فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال دوم، شماره اول، بهار ۱۳۹۳

بررسی اثر تخریبی نانوذرات مس محلول در آب بر بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*

محبوبه خبازی[۱]، محمد هرسیج[۲]، سید علی اکبر هدایتی[۳]، محمد حسن گرامی[۴،۵]*، حامد غفاری فارسانی[۶]

۱- کارشناس ارشد گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس
۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس
۳- استادیار گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴- دانشجوی دکتری بوم شناسی آبزیان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس
۵- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز
۶- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

چکیده

فن‌آوری نانو به عنوان یک علم نوین، به سرعت در حال گسترش است که به دلیل گستردگی زیاد می‌تواند بیش‌تر جنبه‌های زیستی را مورد هدف قرار دهد. به همین دلیل، نگرانی‌ها در مورد خطرات و عواقب این فن‌آوری در محیطهای زیستی به ویژه منابع آبی در حال افزایش است. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر نانوذرات مس بر بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*، جهت یافتن یک نشان‌گر زیستی مناسب، برای اخطار وجود مس در منابع آبی، است. نمونه‌ها با میانگین وزنی ۳±۱۸ گرم به مدت یک هفته در معرض نانوذرات مس (CuO Nanoparticels) با دوزهای ۲۵، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، قرار گرفتند. دمای آب در طی دوره آزمایش ۱±۱۴ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۸/۵-۸ و سختی کل برابر با ۲۷۰ گرم بر لیتر کربنات کلسیم بود. در پایان دوره ۷ روزه، از هر تیمار، ۹ ماهی به صورت تصادفی صید شد و آبشش دوم سمت چپ آن‌ها، جهت بررسی بافت‌شناسی جدا شد. آسیب‌های بافتی مشاهده شده توسط نانوذرات مس شامل هایپرپلازی، تورم، برآمدگی اپی‌تلیوم تیغه ثانویه، آنوریسم لاملایی و نفوذ گلبول سفید بود. همچنین آسیب‌های وارده در غلظت‌های مختلف نانوذرات مس نیز مشخص شد. نتایج نشان داد که نانوذرات مس، همانند یون مس، به آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آسیب‌های بافتی وارد می‌کند و آبشش این ماهی می‌تواند نشان‌گر زیستی مناسبی جهت اثبات وجود مس در منابع آبی باشد. اگرچه مقایسه این آسیب‌ها بیان داشت که میزان و شدت آسیب نانوذرات به مراتب کم‌تر از یون مس است.

واژگان کلیدی: *نانوذرات مس، آبشش، نشانگر زیستی، قزل آلای رنگین کمان.*

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۹۳ تاریخ پذیرش: خرداد ۹۳

* نویسنده مسئول: m.h.gerami@ghec.ac.ir

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

مقدمه

فن‌آوری نانو شناخت و کنترل مواد در ابعاد بین ۱۰۰-۱ نانومتر است که در این ابعاد خواص شیمیایی، فیزیکی و زیستی ماده غیر معمول بوده، کاربردهای نوین و منحصر به فردی از این مواد نانومتری حاصل می‌شود (Kreyling et al., 2010). طی سال‌های اخیر مواد نانو در ایران و کشورهای مختلف جهان، به طور فزاینده‌ای تولید و به مصرف رسیده‌اند، به شکلی که پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۱۵ بیش از یک تریلون دلار ارزش محصولات نانویی موجود در بازارهای جهانی باشد که صنعت تغذیه حیوانات و بخش‌هایی از کشاورزی از جمله آبزی‌پروری جزئی از آن محسوب می‌شود (Rather et al., 2011). از سوی دیگر، با گسترش روزافزون استفاده از این فن‌آوری، نگرانی‌ها در خصوص خطرات احتمالی رهایش مواد محتوی ذرات نانو به محیط زیست در حال افزایش است (Asharani et al., 2008; Blaise et al., 2008). نانوذرات CuO در صنایع نجاری و نساجی به صورت گسترده‌ای استفاده می‌شود (بینا و همکاران، ۱۳۹۲). از آن جایی که مقصد نهایی نانو مواد تولید شده اکوسیستم‌های آبی است و این مواد احتمالا بر روی میکروارگانیسم‌های آبی اثرات نامطلوبی خواهند داشت (Klaine et al., 2008; Choi et al., 2010) نانواکوتوکسیکولوژی آبزیان به عنوان یک علم جدید نیازمند توجه هرچه بیش‌تر است. به صورت کلی، قطعه قطعه شدن کروموزوم‌ها، شکسته شدن ملکول DNA، جهش نقطه‌ای، اکسیداسیون ملکول DNA، سمیت سلولی و پاسخ‌های التهابی به عنوان اثرات نامطلوب مواد نانو بر آبزیان گزارش شده است (Singh et al., 2009; Choi et al., 2009; Chae et al., 2009; Reijnders, 2009).

