CC BY

مقاله علمی – پژوهشی:

تأثیرات زیرحاد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر شاخص‌های فیزیولوژیک استرس در ماهی پلاتی (*Xiphophorus maculatus*)

محسن میری[۱]؛ سراج بیتا*[۱]

*serajbita@yahoo.com

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

تاریخ دریافت: مرداد ۱٤۰٤ تاریخ پذیرش: آبان ۱٤۰٤

چکیده

دی‌اکسید تیتانیوم یکی از پرکاربردترین نانوذرات در محصولات صنعتی و بهداشتی است و نگرانی‌هایی درباره ورود و تجمع آن در محیط‌های آبی ایجاد شده است. این مطالعه با هدف ارزیابی سمیت زیرحاد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در ماهی پلاتی (*Xiphophorus maculatus*) که یک ماهی زینتی است، طی یک دوره ۲۱ روزه انجام شد. ماهیان با وزن متوسط ۲.۶۵ ± ۰.۴۵ گرم پس از دوره سازگاری در مخازن ۶۰ لیتری نگهداری شدند و در معرض پنج غلظت معادل ۱۰، ۱۵، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد LC_{50} چهارروزه قرار گرفتند. یک گروه کنترل نیز بدون نانوذرات و تحت شرایط مشابه نگهداری شد. نتایج نشان داد غلظت کورتیزول و گلوکز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0.05$) که بیانگر فعال‌شدن محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–اینترنال و القای استرس متابولیک است. در مقابل، میزان لاکتات تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت ($p>0.05$) که نشان می‌دهد استرس ایجادشده عمدتاً هورمونی و متابولیک بوده و تأثیر محدودی بر مسیرهای بی‌هوازی داشته است. این یافته‌ها نشان می‌دهد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌توانند هموستازی فیزیولوژیک ماهیان را در زیست‌بوم‌های آبی آلوده مختل کنند.

کلمات کلیدی: نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، سمیت زیرحاد، شاخص‌های استرس، کورتیزول، گلوکز، *Xiphophorus maculatus*

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

مقدمه

استفاده فزاینده از نانوذرات مهندسی‌شده در محیط‌های صنعتی و خانگی، نگرانی‌هایی را در خصوص انتشار آنها به محیط زیست ایجاد کرده است. ارزیابی ریسک محیط‌زیستی ناشی از این نانوذرات نیازمند درک جامع از میزان جابه‌جایی، واکنش‌پذیری، سمیت اکولوژیک و ماندگاری آنهاست. یکی از نگرانی‌های اصلی، احتمال افزایش غلظت نانوذرات در آبهای زیرزمینی و خاک به دلیل کاربردهای مهندسی مواد است، زیرا این مسیرها اصلی‌ترین مسیرهای مواجهه برای ارزیابی ریسک محیطی محسوب می‌شوند (Blandón-González *et al*., 2025). با وجود گزارش‌های فراوان درباره مزایای نانوذرات مهندسی شده در بخش‌های مختلف، لازم است به خطرات بالقوه زیست‌محیطی و بهداشتی مرتبط با توسعه و کاربرد آنها توجه شود. خطراتی که هنوز به طور کامل شناخته نشده‌اند (Khan *et al*., 2019). سمیت نانوذرات عمدتاً به منشأ، پایداری، اندازه و غلظت آنها و مسیر و میزان مواجهه بستگی دارد. علاوه‌براین، عواملی مانند اندازه، شیمی سطح و حجم، جرم، تجمع و مساحت سطح نیز بر سمیت آنها تأثیر می‌گذارند. سایر شاخص‌های کلیدی مؤثر بر سمیت شامل نسبت ابعاد، اصلاحات، پوشش‌های سطحی و ساختار بلوری هستند (Mazari *et al*., 2021). نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به عنوان یکی از نانوذرات پرکاربرد در رنگ‌ها، سیمان، کرم‌های ضدآفتاب، محصولات آرایشی خودرو، کاتالیزورها، دستگاه‌های محافظت در برابر اشعه ماوراء بنفش و باتری‌ها به‌کار می‌روند به‌طوری‌که در سال ۲۰۰۵، تولید جهانی دی‌اکسید تیتانیوم در مقیاس نانو حدود ۲۰۰۰ تن بود. تا سال ۲۰۱۰، تولید دی‌اکسید تیتانیوم نانومقیاس ۲۵۰ درصد افزایش یافت و به ۵۰۰۰ تن رسید و انتظار می‌رود که این روند حداقل تا سال ۲۰۲۵ ادامه یابد (Asztemborska *et al*., 2018). استرس به عنوان ویژگی ذاتی موجودات زنده در مواجهه با محرک‌های خارجی در نظر گرفته می‌شود. ماهیان در پاسخ‌های فیزیولوژیک خود به استرس تنوع گسترده‌ای نشان می‌دهند که به‌وضوح در تغییرات کورتیکوستروئید پلاسمایی به‌ویژه کورتیزول و گلوکز پس از یک رویداد استرس‌زا قابل مشاهده است (Barton, 2002). ماهی پلاتی تاکسیدو (*Xiphophorus maculatus*) یکی از ماهیان زینتی مناسب مدل آزمایشگاهی در مطالعات توکسیکولوژی آبزیان به‌شمار می‌رود که به دلیل جثه کوچک، رشد سریع، چرخه تولیدمثلی کوتاه و حساسیت بالا به آلاینده‌های محیطی، در بسیاری از پژوهش‌های زیست‌محیطی و سم‌شناسی مورد استفاده قرار گرفته است. از منظر آبزی‌پروری، بررسی اثرات نانومواد بر ماهیان اقتصادی و گونه‌های مدل اهمیت دوچندانی دارد، زیرا استفاده بی‌رویه از این ترکیبات بدون شناخت پیامدهای زیستی آنها می‌تواند منجر به خسارات اقتصادی و کاهش کارایی تولید گردد. به‌علاوه، مطالعات پیشین نشان داده‌اند که قرارگیری ماهیان در معرض نانوذرات دی اکسید تیتانیوم می‌تواند منجر به استرس اکسیداتیو، آسیب‌شناسی اندام‌ها و کاهش نرخ رشد شود (Perera and Pathiratne, 2012). بنابراین، بررسی تأثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر شاخص‌های استرس در ماهی پلاتی تاکسیدو از دو منظر کاربردی و بنیادی ضرورت دارد و مطالعه حاضر با این هدف انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای اجرای آزمایش حاضر، ماهیان پلاتی تاکسیدو (*Xiphophorus maculatus*) با میانگین وزن ۰/۴۵±۲/۶۵ گرم از مراکز فروش ماهیان زینتی شهر چابهار تهیه و برای سازگاری با شرایط آزمایشگاهی در مدت زمان ۲ هفته در مخازن ۶۰ لیتری به تعداد ۱۵ قطعه ماهی در هر مخزن ذخیره‌سازی شدند. طی دوره مطالعه، میانگین pH، اکسیژن و دمای آب در مخازن به‌ترتیب ۷/۸۸، ۷/۱ و ۲۲/۶۳ درجه سانتی‌گراد بود. دوره نوری نیز به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد (Méndez-Martínez *et al*., 2018). در طول دوره سازش‌پذیری ماهیان به میزان ۲ درصد وزن بدن و دو بار در روز غذادهی شدند. قبل از هر بار غذادهی تمیز کردن مخازن از طریق سیفون کردن کف انجام می‌شد. هوادهی در مخازن بصورت ملایم و مداوم انجام می‌شد. درصد تعویض آب روزانه ۲۰ درصد بود (Liu *et al*., 2015). پس از اتمام دوره سازش‌پذیری و ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایشات سمیت مزمن، برای جلوگیری از تجمع مدفوع در مخازن، تغذیه ماهیان قطع شد، تا از این طریق از جذب نانوذرات به مواد غذایی و مدفوع ماهیام جلوگیری شود (Welsh *et al*., 2008). با توجه به غلظت کشندگی میانی ($LC_{50\text{-}96h}$) نانوذرات دی اکسید تیتانیوم که برای این ماهی برابر با ۲۵۵/۴۹ میلی‌گرم در لیتر تعیین شده بود (کشاورز و بیتا، ۱۴۰۱)، در ادامه به منظور انجام آزمایش‌های سمیت تحت کشنده، ماهیان

