فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۸، جلد ۱۰، شماره ۳، نابستان۹۶، صفحه۶۳ تا ۷۱

تأثیر نانوذرات نقره کلوئیدی بر برخی آنزیم های کبدی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

آرزوصمصامی[۱]، **روح اله رحیمی**[۲]، فردین شالویی[۲]، گودرز هاشمی[۳]
۱- کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد. ایران.
۲- استادیار گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد. شهرکرد. ایران. **rahimi@nres.sku.ac.ir**
۳- کارشناسی تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات و محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد. شهرکرد. ایران.

تاریخ دریافت:۹۵/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/٤/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: با وجود افزایش کاربرد نانو ذرات نقره در صنعت و محصولات مصرفی، در مورد سمیت آن به ویژه برای موجودات آبزی شناخت اندکی وجود دارد. با توجه به توسعه سریع فناوری نانو و کاربردهای گوناگون آن، داشتن اطلاعات کافی درباره عوارض جانبی احتمالی در اندام های بدن آبزیان بسیار حائز اهمیت است. بنابراین، در این تحقیق به بررسی تعیین غلظت کشنده میانی(LC50) و تاثیر این ذرات بر آنزیم‌های کبدی ماهی کپور پرداخته‌شد.

روش کار: ۸٤ عدد ماهی کپور به مدت ۹٦ ساعت در معرض غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذرات نقره قرار گرفتند و تلفات روزانه ثبت گردید. نتایج توسط نرم افزار Probit Analyses بررسی و غلظت کشنده میانی(LC50) محاسبه شد. سپس براساس LC50 به دست آمده ۸٤ عدد ماهی در ٤ تیمار(۰، ۰/۰۲، ۰/۰٤، ۰/۱۱ میلی گرم بر لیتر) در ۳ تکرار قرار گرفت. بعد از طی ۱٤ روز، ۲ عدد ماهی از هر تکرار پس از بیهوشی با پودر گل میخک و خون گیری از کبد آن‌ها، تغییرات سطح آنزیم‌های AST,ALP ,ALT اندازه‌گیری شد.

یافته ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که LC50 در این ماهی ۰/۲۳ میلی گرم بر لیتر به دست آمد ه و غلظت‌های بررسی شده نانوذرات نقره با افزایش غلظت، در سطح آنزیم‌های کبدی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل از خود نشان دادند (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج پژوهش حاضر، نانو ذرات نقره دارای اثرات سمی بر آبزیان بوده و جلوگیری از رهایش عمدی یا تصادفی آن ها به زیست بوم های آبی باید مورد توجه بیشتر قرار گیرد.

واژه های کلیدی: نانوذرات نقره، کپور معمولی، AST,ALP,ALT.

مقدمه

فناوری نانو، شناخت و کنترل مواد در ابعادی بین ۱تا ۱۰۰ نانومتر است که در این ابعاد خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی ماده غیر معمول است. با تغییر اندازه ذرات از میکرو به نانو به خاطر افزایش سطح به حجم تمام این خواص تغییر نموده و واکنش پذیری ذره به شدت افزایش می یابد. نانوذرات، با توجه به خواص منحصربه فرد فیزیکی و شیمیایی شان، می توانند در بسیاری از مطالعات بیولوژیکی و زیست محیطی مورد استفاده قرار بگیرند و به همین دلیل، توجه زیاد محققان و دانشمندان را به خود جلب نموده است(۱۸). آسیب به محیط زیست و تهدید بهداشت انسانی نانوذرات بسیار کمتر از سایر مواد با اثرات مشابه می‌باشد که باعث شده-است تا میزان استفاده از آن ها به طور چشم گیری افزایش یابد(۲۷). استفاده از فلز نقره به عنوان ماده ضد باکتریایی سابقه طولانی در زندگی بشری داشته(۱۶) و درسال های اخیر استفاده از ترکیبات حاوی نقره مثل

