اثرات کوتاه مدت نانوذرات اکسید روی بر شاخص‌های خونی و آنزیم‌های متابولیک بچه ماهی آزاد خزر (*Salmo trutta caspius*)

فاطمه اسمعیل کاویانی[۱]، اکرم سادات نعیمی[۱و۲*]، علی صالح زاده[۳]

* a_naeemi@guilan.ac.ir

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، صندوق پستی: ۱۳۳۵۱۹۱۴
۲- گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، صندوق پستی: ۱۳۳۵۱۹۱۴.
۳- گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۳۳۵-۳۵۱۶

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

چکیده

استفاده گسترده از نانوذرات اکسید روی (ZnO-NPs)، نگرانی در مورد خطرات زیست محیطی ناشی از ورود آن‌ها به سیستم-های آبی را افزایش داده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات کوتاه مدت نانوذرات اکسید روی بر فعالیت آنزیم‌های متابولیک و فاکتورهای خونی ماهی آزاد خزر نوجوان بود. بچه ماهیان آزاد خزر به مدت ۴ روز در رویارویی با ده درصد $LC_{50\text{-}96h}$ قرار گرفتند. نمونه های خون بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت از ماهی گرفته شد. آنالیز فاکتورهای خونی نشان داد که در مدت ۹۶ ساعت، مقدار گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها و مونوسیت-ها، افزایش معنی‌داری را تحت تاثیر نانوذرات اکسید روی نسبت به شاهد نشان دادند ($p<۰/۰۵$)، ولی در تعداد لنفوسیت‌ها در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری دیده شد ($p<۰/۰۵$). همچنین سطح فعالیت آنزیم‌های ALT، AST و ALP در رویارویی با نانوذرات اکسید روی در ۹۶ ساعت و آنزیم LDH در ۴۸ ساعت در مقایسه با شاهد افزایش نشان دادند ($p<۰/۰۵$). می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات حاصله در فاکتورهای خونی و آنزیم‌های متابولیک، حساسیت نسبتا بالای بچه ماهی آزاد خزر را در غلظت تحت کشنده به ZnO-NPs نشان می‌دهد و تغییرات پارامترهای خونی می‌تواند شاخص مفیدی برای بررسی تاثیرات کوتاه مدت نانو ذره اکسید روی باشد.

کلمات کلیدی: سمیت، آنالیز بیوشیمیایی، نانوذره

* نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]

مقدمه

نانوذرات، موادی هستند که ابعاد آن‌ها بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشد (Auffan *et al*., 2009). تولید و استفاده از نانو مواد مهندسی شده به احتمال زیاد باعث رهایش آن‌ها به محیط‌های آبی و منجر به خطرات غیر منتظره در موجودات آبزی می‌شود. استفاده از نانوذرات در سطح جهان روز به روز در حال افزایش است ولی هنوز اطلاعات محدودی در مورد اثرات زیست محیطی آن‌ها، به ویژه بر موجودات آبزی در دسترس است (Farkas *et al*., 2011). بطور کلی آبزیان از طریق آب و غذا ممکن است در معرض نانو ذرات قرار گیرند (جوهری و حسینی، ۱۳۹۳).

میزان تولید سالانه نانواکسید روی در سال ۲۰۱۰ بیشتر از ۳۰۰۰۰ تن با بیشترین استفاده در پزشکی، لوازم آرایشی، الکتریکی و تولیدات رنگی تخمین زده شده است که هر ساله بخش عمده‌ای از آن به بوم‌سازگان آبی وارد می شوند (Keller *et al*., 2013). امروزه در کشورمان ایران، بسیاری از نانوذرات غیر فلزی، فلزی و اکسید فلزی به صورت بومی تولید می شوند. تعدادی از صنایع مرتبط با فناوری نانو و تولید نانوذرات، در حوضه دریاچه خزر نیز در حال فعالیت می باشند که پسماندهای حاصل از آن‌ها می‌تواند به بوم سازگان‌های آبی این منطقه راه یابد و آلودگی ایجاد کنند (Sarkar & Beitollahi, 2009).

ماهی آزاد دریاچه خزر از ماهیان مهاجر بوده و به منظور تخمریزی به رودخانه‌های استان‌های گیلان و مازندران از جمله سفید رود، چشمه کیله، شفارود و گرگانرود مهاجرت می‌نماید. امروزه اکثر رودخانه‌های حوضه دریاچه خزر ارزش بوم شناختی خود را به دلیل برداشت شن و ماسه، ایجاد سد و موانع در مسیر مهاجرت ماهیان و صید بی رویه و به ویژه ورود آلاینده‌ها و سموم از دست داده‌اند و در نتیجه این ماهیان در خطر انقراض قرار دارند (Zorriehzahra, 2012).

