

اثرات تحت کشنده نانوذرات نقره بر سطوح آنزیم‌های متابولیک و آنتی‌اکسیدانی میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

سراج بیتا^{*}

*serajbita@yahoo.com

۱- گروه شیلات، دانشکده‌ی علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۸

چکیده

در مطالعه حاضر پست لاروهای میگوی پا سفید غربی طی ۲۱ روز در معرض غلظت‌های تحت کشنده نانوذرات نقره شامل تیمار ۱: $10\% \text{LC}_{50}$ (۰/۳۹ mg/L AgNP)، تیمار ۲: $25\% \text{LC}_{50}$ (۰/۹۷ mg/L AgNP)، تیمار ۳: $50\% \text{LC}_{50}$ (mg/L AgNP) و تیمار ۴: $75\% \text{LC}_{50}$ (۲/۹۲ mg/L AgNP) قرار گرفته و یک تیمار نیز به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. در پایان دوره آزمایش نمونه‌برداری از بافت آبشش، عضله و هپاتوپانکراس جهت سنجش تغییرات سطوح آنزیم‌های متابولیک و آنتی‌اکسیدانی انجام شد. طبق نتایج، فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز در بافت هپاتوپانکراس و آبشش نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) و در بافت عضله تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز فقط در هپاتوپانکراس روند کاهشی داشت که نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود ($p < 0/05$). میزان لاکتات دهیدروژناز نیز در تمام بافت‌های مورد بررسی فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p > 0/05$). از بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بافت هپاتوپانکراس و آبشش نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) و گلوکوتایون پراکسیداز فاقد تفاوت معنی‌داری بود ($p > 0/05$). میزان گلوکوتایون S-ترانسفراز نیز فقط در بافت هپاتوپانکراس و در تیمار ۴ به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0/05$). در مجموع T نتایج نشان داد که مواجهه میگو با غلظت بالای نانوذرات نقره سبب آسیب اکسیداتیو به خصوص در بافت هپاتوپانکراس آنها می‌شود.

لغات کلیدی: نانوذرات نقره، استرس اکسیداتیو، آنزیم‌های متابولیک، میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

*نویسنده مسئول

مقدمه

علم نانو تکنولوژی توانمندی تولید مواد، ابزارها و سیستم‌های جدید را برای در دست گرفتن کنترل در سطوح مولکولی و اتمی با استفاده از خواصی که در آن سطوح ظاهر می‌شوند، دارد. با توسعه سریع در صنعت نانو فناوری، درک امنیت نانوذرات مهندسی شده و عوامل مرتبط با خطرات آنها ضروری است. یک حوزه مدیریتی حساس در ارزیابی خطرات احتمالی نانوذرات، بررسی اثرات آنها بر وضعیت استرس اکسیداتیو آبزیان است (Singh *et al.*, 2009). مطالعات نشان داده است که مواجهه با نانوذرات نقره سبب سمیت سلولی، استرس اکسایشی و پاسخ‌های التهابی می‌شود (Xian *et al.*, 2011). اندازه کوچک آنها علاوه بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاصی که به آنها می‌دهد، ممکن است مسئول نتایج مضر زیستی نیز باشد. یکی از مشکلاتی که اکنون محیط زیست آبزیان را تهدید می‌کند، ورود آلاینده‌های مختلف به اکوسیستم‌های آبی بویژه دریاهاست که منبع اصلی آب برای پرورش میگو می‌باشند. این آلاینده‌ها سبب ایجاد استرس در میگو از طریق کاهش اکسیژن، کاهش pH و در نهایت اختلال در سیستم ایمنی، القاء تولید رادیکال‌های آزاد، استرس اکسیداتیو و در نهایت سبب هجوم عوامل بیماری‌زا و مرگ میگوها خواهند شد (Xian *et al.*, 2011). به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد جهت جلوگیری از اثرات مضر عوامل بیگانه بویژه آلاینده‌ها، مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی نظیر آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز، همچنین اسید اوریک، بیلی روبین و مولکول‌های دارای گروه تیول مانند گلوکوتاتیون در داخل بدن ساخته می‌شوند. استرس اکسیداتیو بر تکثیر و رونویسی DNA میتوکندریایی اثر می‌گذارد و سبب کاهش عملکرد میتوکندری می‌شود که بنوبه خود منجر به افزایش تولید ROS، اختلال در عملکرد آنزیم‌ها و آسیب بیشتر اکسیداتیو به سلول‌ها می‌شود (Wang *et al.*, 2019). رویکرد معمول برای ارزیابی استرس اکسایشی در سیستم‌های بیولوژیک شامل