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

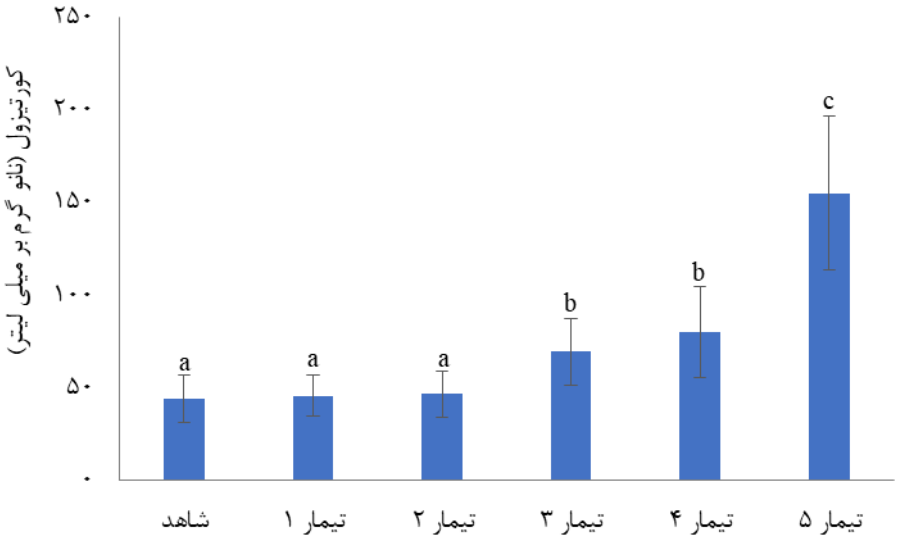
به مدت ۲۱ روز در معرض غلظت‌های مختلف نانوذرات دی اکسید تیتانیوم شامل ($10\%LC_{50}$: تیمار ۱)، ($15\%LC_{50}$ تیمار ۲)، ($25\%LC_{50}$ تیمار ۳)، ($50\%LC_{50}$ تیمار ۴) و ($75\%LC_{50}$ تیمار ۵) و یک تیمار نیز به عنوان تیمار شاهد مجاورسازی شدند. برای سنجش شاخص‌های استرس پس از پایان روز ۲۱، از هر مخزن ۳ عدد ماهی (۹ ماهی از هر تیمار) به آرامی بوسیله تور دستی ساچوک صید شده و هر کدام جداگانه در تشت‌های پلاستیکی ۱۰ لیتری حاوی محلول ۲۰۰ میلی گرم در لیتر پودر گل میخک بیهوش شدند. بلافاصله پس از بیهوشی، خون‌گیری ماهیان با استفاده از سوزن و سرنگ انسولین از ناحیه قلب صورت گرفت. برای تهیه سرم، نمونه‌های خون جمع‌آوری شده با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و فاز بالایی استخراج و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Harikrishnan *et al*.,2012). شاخص‌های استرس شاملکورتیزول با روش ایمنوسنجی آنزیمی (ELISA) و با استفاده از کیت اختصاصی ماهی (Cusabio Biotech, China) سنجیده شد (Sadoul and Geffroy, 2019). غلظت گلوکز پلاسما بر اساس روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد. در این روش، گلوکز موجود در نمونه پلاسما توسط آنزیم اختصاصی گلوکز اکسیداز به گلوکونیک اسید و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. مقدار پراکسید هیدروژن تولیدی به روش Trinder (۱۹۶۹) سنجش گردید. لاکتات به روش رنگ‌سنجی با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون، ایران برحسب میلی مول در لیتر محاسبه شد. کلیه تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها نیز آزمون چنددامنه‌ای توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد به‌کار گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از سنجش هورمون کورتیزول نشان داد که سطح آن در تیمارهای ۱ و ۲ تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت ($p<0/05$) و در محدوده ۴۶-۴۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر باقی ماند. با این‌حال، در تیمار ۳ و ۴ افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت که از نظر آماری نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($p<0/05$). در تیمار ۵ سطح کورتیزول با تفاوت معنی‌دار ($p<0/05$)، نسبت به تمام تیمارها، به طور چشمگیری تا ۱۵۵/۱۳نانوگرم بر میلی‌لیتر افزایش یافت (شکل ۱).