کلوئید نقره، پوشش های نقره و نانوذرات نقره به عنوانمواد ضدباکتریایی با کارایی بالا و با عوارض جانبی کمتر در صنایع مختلف درحال گسترش است(۲۴، ۱۷). نانوذرات نقره احتمالاً با ایجاد اختلال درتکثیر و سیستم تنفسی باکتری ها باعث ایجاد اثرات ضدباکتریایی در موجودات می‌گردند(۱۴، ۱۳، ۹). استفاده از نانو تکنولوژی درتولید مواد ضد باکتریایی موثر، با موفقیت همراه بوده و اثرات ضد باکتریایی برخی نانو ذرات به ویژه نانو ذرات نقره به اثبات رسیده‌است، به طوری که امروزه به عنوان مواد ضد باکتریایی موثر در صنایع مختلف استفاده می‌گردد(۱۱). گرایش به استفاده از این مواد در چند سال اخیر رواج یافته و کاربرد این مواد در زمینه های مختلف در حال گسترش است(۷). نانوذرات در علم آبزی پروری، صید آبزیان و فرآوری محصولات شیلاتی کاربرد دارند. نانوذرات می توانند با ایجاد شرایط بهتر بهداشتی در استخرهای پرورش ماهی به افزایش تولید ماهی منجر شوند؛ به عنوان مثال از نانو ذرات می-توان برای حذف آلاینده‌های موجود در آب، از طریق تصفیه فاضلاب‌ها، استفاده کرد. بسیاری از استخرهای پرورش ماهی به انواع باکتری‌ها آلوده هستند و از طرفی، امروزه مساله مقاومت آنتی بیوتیکی در مقابل داروهای آنتی بیوتیکی مطرح است؛ از همین رو، محققان در یک آزمایش استفاده از نانوذرات نقره جهت حذف باکتری-های *Lactococcus garvieae* و *Streptococcus iniae* از آب را بررسی نمودند. این یک روش مناسب برای ضدعفونی کردن آب استخرهای پرورش ماهی در برابر باکتری هاست(۲۵). واکسینه کردن ماهیان می تواند با استفاده از نانو کپسول‌های حاوی نانوذرات انجام شود. مزیت این روش آن است که مواد با این روش تجزیه نمی‌شوند و نانوکپسول‌ها، که حاوی رشته‌های کوتاهی از DNA هستند، بعد از ورود به آب، می توانند وارد سلول ماهی شوند(۲۶). با وجود تلاش ها برای استفاده از نانوذرات نقره در صنایع مختلف آبزی‌پروری و پرورش ماهیان زینتی، گزارشات بسیار محدود بوده است(۱۲). از طرف دیگر کشور ایران در زمینه تکنولوژی نانو وکاربرد این علم در صنایع مختلف از کشورهای پیشرو می‌باشد، لذا در این تحقیق میزان سمیت نانوذرات نقره در ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. آنزیم آلانین آمینوترانسفراز(ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز(AST) و آنزیم آلکالین فسفاتاز(ALP)، از جمله فاکتورهای بیوشیمیایی مهم هستند که ازسنجش آن ها به عنوان یک شاخص آزمایشگاهی استاندارد جهت بررسی اختلالات کبدی در موجودات استفاده می شود. برخی مطالعات نشان داده که آلاینده ها منجر به افزایش میزان این آنزیم‌ها گردیده است(۹). این آنزیم ها، اساساً داخل سلولی هستند و در بسیاری از اندام های مختلف دیگر ماهی نیز یافت می‌شوند. باتوجه به این که، در حالت طبیعی مقادیر این آنزیم‌ها در داخل سلول بیشتر از خارج سلول است، بنابراین افزایش مقادیر جزئی آن ها در محیط خارج سلول اعم از مایع بین سلولی و پلاسما به عنوان یک اندیکاتور حساس، بیان گر وقوع آسیب سلولی در مواجه با انواع آلاینده های وارد شده به بدن موجود زنده خواهدبود(۲۱، ۳). در نتیجه این مطالعه با هدف بررسی سمیت نانوذرات نقره پرمصرف ترین نانو ذره موجود در صنعت و کشاورزی بر سطوح و فعالیت آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز، آنزیم آلکالین فسفاتاز و تعیینLC50 نانوذرات نقره بر روی کپور معمولی انجام گرفت.