اندازه‌گیری افزایش یا کاهش در یک مولکول حساس به اکسیداسیون-احیاء در پاسخ به استرس اکسایشی می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهند که نانوذرات نقره، منجر به استرس اکسایشی می‌گردند که یک واقعه متابولیک درون سلولی است که می‌تواند به ملکول‌های زیستی مختلف آسیب وارد کند. این صدمه می‌تواند پاسخ‌های مختلف سلولی مانند توقف چرخه سلولی یا آپوپتوزیس را القاء نماید و مانع از ترمیم DNA شود (Singh *et al.*, 2009). احتمال دارد که مواجهه میگو با سفید غریبی با نانوذرات نقره سبب افزایش یا کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولک شود. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی میگو از طریق سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیک انجام شد.

مواد و روش کار

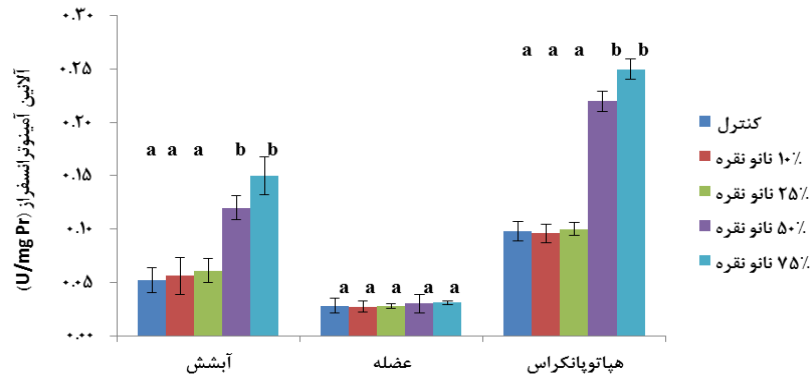
به منظور انجام این مطالعه پست لاروهای میگو وانامی (*Litopenaeus vannamei*) با میانگین وزنی $3/28 \pm 0/45$ گرم (انحراف استاندارد \pm وزن) از مرکز تکثیر بندر جاسک خریداری شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه، میگوها به مدت دو هفته مرحله سازش‌پذیری را در داخل مخازن حاوی آب تمیز و فیلتر شده دریا با حجم آب ۶۰ لیتر طی کردند. در طول دوره سازش‌پذیری غذایی به میزان ۳ درصد وزن بدن و سه بار در روز انجام شد. پس از مرحله سازش‌پذیری پست لاروهای میگو به مدت ۲۱ روز در معرض غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره شامل تیمار ۱: $10\% LC_{50}$ (39 mg/L AgNP)، تیمار ۲: $25\% LC_{50}$ (97 mg/L AgNP)، تیمار ۳: $50\% LC_{50}$ (195 mg/L AgNP) و تیمار ۴: $75\% LC_{50}$ (292 mg/L AgNP) و یک تیمار نیز به عنوان تیمار شاهد (در مجموع ۵ تیمار و هر کدام با ۳ تکرار) قرار گرفتند. طی دوره آزمایش، میانگین میزان pH، شوری و دمای آب در مخازن بترتیب $7/54 \pm 0/20$ ، $33/00 \pm 1/18$ و $25 \pm 0/86$ بود. هوادهی در مخازن به صورت ملایم و مداوم انجام می‌شد. درصد تعویض آب