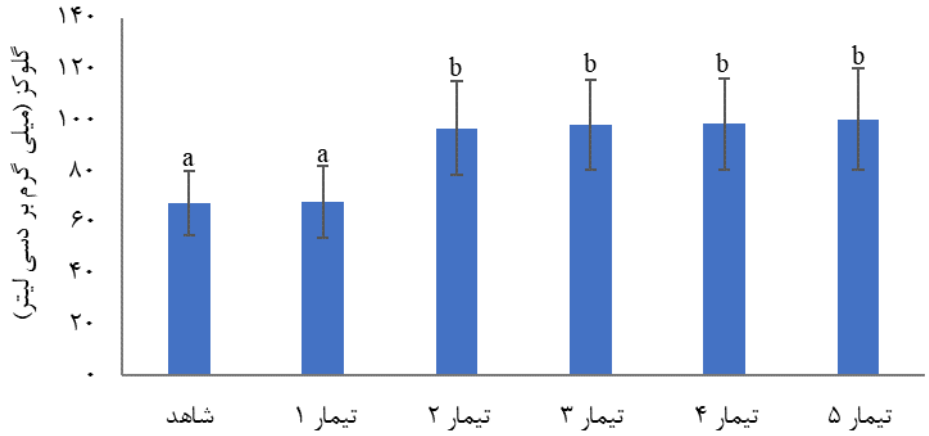
میزان گلوکز خون نیز روندی افزایشی و دوز–وابسته نشان داد و از تیمار ۲ به بعد افزایش محسوسی در مقدار آن مشاهده شد (شکل ۲). غلظت گلوکز از ۶۷/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در گروه شاهد به ۹۶/۹۰ در تیمار ۲ و حدود ۱۰۰-۹۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در تیمارهای ۳ الی ۵ رسید. این تغییرات در تیمارهای ۲ الی ۵ نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($p<0/05$).

لاکتات خون تغییر چندانی بین تیمارها و شاهد نشان نداد ($p>0/05$) و در محدوده ۱/۸۶-۱/۷۵ میلی‌مول بر لیتر باقی ماند (شکل ۳).

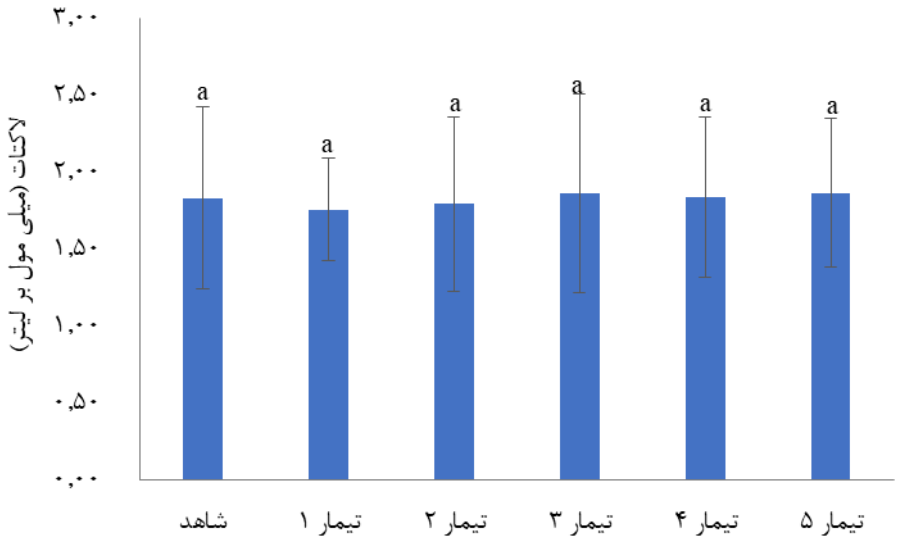


شکل ۱: تغییرات کورتیزول در ماهی پلاتی تاکسیدو در مواجهه با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معناداری بین تیمارها است ($p<0/05$).

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]
[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]



شکل ۲: تغییرات گلوکز در ماهی پلاتی تاکسیدو در مواجهه با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معناداری بین تیمارها است (p<۰/۰۵).



