup>a</sup>	۴۵/۸۹ $\pm$ ۲/۸۱ <sup>a</sup>	۴۰/۹۶ $\pm$ ۱/۳۶ <sup>a</sup>
	۱۰	۴۸/۰۷ $\pm$ ۳/۱۵ <sup>a</sup>	۴۴/۶۸ $\pm$ ۴/۲۲ <sup>a</sup>	۴۷/۱۹ $\pm$ ۳/۹۰ <sup>a</sup>	۴۳/۸۷ $\pm$ ۲/۶۲ <sup>a</sup>	۴۶/۵۹ $\pm$ ۵/۶۰ <sup>a</sup>
(%)MCHC	۱	۳۲/۱۵ $\pm$ ۰/۳۷ <sup>a</sup>	۳۳/۳۵ $\pm$ ۰/۸۹ <sup>a</sup>	۳۳/۸۲ $\pm$ ۰/۶۲ <sup>a</sup>	۳۲/۹ $\pm$ ۰/۲۴ <sup>a</sup>	۳۴/۲۰ $\pm$ ۰/۸۵ <sup>a</sup>
	۱۰	۳۲/۶۲ $\pm$ ۰/۶۴ <sup>a</sup>	۳۲/۹۴ $\pm$ ۰/۶۱ <sup>a</sup>	۳۲/۵۴ $\pm$ ۰/۳۴ <sup>a</sup>	۳۲/۴۶ $\pm$ ۰/۵۰ <sup>a</sup>	۳۲/۷۱ $\pm$ ۰/۶۵ <sup>a</sup>

لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل قابل تفکیک بودند که به ترتیب در گستره ۳۹/۶۶-۱۰/۵، ۲۴/۵-۱۰/۳۳، ۶۶-۴۷/۶۶، ۳/۵-۱/۳۳ و نیترات نقره ۳ درصد قرار داشتند (جدول ۳). نیترات نقره اثر معنی‌داری بر درصد ائوزینوفیل نداشت ( $p > 0.05$ ). درصد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها به‌طور معنی‌داری در بین گروه‌های مختلف آزمایشی متفاوت بود ( $p < 0.05$ ). به‌طوری‌که غلظت‌های بالای هر دو ترکیب نیترات نقره و نانوذرات نقره منجر به کاهش فراوانی نسبی لنفوسیت و افزایش درصد نوتروفیل در مقایسه با گروه شاهد شد (جدول ۳،  $p > 0.05$ ). درصد مونوسیت نیز در روز اول و دهم در هر دو تیمار نیترات نقره کاهش پیدا کرد (جدول ۳،  $p > 0.05$ ). میزان گلوکز اندازه‌گیری شده در روز دهم در هر دو تیمار ۲۰ و ۱ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ( $p > 0.05$ ) (شکل ۲).

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 ( $10^3 \text{ cell/mm}^3$ ) در ماهیان تیمار شده با دوز ۱ میکروگرم بر لیتر نیترات نقره مشاهده شد، اگرچه تفاوت معنی‌داری بین این گروه از ماهیان با سایر تیمارهای آزمایشی (به جز ماهیان گروه ۲۰ AgNPs) مشاهده نشد (جدول ۳،  $p > 0.05$ ). در روز دهم تعداد گلبول سفید در دوز ۲۰ AgNPs معادل  $135 \pm 14/7$  هزار در مترمکعب بود و نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت (جدول ۳،  $p < 0.05$ ). در مقایسه بین دو زمان نمونه‌برداری، تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از شاخص‌های مورد بررسی به‌جز افزایش معنی‌دار WBC در گروه ۲۰ AgNPs مشاهده نشد (جدول ۳،  $p > 0.05$ ). در گسترش خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا، انواع گلبول‌های سفید شامل



شکل ۲: میانگین  $\pm$  خطای استاندارد ( $mean \pm SE$ ) گلوکز اندازه‌گیری شده در گربه ماهی رنگین کمان پس از ۱۰ روز مواجهه با نانوذرات نقره و نیترات نقره.

جدول ۳: میانگین  $\pm$  خطای استاندارد ( $mean \pm SE$ ) 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.