مواد و روش ها

نانو ذرات نقره

در این آزمایش از کلوئید نانو ذرات نقره (Ag-NPs) با نام تجاریnanocid و غلظت اسمی۴۰۰۰mg/L خریداری شده از شرکت نانو نصب پارس (تهران–ایران) استفاده گردید. این محصول در سازمان ثبت اختراعات

ایالات متحده امریکا با شماره ۲۰۰۹۰۰۱۳۸۲۵ به ثبت رسیده است(۲۳).

تهیه ماهی و شرایط آزمایشی

در اردیبهشت ۱۳۹۴ ۳۵۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) شرکت تعاونی مهندسی آبزی گستر زنده رود شرق اصفهان در روستای مهدی آباد خریداری و به آزمایشگاه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه شهرکرد منتقل گردید. ماهیان در دو نوبت در ساعت های ۱۱ صبح و ۷ عصر غذادهی می-شدند. تانک های نگه داری اولیه شامل سه تانک ۱۵۰ لیتری بود که روزانه به میزان ۵۰٪ آب آن ها تعویض می‌گردید. ماهیان پس از گذر از مرحله سازگاری (۷روز) آزمایش شروع شد.

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب

میانگین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب طی دوره پرورش در جدول۱ آورده شده است.

جدول۱- فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره آزمایش

فاکتور	میانگین	بیشترین	کمترین
اکسیژن محلول(درصد اشباعیت)	٪۹۸/۵	٪۱۰۲	٪۹۵
دما	۱۹	۲۰	۱۸
pH	۸	۸/۲	۸/۷

آزمایش اول: به دست آوردن LC۵۰

در مرحله اول آزمایش تعداد ۸۴ عدد ماهی با ظاهر سالم و وزن متوسط ۲/۲۲ گرم با میانگین طولی ۱۲/۷سانتی متر به طور تصادفی انتخاب و به تعداد ۷ قطعه در هر واحد آزمایشی به ۱۲عدد تانک پلاستیکی ۲۰ لیتری که به صورت کاملاً تصادفی به تیمارهای آزمایشی اختصاص یافته بود منتقل شده و به مدت ۹۶ ساعت برای تعیین LC50 مورد آزمایش با نانوذرات سیلور قرار گرفتند. درون تمامی مخزن ها هواده قرار گرفته بود. این آزمایش شامل ۶ تیمار با دو تکرار بود(۲) که عبارت بودند از:

تیمار اول: ۰/۱PPMنانوسید

تیمار دوم: ۰/۵PPMنانوسید

تیمار سوم: ۱PPM نانوسید

تیمار چهارم: ۲/۵PPMنانوسید

تیمار پنجم: ۵PPM نانوسید

تیمار ششم: ۱۰PPM نانوسید

تعداد مرگ و میر تمام مخزن ها در مدت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت شد. نتایج به کمک نرم افزار SPSS(با استفاده از داده های به دست آورده شده) میزان غلظت کشنده میانی(LC50) در مدت های ذکر شده به دست آمد.

آزمایش دوم

با توجه به LC50 به دست آمده در مدت ۹۶ ساعت ۴ تیمار با ۳ تکرار انتخاب شد. ۸۴ عدد ماهی را داخل ۱۲ مخزن ۲۰ لیتری(هر مخزن ۷ عدد ماهی) قرار داده و به مدت دو هفته در غلظت های ۰، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۱۱ میلی-گرم در لیتر(ppm) هر کدام با سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. درون تمامی مخزن ها هواده قرار داده و روی تمامی مخزن ها با توری پوشانده شد.

