مقایسه سمیت حاد (LC_{50}) نانو ذرات نقره شیمیایی و نانو ذرات بیوسنتز شده توسط جلبک دریایی *Sargasum angustifolium* در ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*)

بهرام گندمی[1*]
وحید یاوری[2]
مجتبی علیشاهی[3]
محمد ذاکری[4]
سید محمد موسوی[5]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۳. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۴. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.
۵. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

***مسئول مکاتبات:**
bhgandomi@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۹۰۴۸۵۸
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۶
این مقاله پژوهشی و برگرفته از رساله دکتری است.

چکیده

این پژوهش باهدف بیوسنتز نانو ذرات نقره با استفاده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* و مقایسه سمیت حاد (LC_{50}) آن با نانو ذرات نقره شیمیایی در ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) در سال ۱۳۹۷ در شهرستان اهواز انجام شد. پس از تهیه عصاره آبی از جلبک سارگاسوم سنتز نانو ذرات نقره از طریق اضافه کردن نیترات نقره به عصاره جلبک انجام گرفت. سپس برای تعیین میزان سمیت این نانو ذرات بیوسنتزی و مقایسه با نانو ذرات شیمیایی از آزمایش تعیین سمیت حاد (LC_{50} ۹۶ ساعته) بر اساس روش استاندارد OECD (Organization for Economic Cooperation andDevelopment) استفاده گردید. در این روش ماهی‌ها با غلظت‌های متوالی نانو ذرات مجاور شده و تلفات طی ۹۶ ساعت ثبت و با نرم‌افزار پروبیت آنالیز گردید. نتایج نشان داد که میزان LC_{50} ۹۶ ساعته نانو ذرات شیمیایی و بیوسنتزی تولیدی در ماهی باس دریایی آسیایی به ترتیب برابر ۱/۵۶ و ۱۹/۶۶ میلی‌گرم در لیتر بود. لذا می‌توان نتیجه گرفت نانو ذرات بیوسنتزی حدود ۱۳ برابر سمیت کمتری نسبت به نانو ذرات شیمیایی در ماهی باس دریایی آسیایی دارد و استفاده از نانو ذرات بیوسنتزی به‌جای نانو ذرات شیمیایی سمیت کمتر و ارجحیت زیست‌محیطی بالاتری دارد.

واژگان کلیدی: جلبک دریایی *Sargassum angustifolium*، ماهی باس دریایی آسیایی، نانو ذرات نقره، بایوسنتز، سمیت، LC_{50}.

مقدمه

فناوری نانو واژه‌ای است کلی که به تمام فناوری‌های پیشرفته در عرصه‌ی کار با مقیاس نانو اطلاق می‌شود. معمولاً منظور از مقیاس نانو ابعادی در حدود ۱۰۰-۱ نانومتر می‌باشد. با کوچک‌تر شدن ذرات و عبور از وضعیت میکرو ذرات به نانو ذرات، نسبت سطح به حجم افزایش می‌یابد و رفتار اتم‌های روی سطح یک‌ذره بر آن‌هایی که در داخل ذره قرارگرفته‌اند، غلبه پیدا می‌کند (Schmid *et al.*, ۲۰۰۳). کاربرد نانو ذرات در