تغییر در پارامترهای خون‌شناسی از جمله واکنش‌هایی است که جانور در پاسخ به تنش از خود نشان می‌دهد (Milligan *et al*., 1982). بخشی از این تغییرات وابسته به ویژگی‌های خود گلبول‌های قرمز است مانند تغییر در اندازه سلول و میزان ذخیره هموگلوبین و بخشی دیگر به غلظت پروتئین پلاسما بستگی دارد که می تواند اثر خود را به صورت تغییر در تعداد گلبول‌ها در واحد حجم و همچنین تغییر میزان هماتوکریت نشان دهد (Milligan *et al*., 1982). از آنجایی‌که ویژگی‌های بیوشیمیایی خون یکی از مهمترین شاخص‌های وضعیت فیزیولوژیک ماهی قلمداد می‌شود، ورود آلاینده‌ها در پیکره موجود زنده می‌تواند موجب تغییر قابل توجه و معنی‌داری در پروفایل بیوشیمیایی خون شود که در واقع بازتابی از ایجاد تغییرات در پروسه سوخت و ساز طبیعی بدن ماهی است که در نتیجه سوخت و ساز آلاینده طی فرایند سم‌زدایی حاصل می‌شود (Edsall *et al*., 1999).

تاکنون مطالعات متعددی در مورد اثرات نانوذرات از جمله نانواکسیدهای فلزی بر گونه‌های مختلف ماهیان صورت گرفته است و مشخص گردیده که این نانو اکسیدهای فلزی دارای اثرات منفی بر شاخص‌های مختلف از جمله فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی ماهیان می‌باشند (Khabbazi *et al*., 2015). اما مطالعات کمی در مورد سمیت و اثرات نانوذرات اکسید روی بر فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی آزادماهیان صورت گرفته است. همچنین مطالعات اندکی در مورد اثرات نانوذرات بر ماهی آزاد دریاچه خزر صورت گرفته است. رضوانی و همکاران در سال ۱۳۹۲ تاثیر نانو ذرات اکسید روی بر گلبول‌های سفید خون بچه ماهی آزاد دریای خزر را بررسی کردند. از مطالعات دیگری که روی این ماهی صورت گرفته است، بررسی اثرات نانوفنول روی توازن هورمونی و آسیب‌شناسی بافتی *Salmo trutta caspius* می‌باشد(Shirdel & Kalbassi, 2016).

هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات کوتاه مدت نانوذرات اکسید روی بر فاکتورهای خونی و آنزیم‌های متابولیک ماهی آزاد دریاچه خزر، که یکی از مهمترین ماهیان شیلاتی دریاچه خزر و در معرض خطر انقراض است، می‌باشد.

مواد و روش‌ها

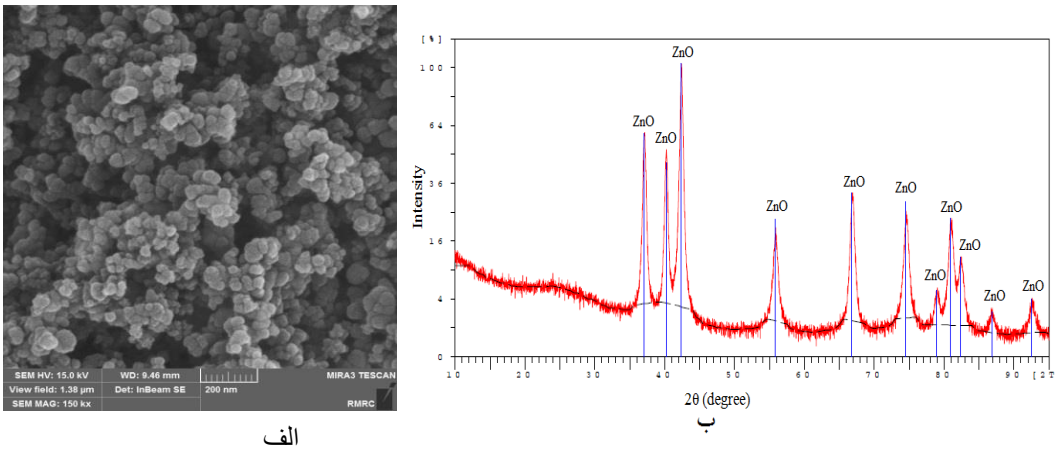
آماده سازی ماهیان مورد آزمایش: ۶۰ عدد بچه ماهی آزاد خزر با میانگین طول ۴±۲۰ سانتی متر و میانگین وزن ۵±۲۵ گرم از مرکز تکثیر و پرورش آزادماهیان شهید باهنر در کلاردشت مازندران خریداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. قبل از شروع آزمایش، ماهی‌ها به مدت ۱۰ روز در حوضچه‌های فایبرگلاس ۱۰۰۰ لیتری با شرایط آزمایشگاهی سازش یافتند. ماهی‌ها روزانه با غذای تجاری تغذیه شدند و تعویض آب هر ۲۴ ساعت یکبار انجام شد. در طول دوره سازش و آزمایش، ماهی‌ها در دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی قرار داشتند. دمای آب (۱±۱۴درجه سانتی گراد)، pH (۰/۲±۷/۵)، سختی آب

