فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال هفتم، شماره اول، بهار ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

اثر نانوذرات اکسید آهن سه ظرفیتی (Fe_2O_3) بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون چربی در بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

محنا محمدی موحد[۱]، آریا باباخانی[۲]*، مسعود ستاری[۳]، حسین غفوری[۴]، سید علی جوهری[۵]

تاریخ دریافت: دی ۹۶ تاریخ پذیرش: خرداد ۹۷

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی سمیت نانوذرات اکسید آهن بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی بود. بدین منظور بچه‌ماهیان با میانگین وزن ۱۷±۰/۶ گرم به مدت دو هفته در معرض غلظت‌های ۰، ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات آهن قرار گرفتند. نمونه‌برداری در روزهای ۰، ۱، ۷ و ۱۴ انجام شد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز و میزان پراکسیداسیون چربی (MDA) در آبشش مورد سنجش قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که قرارگیری در معرض نانوذرات آهن منجر به افزایش معنی‌دار در میزان پراکسیداسیون چربی و تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با گذشت زمان شد ($P<0/05$) که در واقع نشان دهنده پاسخ زیستی ماهیان به نانوذرات اکسید آهن بود. بنابر این، پایش شاخص‌های زیستی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سطح مالون دی‌آلدئید می‌تواند شاخصی مناسب برای سنجش استرس اکسیداتیو وارد شده به ماهی کپور معمولی باشد.

واژگان کلیدی: *نانوبوم‌سم‌شناسی، کپور معمولی، آبشش، نانوذرات، اکسید آهن.*

۱- کارشناس ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
۳- استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.
۴- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
۵- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.
* نویسنده مسئول: Babakhani@guilan.ac.ir

مقدمه

فناوری نانو با کاربردهای جدیدی در زمینه‌های مختلف پزشکی، علم مواد، ساخت و ساز و فناوری‌های دیگر همراه بوده است. نانوذرات مهندسی شده منجر به افزایش تنوع محصولات شده‌اند (Schmid and Riediker, 2008) تا جایی که فناوری نانو به عنوان فناوری مهم و تاثیرگذاری در قرن حاضر مطرح شده است. محیط‌های آبی معمولا در معرض ورود نانوذرات قرار دارند (Farre et al., 2009; Scown et al., 2010) و این مواد به سادگی توسط موجودات آبزی مانند نرم‌تنان، سخت‌پوستان و ماهی‌ها جذب می‌شوند (Ward and Kach, 2009; Johnston et al., 2010; George et al., 2014). نانوذرات به دلیل ویژگی‌هایی همچون نسبت سطح به حجم بالا می‌توانند اثرات متفاوتی از مواد معمولی بر سلامت انسان و دیگر زیستمندان ساکن در کره خاکی داشته باشند (Colvin, 2003; Moore, 2006).

زیستمندان آبزی از طریق سطوح خارجی خود همچون آبشش، پوست، روده، قرنیه چشم و غیره با نانومواد موجود در آب تماس پیدا می‌کنند که از این میان آبشش‌های ماهیان یکی از مهم‌ترین راه‌های ورود نانومواد به داخل بدن ماهیان است. نانومواد می‌توانند به طور مستقیم به دیواره و دیگر ساختارهای سلولی آسیب رسانده و یا به طور غیرمستقیم از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی‌ها و آسیب رساندن به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، سبب آسیب شوند (خانی و همکاران، ۱۳۹۴). روش‌های آماده‌سازی نانوذرات در آزمایشگاه و رفتار آن‌ها طی تماس با بدن موجودات زنده، بر قابلیت دسترسی زیستی و در نتیجه فعالیت و سمیت آن‌ها اثرگذار است. شیمی سطح، شکل و اندازه نانوذرات مهم‌ترین شاخص‌ها در سمیت، جذب و سینتیک سمیت است. اگرچه در محیط‌های آبی، نانومواد می‌توانند به شکل امولسیون یا سوسپانسیون وجود داشته باشند، ولی اغلب به شکل رسوب، توده و انبوه دیده می‌شوند که سمیت هر یک از این حالت‌ها با یکدیگر متفاوت است (خانی و همکاران، ۱۳۹۴). اگرچه مطالعات متعددی در مورد بوم‌سم‌شناسی نانومواد به دلیل اثرات حاد و مزمن آن‌ها بر آبزیان انجام شده است، اما سابقه بررسی سمیت نانومواد در آبزیان نسبت به بسیاری از آلاینده‌ها بسیار جدید است و به عبارتی نانومواد جزء مواد شیمیایی نوظهور طبقه‌بندی می‌شوند.