شکل ۳: تغییرات لاکتات در ماهی پلاتی تاکسیدو در مواجهه با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم (حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معناداری بین تیمارها است (p<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

در ماهی‌ها، پاسخ استرس با محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-اینترارنال (HPI) مرتبط است. این محور مسیر ارتباط بین سیستم عصبی، غدد درون‌ریز و سیستم کلیوی را برای مقابله با استرس مشخص می‌کند. در میان نشانگرهای زیستی مختلف پاسخ‌های استرسی، هورمون کورتیزول به عنوان شاخصی قابل اعتماد در ارزیابی استرس ناشی از آلاینده‌های آلی در ماهیان شناخته شده است که در قشر غده فوق‌کلیه در مهره‌داران تولید می‌شود و کاربردهای عملی ارزشمندی در برنامه‌های زیست‌پایش دارد (Lemos *et al.*, 2023). یافته‌ها نشان داد که غلظت هورمون کورتیزول در تیمار ۵ با دستیابی به ۱۵۵/۱۳نانوگرم بر میلی‌لیتر چندین برابر مقدار شاهد ثبت گردید (p<۰/۰۵) که این موضوع احتمالاً با پاسخ استرسی در ماهی مرتبط است (Pijanowski *et al.*, 2015) و نشان‌دهنده بروز استرس شدید ناشی از غلظت‌های بالای نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم است. در مطالعه Teles و همکاران (۲۰۱۷) نتایج مشابهی طی مواجهه ماهی شانک دریایی (*Sparus aurata*) با

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]
[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

نانوذرات طلا و مطالعه Rahman و همکاران (۲۰۲۲) در مواجهه با نانوذرات سیلیکا در گربه ماهی آفریقایی گزارش شده است. در مطالعه Rundle و همکاران (۲۰۱۶) قرارگیری ماهیان *Catostomus commersonii* در معرض نانوذرات اکسید سریوم باعث افزایش معنی‌دار سطح کورتیزول پلاسمایی شد که نتایجی مشابه تحقیق حاضر است. در مطالعه Mahmoud و همکاران (۲۰۲۴) در مواجهه گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) با نانوذرات اکسید روی، سطح کورتیزول به طور معناداری بالاتر از گروه شاهد بود ($p<۰/۰۵$). کورتیزول یک هورمون اصلی استرس است که از سلول‌های اینترنال ترشح می‌شود و باعث آزادسازی انرژی ذخیره‌شده در بدن می‌گردد. در بسیاری از موارد، این فرآیند شامل آزادسازی گلوکز به جریان خون است تا نیاز انرژی افزایش‌یافته در بافت‌های تحت تأثیر را تأمین کند (Pijanowski *et al*., 2015). Bessemer و همکاران (۲۰۱۵) نیز گزارش نمودند که طی مواجهه ماهی *Catostomus commersonii* با نانوذرات اکسید، سطح کورتیزول تغییر نکرد. همچنین برخی از محققین اظهار داشتند که افزایش کورتیزول در ماهیان مواجهه شده با نانوذرات می‌تواند بر سیستم ایمنی ماهی نیز اثر منفی داشته باشد (Fayed *et al*., 2019; Mansour *et al*., 2020) که چنین روندی در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد و همزمان با افزایش سطح این هورمون در غلظت‌های بالای نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سطح فعالیت برخی از شاخص‌های آنزیمی کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). گلوکز اصلی‌ترین ترکیب انرژی‌زای بالا در مهره‌داران است که همراه با کورتیزول به عنوان شاخص استرس استفاده می‌شود. مازاد گلوکز در بافت‌های ماهیچه و کبد به صورت گلیکوژن ذخیره می‌شود درحالی‌که سطح آن در سرم تحت کنترل سیستم غدد درون‌ریز قرار دارد و عوامل استرس‌زا (گرسنگی، تولیدمثل، شرایط کم‌اکسی و قرارگیری در معرض فلزات سنگین و نانوذرات فلزی با تغییر متابولیسم کربوهیدرات‌ها)، سطح گلوکز سرم را تحت تأثیر قرار می‌دهند. افزایش سطح گلوکز سرم می‌تواند ناشی از افزایش گلیکوژنولیز باشد که به دلیل نیاز انرژی بالاتر تحت تأثیر استرس فلزی رخ می‌دهد (Tunçsoy, 2021). در مطالعه حاضر، غلظت گلوکز خون به صورت وابسته به غلظت افزایش یافت به‌طوری‌که از ۶۷/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در شاهد به ۹۶/۹ در تیمار ۲ و حدود ۱۰۰-۹۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در تیمارهای ۳ الی ۵ رسید و این افزایش در تیمارهای ۲ الی ۵ نسبت به شاهد معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$)، این افزایش به دلیل گلیکوژنولیز بود تا انرژی لازم برای تأمین نیازهای متابولیک افزایش‌یافته ناشی از استرس نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در ماهی پلاتی تاکسیدو فراهم شود. تغییرات گلوکز معمولاً الگوهای مشابهی با کورتیزول پس از مواجهه با استرسور نشان می‌دهند (Raposo *et al*., 2020). این موضوع در مطالعه حاضر نیز با تغییرات سطوح کورتیزول و گلوکز پلاسمایی ثبت‌شده در تیمارهای آزمایشی تأیید شد. همچنین از دیگر دلایل افزایش گلوکز خون ناشی از ترشح کورتیزول از محور HPI است (Pijanowski *et al*., 2015) و افزایش سطح گلوکز پلاسمایی نشان‌دهنده ترشح کاتکولامین‌ها و گلوکوکورتیکوئیدها از بافت‌های آدرنال ماهی‌ها در شرایط استرسی است (Shaluei *et al*., 2013). همچنین نشان داده شده است که استرس‌های محیطی می‌توانند سطح گلوکز خون را افزایش دهند (Malini *et al*., 2018). در مطالعه Shaluei و همکاران (۲۰۱۳) نیز در ماهی ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) طی مواجهه با نانوذرات نقره، سطح گلوکز خون در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت که نتایج این مطالعه مشابه نتایج تحقیق حاضر است. در مطالعه Tunçsoy (۲۰۲۱) طی مواجهه گربه ماهی آفریقایی با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، نتایج مشابهی گزارش شد. تغییرات مشابه در شاخص‌های استرس از جمله کورتیزول و گلوکز در مطالعه Farmen و همکاران (۲۰۱۲) نیز در ماهی‌های جوان سالمون اطلس (*Salmo salar*) که در معرض غلظت‌های پایین نانوذرات نقره قرار گرفته بودند نیز گزارش شد. در همین زمینه محققین مختلف نیز گزارش نمودند که قرارگیری حاد ماهیان آب شیرین در معرض انواع سموم (نانوذرات)، باعث تغییر وضعیت فیزیولوژیک ماهی‌ها از جمله شاخص‌های استرس (کورتیزول و گلوکز)، می‌شود (Mahboub *et al*., 2021, Rashidian *et al*., 2021). همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، مطالعات متعدد نشان داده‌اند که سطح گلوکز سرم تحت شرایط استرس افزایش می‌یابد (Iwama *et al*., 1999; Cicik and Engin, 2005; Ramesh *et al*., 2007; Abdel-Khalek *et al*., 2020). بر خلاف نتایج مطالعه حاضر، Teles و همکاران (۲۰۱۷) گزارش نمودند که طی مواجهه ماهی شانک دریایی (*Sparus aurata*) با نانوذرات طلا، سطح گلوکز تغییری نشان نداد. صرف‌نظر از استفاده از گلوکز به عنوان شاخص استرس در ماهیان، برخی