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]

(۲۳۰ ppm) و اکسیژن محلول (۸ میلی گرم در لیتر) به طور روزانه کنترل شدند.

مشخصات نانوذرات اکسید روی: نانوذرات اکسید روی به حالت پودری با درصد خلوص ۹۹/۸%، تولید کارخانه US Research Nanomaterials از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (مشهد، ایران)، تهیه گردید. این نانوذرات برای آماده‌سازی با مقدار مناسب آب مقطر مخلوط و به منظور توزیع یکنواخت در سوسپانسیون به مدت ۱۵ دقیقه به وسیله دستگاه اولتراسوند (شرکت سازنده: QSonica، مدل: S3000) در دمای محیط اولتراسیون شدند. اندازه و مورفولوژی نانوذرات توسط آنالیز SEM (مدل دستگاه: MIRA3، شرکت سازنده: Tescan) در مرکز پژوهش متالوژی رازی مطالعه شد. مقدار چگالی و ساختار کریستالی نانوذرات خریداری شده توسط آنالیز X-ray (مدل دستگاه: X'Pert MPD، شرکت سازنده: Philips) در آزمایشگاه اشعه ایکس دانشگاه تربیت مدرس مطالعه شدند (شکل ۱). ویژگی‌های نانوذرات اکسید روی در جدول ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱: ویژگی‌های نانوذرات اکسید روی: (الف) عکس میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) نانوذره اکسید روی و (ب) طیف پراش اشعه x (X-ray) نانوذرات اکسید روی (خط‌های آبی).

Figure 1: ZnO nanoparticle characteristics: (A) Scanning Electron Microscope (SEM) and (B) X-ray (blue lines).

جدول ۱: ویژگی‌های نانوذرات اکسیدروی مورد استفاده.

Table 1: ZnO nanoparticle characteristics.

رنگ	سایز ذره	شکل ذره	چگالی	سیستم بلوری نمونه
سفید	۲۰nm	متمایل به کره	۵/۶۷۴g/m^3	شش وجهی

نمونه‌برداری: بعد از سازش، بچه ماهیان آزاد خزر (تعداد=۶۰) به شش حوضچه ۲۰۰ لیتری انتقال یافتند. سه حوضچه فایبرگلاس شامل ۱۷/۸ میلی گرم در لیتر (۱۰٪ از LC_{50}) از نانوذرات اکسید روی بود (سه تکرار). سه گروه کنترل (بدون نانوذرات اکسید روی) در نظر گرفته شد. ماهی‌ها به مدت ۴ روز در معرض نانوذرات اکسید روی قرار گرفتند. نمونه گیری در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از رویارویی با نانوذره انجام شد.در هر نمونه برداری، سه ماهی به صورت تصادفی از شش حوضچه برداشته شدند و با پودر گل میخک (۱۵۰ میلی گرم در لیتر) بیهوش گردیدند. نمونه‌های خون با استفاده از سرنگ انسولین هپارینه شده از ساقه دمی ماهی گرفته شدند و به میکروتیوپ ۰/۵ میلی لیتری شامل ۰/۰۱ میلی‌لیتر محلول هپارین منتقل شدند. بخشی از نمونه خون برای آنالیز آنزیمی سانتریفیوژ شد (۱۰ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه)، پلاسما جدا شد و تا زمان آنالیز در فریزر منفی ۷۰ نگهداری شد (Subashkumar & Selvanayagam, 2014).