با توجه به کاربرد وسیع نانومواد، ورود آن‌ها به محیط زیست آبزیان بدیهی است و بررسی اثرات این مواد نوظهور بر زیستمندان آبزی ضروری به نظر می‌رسد. در بین نانومواد مختلف، اکسیدهای فلزی مانند نانوذرات آهن به علت کاربرد گسترده مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. از نانوذرات اکسید آهن به عنوان عنصر ایجاد کننده تضاد در رزونانس مغناطیسی هسته‌ای (MRI) استفاده می‌شود. همچنین از این نانوذرات به منظور برچسب‌گذاری سلول‌های بنیادی و ردیابی آن‌ها نیز استفاده می‌شود (Au et al., 2009). نانوذرات اکسید آهن به طور گسترده‌ای در کاربردهای زیستی و همچنین در ساخت رنگدانه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Cornell et al., 2003). همچنین از نانوذرات آهن صفر ظرفیتی به طور گسترده به منظور اصلاح آب‌های زیرزمینی و تصفیه مواد زائد خطرناک استفاده شده است (Sun et al., 2007). از دیگر ویژگی‌های نانوذرات آهن قابلیت تجزیه حلال‌های آلی کلردار و رنگ‌های آلی است (Zhang, 2003).

استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها است که در نتیجه آن آسیب اکسیداتیو در بافت‌ها و سلول‌ها ایجاد می‌شود (Lopes et al., 2001). تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد توسط نانوذرات آهن می‌تواند به عنوان عاملی اصلی در استرس اکسیداتیو ناشی از رویارویی آبزیان با این نانومواد نقش داشته باشد. میزان استرس اکسیداتیو را می‌توان با سنجش فعالیت آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون چربی در ماهیان مورد سنجش قرار داد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات نانوذرات آهن سه ظرفیتی (هماتیت، Fe_2O_3) بر دفاع آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون چربی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به عنوان گونه‌ای مهم در مطالعات سم‌شناسی آبزیان است. بدین منظور فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و میزان غلظت مالون دی‌آلدئید به عنوان نشانگر زیستی اکسیداسیون چربی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه نانوذره

در پژوهش حاضر از نانوذرات اکسید آهن سه ظرفیتی (Fe_2O_3) (US Research Nanomaterials، آمریکا) با میانگین اندازه ذرات ۴۰ نانومتر که ابعاد توسط میکروسکوپ

الکترونی روبشی (SEM) مورد تایید قرار گرفت، استفاده شد.

نمونه‌های ماهی

برای بررسی اثر نانوذرات اکسید آهن، ۲۰۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن ۱۷±۰/۶ گرم و میانگین طول ۱۱±۰/۰۸ سانتی‌متر از استخر پرورش ماهی گرمابی گاما واقع در روستای عباس‌آباد شهرستان رشت تهیه و به سالن تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان منتقل شد. سپس ماهی‌ها در داخل آکواریوم‌های ۶۰ لیتری توزیع و به مدت ۷ روز با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند.

تیمار ماهی با نانوذره

پس از طی دوره سازش، ماهیان بر اساس نتایج پیش‌آزمون‌های اولیه که طی ۴ روز انجام گرفت و مشاهده مرگ و میر آن‌ها، به مدت دو هفته در معرض ۴ غلظت نانوذره (۰، ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفتند. هر غلظت دارای سه تکرار و هر تکرار حاوی ۲۰ قطعه بچه ماهی بود که به صورت تصادفی در آکواریوم‌ها توزیع شده بودند. در طی دوره آزمایش غذادهی به ماهیان انجام نشد. نمونه‌برداری ماهیان در روزهای ۰، ۱، ۷ و ۱۴ با سه نمونه از هر تیمار انجام شد. نمونه‌های بافت آبشش هر ماهی پس از جداسازی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