بطوریکه بالاترین سطح فعالیت این آنزیم نیز در تیمار ۴ بدست آمد (شکل ۱). اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در بافت عضله مشاهده نشد ($p > 0.05$) (شکل ۱). فعالیت آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز در بافت آبشش و هیپاتوپانکراس در تیمار ۲، ۳ و ۴ نسبت به تیمار ۱ و شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۲). اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در بافت عضله مشاهده نشد ($p > 0.05$). با توجه به شکل ۳، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز بافت آبشش و عضله بین تیمارهای مختلف نانوذرات نقره نسبت به تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). ولی در بافت هیپاتوپانکراس تیمار ۳ و ۴ فعالیت کمتری نسبت به سایر تیمارها نشان دادند ($p < 0.05$). طبق نتایج میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز در تمام بافت‌های مورد بررسی در تیمارهای مختلف نانوذرات نقره نسبت به تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$) (شکل ۴). سطح فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بافت آبشش در تیمارهای ۳ و ۴ نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). در بافت هیپاتوپانکراس تیمارهای ۳ و ۴ نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) (شکل ۵). در بافت عضله سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای مختلف نانوذرات نقره در مقایسه تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). اختلاف معنی‌داری در فعالیت گلوکاتایون پرکسیداز در اندام‌های مختلف بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$) (شکل ۶). همچنین، اختلاف معنی‌داری در فعالیت گلوکاتایون S-ترانسفراز در بافت آبشش و عضله در تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$) ولی در بافت هیپاتوپانکراس، تیمار ۴ فعالیت بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$) (شکل ۷).

روزانه ۱۵٪ بود (Liu *et al.*, 2015). بعد از هر بار تعویض آب، دز نانوذرات نقره در هر آکواریوم مجدداً تنظیم می‌شد. در پایان دوره آزمایش، میگوها با پودر گل میخک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شده و نمونه‌برداری از آبشش، عضله و هیپاتوپانکراس انجام شد. اندام‌های جداسازی شده در بافر تریس HCl (Tris-HCl) با pH ۷/۴ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هموزن شده و سپس در دور ۴۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد، فاز رویی جهت سنجش تغییرات سطوح آنزیم‌های متابولیک (آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز) و آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و گلوکاتایون S-ترانسفراز) مورد استفاده قرار گرفتند (Yang *et al.*, 2010). اندازه‌گیری سطح فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز عصاره بافتی میگو بر اساس مقدار مصرف NADH و تبدیل آن به NAD^+ ، آلکالین فسفاتاز بر اساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنولوفسفات و لاکتات دهیدروژناز با استفاده از کیت آزمایشگاهی شرکت پارس‌آزمون بر اساس تبدیل پیرووات به لاکتات صورت گرفت (Moss and Henderson, 1999). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از کیت تجاری رندوکس انگلستان، گلوکاتایون پراکسیداز مطابق روش Lawrence و Burk (۱۹۷۶) و گلوکاتایون S-ترانسفراز طبق روش Stumpf و Nauen (۲۰۰۲) مورد سنجش قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نسخه ۲۲ نرم‌افزار SPSS انجام شد. به منظور مقایسه داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید و معناداری آنها با استفاده از آزمون توکی بررسی شد. $p < 0.05$ به عنوان سطح تفاوت معنادار در نظر گرفته شد.

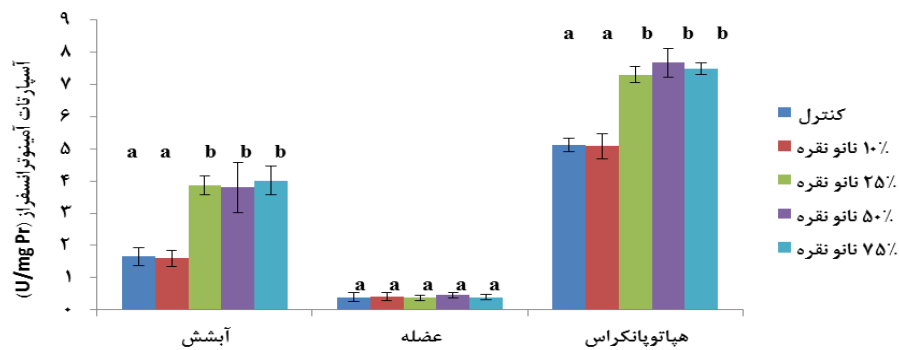
نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم آلانین ترانسفراز در بافت آبشش و هیپاتوپانکراس در تیمار ۳ و ۴ با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$)