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

دهه‌های اخیر به‌طور گسترده‌ای افزایش‌یافته است. علیرغم این توسعه وسیع، حضور نانو مواد در محیط‌زیست دریا اجتناب‌ناپذیر به نظر می‌رسد بدیهی است که با ورود فاضلاب‌ها و پساب‌های حاصل از محصولات نانو فناوری شده به محیط‌زیست و زمین‌های کشاورزی، بوم‌سازگان‌های آبی و زیستگاه‌های آبزیان نیز در معرض نانو ذرات تولیدشده قرار خواهند گرفت. ازاین‌رو اولین مسئله قابل‌طرح این خواهد بود که نانو مواد بر روی محیط‌زیست آبی، ماهیان و دیگر ارگانیسم‌های آبزی چه اثراتی را برجای خواهند گذاشت (Catherine *et al.*, ۲۰۰۷). امروزه نانو مواد و محصولات متفاوتی درزمینه‌ی نانو به‌صورت تجاری در دسترس می‌باشند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها نانو ذرات نقره ((Nano-Ag) Silver (nanoparticles است که در صنایع مختلف کاربرد بسیار زیادی دارد و شاید بتوان آن را پرکاربردترین نانو ماده در حال حاضر در صنعت نانو فناوری دانست (Ahmed *et al.*, ۲۰۰۸). نانو ذرات نقره عمدتاً به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای که از خود نشان می‌دهند، در مصارف الکترونیکی، نوری، دارویی، بهداشتی و کاتالیتیکی کاربرد فراوان دارند. نانو ذرات نقره خاصیت ضد میکروبی داشته و در صنایع مختلفی مانند نساجی، غذایی و کشاورزی، دامپزشکی و شیلات می‌توانند مورداستفاده قرار گیرند (Rainuzzo, ۲۰۱۰). در صنعت شیلات و آبزی‌پروری نیز، نانو ذرات نقره کاربردهای گوناگونی یافته‌اند که از آن جمله می‌توان به ساخت نانو فیلترها، استفاده از بسته‌های محتوی نانو ذرات نقره در افزایش کیفیت و ماندگاری غذاهای دریایی و سایر مواد غذایی، ساخت انکوباتور با استفاده از سطوح پوشش داده‌شده با نانو ذرات نقره و استفاده از رنگ‌های حاوی نانو ذرات نقره در دیواره استخرها و حوضچه‌های نگهداری ماهیان به‌منظور ایجاد سطوح آنتی‌باکتریال، اشاره کرد (Rainuzzo, ۲۰۱۰). یکی از این منابع که می‌توانند در بحث نانوتکنولوژی و سنتز نانو ذرات مورداستفاده قرار گیرند، گیاهان دریایی یا جلبک‌های دریایی هستند. ازجمله کاربرد جلبک‌ها در صنایع غذایی، تغذیه، تولید دارو، رنگ‌دانه، مواد شیمیایی و سوخت می‌باشد (Tseng *et al.*, ۲۰۰۱). در بحث نانو بیوتکنولوژی، جلبک‌های دریایی به دلیل فراوانی و دارا بودن انواع ترکیبات فیتوشیمیایی متنوع از قبیل پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، آلکالوئیدها، استروئیدها، فنول‌ها، ساپونین و فلاونوئیدها (Mansuya *et al.*, ۲۰۱۰) می‌توانند نقش مهمی در احیاء یون‌های فلزی و تبدیل آن به فرم نانو را به شکل خارج سلولی داشته باشند؛ بنابراین امروزه تولید نانو ذرات با استفاده از اصول شیمی سبز که رابطه دوستانه‌ای با محیط‌زیست دارد، جایگاه ویژه‌ای در تحقیقات محیط‌زیست و زیست پزشکی پیداکرده است (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۰). با توجه به وجود منابع عظیم جلبک‌های دریایی در سواحل ایران و عدم استفاده از آن‌ها علی‌رغم کاربرد گسترده‌شان، استفاده از این جلبک‌ها به‌عنوان گزینه مناسب در سنتز بیولوژیکی نانو ذرات می‌تواند نقش بسیار مهمی در جهت استفاده بهینه از این منابع آبزی در بحث نانوتکنولوژی و تجاری کردن آن داشته باشد، به‌ویژه در مناطقی که جمعیت انبوه این جلبک‌ها باعث ایجاد مشکل زیست‌محیطی برای موجودات آبزی شده است. نتایج این مطالعه علاوه بر مقایسه سمیت نانو ذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی با نانو ذرات بیوسنتز شده با جلبک دریایی سارگاسوم، می‌تواند به وضع استانداردها و قوانین زیست‌محیطی نانو ذرات کمک کند.

لذا با توجه به گسترش استفاده از نانو ذرات نقره و با عنایت به آلایندگی زیست‌محیطی نانو ذرات استفاده‌شده به اهداف مختلف در صنایع و حتی آبزی‌پروری، هدف این تحقیق بیوسنتز نانو ذرات نقره توسط جلبک *Sargassum angustifolium* و مقایسه سمیت نانو ذرات نقره شیمیایی و بیوسنتز شده با این جلبک از طریق محاسبه LC_{50} هر ماده در ماهی سی‌باس (یک ماهی یوری هالین) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۲۵۰ عدد ماهی باس دریایی با وزن متوسط ۱۰±۱/۲ استفاده گردید. ماهیان موردنیاز تحقیق از یکی از مراکز تکثیر چوئبده آبادان تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی بخش بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، منتقل گردیدند. در طول این مدت به میزان ۲ درصد وزن بدن در دو نوبت (صبح و عصر) با غذای کنسانتره تجاری مخصوص ماهی باس دریایی وارداتی (استرالیا)، تغذیه شدند. شوری آب

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

به‌صورت دستی و با استفاده از اضافه نمودن نمک دریا به آب شهری کلرزدایی شده تأمین گردید، شوری آب از ۲۰ ppt در طول بیست روز به ۵ ppt رسانده شد و کل تحقیقات روی ماهی‌ها با شوری ppt۵ انجام شد. ابتدا ماهی‌ها به حوضچه‌های با حجم ۲۰۰۰ لیتر معرفی شدند.