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

مطالعات افزایش سطح کورتیزول پلاسمایی را همراه با سطح گلوکز پلاسمایی بدون تغییر یا حتی کاهش یافته گزارش کردند (Teles *et al*., 2003; Teles *et al*., 2016)، این تناقضات به این دلیل رخ می‌دهد که سطح گلوکز پلاسمایی در ماهیان علاوه بر استرس، به عوامل دیگری از جمله وضعیت تغذیه‌ای، مرحله زندگی و نرخ پاک‌سازی گلوکز نیز وابسته است (Mommsen *et al*., 1999). پس از ترشح، کورتیزول باعث ایجاد یک سلسله تغییرات در شیمی خون و بافت‌ها می‌شود که به ماهی امکان واکنش را به استرس می‌دهد، از جمله افزایش سطح گلوکز پلاسما برای تأمین انرژی بیشتر (Murray *et al*., 2017) که چنین روندی در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد. زیرا سطح بالای کورتیزول در ماهیان باعث تحریک و افزایش تولید گلوکز از طریق فرآیندهای گلیکونز و گلیکونولیز می‌شود تا نیاز انرژی ایجادشده به‌وسیله عامل استرس برای واکنش «جنگ یا گریز» تأمین گردد (Teles *et al*., 2017). پاسخ‌های استرسی در ماهیان از سطح مولکولی و سلولی آغاز می‌شوند. در صورت کنترل‌نشدن، این پاسخ‌ها می‌توانند هموستازی فردی را بر هم زنند و به تغییرات فیزیولوژیک و متابولیک و در نهایت به اختلال در عملکرد ارگانیسم منجر شوند. پاسخ‌های اولیه شامل تغییرات غدد درون‌ریز، مانند افزایش غلظت کاتکول‌آمین‌ها و کورتیکواستروئیدها است. پاسخ‌های ثانویه متابولیک شامل تغییر در تعادل آب و املاح و عملکردهای قلبی-عروقی، تنفسی و ایمنی هستند (افزایش غلظت گلوکز و لاکتات، افزایش تولید پروتئین‌های شوک حرارتی و تغییر در تولید آنتی‌بادی‌ها). در نهایت، پاسخ‌های ثالث در سطح کل‌ارگانیسم بروز می‌یابند و به تغییر در کارایی حیوان (رشد، مقاومت در برابر بیماری‌ها و الگوهای رفتاری)، منجر می‌شوند (Lemos *et al*., 2023) که در مطالعه حاضر نیز افزایش گلوکز در غلظت‌های بالای نانوذرات نیز نشان دهنده استرس شدید بود و منجر به فعال شدن پاسخ‌های ثانویه از جمله افزایش گلوکز و لاکتات شد. لاکتات یک متابولیت یا محصول نهایی است که در مسیر گلیکولیز بی‌هوازی در سلول تولید می‌شود. وقتی گلوکز شکسته می‌شود و اکسیژن کافی در دسترس نیست، پیرووات به لاکتات تبدیل می‌شود تا انرژی تولید شود. سطح پلاسمایی کورتیزول همراه با گلوکز و لاکتات از رایج‌ترین شاخص‌های فیزیولوژیک برای ارزیابی استرس در ماهی‌ها محسوب می‌شوند (Raposo *et al*., 2020). گلوکز و لاکتات متابولیت‌های پاسخ ثانویه به استرس هستند که می‌توانند میزان استرس در ماهیان را نشان دهند (Vaage *et al*., 2023). در مطالعه حاضر، بر خلاف کورتیزول و گلوکز، تغییرات سطح لاکتات ماهی پلاتی تاکسیدو الگوی متفاوتی نسبت به این دو شاخص داشت. این موضوع می‌تواند با ناتوانی ماهی در حفظ سطوح گلوکز خون به دلیل نیاز بالا به جابه‌جایی گلوکز به سایر بافت‌ها مرتبط باشد. به‌علاوه، سایر مطالعات نشان می‌دهند که تغییرات گلوکز خون و لاکتات تنها ناشی از هورمون‌ها و استرس نیست، بلکه عواملی مانند تغییرات دما و pH آب، بیهوشی، ترکیب رژیم غذایی یا پرهیز از تغذیه نیز می‌توانند سطوح این شاخص‌ها را تحت تأثیر قرار دهند (Raposo *et al*., 2020). میزان لاکتات خون در ماهیان پلاتی تاکسیدو اگرچه با افزایش غلظت نانوذرات دی اکسید تیتانیوم افزایش یافت، اما تاثیر آماری معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد ($p>0/05$). یک توضیح جایگزین این است که استرس اکسیداتیو مرتبط با قرارگیری در معرض نانوذرات، پروتئین‌های کلیدی را غیر فعال می‌کند و مانع از ایجاد پاسخ استرسی مرتبط با لاکتات و افزایش نرخ متابولیسم در حیوانات می‌شود (Bessemer *et al*., 2015). در مطالعه Bessemer و همکاران (۲۰۱۵) بر ماهی *Catostomus commersonii* طی مواجهه با نانوذرات اکسید روی، نتایج مشابهی گزارش شد. در مطالعه Rundle و همکاران (۲۰۱۶) نیز تغییر قابل‌توجهی در سطح گلوکز و لاکتات ماهی *Catostomus commersonii* مواجهه شده با نانوذرات اکسید سریوم مشاهده نشد. همچنین همسو با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه Valerio-García و همکاران (۲۰۱۷) طی مواجهه ماهی *Chapalichthys pardalis* با نانوذرات نقره، سطح لاکتات تغییر نکرد. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه Raposo و همکاران (۲۰۲۰) بر ماهی شانک دریایی (*Sparus aurata*)، تغییرات سطح لاکتات گردش خون الگوی مشابهی با تغییرات کورتیزول و گلوکز نداشت. افزایش غلظت این متابولیت می‌توانست نشان‌دهنده اختلال متابولیک و تنش تنفسی حاد باشد، اما با توجه به این‌که در مطالعه حاضر سطح لاکتات در مقایسه با گروه شاهد تغییر معنی‌داری نداشت، می‌توان گفت که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با وجود این‌که موجب مصرف بالای انرژی از طریق استرس ایجاد شده شدند، اختلال تنفسی قابل‌توجهی در این ماهی ایجاد نکردند (Valerio-García *et al*., 2017)، چنین روندی در مطالعه Valerio-García و همکاران (۲۰۱۷) طی مواجهه ماهی *Chapalichthys pardalis* با نانوذرات نقره نیز مشاهده شد.