سنجش پارامترهای خونی: جهت تعیین هماتوکریت (Hct) نمونه‌های خون جمع‌آوری شده در لوله‌های موئین به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. مقدار هموگلوبین (Hb) نیز توسط اسپکتروفتومتری با معرف درابکین (Drobkin) در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد به

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]

دست آمد. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از پیپت ملانژور سفید، لام نئوبار و محلول‌های رقیق کننده تورک (Turk) شمارش شدند (Blaxhall & Daisley, 1973). تشخیص افتراقی با رنگ آمیزی گیمسا انجام گرفت. برای شمارش گلبول‌های قرمز از رقیق کننده NaCl دو درصد و لام نئوبار استفاده شد و شاخص‌هایی چون MCV (حجم متوسط گلبول قرمز)، MCH (مقدار متوسط وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز) و MCHC (غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز) به ترتیب و طبق فرمولهای مربوطه محاسبه گردیدند (Henry, 1996).

آنالیز بیوشیمیایی: برای سنجش بیوشیمیایی خون، نمونه‌های خون به سرعت سانتریفیوژ شدند و پلاسما آن‌ها جدا شد. سپس مقدار آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) توسط سنجش‌های آنزیمی‌کینتیک با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون (ParsAzmoon, Tehran, Iran) اندازه‌گیری شدند(Moss & Henderson, 1999).

آنالیز آماری: آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS 20 و آزمون Tukey برای تشخیص تفاوت معنی دار بین گروه‌ها انجام شد. اختلاف در سطح اطمینان بالای 95% در نظر گرفته شد ($p<۰/۰۵$). نمودارها در نرم افزار Excel 2013 رسم گردیدند. داده‌ها به صورت انحراف معیار±میانگین بیان شدند.

نتایج

اثرات کوتاه مدت نانوذرات اکسید روی بر پارامترهای خونی: نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید روی موجب افزایش معنی‌داری در سطح گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها و کاهش معنی داری در تعداد لنفوسیت‌ها در مقایسه با گروه ماهیان شاهد (کنترل) می‌گردد (جدول ۲). در شاخص‌های MCV، MCH و MCHC تغییرات معنی داری دیده نشد (جدول ۲).

جدول۲: فاکتورهای خونی بچه ماهی آزاد خزر در رویارویی با نانوذرات اکسید روی در بازه زمانی کوتاه مدت (حروف متفاوت نشان-دهنده ی تفاوت معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

Table 2: Hematological parameters of Caspian trout exposed to ZnO nanoparticles in short time period (Different letters show statistically significant difference ($p<0.05$).