به مدت ۲۰ روز به‌منظور کاهش شوری و سازش‌یابی با شرایط پرورش نگه‌داری گردیدند، میزان اکسیژن آب را در حد ۷ تا ۹ میلی‌گرم در لیتر نگه‌داشته و دمای آب در طول دوره سازش یابی ۲۴ تا ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

جلبک قهوه‌ای دریایی *Sargassum angustifolium*، از منطقه بین جزرومدی سواحل بوشهر جمع‌آوری گردید. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در داخل کیسه‌های پلاستیکی در کنار یخ به آزمایشگاه بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال داده شدند. در آزمایشگاه به‌منظور جدا کردن هرگونه خار و خاشاک و سایر ضایعات و مواد ناخواسته، چند بار با آب‌تراز و تصفیه‌شده شهری و سپس با آب مقطر دو بار تقطیرشده، در داخل سبدهای پلاستیکی شستشو داده شدند و درنهایت با آب مقطر استریل، آبکشی شدند. جلبک‌های شسته شده به مدت یک هفته در سایه قرارداد شدند تا خشک گردند (Singaravelu *et al.*, ۲۰۰۷). نمونه‌های خشک‌شده با استفاده از دستگاه خردکن، به شکل پودر درآورده شدند.

به‌منظور تهیه عصاره، مقدار ۱۰ گرم از پودر تهیه‌شده جلبک سارگاسوم را با مقدار ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر که دو بار تقطیر گردیده است را درون ارلن مایر با حجم ۵۰۰ سی‌سی حاوی مگنت قرار داده شد. سپس آب مقطر حاوی پودر جلبک را به مدت‌زمان ۱۵ دقیقه به روی بخاری‌برقی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. در مرحله بعد محلول به‌دست‌آمده را درون دستگاه سانتریفوژ قرار داده و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نموده و محلول به‌دست‌آمده رویی را با کاغذ صافی مخصوص واتمن NO.۱ فیلتر شده است. عصاره تهیه‌شده برای استفاده در مراحل بعدی را در یخچال نگهداری شد.

سنتز نانو ذرات نقره با روش بیولوژیکی خارج سلولی با استفاده از عصاره جلبک قهوه‌ای دریایی سارگاسوم انجام شد. برای سنتز نانو ذرات نقره، از محلول نیترات نقره به‌عنوان دریافت‌کننده یا پیش ساز استفاده شد. مقدار ۱۷ میلی‌گرم نیترات نقره، در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر حل شد (یک میلی مولار). به‌منظور احیاء یون‌های Ag^{+}، ۱۰ سی‌سی عصاره جلبک به ۹۰ سی‌سی محلول نیترات نقره یک میلی مولار اضافه شد (Jegadeeswaran *et al.*, ۲۰۱۲). احیاء زیستی یون‌های Ag^{+} به $Ag^{\cdot}$ با اندازه‌گیری طیف‌های محلول به‌وسیله طیف‌سنج فرابنفش مرئی (UV-vis) بررسی شد (Kaviya *et al.*, ۲۰۱۱). تمام وسایل قبل از استفاده با آب مقطر شستشو داده‌شده و در داخل آون خشک گردیدند.

برای تعیین ویژگی‌ها و اطمینان از تولید و کیفیت نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره جلبک قهوه‌ای دریایی *Sargassum angustifolium*، از دستگاه پارتیکل سایزر استفاده گردید.

پس از اتمام دوره سازگاری و ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش‌های سمیت، غذادهی به ماهیان قطع گردید. برای تعیین غلظت مناسب LC_{50} ۹۶ ساعته هر یک از نانو ذرات، ابتدا یک بررسی پایلوت با سه غلظت در مورد هر نانوذره نقره انجام گرفت و سپس بر اساس بررسی پایلوت انجام‌شده غلظت‌های موردنیاز در فاز اول تحقیق مشخص گردید.

غلظت‌های استفاده‌شده برای تعیین غلظت LC_{50} نانو ذرات نقره شیمیایی و بیوسنتز در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: غلظت‌های استفاده‌شده برای تعیین غلظت LC_{50} نانو ذرات نقره شیمیایی و بیوسنتزی (اهواز، سال ۱۳۹۷).

نوع نانو ذرات نقره	تعداد غلظت به‌کاررفته	غلظت نانو ذرات مورداستفاده (میلی‌گرم در لیتر)
نانو ذرات شیمیایی	۵	صفر، ۱، ۲، ۴، ۸
نانو ذرات بیوسنتزی	۶	صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰

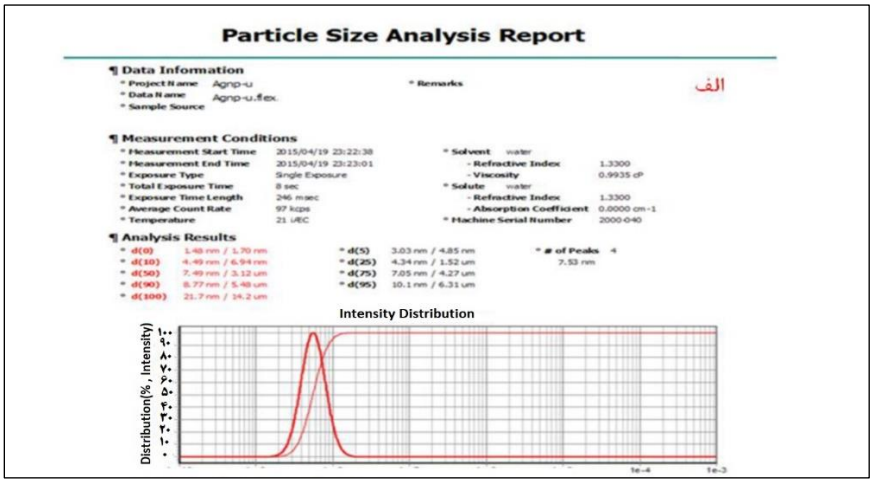
[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

پس از اتمام دوره سازگاری و ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش‌های سمیت، غذادهی به ماهیان قطع گردید. غلظت یون‌های نقره موجود در سوسپانسیون نانو ذرات نقره سنتز شده، به مقدار ۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر یون نقره تعیین شد. ازآنجاکه تاکنون مقادیر دقیق غلظت حد کشندگی نانو ذرات نقره سنتز شده از جلبک سارگاسوم *m* در ماهی سی‌باس تعیین نشده بود، بنابراین برای تعیین غلظت کشنده‌ی نانو ذرات نقره، در ابتدا با انجام آزمایش‌های مقدماتی، مقادیر اولیه حد کشندگی به دست آمد (کرمی و همکاران، ۱۳۹۶). محدوده کشندگی بر اساس کمترین غلظتی که در مدت ۹۶ ساعت، تلفات در آن مشاهده می‌شود و اولین غلظتی که ۱۰۰ درصد تلفات را در پی دارد تعیین گردید. برای این کار، ۱۰ قطعه ماهی در هر آکواریوم با حجم ۳۰ لیتر، مجهز به سیستم هوادهی، منتقل‌شده و با غلظت‌های صعودی نانو ذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium*، مجاور گردیدند. در طول هر دو آزمایش مقدماتی و تعیین LC_{50}، حرکات و رفتار ماهیان ازجمله حرکات سرپوش آبششی، از دست دادن تعادل، تنفس از سطح، رنگ بدن، شنای چرخشی، حرکات پرشی و استراحت در کف، مورد ارزیابی قرار گرفتند. مرگ‌ومیر به‌طور مداوم بررسی‌شده و ماهیان زمانی که حرکات سرپوش آبششی و پاسخ به محرک‌های مکانیکی نشان نمی‌دادند، مرده در نظر گرفته می‌شدند (Bilberg *et al.*, ۲۰۱۲). پس از انجام آزمایش مقدماتی و مشخص نمودن محدوده کشندگی، آزمایش تعیین LC_{50} بر اساس روش استاندارد O.E.C.D، به‌صورت ساکن (static renewal: تعویض آب هر ۲۴ ساعت یک‌بار و جایگزینی مجدد غلظت‌های موردنظر) و به مدت ۹۶ ساعت، در ۶ تیمار با غلظت‌های ذکرشده در جدول ۱ انجام گرفت بعد از ثبت تلفات، اقدام به تعیین LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با حدود اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار spss نسخه ۲۱ و آزمون استاندارد پروبیت شد.

نتایج

بعد از ترکیب نمودن نیترات نقره به عصاره و قرار دادن عصاره در مجاورت نور مستقیم به مدت ۲۴ ساعت با تغییر رنگ ترکیب از شیری به قهوه‌ای پررنگ سنتز نانو ذرات انجام می‌گردد.

نانو ذرات تولیدشده به آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه جندی‌شاپور منتقل‌شده و اندازه ذرات با استفاده از دستگاه سایز آنالایزر مشخص گردید که خروجی آن در شکل ۱ و جدول ۲ آورده شده است.



شکل ۱: متوسط اندازه نانو ذرات تولیدشده توسط *Sargasum boveanum* در حدود ۷/۵۷nm ارزیابی‌شده است (اهواز، سال ۱۳۹۷).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

جدول ۲: نتایج مربوط به آنالیز سایز ذرات محصول نانوسیلور بیوسنتز شده توسط جلبک *Sargasum angustifolium* و نانو ذرات شیمیایی (اهواز، سال ۱۳۹۷).

نوع نانو ذرات	میانگین ±Span*	d(۱۰)**	d (۵۰)***	d (۹۰)****
بیوسنتزی با جلبک *S. angustifolium*	۷/۹۰±۱/۹۹	۴/۴۹	۷/۴۹	۸/۷۷
نانو ذرات شیمیایی	۷/۱±۱/۴۹	۳/۶۶	۷/۸۸	۱۱/۹۲

* Span نحوه انتشار اندازه ذرات را نشان می‌دهد و حاصل d۵۰ /(d۹۰-d۱۰) می‌باشد و نقش انحراف معیارSTED در محاسبات آماری را دارا است.