در سال‌های اخیر به منظور تامین نیازهای تغذیه‌ای، جوامع امروزی توجه بیش‌تری را به منابع آبی معطوف کرده‌اند. آبزیان به عنوان یکی از منابع غذایی انسان، فلزات سنگین موجود در آب را در بدن خود جمع کرده (تجمع زیستی)، در جریان چرخه‌های زیستی این مواد را به سطوح بالاتر و در نهایت به انسان منتقل می‌کنند (Arellano et al., 1999).

مواد فلزی در سرتاسر پوسته زمین وجود دارند و به علت حلالیت بالا، ماهیان به طور مستقیم با آن‌ها در تماس هستند. اگرچه فلز مس در مقادیر کم برای متابولیسم جانوران و گیاهان عالی لازم است (Zhou and Gitschier, 1997) اما با این حال مضرات و اثرات آسیب‌شناختی مقادیر

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

بیش از حد آن در آبزیان اثبات شده است (Grosell et al., 2007; Mustafa et al., 2012). در ماهیان، آبشش‌ها به عنوان اندام اصلی جذب فلز مس موجود در آب شناخته شده‌اند که در سمیت حاد علایمی نظیر تورم[1]، برآمدگی بافت پوششی[2] یا به هم چسبیدن لاملاها را نشان می‌دهند (Sola et al., 1995) و در سمیت مزمن علایمی نظیر تغییر در تعداد سلول‌های بافت پوششی و موکوسیت‌ها را نشان می‌دهند (Dang et al., 1999). اگر فلز مس به صورت خوراکی وارد بدن ماهی شود، آبشش‌ها هیچ گونه اثرات پاتولوژی را بروز نمی‌دهند بلکه تغییراتی در مخاط روده نظیر ازدیاد سلول‌های روده یا مرگ سلولی اتفاق می‌افتد (Berntssen et al., 1999)، در نتیجه در صورت آلوده بودن آب به فلز مس، آبشش‌ها بعد از پوست اولین اندام ماهی هستند که در معرض آسیب قرار می‌گیرند. بررسی تغییرات بافت آبشش می‌تواند شاخص مناسبی جهت تشخیص وجود سموم یا آلاینده‌ها در منابع آبی باشد. آبشش ماهی‌ها به عنوان اندام مبادله گاز، تنظیم اسمزی، تنظیم اسید- باز، دفع مواد زائد نیتروژنی و تنظیمات شناخته می‌شود و به دلیل داشتن سطح وسیع و لایه اپیتیالی نازک، یکی از راه‌های جذب مواد سمی محیطی مانند نانوذرات است (رزم‌آرا و همکاران، ۱۳۹۲). از همین رو می‌توان با بررسی بافت آبشش چگونگی اثرگذاری آلاینده‌های محیطی را ارزیابی کرد (Farkas et al., 2011).

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یک گونه اقتصادی است که به صورت وسیعی در کل جهان تکثیر و پرورش داده می‌شود. رشد سریع و سازگاری مناسب آن با شرایط پرورش بر کسی پوشیده نیست. اگرچه مطالعات بسیاری در مورد اثر سمیت ذرات نانو بر آبزیان در کشور گزارش شده است (سالاری‌جو و همکاران، ۱۳۹۱؛ رزم‌آرا و همکاران، ۱۳۹۲؛ کلباسی و همکاران، ۱۳۹۱؛ علیشاهی و مصباح، ۱۳۸۹) مطالعات محدودی در مورد تاثیر نانوذرات مس بر بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شده است. همچنین در دیگر نقاط جهان نیز پژوهش‌های محدودی در این زمینه گزارش شده است (Al-Bairuty et al., 2013; Isani et al., 2013).