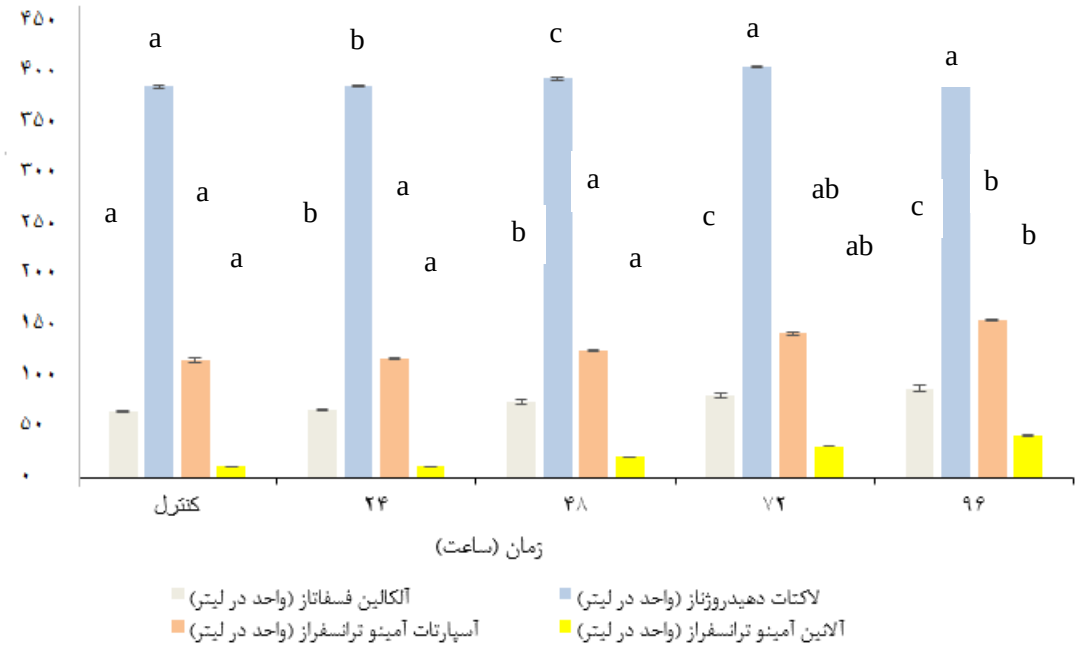
فاکتورهای خونی	شاهد	ساعت ۲۴	ساعت ۴۸	ساعت ۷۲	ساعت ۹۶
تعداد گلبول‌های قرمز ($۱۰^۶$ میلیمتر مکعب)	۱/۱۶±۰^{a}	۱/۱۶±۰/۰۱^{b}	۱/۱۶±۰/۰۱^{c}	۱/۱۹±۰/۰۶^{d}	۱/۲۱±۰/۰۱^{d}
تعداد گلبول‌های سفید ($۱۰^۳$ میلیمتر مکعب)	۵±۰^{a}	۵/۰۳±۰/۱^{b}	۵/۱۲±۰/۰۲^{c}	۵/۱۳±۰/۰۰۴^{c}	۵/۳۶±۰/۱۳^{c}
حجم متوسط گلبول قرمز (فمتولیتر)	۳۱۵/۷۵±۰/۴۶ ^{a}	۳۱۶/۷۵±۱/۱۵ ^{b}	۳۱۸/۶۶±۰/۵۱ ^{b}	۳۲۰±۱/۵۴ ^{b}	۳۱۸/۶۶±۰/۵۱ ^{b}
مقدار متوسط وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز(پیکوگرم)	۶۷/۴۲±۰/۲۸ ^{a}	۶۷/۶۶±۰/۵۱ ^{b}	۶۸/۶۷±۱/۰۳ ^{b}	۷۰±۱/۵۵ ^{b}	۶۳/۳۳±۲/۰۶ ^{b}
غلظت متوسط گلبول‌های قرمز (گرم در دسی لیتر)	۲۱/۳۸±۰/۴۴ ^{a}	۲۱/۶۷±۰/۵۲ ^{b}	۲۱/۳۳±۰/۵۲ ^{b}	۲۰/۶۶±۰/۵۱ ^{b}	۲۰/۶۶±۰/۵۱ ^{b}
هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	۶/۵±۰/۳^{a}	۶/۶±۰/۰۵^{b}	۷/۵±۰/۳۶^{c}	۷/۵±۰/۲^{d}	۸/۱±۰/۳^{d}
هماتوکریت (درصد)	۳۳/۳±۱/۰۵^{a}	۳۳/۶±۰/۵^{a}	۳۴/۵±۰/۵۷^{b}	۳۵/۶±۱/۳۶^{c}	۳۸±۰^{c}
نوتروفیل (درصد)	۱۸/۹۸±۰/۳۲^{a}	۱۸/۶۶±۰/۵۱^{b}	۲۲/۳۳±۰/۵۱^{cd}	۲۴/۶۶±۱/۳۶^{d}	۲۵/۶۶±۱/۳۶^{bd}
لنفوسیت (درصد)	۷۹/۶۲±۰/۴۴^{a}	۷۸±۰/۸۹^{b}	۷۱/۵±۰/۵۷^{bc}	۶۹/۳۳±۲/۷۳^{c}	۶۸±۰/۸۹^{c}
مونوسیت (درصد)	۲/۸±۰/۶۳^{a}	۳/۳۳±۰/۵۱^{a}	۴/۳۳±۱/۰۳^{a}	۴/۶±۰/۵۱^{a}	۵/۶±۰/۵۱^{a}

اثرات کوتاه مدت نانوذرات اکسید روی بر آنزیم‌های متابولیک: نتایج حاصل نشان داد که آنزیم‌های ALT، و ALP بعد از ۹۶ ساعت افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند (شکل ۲). آنزیم LDH در ساعت

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]

۴۸ افزایش معنی داری را نسبت به شاهد نشان داد و سپس به مقدار شاهد نزدیک گردید (شکل ۲).



شکل ۲: تغییرات در میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) خون در رویارویی با نانوذرات اکسیدروی در بازه زمانی کوتاه مدت. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار است (p<۰/۰۵)

Figure2: Changes in activity of enzyme Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST), Lactate dehydrogenase (LDH) and Alkaline phosphatase (ALP) in blood in short time period. Different letters show significant differences (p< 0.05).