نانوذرات نقره $\mu\text{g/L}^{20}$	نانوذرات نقره $\mu\text{g/L}^1$	نیترات نقره $\mu\text{g/L}^{20}$	نیترات نقره $\mu\text{g/L}^1$	شاهد	زمان (روز)	تیما فاکتور
$\pm / b^*$	$\pm / ab$	$\pm / a$	$\pm / a$	$/ \pm ab$	۱	WBC
$\pm / a$	$\pm / b$	$/ \pm / ab$	$/ \pm / ab$	$\pm / b$	۱۰	( $10^3 \text{ mm}^3$ )
$\pm b$	$/ \pm / a$	$/ \pm / c$	$/ \pm / b$	$/ \pm / a$	۱	لنفوسیت (%)
$/ \pm / b$	$/ \pm / a$	$\pm / b$	$/ \pm / a$	$\pm a$	۱۰	
$\pm / b$	$\pm a$	$/ \pm / c$	$\pm / a$	$/ \pm / a$	۱	مونوسیت (%)
$/ \pm / a$	$/ \pm / a$	$/ \pm / b$	$/ \pm / a$	$/ \pm / a$	۱۰	
$/ \pm / b$	$/ \pm / c$	$/ \pm / a$	$/ \pm / c$	$/ \pm / c$	۱	نوتروفیل (%)
$/ \pm / b$	$/ \pm / c$	$/ \pm / a$	$\pm / c$	$\pm / c$	۱۰	
$/ \pm / a$	$\pm / a$	$/ \pm / a$	$\pm / a$	$/ \pm / a$	۱	ائوزینوفیل (%)
$/ \pm / a$	$/ \pm / a$	$\pm / a$	$/ \pm / a$	$/ \pm / a$	۱۰	

در هر ردیف، وجود حداقل یک حرف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار است ( $P > 0.05$ ).

علامت \* نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح  $p < 0.05$  بین روز اول و دهم در یک تیمار است.

## بحث

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 نانوذرات نقره افزایش معنی‌داری یافت ( $p < 0.05$ ). 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). به نظر می‌رسد افزایش نیاز اکسیژنی ماهی در مواجهه با

نانوذرات نقره به دلیل 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 معمولاً 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

تعداد گلبول سفید در تیمار ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره در روز دهم افزایش یافت. همچنین دوز ۲۰ میکروگرم بر لیتر نانوذرات نقره 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 معمولاً شرایط تنش‌زا منجر به افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌شود که احتمالاً نشان دهنده تغییرات فیزیولوژیک آبی در مواجهه 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 معمولاً 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 ( $p < 0.05$ ). 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 نانوذرات نقره پس از گذشت ۱۲ روز گزارش شده است. این پدیده، شاید به دلیل نقش گلبول‌های سفید در فاگوسیتوز نانوذرات نقره باشد (۳۲). با این وجود، به نظر می‌رسد که پاسخ فیزیولوژیک افزایش تعداد گلبول سفید در مواجهه با آلاینده‌ها متأثر از دوره در معرض‌گذاری و شدت (غلظت) آلاینده باشد. در درازمدت ممکن است به دلیل تاثیر نامطلوب آلاینده‌ها بر بافت‌های تامین کننده گلبول‌های سفید در خون، تعداد این دسته از گلبول‌ها کاهش یابد. به عنوان مثال، رضویان و همکاران (۱۹) گزارش کردند که ۶ ماه استفاده از آب حاوی نانوذرات نقره به عنوان آب آشامیدنی موش‌های صحرایی نژاد ویستار (Vistar rats) منجر به کاهش معنی‌دار تعداد گلبول سفید می‌شود که دلیل آن را مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوزیس سلولی) عنوان کرده‌اند. تغییر در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید می‌تواند به عنوان شاخصی برای ارزیابی ایمنی بدن در مواجهه با مواد آلاینده مورد استفاده قرار گیرد (۳۵). تغییرات ناشی از تنش می‌تواند تعادل هومئوستازی بدن را بهم‌زده و منجر به نابسامانی‌هایی در سیستم ایمنی بدن شود. تغییر در میزان کورتیکواستروئیدها متأثر از بروز تنش می‌تواند