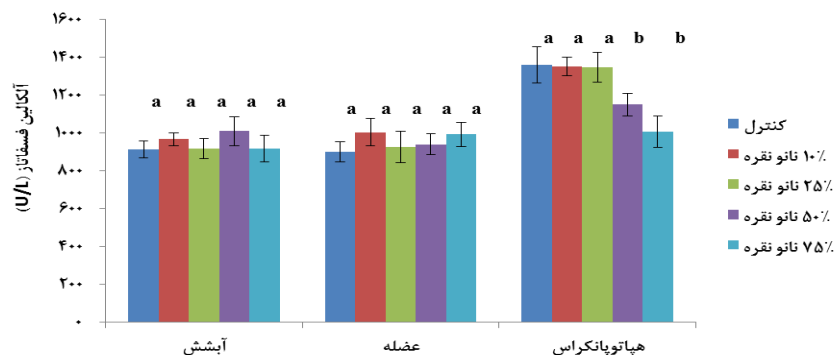
شکل ۱: تغییرات آلانین آمینوترانسفراز بافت‌های مختلف میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نانوذرات نقره. (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها در هر بافت است)

Figure 1: Changes in *alanine aminotransferase* in various tissues of *Litopenaeus vannamei* during exposure to silver nanoparticles



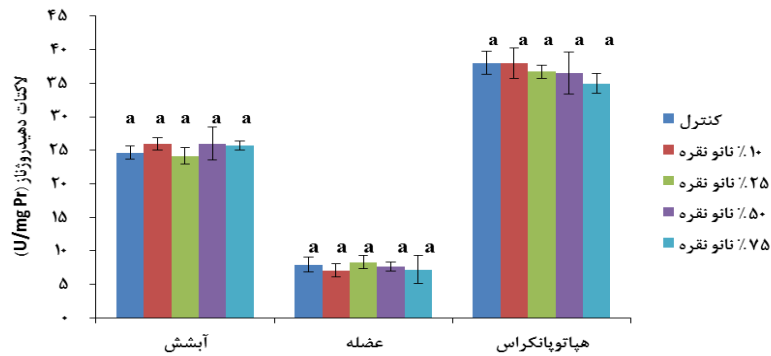
شکل ۲: تغییرات اسپاراتات آمینوترانسفراز بافت‌های مختلف میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نانوذرات نقره. (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها در هر بافت است)

Figure 2: Changes in *aspartate aminotransferase* in various tissues of *Litopenaeus vannamei* during exposure to silver nanoparticles



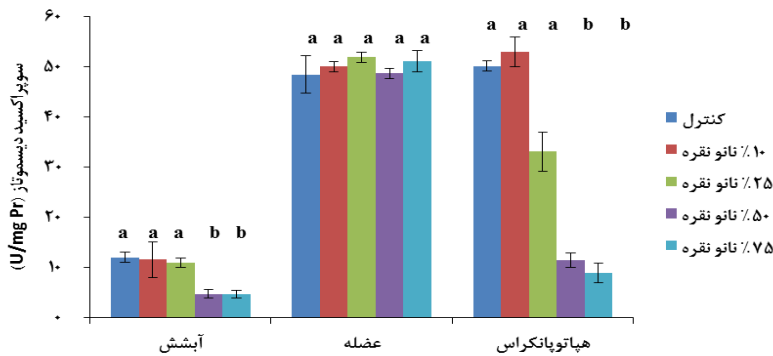
شکل ۳: تغییرات آلکالین فسفاتاز بافت‌های مختلف میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نانوذرات نقره. (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها در هر بافت است)

Figure 3: Changes in *alkaline phosphatase* in various tissues of *Litopenaeus vannamei* during exposure to silver nanoparticles



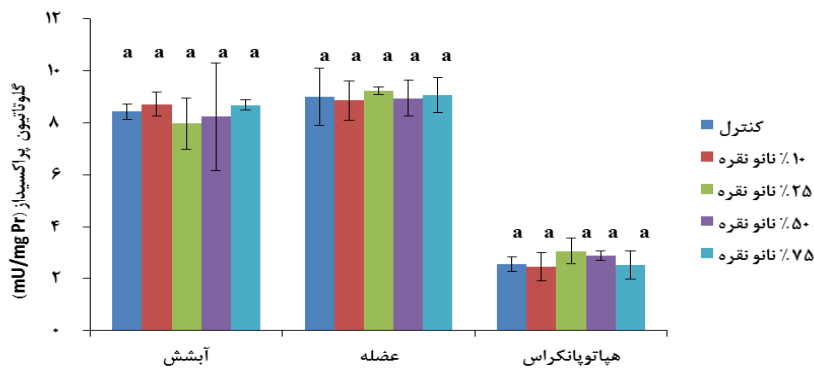
شکل ۴: تغییرات لاکتات دهیدروژناز بافت‌های مختلف میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نانوذرات نقره. (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها در هر بافت است)