1- Oedema
2- Epithelial lifting

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

با توجه به مطالب ارائه شده یک مطالعه جامع به منظور بررسی تاثیر نانوذرات مس بر بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ضروری به نظر می‌رسد. لذا هدف از انجام این مطالعه نیز ارزیابی اثرات نانوذرات مس بر بافت آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و شدت اثرگذاری آن است. با توجه به استفاده روز افزون از نانو ذرات در صنایع مختلف، بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان میزان شدت تخریب این نانو فلز را در آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را درجه‌بندی کرده و میزان خطرات احتمالی این نانوفلز در منابع آبی را پیش بینی‌نمود.

مواد و روش‌ها

قزل‌آلای رنگین‌کمان به تعداد ۱۵۵ عدد با میانگین وزنی حدود ۳±۱۸ گرم، پس از انتقال به مرکز آزمایشگاه فنی حرفه‌ای گرگان، به طور تصادفی در ۱۵ آکواریوم، شامل یک تیمار شاهد و چهار تیمار با غلظت‌های مختلف سولفات مس قرار داده شدند (هر کدام با ۳ تکرار). قبل از شروع آزمایش، ماهیان به منظور سازش با موقعیت جدید به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. سپس در معرض غلظت‌های مختلف نانوذرات مس قرار گرفتند. بدین منظور تیمار اول با غلظت ۲۵، تیمار دوم با غلظت۳۰، تیمار سوم با غلظت ۵۰ و تیمار چهارم با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر انتخاب شدند. غلظت‌های تحت کشنده بر اساس ۵۰ درصد غلظت کشندگی فلز مس برای قزل‌آلا، تهیه شد (Brown and Dalton, 1970; Herbert and van Dyke, 1964). غذا دهی درطول دوره آزمایش صورت نگرفت. دمای آب در طی دوره آزمایش ۱±۱۴ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۸/۵-۸ و سختی کل برابر با ۲۷۰ گرم بر لیتر کربنات کلسیم بود. در طی هفت روز آزمایش، حتی‌المقدور شرایط فیزیکوشیمیایی کنترل شده، تمام شرایط در طی دوره آزمایش یکسان نگهداری شد تا تنها عامل متغیر دوزهای مختلف آلودگی باشد (Di Giulio and Hinton, 2008).

پس از اتمام مدت زمان آزمایش (یک هفته) از هر تیمار، ۹ ماهی به صورت تصادفی صید شد و آبشش دوم سمت چپ آن‌ها جهت بررسی بافت‌شناسی جدا شد. سپس بافت جدا شده در محلول

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

فرمالین ۱۰٪ فیکس شده، سپس به ترتیب مراحل آبگیری[۱]، شفاف‌سازی[۲] با گزیلول، آغشتگی[۳] با پارافین، قالب‌گیری[۴]، مقطع‌گیری[۵]، چسباندن[۶] و رنگ‌آمیزی[۷] توسط هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) انجام شد (گنجی و اروند، ۱۳۸۹). سپس نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری و بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ بررسی شدند. برای توصیف شدت تغییر آسیب‌شناسی از روش Riba و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد.

نتایج

نتایج آسیب‌شناسی آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مواجهه با نانوذرات فلز مس در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنین درجه‌بندی کمی آسیب‌های آبشش نیز در جدول ۱ به نمایش درآمده است.