تنش منجر به بروز این تغییرات شده باشد. افزایش نیاز اکسیژنی در مواجهه با تنش محیطی در آبزیان مختلف نظیر افزایش مصرف اکسیژن در قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از تغذیه با غذای آلوده به مس گزارش شده است (۳۰ و ۳۱) که معمولاً به دلیل افزایش تقاضای انرژی برای مواجهه با شرایط تنش‌زا است (۲۹). از آنجایی که قسمت اعظم اکسیژن به صورت اتصال با هموگلوبین در گلبول قرمز منتقل می‌شود، در شرایط تنش‌زا معمولاً 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 مواجهه 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 مبنی بر ایجاد حالت تطابق و سازگاری در جانداران پس از مواجهه با عوامل تنش‌زا وجود دارد. به عنوان مثال، ارزیابی اثر نانوذرات نقره بر آنزیم کبدی آلانین‌آمینو-ترانسفراز در موش ویستار جنس نر (۳۲) نشان داد پس از گذشت ۳ روز این آنزیم در سرم خون افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت در صورتی که پس از گذشت ۸ و ۱۲ روز میزان آن به حالت 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. نانوذرات نقره و نیترات نقره در هیچ یک از تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر شاخص‌های ثانویه متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین هر گلبول 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. به عنوان مثال، مواجهه با نانوذرات اکسید آهن پس از ۹۶ ساعت سبب افزایش MCV و MCH در تیلاپیسای موزامبیک شد (۱۶). در حالی که مواجهه تاس‌ماهی استرلیاد، *Acipenser ruthenus* با کادمیوم محلول در آب منجر به تغییر معنی‌دار در شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی نشد (۳۳). به نظر می‌رسد پاسخ شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی به عوامل تنش‌زای محیطی متأثر از عوامل مختلفی هم‌چون نوع گونه، شرایط زیستی، نوع و غلظت مواد آلاینده باشد.

بتواند با تاثیر بر بخش‌های مختلف فیزیولوژیک آبی، منجر به بروز پاسخ‌های تنشی مرحله سوم و در نهایت کاهش رشد و مرگ آبی 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، مؤگان زارع، مهسا برهانی، بهزاد پورنوری (دانشجویان کارشناسی ارشد بوم‌شناسی آبیان شیلاتی دانشگاه صنعتی اصفهان) و مهندس صمد بهرامی (دانشجوی کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش آبیان دانشگاه صنعتی اصفهان) به سبب همکاری‌های ارزنده ایشان سپاسگزاری می‌نماید. بخشی از هزینه‌های انجام این تحقیق از محل پژوهانه شماره ۵۰۲/۹۱/۲۵۲۴۸ پرداختی از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان به دکتر سالار درافشان تامین شده است.

### منابع

1. Masciangioli T, Zhang W. Environmental technologies at the nanoscale, *Environ. Sci. Technol.* 2003; 37(5): 102-108.
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. 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

توجیه‌کننده 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 نانوذرات نقره و نیترات نقره 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 قرار دادن 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 بچه ماهی 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 مواجهه شده با دوز بالای یون و نانوذرات نقره به منظور فاگوسیتوز ذرات و یون‌های وارد شده به پیکره آبی باشد، با این وجود نتیجه‌گیری 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 به عنوان 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 نانوذرات نقره پس از ۳ ماه تغذیه موش با آب محتوی این ترکیب نیز مشاهده شده است (۱۹). همچنین افزایش میزان گلوکز در تیمارهای نانوذرات نقره نسبت به نیترات-نقره می‌تواند ناشی از بیشتر بودن سمیت نانوذرات نقره نسبت به یون نقره آزاد شده 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 معرض گذاری می‌توان به اثر نامطلوب و تنش‌زای نانوذرات نقره خصوصاً در دوزهای بالا در مقایسه با نیترات نقره و گروه شاهد اذعان نمود. چنین تغییراتی شاید در دراز مدت

- 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 chloride, *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 teleosts: 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. 1<sup>th</sup> 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. 1<sup>th</sup>Ed. London: Academic Press; 1981.

## 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