جداسازی کبد

ابتدا ماهیان در عصاره میخک بیهوش و کبدها جداسازی شدند. از آن جایی که کبدها کوچک بودند، کبد های ماهیان هر تکرار با هم مخلوط و در فویل و سپس در جعبه آزمایش قرار داده شدند و در یخچال ۲۰- درجه سانتی گراد در آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین نگهداری شدند.

آنالیز آنزیم های کبدی

برای عصاره گیری جعبه های حاوی کبددرون بشکه ای پر از یخ قرار داده و به آزمایشگاه فیزیولوژی واقع در دانشکده علوم پایه انتقال یافت؛ سپس کبد ها در هوای

آزاد قرار داده شدند تا از حالت انجماد خارج گردند، کبدهای هر غلظت به طور جداگانه همراه سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ درون هاون به خوبی مخلوط شدند تا حالت مایع بگیرند. سپس به منظور هموژن کردن مخلوط را درون بشر قرار و در سیکل ۳۰ دور در ثانیه و پاور ۲۰ وات در مدت زمان ۱۲۰ ثانیه مورد سونوکاسیون قرار داده و سونیکیت شدند. محلول پس از آن جهت جداسازی رسوبات و ضایعات بافتی به مدت ۲۰ دقیقه، سانتریفیوژ(450Rpm) گردید؛ مایع بافتی را که در بالای لوله های آزمایش قرار گرفته بود جدا و آزمایشات بعدی انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

میزان غلظت کشنده میانی(LC50) با استفاده از نرم افزار پروبیت به دست آمد. در نهایت عصاره ها برای تعیین سطح آنزیم به آزمایشگاه درمانگاه امام رضا منتقل شدند. نتایج حاصله با برنامه آماری SPSS و آزمون ANOVA و تست Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف در سطح احتمال P≤۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

آزمایش تعیین LC50

تعداد تلفات در غلظت های ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر لیتر نانوسید در جدول ۲ نشان داده شده است. ماهی های تحت تیمار در طی زمان های ۲۴ تا ۹۶ ساعت افزایش چشمگیری در تعداد تلفات با افزایش غلظت نانوسید نشان دادند. اختلاف چشمگیری بین تعداد تلفات با افزایش غلظت نانوسید مشاهده شد. بر اساس تعداد تلفات و آنالیزهای آماری غلظت کشنده میانی در مدت ۲۴ ساعت قرارگیری در معرض نانوسید برای ماهی کپور معمولی ۰/۵۵ میلی گرم بر لیتر و در غلظت های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ۰/۲۳ میلی گرم بر لیتر به دست آمد.

جدول۲- تعداد تلفات در غلظت‌های مختلف نانونقره در طول ۹۶ ساعت برای ماهی

غلظت نانوسید	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۰/۱PPM	۰	۰	۰	۰
۰/۵PPM	۶	۱۴	۱۴	۱۴
۱PPM	۱۳	۱۴	۱۴	۱۴
۲/۵PPM	۱۲	۱۴	۱۴	۱۴
۵PPM	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴
۱۰PPM	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴

جدول۳- غلظت های نانوسید ایجادکننده ۵۰٪ تلفات در زمان های ۲۴،۴۸،۷۲ و ۹۶ ساعت

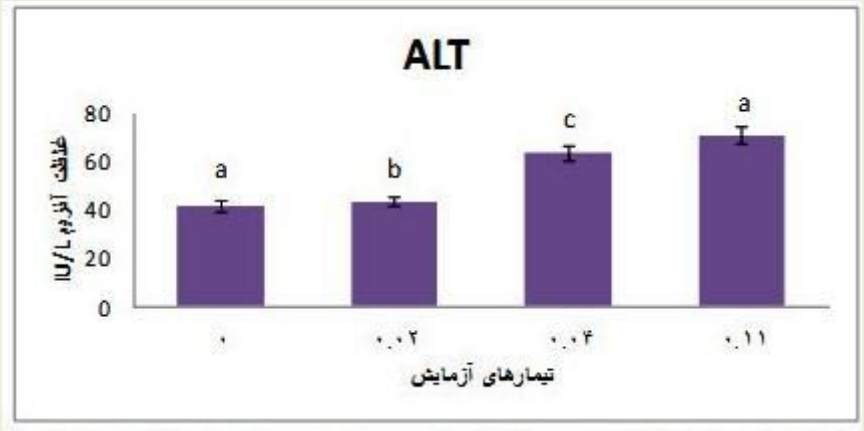
نام گونه	دوز کشنده	۲۴ساعت	۴۸ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ساعت
کپور معمولی	LC50	۰/۵۵	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳

تاثیر نانوذرات نقره بر آنزیم های کبدی

در این آزمایش، میزان سطح آنزیم های AST ,ALP ALT, پس از مدت زمان ۱۴ روز در گروه های شاهد و سه تیمار اندازه گیری و معنی دار بودن اختلاف گروه ها مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در نمودارهای ۱، ۲ و ۳ آورده شده است. بر اساس نتایج مندرج در این نمودارها، مشخص شد که میزان سطح همه آنزیم ها به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش پیدا کرد؛ به گونه ای که با افزایش دوز مصرفی نانوسیلور در تیمارها، سطح همه آنزیم ها نیز افزایش یافت.

نمودار-۱تغییرات آنزیمASTکبد بچه ماهی کپور معمولی تحت تاثیر نانودرات سیلور(P≤۰/۰۵)

نمودار۲- تغییرات آنزیمALPکبد بچه ماهیان کپور معمولی تحت تاثیر نانوذرات سیلور(P≤۰/۰۵)



نمودار٤- تغییرات آنزیمALT کبد بچه ماهیان کپور معمولی تحت تاثیر نانوذرات سیلور(P≤۰/۰۵)

بحث و نتیجه گیری

با توسعه روز افزون فناوری نانو، نگرانی ها در رابطه با خطرات احتمالی رهایش این مواد محتوی نانوذرات به محیط زیست در حال افزایش است(۵، ۳). در همین راستا نانو اکو توکسی کولوژی آبزیان زمینه تحقیق نسبتاً جدیدی است که توجه محققین را به خود جلب کرده است(۸)، چرا که مقصد نهایی نانو مواد تولید شده، اکوسیستم های آبی بوده و این مواد احتمالاً روی زیست‌مندان آبزی تاثیرات نامطلوبی خواهند داشت(۶،۱۶). نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان می دهد که غلظت کشنده میانی(LC50) در مدت ۲۴ ساعت قرارگیری در معرض نانوسید برای ماهی کپور