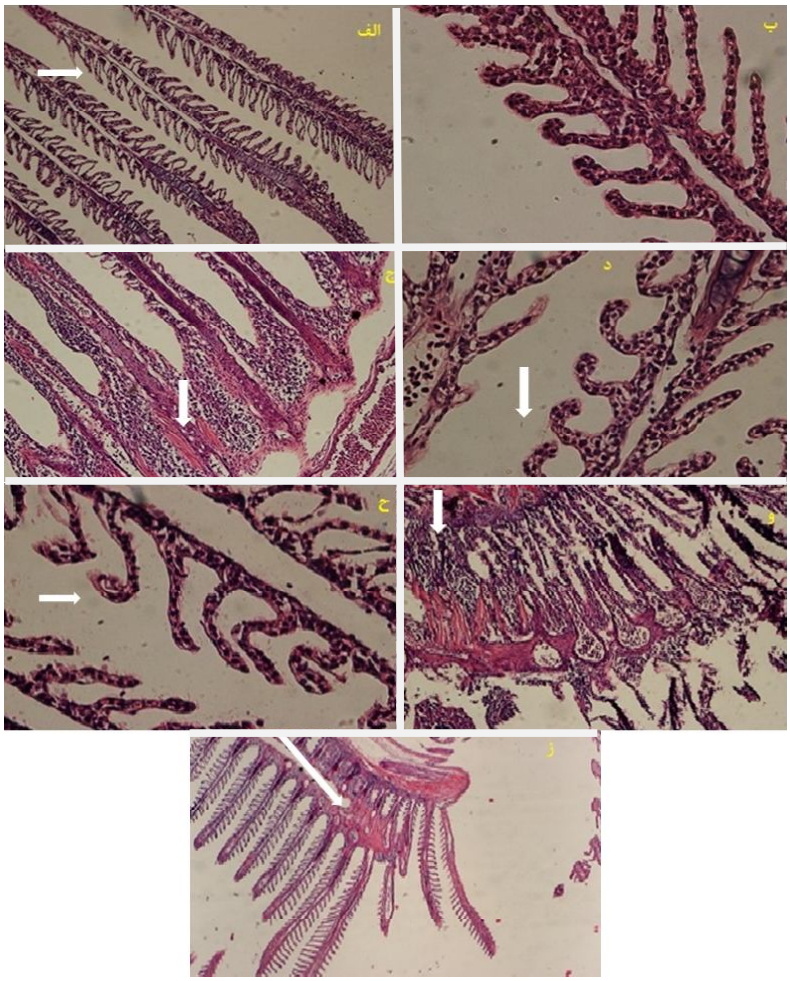
هیپرپلازی شایع‌ترین عارضه مشاهده شده بود و در واقع یک پاسخ عمومی به تحریکات، اعم از انگل‌ها، ذرات معلق یا آمونیاک و یا هر تحریک دیگر جهت محافظت یا سازش است.

برآمدگی اپیتلیوم تیغه ثانویه: در اثر این عارضه لایه سلولی اپیتلیوم به وسیله فضای ادماتوس[۸] که بین اپیتلیوم و غشای پایه که در زیر است، فاصله می‌گیرد (شکل ۱- د). این عارضه احتمالا به دلیل عدم فیلتراسیون مایع میان بافتی ایجاد می‌شود و مبادله گاز را به واسطه افزایش فاصله انتشار و کاهش فاصله بین لاملایی محدود می‌کند. همچنین می‌تواند موجب کاهش جذب توکسیکانت شود.

اتصال تیغه‌های ثانویه‌ی مجاور پس از هیپرپلازی، بیش‌ترین عارضه مشاهده شده بود. در این عارضه اپیتلیوم دو تیغه ثانویه مجاور به واسطه هیپرپلازی و یا برآمدگی و در برخی موارد هیپرتروفی اپیتلیوم به هم اتصال می‌یابند و موجب توقف تبادل گاز از طریق سطوح مربوطه می‌شوند (شکل ۱- و).

1- Dehydration
2- Clearing
3- Impregnation
4- Embedding
5- Sectioning
6- Mounting
7- Staining
8- Oedematous

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.



شکل۱: (الف) تیمارشاهد (۱۰۰×)؛ (ب) تیمار ۱- هیپرپلازی راسی (۴۰۰×)؛ (ج) تیمار ۱- آنوریسم لاملایی (۴۰۰×)؛ در اثر بسته شدن مسیر مویرگ درون تیغه ثانویه، سلول‌های خونی درون تیغه ثانویه تجمع می‌یابند. (د) تیمار ۲- برآمدگی اپیتلیوم تیغه ثانویه (۴۰۰×)؛ (ح) تیمار ۳- تورم سلول‌های سنگفرشی (۱۰۰×)، احتمالا در اثر به هم خوردن فرآیندهای تنظیم حجم سلول رخ می‌دهد و سلول‌های پوششی متورم می‌شوند. (و) تیمار ۳- اتصال تیغه‌های ثانویه مجاور (۴۰۰×)؛ تصویر (ز) تیمار ۴- نفوذ گلبول سفید (۴۰۰×)؛ یک پاسخ التهابی یا سازشی در نظر گرفته می‌شود و تفاوت مورفولوژیکی آن با برآمدگی بافت پوششی (لیفتینگ اپیتلیومی)، وجود (نفوذ) گلبول سفید در فضای ادمانوس است.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

جدول ۱: آسیب‌های آبشش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی غلظت تحت کشنده نانو ذرات مس