بحث

در این پژوهش هنگامی که بچه ماهیان آزاد در معرض غلظت تحت کشنده نانوذرات اکسید روی به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفتند، موجب افزایش تعداد گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین نسبت به گروه شاهد گردید. Witeska و Kosciuk در سال ۲۰۰۳ دریافتند که افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت در اثر تماس با روی در کپور معمولی رخ می دهد که این نیز مطابق با اطلاعات به دست آمده توسط Imani و همکاران (۲۰۱۵) در مورد نانوذرات نقره در قزل آلای رنگین کمان می باشد. افزایش در تعداد گلبول‌های قرمز و سطوح هموگلوبین خون در بچه ماهی آزاد خزر در رویارویی با نانوذرات اکسیدروی می تواند با افزایش آزادسازی گلبول‌های قرمز به گردش خون از اندام‌های خون‌ساز مرتبط باشد که به وسیله نیاز بالای انتقال اکسیژن و دی اکسید کربن، تحریک می شود و این تحریک به علت اختلال تبادل گازی در بافت‌های آبشش تغییر شکل یافته است.

نتایج نشان داد که نانوذرات اکسیدروی بر تعداد کل گلبول‌های سفید، نوتروفیل و مونوسیت اثر افزایشی معنی‌دار و بر تعداد لنفوسیت‌ها اثر کاهشی داشته است. این افزایش در تعداد گلبول سفید و نوتروفیل بر اثر قرارگیری در معرض غلظت های ۲۵، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات اکسید مس و غلظت‌های ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی گرم در لیتر اکسیدروی به ترتیب در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Khabbazi *et al.*, 2015) و ماهی کپور معمولی (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۴) گزارش شده است. همچنین در مطالعه دیگری که در آن قزل‌آلای رنگین کمان به مدت ۱۴ روز در مواجهه با ۱ میلی گرم در لیتر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم قرار گرفتند، مشاهده شد که سطوح هماتوکریت و هموگلوبین در خون افزایش یافت و گلبول‌های سفید هم دچار تغییراتی شدند (Boyle *et al.*, 2013). تغییر در کمیت و کیفیت گلبول‌های خونی زمانی اتفاق می‌افتد که عاملی در عملکرد ترکیب خون اختلال ایجاد کند (Griffin & Mitchell, 2007). تعداد گلبول‌های سفید یکی از

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]

شاخص‌های مهم سلامتی و وضعیت سیستم ایمنی ماهیان است که تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد (محمدی و اسلامی، ۱۳۹۵)و ممکن است در واکنش به بیماری‌های خاص به طور معنی‌داری افزایش یا کاهش یابد (Banaee *et al*., 2008).

مقادیر آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در پلاسمای ماهی‌های در معرض نانوذرات اکسیدروی با گذشت زمان افزایش یافتند. افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در پلاسمای خون ماهی *Oncorhynchus mykiss* و *Cyprinus carpio* به ترتیب در تماس با نانوذرات نقره و نانوذرات اکسید روی نیز گزارش شده است(Lee *et al*., 2014). افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در پلاسمای ماهی‌های در معرض نانوذرات اکسید روی، می تواند به علت آسیب‌های بافت‌های مختلف به ویژه بافت کبد باشد.طبق نتایج، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) نیز با گذشت زمان افزایش داشته است. افزایش سطح فعالیت آنزیم ALP در پلاسمای خون ماهی *Oncorhynchus mykiss* در تماس با نانوذرات نقره نیز گزارش شده است (Imani *et al*., 2014). در مطالعات مختلف، افزایش سطح فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در پلاسمای خون ماهی‌های استخوانی *Rhamdia quelen* و *Oreochromis mossambicus* در تماس با انواع مختلف سموم دفع آفات کشاورزی و آلاینده‌های شیمیایی، به عنوان شاخصی از آسیب وارده به بافت کبد و نیز ایجاد اختلال در عملکرد کبد این ماهی‌ها معرفی شده است (El-Sayed & Saad, 2008). آلکالین فسفاتاز (ALP) آنزیمی است که در اپیتلیوم مجاری صفراوی، سلول‌های کبدی و نیز در مخاط روده و کلیه‌ها یافت می شود. سطح این آنزیم در انسداد مجاری صفراوی داخل و خارج کبدی، سیروزی، اختلالات کبدی و آسیب‌های استخوانی به شدت افزایش می یابد (Banaee *et al*., 2008). در پژوهش حاضر آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) درساعت ۴۸ دارای افزایش قابل توجه بود، اما به تدریج به مقدار شاهد نزدیک شد. LDH آخرین آنزیم مسیر گلیکولیز در مهره داران و یکی از آنزیم‌هایی است که در تشخیص آسیب‌های بافتی ناشی از آلاینده‌ها در بافت‌هایی نظیر کبد، عضله و آبشش در ماهی کاربرد دارد (Heath, 1995). در صورت آسیب دیدن غشای سلولی و یا نکروز سلول، این آنزیم به بیرون راه پیدا کرده و میزان آن در سرم خون افزایش می یابد(Costillas & Smith, 1977).