سپس بافت‌های جداسازی شده با وزن مساوی در داخل لوله‌های آزمایش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مول با pH ۷ (حاوی ۰/۰۰۳ گرم EDTA، ۰/۲۶ گرم مونوفسفات پتاسیم و ۰/۵۳ گرم دی‌فسفات پتاسیم در لیتر) با نسبت ۱:۵ (حجم:وزن) قرار گرفتند و بر روی یخ، توسط هموژنایزر (IKA، آلمان) با دور ۲۵۰۰۰rpm به مدت ۶۰ ثانیه هموژن شدند. عصاره به دست آمده پس از انتقال به درون میکروتیوب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ۱۲۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (Hettich، آلمان)، سانتریفیوژ شد و سپس مایع رویی (بدون فاز چربی) جداسازی و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) از طریق اسپکتروفتومتری (UV-2100، Unico، آمریکا) اندازه‌گیری شد (Giannopolitis and Ries, 1977). فعالیت آنزیم کاتالاز به دنبال کاهش جذب H_2O_2 با ضریب خاموشی

($۳۹/۴ mM^{-1}cm^{-1}$) به مدت ۱ دقیقه در ۲۴۰ نانومتر طبق روش Chance و همکاران (۱۹۵۵) تعیین شد. همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از کیت (Biorex، آمریکا) و طبق دستور العمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخصی از میزان پراکسیداسیون چربی‌های دیواره با استفاده از تیوباربیتوریک اسید انجام شد (Heath and Packer, 1968).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

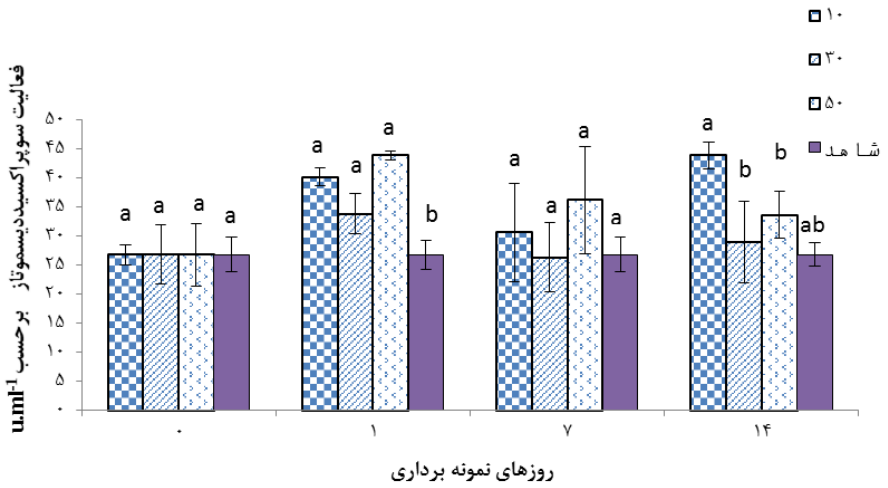
تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت. از آزمون کولموگروف- اسمیرنف برای بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) همراه با پس‌آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) صورت گرفت. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند.

نتایج

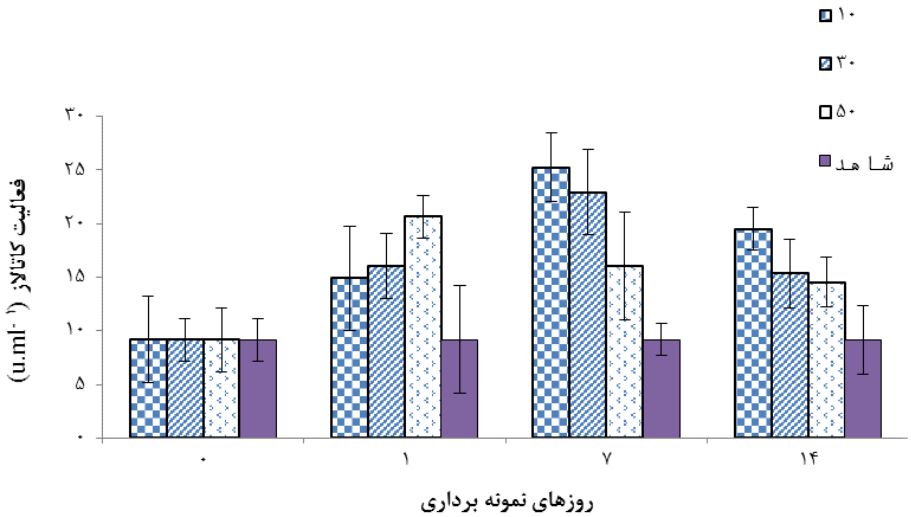
سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نمونه‌های بافت آبشش بچه ماهیان کپور معمولی که در معرض غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن قرار داشتند، نشان داد که فعالیت این آنزیم در تیمارهای نانوذرات آهن نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در روز نخست نمونه‌برداری در همه تیمارها بالاتر از تیمار شاهد بود، اما مقدار آن در هفتمین روز، بین تیمارهای نانوذره و با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. از طرفی در روز چهاردهم، در تیمار مواجهه داده شده با ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات آهن، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نسبت به تیمارهای ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بالاتر بود ($P<۰/۰۵$؛ شکل ۱).