آسیب	غلظت تحت کشنده (ppm)				
	شاهد	۱	۵	۲۰	۱۰۰
برآمدگی اپیتلیوم تیغه ثانویه	-	-	+++	+	+
آنوریسم لاملایی	-	+++	+	-	+
هیپرپلازی راسی	-	+++	+	-	-
تورم سلول سنگفرشی	-	-	+	+++	-
نفوذ گلبول سفید	-	-	-	+	+++
اتصال تیغه‌های ثانویه مجاور	-	-	+	+++	+

هیچ (-)، کم (+)، متوسط (++)، شدید (+++)

بحث

در مطالعات مختلف فلز مس به عنوان یک فلز محدود کننده تنفسی در منابع آبی برای آبزیان شناخته شده است (Handy, 2003; Grosell et al., 2007). همچنین شواهد بسیاری وجود دارد که نانوذرات فلزی محلول در آب، ممکن است بر روی یا درون سلول‌های بافت پوششی تجمع یافته (به عنوان مثال اکسید تیتانیوم، Moger et al., 2008)، باعث اختلال در انتقال مواد از طریق غشای سلول شوند. مطالعه حاظر نشان داد که نانوذرات مس باعث آسیب‌هایی در بافت آبشش نظیر هیپرپلازی، تورم و به هم چسبیدن تیغه‌های ثانویه، آنوریسم لاملایی و برآمدگی بافت پوششی می‌شود. این یافته‌ها هم‌راستا با یافته‌های Al-Bairuty و همکاران (۲۰۱۳) در مورد مواجهه قزل‌آلای رنگین‌کمان با نانوذرات فلز مس بود. همچنین این آسیب‌های بافتی مشابه آسیب‌های حاصل از نانوذرات تیتانیوم (TiO_2) در گربه‌ماهی رنگین‌کمان *Pangasianodon hypophthalmus* (رزم‌آرا و همکاران، ۱۳۹۲) و کپور معمولی (Hao et al., 2009) و نیترات نقره در ماهی گورخری *Danio rerio* بود (Griffitt et al., 2009). همچنین مواجهه با ذرات دی‌اکسید تیتانیوم و مس نیز به ترتیب سبب ایجاد ادم و افزایش ترشح موکوس در بافت آبشش

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

قزل‌آلای رنگین‌کمان (Federici et al., 2007) و افزایش تعداد سلول‌های پوششی در آبشش ماهی گورخری شد (Griffitt et al., 2009).

آبشش ماهیان دارای عملکردهای خاصی نظیر تبادلات مختلف اعم از تبادل گازهای تنفسی، تنظیم اسمزی یا تعادل بین یون‌ها و اسید و باز بوده، که این عملکرد باعث تبادل و تاثیر قابل توجه سموم موجود در محیط بر آبشش می‌شود (Hibiya et al., 1982). اولین خط دفاعی آبشش‌ها در مواجهه با سمیت فلزات، عمدتا ترشح موکوس است که به طور موقت اپیتلیوم را می‌پوشاند و از آسیب محافظت می‌کند (Handy and Maunder, 2009). هیپرپلازی افزایشی غیرطبیعی در تعداد سلول‌های اپیتلیوم آبشش است (شکل ۱- ب). این عارضه و به هم چسبیدن لاملاها و برآمدگی بافت پوششی، همگی با هم بر تبادل اکسیژن و تنفس تاثیر گذاشته، در حالات شدیدتر می‌تواند منجر به اتصال تیغه‌های مجاور به یکدیگر شوند و از تبادل گاز و هیپوکسی جلوگیری کنند (Al-Bairuty et al., 2013). هیپرپلازی به طور کلی به دو دسته تقسیم می‌شود: (۱) هیپرپلازی راسی: ضخیم شدن راس لاملا که در نتیجه آن لاملا به شکل چماق دیده می‌شود و (۲) هیپرپلازی پایه‌ای: ضخیم شدن بافت اپیتلیوم نزدیک پایه لاملا. به نظر می‌رسد که تلاش آبشش برای کاهش اندازه سلولی یا به عبارتی کاهش فضای تنفسی در جهت جلوگیری از ورود مس از طریق سلول‌های آبششی به بدن ماهی است. همچنین تغییرات گسترده در اپیتلیوم تیغه‌های ثانویه ممکن است ضخامت بافت پوششی را افزایش داده، در نهایت منجر به کاهش نرخ ورود آلاینده (فلز مس) به گردش خون شود و یا آن را به تاخیر اندازد (رزم‌آرا و همکاران، ۱۳۹۲). تورم یکی از خصیصه‌هایی است که در اکثر مواقع در آسیب‌شناسی بافت توسط مواد نانو دیده می‌شود. دلیل این امر، غیرفعال شدن آنزیم Na^{+}, K^{+}–ATPase است که منجر به تجمع مواد فلزی محلول در آب در سلول اپیتلیال شده، باعث نفوذ آب به درون سلول و تورم آن می‌شود (Shaw et al., 2012).