نتایج نشان داد که در بچه ماهی آزاد دریای خزر همانند دیگر گونه های ماهی ها، قرارگیری در معرض غلظت‌های تحت کشنده نانوذرات اکسیدروی در مقایسه با شاهد، می تواند افزایش معنی‌داری در شاخص‌های خونی از جمله مقدار گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها و آنزیم‌های متابولیک (ALT، AST، ALP و LDH) در کوتاه مدت ایجاد نماید و باعث کاهش معنی‌دار لنفوسیت گردد. تغییرات ایجاد شده در ماهی آزاد دریای خزر در مواجهه با نانوذرات اکسید روی می تواند نشان دهنده لزوم و ضرورت مدیریت صحیح صنایعی که این نانوذرات را به عنوان ماده اولیه محصولات خود مصرف می‌کنند برای جلوگیری از ورود آلاینده‌هایی از این دست به دریای خزر باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر دانشگاه گیلان بابت حمایت پژوهشی (طی قرارداد ۱۳۴۳/ک م)، تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند. همچنین، بدینوسیله از مرکز تکثیر و پروش آزادماهیان کلاردشت مازندران برای همکاری در تهیه بچه ماهی آزاد دریای خزر قدردانی می‌گردد.

منابع

جوهری، س.ع. و حسینی، س.، ۱۳۹۳. سمیت تغذیه-ای کلوئید نانوذرات نقره در ماهی قزل آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳(۱): ۲۳-۳۱.

رضوانی، ز.، جمالزاده، ح. و پورغلام، ر.، ۱۳۹۲. بررسی تاثیر نانو ذرات اکسید روی بر گلبولهای سفید خون بچه ماهی آزاد دریای خزر. همایش ملی پژوهش‌های محیط زیست ایران، دانشگاه شهید مفتح، همدان.

محمدی، ز. و اسلامی، ه.، ۱۳۹۵. تاثیر مکمل معدنی نانوذره اکسید منگنز بر عملکرد رشد و یاخته‌های خونی بچه ماهی انگشت قد قزل آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۳): ۱۹۹-۲۱۵.

هدایتی، س.ع.، جهانبخشی، ع. و مرادزاده، م.، ۱۳۹۴. بررسی سمیت تحت کشنده نانو اکسیدروی (ZnO NPs) بر شاخص‌های خونی ماهی کپور

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]

معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی ـ پژوهشی زیست شناسی جانوری تجربی، ۴(۱): ۲۷-۳۴.

Auffan, M., Jérôme, R., Jean-yves, bottero., Gregory, V.L., Jean-Pierre, J. and Mark, RW., 2009. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. Nature Nanotechnology, 4: 634–641. DOI: 10.1038/nnano.2009.242

Banaee, M., Mirvagefei, A.R., Rafei, G.R. and Majazi Amiri, B., 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. International Journal of Environmental Research, 2: 189-198. DOI: 10.22059/ijer.2010.193

Blaxhall, P.C. and Daisley, W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology, 5: 771-781. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x.

Boyle, D., Al-Bairuty, G.A., Ramsden, C.S., Slomanb, K.A., Henrya, T.B. and Handya. R.D., 2013. Subtle alterations in swimming speed distributions of rainbow trout exposed to titanium dioxide nanoparticles are associated with gill rather than brain injury. Aquatic Toxicology, 126: 116-127.
DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.10.006.

Costillas, E. and Smith, L.S., 1977. Effect of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout. Journal of Fish Biology, 10: 481-491. DOI: 10.1111/j.1095- 8649.1977.tb04081.x.

Edsall, C.C., 1999. A blood chemistry profile for lake trout. Journal of Aquatic Animal Health, 11: 81-86. DOI: 10.1577/1548-8667(1999)011<0081:ABCPFL>2.0.CO;2.

El-Sayed, Y.S. and Saad, T.T., 2008. Sub-acute intoxication of a deltamethrin-based preparation (Butox 5% EC) in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 102: 293-299. DOI: 10.1111/j.1742-7843.2007.00157.x.

Griffin, B.R. and Mitchell, A.J., 2007. Susceptibility of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), to *Edwardsiella ictaluri* challenge following copper sulphate exposure. Journal of fish diseases, 30(10): 581-585. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2007.00838.x.