** قطر متوسط دهک اول ذرات (۱۰٪ ذرات با کوچک‌ترین قطر)

*** قطر متوسط نیمی از ذرات (۵۰٪ ذرات با قطر کوچک‌تر)

**** قطر متوسط نه دهک اول ذرات (۹۰٪ ذرات)

بعد از بیوسنتز نانو ذرات نقره و استفاده از نانوذره نقره شیمیایی (US Research Nanomaterials, Inc) اقدام به مقایسه سمیت آن‌ها در ماهی باس دریایی گردید.

نتایج مربوط به تعداد تلفات در غلظت‌های افزایشی دو نانوذره در جدول شماره ۴ –۱ آورده شده است.

جدول ۳: نتایج مربوط به سمیت نانو ذرات شیمیایی و بیوسنتز شده توسط جلبک دریایی با مجاورت ماهی با غلظت‌های متوالی نانو ذرات (اهواز، سال ۱۳۹۷).

غلظت نانو شیمیایی ppm	۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹٦ ساعت
۱	۰	۰	۲	۳
۲	۱	۳	۵	۵
۴	۴	۵	۸	۱۰
۸	۶	۸	۱۰	۱۰
غلظت نانو بیوسنتزی ppm	**۲٤ ساعت**	**٤۸ ساعت**	**۷۲ ساعت**	**۹٦ ساعت**
۱۰	۰	۰	۱	۲
۲۰	۰	۱	۲	۴
۴۰	۲	۴	۶	۸
۵۰	۶	۸	۱۰	۱۰
۶۰	۶	۱۰	۱۰	۱۰

همان‌طور که در جداول فوق مشخص است غلظت‌های ایجادکننده صفر تا ۱۰۰ درصد تلفات در نانوذره شیمیایی و بیوسنتزی به ترتیب برابر ۱ تا ۸ و ۱۰ تا ۶۰ بود.

بر اساس نتایج تلفات ایجادشده در غلظت‌های افزایشی هر نانوذره اقدام به آنالیز و به دست آوردن میانه تلفات با استفاده از نرم‌افزار پروبیت گردید (SPSS, Ver۲۲, Probit Analysis).

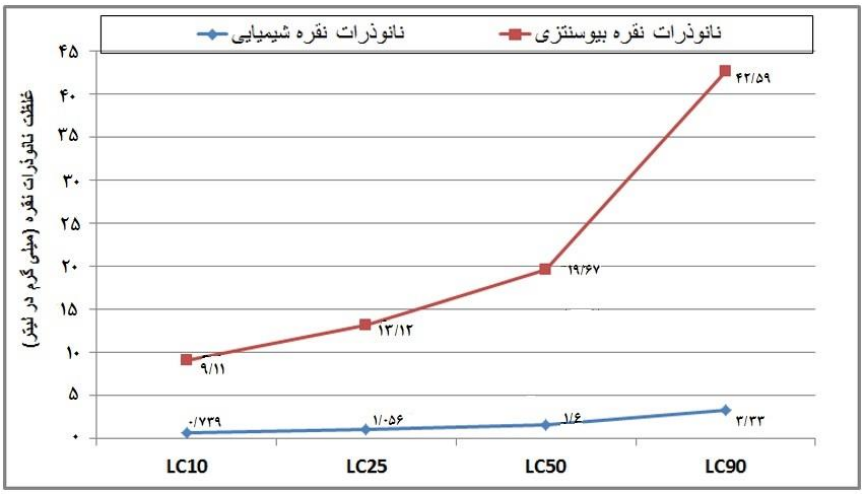
در جدول شماره ۴ غلظت‌های ایجادکننده ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۹۰ درصد تلفات هر نانوذره بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت آورده شده است.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

جدول ٤: غلظت‌های کشنده در ماهی باس دریایی () مجاور شده با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره شیمیایی و بیوسنتزی بعد از ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعت (خروجی نرم‌افزار Probit) (اهواز، سال ١٣٩٧).