در مجموع، در مقایسه با سایر منابع، شکل آسیب بافتی در آبشش توسط یون مس و نانوذرات مس به یک شکل است، اما نکته قابل توجه این است که آثار تخریبی توسط یون مس، درمقایسه با نانوذرات مس، شدت بیش‌تری دارد و سریع‌تر نمایان می‌شود (Al-Bairuty et al., 2013; Isani et al., 2013). این بدین معنی است که مدت زمان بیش‌تری لازم است تا نانوذرات مس

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

بتوانند اثر تخریبی خود را بر بافت آبشش اعمال کنند و لذا در صورت آلوده بودن منبع آبی، آبزی فرصت بیش‌تری جهت پاسخ به محرک را خواهد داشت. درواقع این احتمال وجود دارد که نانوذرات به دلیل اندازه بزرگ‌تری که نسبت به یون دارند، با سرعت کم‌تری قادر به عبور از لایه موکوسی آبشش باشند و لذا اثرگذاری آن‌ها کم‌تر باشد. همچنین ترشح موکوس نیز می‌تواند منجر به اتصال برخی از نانوذرات به یک‌دیگر و در نتیجه افزایش اندازه آن‌ها شود (رزم‌آرا و همکاران، ۱۳۹۲). کاهش اثر تخریبی نانوذرات نقره در مقایسه با یون نقره نیز توسط Griffitt و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شده است.

به عنوان جمع‌بندی نهایی می‌توان عنوان کرد که مواجهه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با نانوذرات مس، باعث ایجاد اثرات تخریبی بر بافت آبشش این گونه می‌شود، اما این تخریب به مراتب کم‌تر از یون مس است. با این حال، مطالعه آسیب‌شناختی آبشش می‌تواند نشان‌گر زیستی مناسبی برای وجود نانوذرات مس در منبع آبی باشد. پژوهش‌های آینده می‌تواند بر موضوعات عملکرد یا رفتار شنای این آبزی پس از مواجهه با نانوذرات مس استوار باشد تا بتوان با توجه به عملکرد، آبشش را پس از آسیب بررسی کرد. گرچه بعید به نظر می‌رسد که ماهی مبتلا به تورم یا برآمدگی بافت آبششی، بتواند در محیط طبیعی به سادگی زنده بماند.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

منابع

بینا ب.، امین م.، زارع م.، فاتحی‌زاده ع.، محسنی س.م.، زارع م. و طولایی ع. ۱۳۹۲. مقایسه سمیت و اثرات ضدباکتریایی نانوذرات CuO و TiO2 در محیط‌کشت جامد. سلامت و محیط ایران. سال ۶، شماره ۲، ۱۷۶-۱۶۷.

رزم‌آرا پ.، درافشان س.، پیکان حیرتی ف.، طالبی م. و رنجبر م. ۱۳۹۲. اثر نانوذرات نقره کلوئیدی و نیترات نقره محلول در آب بر تغییرات بافتی آبشش گربه ماهی رنگین‌کمان *Pangasianodon hypophthalmus* مجله بوم‌شناسی آبزیان. سال ۳، شماره ۳، ۱۸-۱۰.

سالاری‌جو ح.، کلباسی م.ح. و جوهری س.ع. ۱۳۹۱. تاثیر شوری آب بر سمیت حاد نانو ذرات نقره کلوئیدی در بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله سلامت و محیط، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی انجمن علمی بهداشت محیط ایران. سال ۵، شماره ۱، ۱۳۲-۱۲۱.

علیشاهی م. و مصباح م. ۱۳۸۹. مقایسه سمیت نانو ذرات نقره در ماهیان آمور (*Ctenopharyngodon idella*)، شیربت (*Barbus grypus*)، اسکار (*Astronorus ocellatus*) و سوروم (*Cichlosoma severums*). مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال ۲، شماره ۷، ۵۱-۴۵.