بر اساس نتایج به دست آمده، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در روز ۱ نمونه‌برداری افزایش معنادار و وابسته به غلظتی را در همه تیمارها (۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به تیمار شاهد داشت (شکل ۲). مقدار فعالیت این آنزیم در روزهای ۷ و ۱۴ نمونه‌برداری در تیمارهای مواجهه با نانوذرات آهن به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ولی این میزان رابطه عکس با غلظت نانوذرات آهن داشت ($P<۰/۰۵$).

نتایج سنجش میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت آبشش نشان داد که در تمام



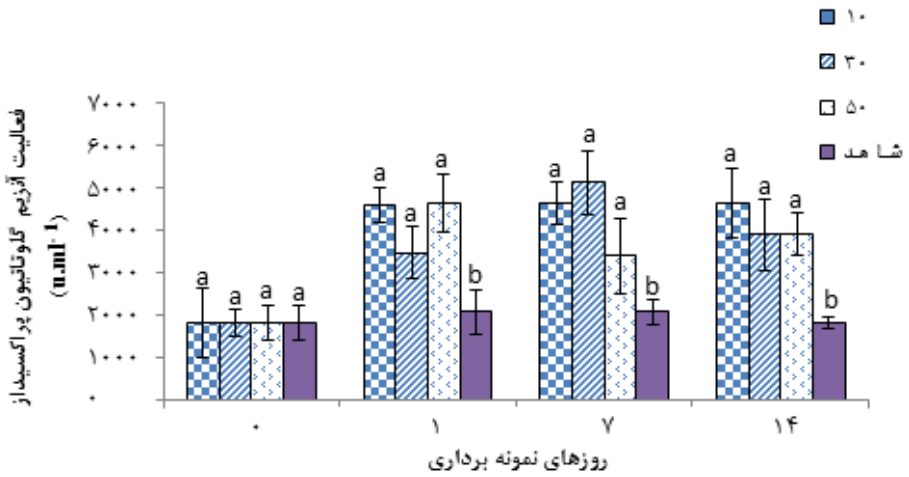
شکل ۱: مقایسه فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی پس از رویارویی با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن (میانگین ± انحراف معیار). حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در بین تیمارهای مختلف در هر روز است (P<۰/۰۵).



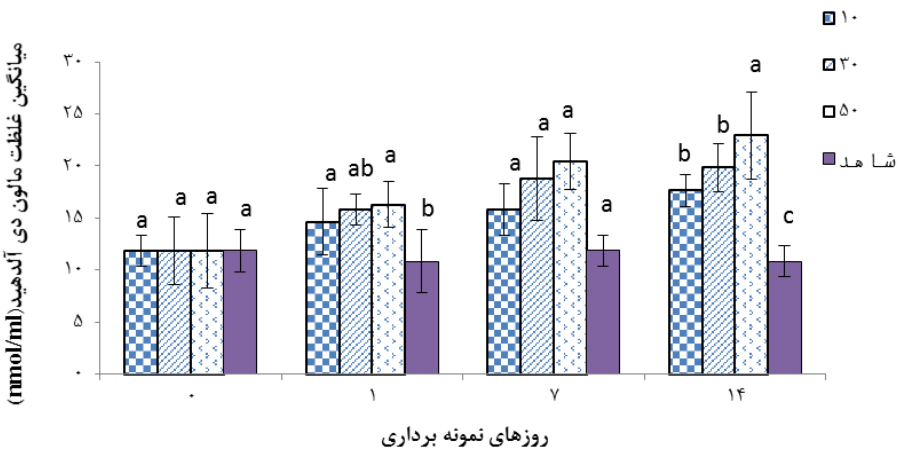
شکل ۲: مقایسه فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی پس از رویارویی با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن (میانگین ± انحراف معیار). حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در بین تیمارهای مختلف در هر روز است (P<۰/۰۵).