	دوز کشنده	٢٤ ساعته	٤٨ ساعته	٧٢ ساعته	٩٦ ساعته
نانوذره نقره شیمیایی	LC_{10}	٢/٠١٣	١/٣٨۶	٠/٧٧۶	٠/٧٣٩
	LC_{25}	٣/٣٢۶	٢/٢۵٠	١/١٩٩	١/٠۵۶
	LC_{50}	۵/٨١٢	٣/٨۵۵	١/٩۴٧	١/۵۶٩
	LC_{90}	١۶/٧٨٢	١٠/٧٢٠	۴/٨٨۵	٣/٣٢٨
نانوذره نقره بیوسنتزی	LC_{10}	٣٢/٨٨٧	٢٢/٩۶۵	١٣/۴٠١	٩/١٠۶
	LC_{25}	۴٠/۵۴۶	٢٨/٧٣٢	١٨/۴۴۶	١٣/١١۵
	LC_{50}	۵١/١۶۴	٣۶/٨۵٢	٢۶/٣٠٧	١٩/۶۶٩
	LC_{90}	١٩/۵٩٧	۵٩/١٣۶	۵١/۶۴٠	۴٢/۴٨۵

همان‌طور که در جدول فوق مشاهده می‌شود با افزایش نسبت تلفات در هر دوره زمانی غلظت مربوط به نانوذره افزایش‌یافته است و همچنین با افزایش مدت مجاورت در مورد هر ردیف سمیت نانو ذرات افزایش‌یافته است (غلظت کاهش نشان می‌دهد).



شکل ٢: مقایسه غلظت کشنده نانوذره نقره شیمیایی و بیوسنتز شده توسط جلبک، بر اساس غلظت‌های ایجادکننده ١٠، ٢۵، ۵٠ و ٩٠ درصد تلفات بعد از ٩۶ ساعت مجاورت ماهی باس‌دریایی با آن‌ها (اهواز، سال ١٣٩٧).

همان‌طور که در نمودار فوق مشخص است سمیت نانو ذرات بیوسنتزی بسیار کمتر از نانو ذرات شیمیایی بوده به‌طوری‌که غلظت ایجادکننده ٩٠ درصد تلفات بعد از ٩۶ ساعت مجاورت ماهی باس‌دریایی با نانو ذرات بیوسنتزی ١٢/٧٩ برابر بیشتر از نانو ذرات نقره شیمیایی است.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

بحث و نتیجه‌گیری

باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) از گونه‌های مناسب برای پرورش در قفس‌های دریایی و سیستم استخرهای خاکی در ایران می‌باشد، چراکه علاوه بر رشد سریع و توانایی سازگار شدن در شرایط محیطی مختلف، دارای تقاضا در بازارهای داخلی و خارجی می‌باشد. مطالعه اثرات درمانی و مواد ضدعفونی‌کننده روی این‌گونه در کشور تابه‌حال بررسی نشده است. لذا در این تحقیق علاوه بر بیوسنتز نانو ذرات نقره با استفاده از جلبک دریایی، سمیت آن با نانو ذرات شیمیایی در ماهی باس‌دریایی مقایسه گردید.

در این تحقیق نانو ذرات نقره با موفقیت توسط جلبک دریایی سارگاسوم صورت گرفت و تغییر رنگ محلول حاصل نشان‌دهنده القاء رزونانس پلاسمون سطحی به‌واسطه احیاء نیترات نقره می‌باشد (Harborne, ۱۹۹۸)، در تحقیقی مشابه Singaravelu و همکاران در سال ۲۰۰۷ سنتز نانو ذرات طلا با استفاده از عصاره جلبک *Sargassum wightii* را در طی ۲۴ ساعت انکوباسیون انجام دادند. همچنین در مطالعه‌ای توسط Kumar و همکاران در سال ۲۰۱۲، سنتز نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره جلبک *Sargassum tenerrimum* در طی ۲۰ دقیقه انجام شد که این امر از طریق تغییر رنگ قابل‌مشاهده است. در مطالعه Singaravelu و همکاران در سال ۲۰۰۷، برای سنتز نانو ذرات طلا با استفاده از جلبک *Sargassum wightii*، اقدام گردید. در جدول زیر نتایج مطالعاتی که توسط سایر محققین درزمینهٔ سنتز خارج سلولی نانو ذرات با استفاده از جلبک‌های دریایی انجام‌شده، آورده شده‌اند (جدول ۵).

جدول ۵: مقایسه تحقیق حاضر با سایر مطالعات انجام‌شده درزمینه‌ی سنتز نانو ذرات از جلبک‌های دریایی (اهواز، سال ۱۳۹۷).

منبع	شکل ذرات	اندازه ذرات (nm)	گونه جلبکی
Singaravelu و همکاران (۲۰۰۷)	دووجهی و مسطح	۸ -۱۲	*Sargassum wightii*
Kumar و همکاران (۲۰۱۲)	کروی	۳۳ – ۴۰	*Sargassum ilicifolium*
Kumar و همکاران (۲۰۱۲)	کروی	۲۰	*Sargassum tenerrimum*
Thangaraju و همکاران (۲۰۱۲)	کروی همراه با ذرات طویل	۵۰ -۱۰۰	*Sargassum polycystum*
Saraniya و همکاران (۲۰۱۳)	مکعبی	۳۰	*Sargassum longifolium*
Kumar و همکاران (۲۰۱۲)	کروی	۱۸ -۴۶	*Gracilaria corticate*
Suriya و همکاران (۲۰۱۲)	کروی	۲۰ -۳۰	*Urospora sp*
Kannan و همکاران (۲۰۱۳)	–	۳ -۴۴	*Chaetomorpha linum*
Vivek و همکاران (۲۰۱۱)	کروی	۲۲	*Gelidiella acerosa*
Jegadeeswaran و همکاران (۲۰۱۲)	کروی	۱۰ -۱۰۰	*Padina tetrastromatica*
مطالعه حاضر	کروی	۸/۷۷ – ۱۱/۹۲	*Sargassum angustifolium*