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

در مجموع، نتایج شاخص‌های استرس نشان داد که مواجهه با نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر، موجب افزایش معنی‌دار سطح کورتیزول و گلوکز می‌شود که بیانگر فعال‌شدن محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–کلیه و پاسخ فیزیولوژیک به استرس اکسیداتیو و التهابی است در حالی‌که لاکتات به عنوان شاخص متابولیسم بی‌هوازی تغییر معنی‌داری نشان نداد و نقش آن در پاسخ استرسی این گونه ماهی کمتر بارز بود و و نشان می‌دهد که استرس القاءشده عمدتاً هورمونی و متابولیک بوده و کمتر به سمت تغییر در متابولیسم بی‌هوازی پیش رفته است.

منابع

Abdel-Khalek, A.A., Badran, S.R. and Marie, M.A.S., 2020. The effective adsorbent capacity of rice husk to iron and aluminum oxides nanoparticles using *Oreochromis niloticus* as a bioindicator: biochemical and oxidative stress biomarkers. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(18), pp. 23159-23171. DOI:10.1007/s11356-020-08906-x

Asztemborska, M., Jakubiak, M., Stęborowski, R., Chajduk, E. and Bystrzejewska-Piotrowska, G., 2018. Titanium dioxide nanoparticle circulation in an aquatic ecosystem. *Water, Air & Soil Pollution*, 229(6), 208 P. DOI:10.1007/s11270-018-3852-8

Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), pp. 517-525. DOI:10.1093/icb/42.3.517

Bessemer, R.A., Butler, K.M.A., Tunnah, L., Callaghan, N.I., Rundle, A., Currie, S., Dieni, C.A. and MacCormack, T.J., 2015. Cardiorespiratory toxicity of environmentally relevant zinc oxide nanoparticles in the freshwater fish *Catostomus commersonii*. *Nanotoxicology*, 9(7), pp. 861-870. DOI:10.3109/17435390.2014.982737

Blandón-González, B., Trompeta, A.F. and Mercader-Moyano, P., 2025. Advanced Materials: Introduction to Nanotechnology. In Life Cycle Analysis Based on Nanoparticles Applied to the Construction Industry: *A Comprehensive Curriculum.* pp. 61-73. DOI:10.1007/978-3-031-79115-4_4

Cicik, B. and Engin, K., 2005. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 29(1), pp. 113-117. DOI:10.1029/j.tubitak.gov.tr/veterinary.2005.29.1/19

Farmen, E., Mikkelsen, H.N., Evensen, Ø., Einset, J., Heier, L.S., Rosseland, B.O., Salbu, B., Tollefsen, K.E. and Oughton, D.H., 2012. Acute and sub-lethal effects in juvenile Atlantic salmon exposed to low µg/L concentrations of Ag nanoparticles. *Aquatic Toxicology*, 108, pp. 78-84. DOI:10.1016/j.aquatox.2011.07.007