کلباسی م.ح.، عبدالله‌زاده ا. و سالاری‌جو ح. ۱۳۹۱. تاثیر نانو ذرات نقره کلوئیدی بر جمعیت فلور باکتریایی روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی. شماره ۶۷، ۱۸۹-۱۸۱.

گنجی ف.ک.، و اروند م. ۱۳۸۹. بافت شناسی عملی. دانشگاه علوم پزشکی مشهد. چاپ چهارم. ۱۷-۱۵.

Al-Bairuty G.A., Shaw B.J. and Handy R.D., Henry T.B. 2013. Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology, 126: 104–115.

Arellano J.M., Storch V. and Sarasquete C. 1999. Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole (*Solea senegalensis*). Ectotoxicology and Environmental Safety, 44: 62–47.

Asharani P.V., Wu Y.L., Gong Z. and Valiyaveettil S. 2008. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. Nanotechnology, 19(25): 1–8.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Berntssen M.H.G., Hylland K., Wendelaar Bonga S.E. and Maage A. 1999. Toxic levels of dietary copper in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. Aquatic Toxicology, 46: 87–99.

Blaise C., Gagne F., Ferard J.F., Eullaffroy P. 2008. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. Environmental Toxicology, 23(5): 591–598.

Brown V.M. and Dalton R.A. 1970. The acute lethal toxicity to rainbow trout of mixtures of copper, phenol, zinc and nickel. Journal of Fish Biology, 2(3): 211–216.

Chae Y.J., Pham C.H., Lee J., Bae E., Yi J. and Gu M.B. 2009. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Aquatic Toxicology, 94(4): 320–327.

Choi J.E., Kim S., Ahn J.H., Youn P., Kang J.S. and Park K. 2010. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. Aquatic Toxicology, 100(2): 151–159.

Choi O., Clevenger T.E., Deng B., Surampalli R.Y., Ross Jr L. and Hu Z. 2009. Role of sulfide and ligand strength in controlling nanosilver toxicity. Water Research, 43(7): 1879–1886.

Dang Z., Lock R.A.C., Flik G. and Bonga S.E.W. 1999. Metallothionein response in gills of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper in fresh water. American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology, 277 (1): R320–R331.

Di Giulio R.T. and Hinton D.E. 2008. The Toxicology of Fishes. Taylor Francis. 9: 319–884.

Farkas J., Christian P., Gallego-Urrea J.A., Roos N., Hassellov M., Tollefsen K.E. and Thomas K.V. 2011. Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. Aquatic Toxicology, 101: 117–125.

Federici G., Shaw B.J. and Handy R.D. 2007. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. Aquatic Toxicology, 84: 415–430.

Griffitt R.J., Hyndman K., Denslow N.D. and Barber, D.S. 2009. Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles. Toxicology Sciences, 107: 404–415.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Grosell M., Blanchard J., Brix K.V. and Gerdes R. 2007. Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates. Aquatic Toxicology, 84: 162–172.

Handy R.D. 2003. Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity: two sides of the same toxicological process? Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular and Integrative Physiology, 135: 25–38.

Handy R.D. and Maunder R.J. 2009. The biological roles of mucus: importance for osmoregulation and osmoregulatory disorders of fish health. In: Osmoregulation and ion transport: integrating physiological, molecular and environmental aspects. Essential Reviews in Experimental Biology, Vol. 1. Handy R.D., Bury N.R. and Flik G. (Eds). Society for Experimental Biology Press, London, pp: 203–235.

Hao L. Wang Z. and Xing B. 2009. Effect of sub-acute exposure to TiO_2 nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in juvenile carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Environmental Sciences, 21: 1459–1466.

Herbert D.W.M. and van Dyke J.M. 1964. The toxicity to fish to mixtures of poisons. Part II. Copper-ammonia and zinc-phenol mixtures. Annals of Applied Biology, 53: 415–421.

Hibiya T., Yokote M., Oguri M., Sato H., Takashima F. and Aida K. 1982. An atlas of fish histology. Normal and pathological features. Gustav Fischer Verlag, pp: 68–71.

Isani G., Letizia Falcioni M., Barucca G., Sekar D., Andreani G., Carpene E. and Falcioni G. 2013. Comparative toxicity of CuO nanoparticles and $CuSO_4$ in rainbow trout. Ecotoxicology and Environmental Safety, 97: 40–46.