Figure 4: Changes in lactate dehydrogenase in various tissues of *Litopenaeus vannamei* during exposure to silver nanoparticles



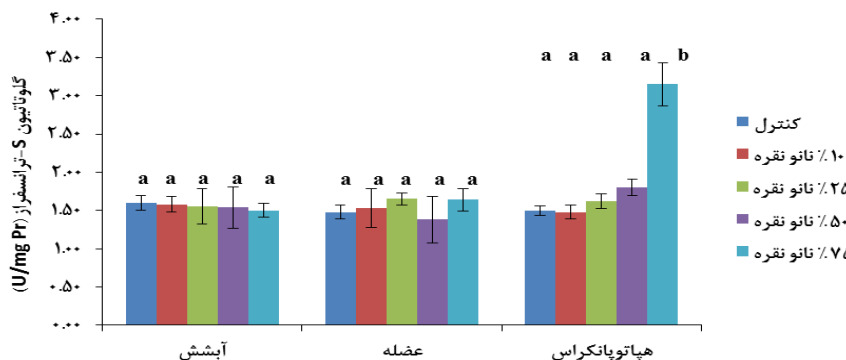
شکل ۵: تغییرات سوپراکسید دیسموتاز بافت‌های مختلف میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نانوذرات نقره. (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها در هر بافت است)

Figure 5: Changes in superoxide dismutase in various tissues of *Litopenaeus vannamei* during exposure to silver nanoparticles



شکل ۶: تغییرات گلوٹاتیون پراکسیداز بافت‌های مختلف میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نانوذرات نقره. (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها در هر بافت است)

Figure 6: Changes in glutathione peroxidase in various tissues of *Litopenaeus vannamei* during exposure to silver nanoparticles.



شکل ۷: تغییرات گلوٹاتیون S-ترانسفراز بافت‌های مختلف میگوی پا سفید غربی طی مواجهه با نانوذرات نقره. (حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد بین تیمارها در هر بافت است)

Figure 7: Changes in glutathione S-transferase in various tissues of *Litopenaeus vannami* during exposure to silver nanoparticles.

در بافت هیپاتوپانکراس با افزایش غلظت نانوذرات نقره، کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت ($p < 0/05$) Saha و همکاران (۲۰۰۹) دریافتند که قرارگیری خرچنگ سبز (*Scylla serrata*) در معرض سم آرسنات به صورت مزمن سبب کاهش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و در نتیجه اختلال در فعالیت سیستم ایمنی می‌شود که با نتایج تحقیق حاضر در مورد بافت هیپاتوپانکراس مطابقت دارد. بنابراین، می‌توان گفت که در مطالعه حاضر مواجهه میگوی پا سفید غربی با نانوذرات نقره از طریق کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در بافت هیپاتوپانکراس سبب کاهش فعالیت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی میگو نیز شده است. فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز تیمارهای مختلف نانوذرات نقره نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری در میزان آن مشاهده نشد ($p > 0/05$) که دلیل این امر احتمالاً می‌تواند نشان دهنده این باشد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با غلبه بر رادیکال‌های آزاد سبب حفظ سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی و عدم تغییر چشمگیر برخی از آنزیم‌ها از جمله لاکتات دهیدروژناز شده‌اند زیرا تغییر سطح فعالیت LDH نشان دهنده بروز تغییرات متابولیک است. هر چند که مشخص گردیده در شرایطی که آبیان در معرض یک عامل استرس‌زا قرار می‌گیرند، روند کاتابولیسم گلیکوژن و گلوکز به سمت تشکیل لاکتات در عضلات پیش می‌رود و این امر می‌تواند افزایش سطح LDH را به دنبال داشته باشد (Velisek et al., 2006).