غلظت‌های مورد مطالعه، فعالیت این آنزیم پس از رویارویی ماهیان با نانوذرات آهن به صورت معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳). در هیچ یک از روزهای نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری در فعالیت این آنزیم بین غلظت‌های متفاوت نانوذرات آهن مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

بر اساس نتایج به دست آمده از سنجش میزان غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) در بافت آبشش ماهیان مشخص شد که میانگین غلظت MDA تنها در روزهای ۱ و ۱۴ نمونه‌برداری در تیمارهای غلظت نانوذرات آهن بالاتر از تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵) و در روز ۷ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در چهاردهمین روز نمونه‌برداری بیش‌ترین غلظت MDA در بافت آبشش ماهیان مواجهه شده با ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات آهن مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۳: مقایسه فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی پس از رویارویی با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن (میانگین ± انحراف معیار). حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در بین تیمارهای مختلف در هر روز است (P<۰/۰۵).



شکل ۴: فعالیت میزان مالون دی‌آلدئید در بافت آبشش بچه ماهی کپور معمولی پس از رویارویی با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن (میانگین ± انحراف معیار). حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در بین تیمارهای مختلف در هر روز است (P<۰/۰۵).

بحث

هرچند احتمال خطر نانومواد برای محیط زیست هنوز به خوبی مورد بررسی قرار نگرفته است ولی به دلیل افزایش استفاده از این مواد نوظهور می‌توان انتظار افزایش ورود این ذرات را به محیط زیست داشت و به همین دلیل بررسی اثرات و تغییرات تدریجی ناشی از ورود این مواد به داخل بوم‌سازگان‌های مختلف ضروری به نظر می‌رسد. سوپراکسید دیسموتاز (SOD) یک متالوآنزیم است که با تجزیه رادیکال‌های سوپراکسید به اکسیژن مولکولی و پراکسید هیدروژن، اولین سد دفاعی را علیه رادیکال‌های آزاد تشکیل می‌دهد. افزایش مشاهده شده در فعالیت SOD در بافت آبشش می‌تواند نتیجه اثر نانوذرات اکسید آهن و تولید بیش از حد ROS و در نتیجه افزایش تولید آنزیم SOD برای مقابله با استرس اکسیداتیو ایجاد شده باشد. در این مطالعه بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در آبشش در تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید آهن و در روز ۱۴ مشاهده شد که می‌تواند نشانگر رابطه غیروابسته به غلظت در سمیت ناشی از نانوذرات آهن باشد. Regoli و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که تغییر در فعالیت و یا سطح آنتی‌اکسیدان‌ها هنگام قرارگیری ماهی در معرض آلاینده‌های فلزی می‌تواند به عنوان یک

نشانگر زیستی در نظر گرفته شود. بسیاری از موجودات آبزی قادر به زندگی در محیط‌های آلوده فلزی هستند، این توانایی در ارتباط با مکانیسم دفاعی موجودات است که به آن‌ها اجازه می‌دهد عمل سم‌زدایی را انجام دهند (Sheehan et al., 2001). در مطالعات Linhua و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شده است که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در کبد، آبشش و مغز ماهی کپور معمولی حساسیت بیشتری نسبت به سایر آنزیم‌ها داشت که با غلظت و مدت زمان قرارگیری در معرض نانوذرات اکسید تیتانیوم نوسان پیدا می‌کرد.

در پژوهش حاضر فعالیت آنزیم کاتالاز در آبشش مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان فعالیت کاتالاز مربوط به تیمار ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات اکسید آهن و در روز ۷ نمونه‌برداری بود و با گذر زمان میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت. روند افزایشی در فعالیت کاتالاز نشانی از پاسخ این آنزیم در برابر افزایش رادیکال‌های آزاد است و کاهش روند فعالیت این آنزیم نشان دهنده مهار شدن این آنزیم توسط رادیکال‌های آزاد و شکست سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی است. Moraes و همکاران (۲۰۰۹) به نتایج مشابهی در بررسی اثر سم اندوسولفان در ماهی *Jenynsia multidentata* دست یافتند.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در آبشش روند متغیری را در رابطه با زمان و غلظت نانوذرات آهن داشت و در تمام تیمارها پس از رویارویی ماهیان با نانوذرات اکسید آهن فعالیت این آنزیم نیز افزایش یافت. Li و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند که کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز می‌تواند به علت افزایش O^{2-} باشد. به طور کلی آنتی‌اکسیدان‌ها به گونه‌ای هماهنگ عمل می‌کنند تا حفاظت بهینه موجود را در برابر استرس اکسیداتیو به وجود آورند (Michiels et al., 1994).