در مطالعه‌ای توسط رستمی و همکاران در سال ۱۳۸۶، اختلاف در اندازه نانو ذرات سنتز شده از دو گیاه یونجه و کلزا را ناشی از تفاوت گونه‌ای دو نوع گیاه ذکر کردند، بنابراین یکی از دلایل اختلاف در اندازه نانو ذرات سنتز شده در مطالعه ما با سایر محققین احتمالاً ناشی از تفاوت گونه‌ای جلبک‌های استفاده‌شده جهت سنتز باشد.

Cazenave و همکاران (۲۰۱۹) از ماهی به‌عنوان یک کاندید خوب برای ارزیابی سمیت نانو ذرات یادکردند. آن‌ها با توجه به مزیت‌هایی چون در دسترس بودن، ارزان بودن، امکان ایجاد سمیت محیطی و خوراکی و غیره از ماهی به‌عنوان یک گزینه خوب برای ارزیابی و مقایسه سمیت نانو ذرات فلزی نام بردند.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

در انجام تست سمیت مواد شیمیایی در آبزیان، تعیین محدوده کشندگی سم، اولین مرحله از مطالعات توکسیکولوژی است که به بررسی غلظت کشنده میانگین یا LC_{50} مواد شیمیایی محلول در آب می‌پردازد. Campbell و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی سمیت فیزیولوژیک نانو ذرات نقره در ماهی *Fundulus heteroclitus* پرداختند، آن‌ها علیرغم اثرات منفی فیزیولوژیک نانو ذرات نقره در این ماهی، اثری از تغییرات بیوشیمیایی یا بدشکلی‌ها در ماهی مشاهده نکردند و احتمال دادند که مجاورت طولانی ماهی با نانو ذرات نقره تغییرات بیوشیمیایی و بدشکلی‌ها را باعث شود. سمیت یون نقره نسبت به نانو ذرات نقره بیشتر بررسی‌شده است. یون نقره سمیت بسیار بالایی برای ماهی ایجاد می‌کند (Naddy *et al.*, ۲۰۱۱). سمیت نانو ذرات نقره سنتز شده با روش شیمیایی بر ماهیان و سایر آبزیان در مطالعات گوناگون توسط محققین مختلف تائید شده است (Yeo and Kang, ۲۰۰۸؛ Griffitt *et al.*, ۲۰۰۹؛ Bilberg *et al.*, ۲۰۱۲). Durán و همکاران در سال ۲۰۲۰ به جنبه‌های مختلف سمیت محیطی نانو ذرات نقره در جانداران پرداختند. آن‌ها تأثیر روش تولید نانو ذرات در سمیت آن‌ها را تأیید کرده و نانو ذرات بیوسنتزی را با اثرات کمتر روی فیزیولوژی موجودات پرسلولی گزارش کردند.

Shah و Mraz در سال ۲۰۲۰ یکی از روش‌های کاربرد نانو ذرات نانو تکنولوژی در آبزی‌پروری را استفاده از نانو ذرات با سمیت کمتر و اثرات زیست‌محیطی محدودتر دانستند که با توجه به یافته‌های ما در این تحقیق، استفاده از روش بیوسنتز نانو ذرات نقره در استفاده مسئولانه نانو ذرات تأثیرگذار بوده و اثرات مخرب زیست‌محیطی آن‌ها را کاهش می‌دهد.

بنابراین لازم است که سمیت نانو ذرات نقره سنتز شده با روش بیولوژیکی که در سنتز آن از منابع زیستی موجود در طبیعت استفاده می‌شود نیز شناخته شود. Demarchi و همکاران در سال ۲۰۲۰ سمیت نسبتاً بالای نانو ذرات نقره تولیدشده به روش مغناطیسی را در آرتمیا سالینا گزارش نمودند که نسبت به گزارش‌های نانو ذرات بیوسنتز شده از جلبک‌ها بالاتر بود. در حال حاضر با توجه به رهاسازی بیشتر این نانو مواد به آب‌های شیرین و آلودگی بیشتر این منابع آبی، بیشتر مطالعات در رابطه با اثرات سمی نانو ذرات نقره بر روی گونه‌های آب شیرین متمرکزشده است (Griffitt *et al.*, ۲۰۱۲)؛ بنابراین در این مطالعه تست سمیت نانو ذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی در ماهی باس‌دریایی که به دلیل رشد سریع، تکثیر آسان، تحمل شوری بالا و توانایی در پذیرش غذای فرموله، از بهترین ماهیان پرورشی دنیا محسوب شده انجام شد.