Fayed, W.M., Khalil, R.H., Sallam, G.R., Mansour, A.T., Elkhayat, B.K. and Omar, E.A., 2019. Estimating the effective level of *Yucca schidigera* extract for improvement of the survival, haematological parameters, immunological responses and water quality of European seabass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Reports*, 15, 100208 P. DOI:10.1016/j.aqrep.2019.100208

Harikrishnan, R., Kim, J.S., Balasundaram, C. and Heo, M.S., 2012. Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in *Epinephelus bruneus* against *Vibrio alginolyticus* infection. *Aquaculture*, 326, pp. 46-52. DOI:10.1016/j.aquaculture.2011.11.034

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

Iwama, G.K., Vijayan, M.M., Forsyth, R.B. and Ackerman, P.A., 1999. Heat shock proteins and physiological stress in fish. *American Zoologist*, 39(6), pp. 901-909. DOI:10.1093/icb/39.6.901

Keshavarz, M. and Bita, S., 2022. Determination of Median Lethal Concentration (LC_{50}) of Chemically and Biologically Synthesized Titanium Dioxide Nanoparticles in Platy Fish (*Xiphophorus maculatus*). *Journal of Aquaculture Sciences*, 10(1), pp. 1-9. https://www.magiran.com/p2453287 (in Persian)

Khan, I., Saeed, K. and Khan, I., 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), pp. 908-931. DOI:10.1016/j.arabjc.2017.05.011

Lemos, L.S., Angarica, L.M., Hauser-Davis, R.A. and Quinete, N., 2023. Cortisol as a stress indicator in fish: sampling methods, analytical techniques, and organic pollutant exposure assessments. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(13), 6237 P. DOI:10.3390/ijerph20136237

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), pp. 43-49. DOI:10.1080/15222055.2014.955157

Mahboub, H.H., Khedr, M.H., Elshopakey, G.E., Shakweer, M.S., Mohamed, D.I., Ismail, T.A., Ismail, S.H. and Rahman, A.N.A., 2021. Impact of silver nanoparticles exposure on neuro-behavior, hematology, and oxidative stress biomarkers of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture*, 544, 737082 P. DOI:10.1016/j.aquaculture.2021.737082

Mahmoud, A.S., Sayed, A.E.D.H., Mahmoud, U.T., Mohammed, A.A. and Darwish, M.H., 2024. Impact of zinc oxide nanoparticles on the behavior and stress indicators of African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to heat stress. *BMC Veterinary Research*, 20(1), 474 P. DOI:10.1186/s12917-024-04302-6

Malini, D.M., Apriliandri, A.F. and Arista, S., 2018. Increased blood glucose level on pelagic fish as response to environmental disturbances at east coast Pangandaran, West Java. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 166, No. 1, p. 012011). IOP Publishing. DOI:10.1088/1755-1315/166/1/012011

Mansour, A.T., Espinosa, C., García-Beltrán, J.M., Miao, L., Ceballos Francisco, D.C., Alsaqufi, A.S. and Esteban, M., 2020. Dietary supplementation of drumstick tree, Moringa oleifera, improves mucosal immune response in skin and gills of seabream, *Sparus aurata*, and attenuates the effect of hydrogen peroxide exposure. *Fish physiology and biochemistry*, 46(3), pp. 981-996. DOI:10.1007/s10695-020-00763-2

Mazari, S.A., Ali, E., Abro, R., Khan, F.S.A., Ahmed, I., Ahmed, M., Nizamuddin, S., Siddiqui, T.H., Hossain, N., Mubarak, N.M. and Shah, A., 2021. Nanomaterials: Applications, waste-handling, environmental toxicities, and future challenges–A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2), 105028 P. DOI:10.1016/j.jece.2021.105028

Méndez-Martínez, Y., García-Guerrero, M.U., Arcos-Ortega, F.G., Martínez-Córdova, L.R., Yamasaki-Granados, S., Pérez-Rodríguez, J.C. and Cortés-Jacinto, E., 2018. Effect of

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

gariepinus). *Aquaculture Reports*, 23, 101034 P. DOI:10.1016/j.aqrep.2022.101034

Ramesh, M., Kumaran, S.S., Kavith, C., Saravanan, M. and Mustafa, A., 2007. Primary stress responses of common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to copper toxicity. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 37, pp. 81-85. DOI:10.3750/aip2007.37.2.02

Raposo de Magalhães, C., Schrama, D., Farinha, A.P., Revets, D., Kuehn, A., Planchon, S., Rodrigues, P.M. and Cerqueira, M., 2020. Protein changes as robust signatures of fish chronic stress: a proteomics approach to fish welfare research. *BMC Genomics*, 21(1), 309 P. DOI:10.1186/s12864-020-6728-4

Rashidian, G., Lazado, C.C., Mahboub, H.H., Mohammadi-Aloucheh, R., Prokić, M.D., Nada, H.S. and Faggio, C., 2021. Chemically and green synthesized ZnO nanoparticles alter key immunological molecules in common carp (*Cyprinus carpio*) skin mucus. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 3270 P. DOI:10.3390/ijms22063270

Rundle, A., Robertson, A.B., Blay, A.M., Butler, K.M., Callaghan, N.I., Dieni, C.A. and MacCormack, T.J., 2016. Cerium oxide nanoparticles exhibit minimal cardiac and cytotoxicity in the freshwater fish *Catostomus commersonii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 181, pp. 19-26. DOI:10.1016/j.cbpc.2015.12.007

Sadoul, B. and Geffroy, B., 2019. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology*, 94(4), pp. 540-555. DOI:10.1111/jfb.13904

Shaluei, F., Hedayati, A., Jahanbakhshi, A., Kolangi, H. and Fotovat, M., 2013. Effect of different ratios of dietary protein-energy on growth, body proximal composition, digestive enzyme activity, and hepatopancreas histology in *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868) prawn juveniles. *Aquaculture*, 485, pp. 1-11. DOI:10.1016/j.aquaculture.2017.11.012

Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. and Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleost: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9(3), pp. 211-268. DOI:10.1023/a:1008924418720

Murray, L., Rennie, M.D., Enders, E.C., Pleskach, K. and Martin, J.D., 2017. Effect of nanosilver on cortisol release and morphometrics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(6), pp. 1606-1613. DOI:10.1002/etc.3691

Perera, S.A.D.S. and Pathiratne, A.S.O.K.A., 2014. Haemato-immunological and histological responses in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to titanium dioxide nanoparticles. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences*, 17, pp. 1-18. DOI:10.4038/sljas.v17i0.6852

Pijanowski, L., Jurecka, P., Irnazarow, I., Kepka, M., Szwejser, E., Verburg-van Kemenade, B.M.L. and Chadzinska, M., 2015. Activity of the hypothalamus–pituitary–interrenal axis (HPI axis) and immune response in carp lines with different susceptibility to disease. *Fish physiology and biochemistry*, 41(5), pp. 1261-1278. DOI:10.1007/s10695-015-0084-3

Rahman, A.N.A., Shakweer, M.S., Algharib, S.A., Abdelaty, A.I., Kamel, S., Ismail, T.A., Daoush, W.M., Ismail, S.H. and Mahboub, H.H., 2022. Silica nanoparticles acute toxicity alters ethology, neuro-stress indices, and physiological status of African catfish (*Clarias*

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

106(4), pp. 629-636. DOI:10.1007/s00128-020-03100-8

Vaage, B.M., Liss, S.A., Fischer, E.S., Khan, F. and Hughes, J.S., 2023. Can portable glucose and lactate meters be a useful tool in quantifying stress of juvenile Chinook salmon. *Conservation Physiology*, 11(1), pp. 1-9. DOI:10.1093/conphys/coad046

Valerio-García, R.C., Carbajal-Hernández, A.L., Martínez-Ruíz, E.B., Jarquín-Díaz, V.H., Haro-Pérez, C. and Martínez-Jerónimo, F., 2017. Exposure to silver nanoparticles produces oxidative stress and affects macromolecular and metabolic biomarkers in the goodeid fish *Chapalichthys pardalis*. *Science of the Total Environment*, 583, pp. 308-318. DOI:10.1016/j.scitotenv.2017.01.070

Welsh, P.G., Lipton, J., Mebane, C.A. and Marr, J.C., 2008. Influence of flow-through and renewal exposures on the toxicity of copper to rainbow trout. *Ecotoxicology and environmental safety*, 69(2), pp. 199-208. DOI:10.1016/j.ecoenv.2007.04.003

subacute exposure to silver nanoparticle on some hematological and plasma biochemical indices in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Human & Experimental Toxicology*, 32(12), pp. 1270-1277. DOI:10.1177/0960327113485258

Teles, M., Pacheco, M. and Santos, M.A., 2003. *Anguilla anguilla* L. liver ethoxyresorufin O-deethylation, glutathione S-tranferase, erythrocytic nuclear abnormalities, and endocrine responses to naphthalene and β-naphthoflavone. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55(1), pp. 98-107. DOI:10.1016/s0147-6513(02)00134-3

Teles, M., Fierro-Castro, C., Na-Phatthalung, P., Tvarijonaviciute, A., Soares, A.M.V.M., Tort, L. and Oliveira, M., 2016. Evaluation of gemfibrozil effects on a marine fish (*Sparus aurata*) combining gene expression with conventional endocrine and biochemical endpoints. *Journal of Hazardous Materials*, 318, pp. 600-607. DOI:10.1016/j.jhazmat.2016.07.044

Teles, M., Soares, A.M.V.M., Tort, L., Guimarães, L. and Oliveira, M., 2017. Linking cortisol response with gene expression in fish exposed to gold nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 584, pp. 1004-1011. DOI:10.1016/j.scitotenv.2017.01.153

Trinder, P., 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of Clinical Biochemistry*, 6(1), pp. 24-27. DOI:10.1177/000456326900600108

Tunçsoy, M., 2021. Impacts of titanium dioxide nanoparticles on serum parameters and enzyme activities of *Clarias gariepinus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*,

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]

Subacute Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles on Physiological Stress Markers in Platy Fish (*Xiphophorus maculatus*)

Miri M.[1]; Bita S.[1*]

*serajbita@yahoo.com

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

Abstract

Titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs), widely used in industrial and personal care products, are increasingly detected in aquatic systems, raising concerns about their physiological impacts on fish. This study assessed the subacute toxicity of TiO_2 NPs in platy fish (*Xiphophorus maculatus*) during a 21-day exposure. Fish (2.65 ± 0.45 g) were exposed to five concentrations corresponding to 10, 15, 25, 50, and 75% of the 96-h LC_{50}, with a nanoparticle-free group serving as the control. Exposure to TiO_2 NPs caused significant elevations in plasma cortisol and glucose ($p<0.05$), indicating activation of the hypothalamic–pituitary–interrenal axis and metabolic stress. Lactate levels showed no significant alteration ($p>0.05$), implying limited involvement of anaerobic pathways. Overall, the findings suggest that environmentally relevant TiO_2 NP concentrations can disrupt physiological homeostasis in platy fish and may pose risks to fish health in contaminated habitats.

Keywords: Titanium dioxide nanoparticles; Subacute toxicity; Stress biomarkers; Cortisol; Glucose; *Xiphophorus maculatus*

[Downloaded from ornamentalaquatics.ir on 2026-07-03]

[DOI: 10.22034/JOA.12.4.29]