معمولی ۰/۵۵ میلی گرم بر لیتر و در غلظت های ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ۰/۲۳ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. در همین زمینه سمیت نانوذرات نقره در کپور نقره ای و گلدفیش را مورد ارزیابی قرار دادند؛ و دریافتند که افزایش معنی داری در تلفات ماهیان گلدفیش و کپور نقره ای در معرض نانوسید با سمیت حاد قرار گرفته بودند مشاهده شد(۱۳). LC50 برای گلدفیش(۰/۵۳ppm) بیشتر از کپور نقره ای(۰/۳۴ppm) بود و در نتیجه اثر این سمیت برای کپور نقره ای بیشتر بود. هم چنین در تحقیقی دیگر(علیشاهی و مصباح.، ۱۳۸۹) LC50 ۹۶ ساعته نانو ذرات نقره در ماهیان آمور(*Ctenopharyngodon idella*)، شیربت(*Barbus grypus*)، اسکار(*Astronorus ocellatus*) و سوروم(*Cichlosoma severums*) را مورد بررسی قرار دادند، مشخص نمود که در شرایط تعریف شده به ترتیب برابر ۰/۱۲، ۰/۰۸۶، ۶/۸۵، ۷/۸۹ میلی گرم در لیتر بود. در مطالعه حاضر نانوذرات نقره در غلظت های۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۱۱ mg/L باعث افزایش معنی داری در غلظت این آنزیم ها می شود. در همین زمینه تاثیر نانو ذرات سیلور بر بیوشیمیایی کبد در ماهی قزل آلای رنگین کمان بررسی شد، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت(۱۹). نتایج بیوشیمیایی حاصل از آزمایش لویی منفرد و سلطانی افزایش قابل توجهی در میزان آنزیم های ALT و AST در ماهیان تحت تاثیر با نانوذرات سیلور نسبت به گروه تیمار از خود نشان داد، نیز در مطالعه ی دیگر تاثیر نانوذرات نقره در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ ppm بر ۴۰ موش نر بالغ نژاد ویستار را بررسی کردند و دریافتند که بالاترین میزان تغییر در سطح سرمی آنزیم ALT در غلظت ۵۰ ppm، ۳ روز پس از تزریق بود، که افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد از خود نشان داد(P=۰/۰۰۲)(۲۱). در حالی که در غلظت های بالاتر یعنی ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ ppm هیچ تغییر معنی داری در سطح سرمی آنزیم ALT، بعد از آسیب کبدی مشاهده نشد. در این مطالعه، نتایج حاصل از غلظت ۵۰ ppm از نانوذرات سیلور با یافته های مطالعه حاضر مطابقت داشت. در همین زمینه افخمی و همکاران (۱۳۹۱) تاثیر نانوذرات اکسید آهن در غلظت های ۲۰،۵۰، ۱۵۰ µg/kg را بر غلظت آنزیم های کبدی، هورمون های تیروئیدی و هورمون محرک تیروئید در موش صحرایی را بررسی کردند و دریافتند که آنزیم AST در گروه های دریافت کننده ی دوز ۵۰ و ۱۵۰ µg/kg نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان داد(P≤۰/۰۵). غلظت سرمی آنزیم های ALP و ALT تنها در گروه تجربی دریافت کننده دوز ۱۵۰ g/kgµ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری را نشان داد(P≤۰/۰۵)، که با یافته های مطالعه حاضر مطابقت داشت. آنزیم ALT برای کبد اختصاصی بوده و آسیب سلول های کبدی باعث افزایش آزاد شدن این آنزیم می‌گردد. از این رو ممکن است دلیل افزایش آنزیم ALT تاثیر تخریبی نانوذرات نقره بر روی سلول های کبدی باشد. همچنین انسداد مجاری صفراوی باعث افزایش غلظت سرمی آنزیم ALP می گردد. از این رو احتمالاً با توجه به تخریب سلول های کبدی و انسداد مجاری صفراوی غلظت ALP افزایش یافته است. افزایش غلظت آنزیم های AST و ALT ممکن است به دلیل افزایش آنابولیسم یا کاهش کاتابولیسم آن ها باشد(۹). ثبات و درستی غشای هپاتوسیت ها لازمه ی اعمال حیاتی کبد می باشد(۲۰). نانوذرات نقره با توجه به خصوصیات فیزیکوشیمیایی که دارند این ثبات را بر هم زده و موجب بروز اختلال در عملکرد کبد می-گردند. باتوجه به داده‌های به دست آمده از مطالعه حاضر(بر مبنای LC۵۰۹۶ساعته) و همچنین افزایش سطح آنزیم های کبدی این نتیجه حاصل می گردد که برای بچه ماهیان کپور معمولی، نانو ذرات نقره، سمی می-