مالون دی‌آلدئید که به واسطه پراکسیداسیون چربی‌ها به وجود می‌آید، یکی از نشانگرهای استرس اکسیداتیو است. MDA به دلیل میل ترکیبی بالا با گروه‌های تیول، آمین و پپتید، آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک برای بسیاری از سلول‌ها سمی است (Viarengo, 1989). در مطالعه حاضر سطح MDA در آبشش ماهیان پس از رویارویی با نانوذرات اکسید آهن نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود. آبشش در تماس مستقیم با آب است و اندام اصلی در تماس با

آلاینده‌ها محسوب می‌شود و مواد آلاینده در تماس با آبشش به سرعت از آب وارد خون می‌شوند. نتایج مشابه با پژوهش حاضر را می‌توان در مطالعات Oberdorster (۲۰۰۴) بر مغز بچه ماهیان باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) هنگام قرارگیری در معرض فلورین (C60)، Linhua و همکاران در سال ۲۰۰۹ در بررسی اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم (TiO_2) بر مغز بچه ماهیان کپور و همچنین مطالعات Zhao و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی مغز ماهی کپور پس از رویارویی با نانوذرات اکسید مس (CuO) اشاره کرد.

تغییرات مشاهده شده در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در واقع پاسخ زیستی در رویارویی با غلظت‌های زیر کشندگی نانوذرات اکسید آهن است. اختلال در تعادل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت آبشش بچه ماهیان کپور و افزایش میزان MDA به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو است و بیانگر اثر نانوذرات اکسید آهن در ایجاد استرس اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های آزاد است. بنابراین پایش نشانگرهای زیستی همچون آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز) و سطوح مالون دی‌آلدئید می‌تواند به عنوان شاخص مناسبی برای سنجش استرس اکسیداتیو ناشی از مواجهه ماهیان با نانومواد مطرح باشد.

منابع

خانی م.، شهاب‌پور گ. و خانی م. ۱۳۹۴. نانوذرات در چرخه آب (ترجمه). انتشارات آوای قلم. ۳۲۳ص.

Au K.W., Liao S.Y., Lee Y.K., Lai W.H., Ng K.M., Chan Y.C., Yip M.C., Ho C.Y., Wu E.X., Li R.A. and Siu C.W. 2009. Effects of iron oxide nanoparticles on cardiac differentiation of embryonic stem cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, 379(4): 898–903.

Colvin V.L. 2003. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. Nature Biotechnology, 21(10): 1166–1170.

Cornell R.M. and Schwertmann U. 2003. The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences and Uses. John Wiley and Sons, USA. 473P.

Farre M., Gajda-Schrantz K., Kantiani L. and Barcelo D. 2009. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 393(1): 81–95.

George S., Gardner H., Seng E.K., Chang H., Wang C., Yu Fang C.H., Richards M., Valiyaveettil S. and Chan W.K. 2014. Differential effect of solar light in increasing the toxicity of silver and titanium dioxide nanoparticles to a fish cell line and zebrafish embryos. Environmental Science and Technology, 48(11): 6374–6382.

Giannopolitis C.N. and Ries S.K. 1977. Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. Plant Physiology, 59(2): 315–318.

Heath R.L. and Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(1): 189–198.

Johnston H.J., Hutchison G.R., Christensen F.M., Peters S., Hankin S., Aschberger K. and Stone V. 2010. A critical review of the biological mechanisms underlying the in vivo and in vitro toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics. Nanotoxicology, 4(2): 207–246.

Li Z.H., Zlabek V., Velisek J., Grabic R., Machova J., Kolarova J., Li P. and Randak T. 2011. Acute toxicity of carbamazepine to juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on antioxidant responses, hematological

parameters and hepatic EROD. Ecotoxicology and Environmental Safety, 74(3): 319–327.