Heath, A.G., 1995. Water pollution and fish physiology. CRC Press, New York. 384P.

Henry, J.B., 1996. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. W.B. Saunders Company, USA. 1556P.

Imani, M., Halimi, M. and Khara, H., 2015. Effects of silver nanoparticles (AgNPs) on hematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Comparative Clinical Pathology, 24: 491-495. DOI: 10.1007/s00580-014-1927-5.

Keller, A., McFerran, S., Lazareva, A. and Suh, S., 2013. Global life cycle releases of engineered nanomaterials .Journal of Nanoparticle Research, 15: 1692. DOI: 10.1007/s11051-013-1692-4.

Khabbazi, M., Harsij, M., Hedayati, S.A.A., Gholipoor, H., Gerami, M.H. and Ghafari Farsani, H., 2015. Effect of CuO nanoparticles on some hematological indices of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and their potential toxicity. Nanomedicine, 2: 67-73.
DOI: 10.7508/nmj.2015.01.008

Lee, J., Kim, J., Shin, Y., Ryu, J.E. and Lee, J.S., 2014. Serum and ultrastructure responses of common carp (*Cyprinus carpio* L.) during long-term exposure to

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]

zinc oxide nanoparticles. Ecotoxicology Environmental Safety, 104: 9-17. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.01.040.

Milligan, C.L. and Wood, C.M., 1982. Disturbances in haematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental pH in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. The Journal of Experimental Biology, 99: 397-415.

Moss, D.W. and Henderson, R., 1999. Clinical enzimology. In: Burtis, C.A. and Asheewd, E.R., 1994. Text book of clinical chemistry, 3rd edn. W.B, Saunders Company, USA. pp: 617-721.

Sarkar, S. and Beitollahi, A., 2009. An overview on nanotechnology activities in Iran. Iranian Journal of Public Health, 38: 65-68.

Shirdel, I. and Kalbassi, M.R., 2016. Effects of nonylphenol on key hormonal balances and histopathology of the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). Comparative Biochemistry and Physiology, 184: 28-35. DOI: 10.1016/j.cbpc.2016.01.003.

Subashkumar, S. and Selvanayagam, M., 2014. First report on: Acute toxicity and gill histopathology of fresh water fish *Cyprinus carpio* exposed to Zinc oxide (ZnO) nanoparticles. International Journal of Scientific and Research Publications, 4: 2250-3153.

Witeska, M. and Kosciuk, B., 2003. The Changes in Common Carp Blood after Short-term Zinc Exposure. Environmental Science and Pollution Research, 10: 284. DOI:10.1065/espr2003.07.161.

Zorriehzahra, J., 2012. Conservation and restoration of Caspian trout (*Salmo trutta caspius*). Final draft report, 118P.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]

Short term effects of zinc oxide nanoparticles on hematological parameters and metabolic enzymes of juvenile Caspian trout (*Salmo trutta caspius*)

Kaviani E.F.[1]; Naeemi A.S.[1,2]*; Salehzadeh A.[3]

* a_naeemi@guilan.ac.ir

1-Department of Biology, Faculty of sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

2-Department of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Centre, University of Guilan, Rasht, Iran.

3-Department of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Abstract

Extensive use of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) has raised concerns about the environmental risks caused by these NPs entering into aquatic ecosystems. The aims of the present study were to assess the short term effects of ZnO-NPs on activities of metabolic enzymes and haematological parameters of the Caspian trout juveniles. Fish were exposed to 10% of $LC_{50\text{-}96h}$ for 4 days. Blood samples were collected from fish after 24, 48, 72 and 96 hours of exposure. Analysis of blood parameters showed that the numbers of red blood cells, haematocrit, haemoglobin, white blood cells, neutrophils and monocytes were significantly increased as compared to those of the control group ($p<0.05$), whereas the numbers of lymphocytes were decreased significantly compared to that of the control group ($p<0.05$). Enzyme activity levels of ALP, AST and ALT after 96 hours of exposure and enzyme activity level of LDH after 48 hours of exposure to ZnO-NPs were significantly increased as compared to those of the control group ($p<0.05$). It can be concluded that the sensitivity of the Caspian trout juveniles to the sub-lethal concentration of ZnO nanoparticles were relatively high. Therefore, alteration in haematological parameters can be a useful indicator for studying the short term effects of ZnO-NPs.

Keywords: Toxicity, Biochemical analysis, Nanoparticle

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1396.26.5.5.0]