باشند. در مجموع به نظر می رسد انجام مطالعات نانو سم-شناسی آبزیان می تواند به عنوان شاخصی بسیار مناسب به منظور پیش بینی اثرات احتمالی ناشی از رهایش نانو مواد به بوم سازگان های آبی قلمداد شود. در همین رابطه نتایج مطالعات سم شناسی حاد و مزمن هر کدام در جای خود دارای اهمیت ویژه ای می باشند. با توجه به نتایج پژوهش حاضر و نیز نتایج منتشر شده درسایر مطالعات، به نظر می رسد که نانو ذرات نقره دارای اثرات سمی بر آبزیان بوده و جلوگیری از رهایش عمدی یا تصادفی آن ها به زیست بوم های آبی باید مورد توجه بیشتر قرار گیرد. هم چنین در کلیه مطالعات نانو اکو توکسی کولوژی بر روی آبزیان، باید توجه به خصوصیات کیفی آب مد نظر محققین قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از خانم مهندس نیوشا نیکی، جناب آقای دکتر مهرداد فتح الهی مدیریت گروه شیلات دانشگاه شهرکرد که در انجام این تحقیق همکاری نمودند کمال تقدیر و تشکر می گردد.

منابع

۱– افخمی اردکانی، م.، شیربند ع.، گلزاده، ج.، اسدی سامانی، م.، لطیفی، ا.، خیلاپور، م. ۱۳۹۱. تاثیرنانوذرات اکسیدآهن برغلظت آنزیم های کبدی، هورمون های تیروئیدی و هورمون محرک تیروئید در موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، دوره ۱۴ ،شماره ۶، ۱۳۹۱ ۸۲–۸۸

۲–نیکی، ن.، رحیمی، ر.، شالوئی، ف.، نیکوخواه ف. ۱۳۹۵. تاثیر نانوذرات نقره کلوئیدی بر جمعیت فلور باکتریایی روده کپور معمولی(*Cyprinus carpio*). مجله منابع طبیعی دانشگاه تهران(شیلات). دوره ۶۹، شماره ۱، صفحه ۱۲۳–۱۳۱.

3.Asharani, P.V., Wu, Y.L., Gong, Z., Valiyaveettil, S. (2008). Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models Nanotechnology. Environmental Toxicology, 19(25); 1-8.

4.Ayalogu, OE., Igbih NM., Dede, E. (2001). Biochemical changes in the serum and liver of albino rates exposed to petroleum samples (Gasoline, Kerosene, and Crude Petroleum). Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 5(1); 97-100.

5.Blaise, C., Gagne, F., Ferard, J.F., Eullaffroy, P. (2008). Ecotoxicity of selecte nano-materials to aquatic organisms. Environmental Toxicology, 23(5); 591-8.

6.Choi, J.E., Kim, S., Ahn, J.H., Youn, P., Kang, J.S., Park, K. (2010). Induction of oxidative stress and apoptosis by silver *Escherichia coli*: An electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of nanoparticles in the liver of adult zebrafish. Aquatic Toxicology, 100(2); 151-9.

7.Chen, X., Schluesener, H. J. (2008). A nano product in medical application. Toxi cology Letters, 176(1); 1-12.

8.Colvin, V.L. (2003). The potential environmental impact of engineered Nano materials. Nature Biotechnology, 21(10); 1166-70.

9.Christ-Crain, M., Meier, C., Puder, J., Staub, J., Huber, P., Keller, U. (2004). Changes in liver function correlate with the improvement of lipid profile after restoration of euthyroidism in patients with subclinical hypothyroidism. Excil J, 3; 9.

10. Gajjar, P., Pettee, B., Britt, D.W., Huang W. (2009). Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440. Journal of Biological Engineering, 3(26); 9.

11. Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W. (2007). Preparation and antibacterial activity of Fe3O4-Ag nanoparticles. Nano Technology, 18;604-611.

12. Griffitt, R. J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J. C. and Barber, D. S. (2008). Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. Environmental Toxicology and Chemistry, 279; 1972-1978.

13. Hedayati, A., Kolangi, H., Jahanbakhshi, A., Shaluei, F. (2012). Evaluation of silver nanoparticles ecotoxicity in silver carp(Hypo phthalmicthys molitrix) and goldfish(*Carassius auratus*). Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 15(3); 172177.