Linhua H.A.O., Zhenyu W.A.N.G., and Baoshan X.I.N.G. 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(10): 1459–1466.

Lopes P.A., Pinheiro T., Santos M.C., Da Luz Mathias M., Collares-Pereira M.J. and Viegas-Crespo A.M. 2001. Response of anti-oxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. Science of the Total Environment, 280(1-3): 153–163.

Michiels C., Raes M., Toussaint O. and Remacle J. 1994. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. Free Radical Biology and Medicine, 17(3): 235–248.

Moore M.N. 2006. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? Environment International, 32(8): 967–976.

Moraes B.S., Loro V.L., Pretto A., Da Fonseca M.B., Menezes C., Marchesan E., Reimche G.B. and De Avila L.A. 2009. Toxicological and metabolic parameters of the teleost fish (*Leporinus obtusidens*) in response to commercial herbicides containing clomazone and propanil. Pesticide Biochemistry and Physiology, 95(2): 57–62.

Oberdorster E. 2004. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. Environmental Health Perspectives, 112(10): 1058–1062.

Regoli F., Gorbi S., Frenzilli G., Nigro M., Corsi I., Focardi S. and Winston G.W. 2002. Oxidative stress in ecotoxicology: From the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. Marine Environmental Research, 54(3-5): 419–423.

Schmid K. and Riediker M. 2008. Use of nanoparticles in Swiss industry: A targeted survey. Environmental Science and Technology, 42(7): 2253–2260.

Scown T.M., Van Aerle R. and Tyler C.R. 2010. Review: Do engineered nanoparticles pose a significant threat to the aquatic environment? Critical Reviews in Toxicology, 40(7): 653–670.

Sheehan D., Meade G. and Foley V.M. 2001. Structure, function and evolution of glutathione transferases: Implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. Biochemical Journal, 360(1): 1–16.

Sun Y.P., Li X.Q., Zhang W.X. and Wang H.P. 2007. A method for the preparation of stable dispersion of zero-valent iron nanoparticles. Colloids and Surfaces (A), 308(1): 60–66.

Viarengo A. 1989. Heavy metals in marine invertebrates: Mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. Reviews in Aquatic Science, 1(2): 295–317.

Ward E.J. and Kach D.J. 2009. Marine aggregates facilitate ingestion of nanoparticles by suspension-feeding bivalves. Marine Environmental Research, 68(3): 137–142.

Zhang W.X. 2003. Nanoscale iron particles for environmental remediation: An overview. Journal of Nanoparticle Research, 5(3-4): 323–332.

Zhao J., Wang Z., Liu X., Xie X., Zhang K. and Xing B. 2011. Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) and their potential toxicity. Journal of Hazardous Materials, 197: 304–310.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 7, No. 1, Spring 2019

Research Paper

Effects of iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3) on the antioxidant defense system and lipid peroxidation in the gill of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*)

Mohanna Mohammadi Movahed[1], Aria Babakhani[2]*, Masoud Sattari[3], Hossein Ghafouri[4], Seyed Ali Johari[5]

Received: January 2018 Accepted: June 2018

Abstract

The aim of this study was to evaluate the toxicity of iron oxide nanoparticles on the gill antioxidant defense system of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). The juveniles (17±0.6g) were exposed to different concentrations (10, 30 and 50.0 $mg.L^{-1}$) of waterborne iron oxide nanoparticles for 0, 1, 7 and 14 days and then the levels of antioxidant enzymes activities including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and malondialdehyde (MDA) were evaluated in gills. The results showed that exposure to nanoparticles led to a significant increase in MDA levels and time-related changes in antioxidant enzyme activities ($P<0.05$). Therefore, the biomarkers such as antioxidant enzymes and MDA level can be used as a suitable index for monitoring oxidative stress in carp.

Key words: *Nanoecotoxicology, Common Carp, Gill, Nanoparticles, Iron Oxide*.

1- M.Sc. in Fisheries, Fisheries Department, Faculty of Natural Resource, Guilan University, Sowmeh Sara, Iran.
2- Assistant Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resource, Guilan University, Sowmeh Sara, Iran.
3- Professor in Fisheries Department, Faculty of Natural Resource, Guilan University, Sowmeh Sara, Iran.
4- Associate Professor in Department of Biology, Faculty of Science, Guilan University, Rasht, Iran.
5- Associate Professor in Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

*Corresponding Author: Babakhani@guilan.ac.ir