Klaine S.J., Alvarez P.J.J., Batley G.E., Fernandes T.F., Handy R.D. and Lyon D.Y. 2008. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. Environmental Toxicology and Chemistry, 27(9): 1825–1851.

Kreyling W.G., Semmler-Behnke M., and Chaudhry Q. 2010. A complementary definition of nanomaterial. Nanotoday, 5(3): 165–168.

Moger J., Johnston B.D. and Tyler C.R. 2008. Imaging metal oxide nanoparticles in biological structures with CARS microscopy. Optics Express, 16: 3408–3419.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Mustafa S.A., Davies S.J. and Jha A.N. 2012. Determination of hypoxia and dietary copper mediated sub-lethal toxicity in carp, *Cyprinus carpio*, at different levels of biological organization. Chemosphere, 87: 413–422.

Rather M.A., Sharma R., Aklakur A., Ahmad S., Kumar N., Khan M. and Ramya V.L. 2011. Nanotechnology: A novel tool for aquaculture and fisheries development. A Prospective Mini-Review. Fisheries and Aquaculture Journal, pp: 1–5.

Reijnders L. 2009. The release of TiO^2 and SiO^2 nanoparticles from nanocomposites. Polymer Degradation and Stability, 94(5): 873–876.

Riba I., Blasco J., Jimenez-Tenorio N., Gonzalez de Canales M.L. and Angel DelValls T. 2005. Heavy metal bioavailability and effects: II. Histopathology–bioaccumulation relationships caused by mining activities in the Gulf of Cadiz (SW, Spain). Chemosphere, 58: 671–682.

Shaw B.J., Al-Bairuty G.A. and Handy R.D. 2012. Effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): physiology and accumulation. Aquatic Toxicology, 116–117: 90–101.

Singh N., Manshian B., Jenkins G.J.S., Griffiths S.M., Williams P.M. and Maffeis T.G.G. 2009. Nanogenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. Biomaterials, 30(23-24): 3891–3914.

Sola F., Isaia J. and Masoni A. 1995. Effects of copper on gill structure and transport function in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Applied Toxicology, 15: 391–398.

Zhou B. and Gitschier J. 1997. HCTR1: A human gene for copper uptake identified by complementation in yeast. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 94: 7481–7486.

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 2, No. 1, Spring 2014

Investigation on destructive effect of water-born CuO nanoparticles on gill histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*

Mahboobe Khabbazi[1], Mohammad Harsij[2], Seyed Ali Akbar Hedayati[3], Mohammad Hasan Gerami[4,5]*, Hamed Ghafari Farsani[6]

1- MSc. in Fisheries, Department of Fisheries, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
2- Assistant Professor in Department of Fisheries, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
3- Assistant Professor in Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural and Natural Resources, Gorgan, Iran.
4- MSc. in Fisheries, Department of Fisheries, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
5- Young Research Club and Elite, Islamic Azad University of Shiraz, Shiraz, Iran.
6- Young Research Club and Elite, Islamic Azad University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.

Received: May 2014 Accepted: Jun 2014

Abstract

Nanotechnology as a modern science is rapidly expanding which can influx many biological aspects due to large extent. For this reason, concerns about the risks and consequences of this technology are rising in environment and especially in water resources. The purpose of this study is to investigate the effect of water-born Cuo Nanoparticles on *Oncorhynchus mykiss* gill tissue, to detect a suitable biomarker for noticing Copper in Water Resources. Samples weighted 18±3 gr and exposure to Cuo Nanoparticels for a week with 25, 30, 50 and 100 ml/g doses. Physicochemical properties of water were 14±2 C° temperature, 8-8.5 pH and 270 mg/l Caco3. At the end of 7 days, 9 fish were catch randomly from each treatment and second gill from left side of fish were removed for histological review. Hyperplasia, Oedema, Epithelial lifting in secondary lamella, lamellar aneurysm and Leukocyte infiltration was observed in gill tissues. In addition, the damage was determined at various concentrations of copper nanoparticles. Result showed that Cuo Nanoparticles, as copper ions, have significant adverse effects on gill tissues of *O. mykiss* and gills can be a suitable biomarker for copper in water resources. However, comparison of the extent and severity of injury stated that copper nanoparticles cause much less injury than copper ions.

Key words: *Copper Nanoparticles, Gills, Biomarker, Rainbow Trout.*

*Corresponding Author: m.h.gerami@ghec.ac.ir

Created with novaPDF Printer (www.novaPDF.com). Please register to remove this message.