بحث

در سخت‌پوستان بویژه میگو، تغییر در سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیک به عنوان پارامترهای مهم فیزیولوژیک جهت سنجش استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار می‌گیرند (Wang et al., 2004). در تحقیق حاضر، سطح فعالیت آنزیم آلانین ترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز بجز در بافت عضله در سایر بافت‌ها به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0/05$). در توافق با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعات سایر محققین افزایش میزان فعالیت ALT و AST در کبد ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) طی مواجهه با سرب (Dai et al., 2009) در آبشش ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مسمومیت با مس (Karan et al., 1998) گزارش شده است. در مطالعه Pan و همکاران (۲۰۰۳) بر میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) مشخص شد که فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز هیپاتوپانکراس در مواجهه با استرس آمونیاک کاهش داشت. تفاوت در پاسخ میگوها در مطالعه حاضر و سایر مطالعات در تغییرات فعالیت آنزیمی ممکن است به علت تفاوت در حساسیت گونه‌های مختلف آبیان، نوع آلاینده، غلظت آن و مدت زمان قرارگیری در معرض سم باشد.

نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که اثرات نانوذرات نقره بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بافت آبشش و عضله به صورت وابسته به غلظت نیست، اما

منابع

- Dai, W., Fu, L., Du, H., Jin, C. and Xu, Z., 2009.** Changes in growth performance, metabolic enzyme activities, and content of Fe, Cu, and Zn in liver and kidney of *Tilapia (Oreochromis niloticus)* exposed to dietary Pb. *Biological Trace Element Research*, 128:176-183. Doi:10.1007/s12011-008-8259-8.
- Duan, Y., Zhang, J., Dong, H., Wang, Y., Liu, Q. and Li, H., 2015.** Oxidative stress response of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* to *Vibrio parahaemolyticus* challenge. *Fish and Shellfish Immunology*, 46(2): 354-65. Doi: 10.1016/j.fsi.2015.06.032.
- Karan, V., Vitorovic, S., Tutundzic, H. and Polksie V., 1998.** Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 40: 49-55. Doi: 10.1006/eesa.1998.1641 .
- Lawrence, R.A. and Burk, R.F., 1976.** Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71: 952-958. Doi:10.1016/0006-291x(76)90747-6.
- Liu, H.L., Yang, S.P., Wang, C.G., Chan, S.M., Wang, W.X., Feng, Z.H. and Sun, C.B., 2015.** Effect of air exposure and resubmersion on the behavior and oxidative stress of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *North American Journal of Aquaculture*, 77(1): 43-49. Doi: 10.1080/15222055.2014.955157 .
- در بافت آبشش و هیپاتوپانکراس فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با افزایش غلظت نانوذرات نقره به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$) که این کاهش به صورت وابسته به افزایش غلظت بود. در بافت عضله اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با تیمار شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). مطابق با نتایج مطالعه حاضر در مطالعه Duan و همکاران (۲۰۱۵) بر میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بافت هیپاتوپانکراس میگوها به دلیل افزایش شدت استرس ناشی از مواجهه و غلبه شدن رادیکال‌های آزاد بر این آنزیم ذکر شد.
- میزان گلوتاتیون پراکسیداز در تمام بافت‌ها در تیمارهای مختلف نسبت به تیمار شاهد فاقد تفاوت معنی‌دار بود ($p > 0.05$). در مطالعه Duan و همکاران (۲۰۱۵) بر میگوی ببری سیاه فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در ۱۲ ساعت به طور قابل توجهی در هیپاتوپانکراس و آبشش میگوها افزایش یافت. تفاوت در نتایج می‌تواند ناشی از عوامل مختلف از جمله شرایط آزمایش، گونه آبی، نوع و سطوح مختلف نانوذرات و سایر سموم و روش تجویز آن باشد.
- سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون S-ترانسفراز در بافت آبشش و عضله در تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p > 0.05$) و در بافت هیپاتوپانکراس فقط در تیمار ۴ نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) که افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مواجهه با یک آلاینده، بیانگر تطابق سلول یا بافت با استرس ایجاد شده است (John et al., 2001).
- با توجه به افزایش معنی‌دار سطوح آنزیم‌های ALT و AST و کاهش در سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تیمار ۴ در مقایسه با سایر تیمارهای نانوذرات نقره، می‌توان گفت که مواجهه با غلظت‌های تحت کشنده نانوذرات نقره سبب القاء تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو وابسته به غلظت بویژه در بافت هیپاتوپانکراس می‌شود.