14. Holt, K. B., Bard, A. J. (2005). Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of

the antimicrobial mechanism of micromolar Ag. Biochemistry, 44(39); 13214-13223.
15. Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H, Park, S. J., Lee, H.I. (2007). Antimicrobial effects of silver nanopaticles. Nano medicine, Nanotechnology Biology and Medicine, 3;95-101.
16. Klaine, S.J., Alvarez P.J.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy, R.D., Lyon, D.Y. (2008). Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. Environmental Toxicology and Chemistry, 27(9); 1825-51.
17. Lansdown, A. B. (2002). Silver its antibacterial properties and mechanis ofaction. Journal of Wound Care, 11; 125-130.
18. Liu, W.T. (2006). Nanoparticles and their biological and environmental applications. journal of bioscience and bioengineering. The Society for Biotechnology, Japan, 102(1);1–7.
19. Louei Monfared, A., Soltani, S. (2013). Effects of silver nanoparticles administration on the liver of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*): histological and biochemical studies. European. Journal of Experimental Biology, 3(2); 285-289.
20. Mokhtari, M., Shariati M., Geshmardi, N. (2007). Oral effects of lead on thyroid hormones and liver enzymes in rats. Hormozgan Med J, 11(2); 115.
21. Naghsh, N., Noori, A., Aqababa, H., Amirkhani-Dehkordi, S. (2012). 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, 14(7); 34-37.
22. Parma, M.J., Loteste, A., Campana, M., Bacchetta, C. (2007). Changes of hematological parameters in *Prochilodus lineatus*(Pisces, Prochilodontidae) exposed to sublethal concentration of cypermethrin. Journal of Environ Mental Biology, 28(1); 147-49.
23. Rahman Nia, J. (2011). Inventor; preparation of colloidal nanosilver. United States Patent, 7892317.
24. Rai, M., Yadav, A., Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology Advances, 27;76.
25. Raissy, M., Ansari, M. (2011). In vitro antimicrobial effect of silver nanoparticles on *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae*. African Journal of Microbiology Research, 5(25); 4442-4445.
26. Rajeshkumar, S., Venkatesan, C., Sarathi, M., Sarathbabu, V., Thomas, J., Anver Basha, K. (2009). Oral delivery of DNA construct using chitosan nanoparticles to protect the shrimp from white spot syndrome virus (WSSV). Fish & Shellfish Immunology, 26; 429–437.
27. Sharma, V.K., Yngard, R.A., Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Advances in Colloid and Interface Science, 145; 83–96.

Effect of Colloidal Nanosilver Particles on Some of Liver Enzymes in Common Carp *(Cyprinus carpio)*

A. Samsami[1], **R. Rahimi**[1], F. Shaluei[1]

1.Department of Fisheries and Environmental Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord. Iran. .**rahimi@nres.sku.ac.ir**

Received:2017.4. 3 **Accepted: 2017.16. 7**

Abstract

Inroduction & Objective: Despite increasing application of silver nanoparticles (NPs) in industry and consumer products, there is still little known about their potential toxicity, particularly to organisms in aquatic environments. Regarding fast development of the nanotechnology and its diverse applications, is very important having enough data on the probably its side effects on the aquatic body organs. Therefore, in this study the median lethal concentration "LC50" and the effects of nanosilver administration on the liver's biochemistry in cyprinus carpio

Material and Method: For this purpose 84 fish were exposed to concentrations of(0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 ppm) for 96 hours and their mortality were recorded. By using probit analyses the LC50 was obtained 0.23 ppm. In next stage 84 fish in four treatment with three repeat in each treatment were exposed to (1/2 LC50, 1/5 LC50, 1/10 LC50) and contral treatment for 14 days. After 14 days 2 fish in each repeats was selected in random and were passed out with clove powder. Their livers were extracted. Then, Changes in AST,ALP,ALT levels were counted.

Results: Results showed in AST,ALP,ALT levels a significant increase in the nanosilver treated fish (P<0.05) when compared to control .

.

Keywords: Nanosilver particles, Cyprinus carpio, AST,ALP,ALT.