- Moss, D.W. and Henderson, A.R., 1999.** Clinical enzymology. In: Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., Editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd edition. Philadelphia: W.B Saunders Company. pp. 617-721. Doi: 10.1515/cclm.1999.37.11-12.1136 .
- Pan, C.H., Chien, Y.H. and Hunter, B., 2003.** The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 297: 107–118. Doi: 10.1016/j.jembe.2003.07.002 .
- Saha, S., Ray, M. and Ray, S., 2009.** Activity of phosphatases in the hemocytes of estuarine edible mud crab, *Scylla serrata* exposed to arsenic. *Journal of Environmental Biology*, 30(5): 655- 658.
- Singh, N., Manshian, B., Jenkins, G.J.S., Griffiths, S.M., Williams, P.M., Maffei, T.G.G., Wright, C.J. and Doak, S., 2009.** NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*, 30: 3891–3914. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.04.009 .
- Stumpf, N. and Nauen, R., 2002.** Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry Physiology*, 72: 111-121. Doi: 10.1006/pest.2001.2583 .
- Velisek, J., Dobsikova, R., Svobodova, Z., Modra, H. and Luskova, V., 2006.** Effect of deltamethrin on the biochemical profile of common carp (*Cyprinus carpio*). *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 76: 992-998. Doi:10.17221/52/2009-cjas.
- Wang, W.N., Wang A.L., Zhang, Y.J., Li, Z.H., Wang, J.X. and Sun R.Y., 2004.** Effects of nitrite on lethal and immune response of *Macrobrachium nipponense*. *Aquaculture*, 232: 679–686. Doi:10.1016/j.aquaculture.2003.08.018 .
- Wang, X., Shen, M., Zhou, J. and Jin, Y., 2019.** Chlorpyrifos disturbs hepatic metabolism associated with oxidative stress and gut microbiota dysbiosis in adult zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 216:19-28. Doi:10.1016/j.cbpc.2018.11.010.
- Xian, J.A., Wang, A.L., Chen, X.D., Gou, N.N., Miao, Y.T., Liao, S.A. and Ye, C.X., 2011.** Cytotoxicity of nitrite on haemocytes of the tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using flow cytometric analysis. *Aquaculture*, 317: 240–244. Doi:10.1016/j.aquaculture.2011.03.026 .
- Yang, S.P., Wu, Z.H., Jian, J.C. and Zhang, X.Z., 2010.** Effect of marine red yeast *Rhodospiridium paludigenum* on growth and antioxidant competence of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 309: 62–65. Doi:10.1016/j.aquaculture.2010.09.032.

The sublethal effects of silver nanoparticles on metabolic and antioxidant enzymes levels of Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Bitá S.^{1*}

1-Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

Abstract

In the present study, whiteleg shrimp postlarvae were exposed for 21 days with sublethal concentrations of silver nanoparticles containing treatment 1: (%10 LC₅₀ (0.39 mg/L AgNP), treatment 2: (%25 LC₅₀ (0.97 mg/L AgNP), Treatment 3: (%50 LC₅₀ (1.95 mg/L AgNP) and treatment 4: (%75 LC₅₀ (2.92 mg/L AgNP) and one treatment was considered as control treatment. during 21 days. At the end of the experiment, gill, muscle and hepatopancreas tissue samples were samples to measure changes in levels of metabolic and antioxidant enzymes. According to the results, the enzyme activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in hepatopancreas and gills showed a significant increase compared to the control ($p < 0.05$), but there was no significant difference in muscle ($p > 0.05$). Alkaline phosphatase activity was only decreasing in hepatopancreas, which was significantly higher than control ($p < 0.05$). Lactate dehydrogenase level was not significantly different in all tissues ($p > 0.05$). Among the antioxidant enzymes, the activity of superoxide dismutase in hepatopancreas and gills showed a significant decrease ($p < 0.05$) compared to control, but glutathione peroxidase had no significant difference ($p > 0.05$). The level of glutathione S-transferase was increased only in hepatoconal tissue and in treatment 4 significantly ($p < 0.05$). The level of glutathione S-transferase was increased only in hepatopancreas tissue and in treatment 4 significantly ($p < 0.05$). Overall, results showed that shrimp exposure to high concentrations of silver nanoparticles causes oxidative damage, especially in the hepatopancrease tissue.

Keywords: Silver Nanoparticles, Oxidative Stress, Metabolic Enzymes, *Litopenaeus vannamei*

*Corresponding author