نتایج تحقیق جاری نشان داد که نانو ذرات نقره شیمیایی سمیت بالایی برای ماهی باس‌دریایی در شوری ۵ گرم در لیتر داشته به‌طوری‌که سمیت حاد این سم بر اساس LC_{50} ۹۶ ساعته در ماهی برابر ۱/۵۶۹ بود. از طرفی در تحقیق جاری مشخص گردید که سمیت نانو ذرات نقره شیمیایی هم با افزایش مدت مجاورت و هم با افزایش غلظت نانو ذرات نقره افزایش می‌یابد، به‌طوری‌که غلظت ایجادکننده‌ی ۱۰ درصد، ۲۰ درصد، ۵۰ درصد و ۹۰ درصد تلفات در این ماهی به ترتیب برابر ۲/۰۱۳، ۲/۸۹۶، ۵/۸۱۲ و ۱۶/۷۸۲ میلی‌گرم در لیتر بوده است که مشخصاً با افزایش غلظت افزایش سمیت و تلفات را نشان می‌دهد. همچنین غلظت ایجادکننده ۵۰ درصد تلفات بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در این ماهی به ترتیب برابر ۵/۸۱۲، ۳/۸۵۵، ۱/۹۴۷ و ۱/۵۶۹ میلی‌گرم در لیتر بوده است؛ که مشخصاً با افزایش مدت‌زمان مجاورت ماهی با سم، افزایش تلفات را نشان می‌دهد. در مطالعات مشابه در مورد سایر سموم و نانو ذرات نیز چنین گزارش‌هایی به چشم می‌خورد. در تست سمیت حاد با نانو ذرات نقره با اندازه ۲۹/۹ نانومتر در ماهی مداکا توسط WU و Zhou در سال ۲۰۱۳، در غلظت ۴/۸ میلی‌گرم بر لیتر، پس از ۱۲ ساعت، همه ماهیان تلف شدند و میزان LC_{50} ۹۶ ساعته ۰/۸۷ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شد. همچنین در مطالعه‌ای توسط Bilberg و همکاران در سال ۲۰۱۲ در ماهی گورخری، ۵۰ درصد غلظت کشندگی ۴۸ ساعته نانو ذرات نقره ۸۴ میکروگرم بر لیتر گزارش شد که نشان از سمیت بیشتر این نانوذره که با روش شیمیایی سنتز شده در مقایسه با تحقیق ما می‌باشد، زیرا در سنتز نانو ذرات نقره با روش شیمیایی از موادی استفاده می‌شود که برای موجودات زنده و محیط‌زیست سمیت مضاعفی ایجاد می‌کنند، علاوه بر این سمیت نانو ذرات می‌تواند با توجه به گونه مورد آزمایش متفاوت می‌باشد (Li *et al.*, ۲۰۰۸). نتایج به‌دست‌آمده از LC_{50} نانو ذرات نقره در ماهی کپور معمولی در زمان‌های مختلف نشان داد که مقدار آن در ۲۴ ساعت اولیه آزمایش همواره بیشتر از LC_{50} در پایان ۹۶ ساعت می‌باشد، پس می‌توان گفت در ماهی سی‌باس نیز مدت‌زمان مواجهه با نانو ذرات نقره نیز

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

یکی از فاکتورهای مؤثر بر سمیت می‌باشد و وقتی ماهی در معرض غلظت ثابتی از نانو ذرات نقره باشد باگذشت زمان، فرصت بیشتری برای تأثیرگذاری روی ماهی پیدا می‌کند، زیرا یکی از عوامل تأثیرگذار در مسمومیت آبزیان علاوه بر غلظت سم، مدت‌زمان مواجهه با سم می‌باشد (شریف پور و همکاران، ۱۳۸۲).Zhou و WU در سال ۲۰۱۳ در ماهی مداکا غلظت کشنده نانو ذرات نقره با اندازه ذرات ۲۹/۹ نانومتر را ۰/۸۷ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند.

در مطالعه‌ای مشابه علیشاهی و همکاران در سال ۱۳۹۰، میزان LC_{50} نانو ذرات نقره در چهار گونه ماهی کپور، برزم، افرا و گوپی را به ترتیب ۱/۱۲ µg/ml، ۰/۷۷، ۵/۷ و ۷/۳۵ گزارش نمودند و بیان کردند که ماهیان اکواریومی نسبت به ماهیان وحشی برزم و کپور مقاومت بیشتری در برابر سمیت نانو ذرات نقره داشتند. در مقایسه سمیت نانو ذرات نقره شیمیایی در ماهی باس‌دریایی با تحقیق فوق مشخص گردید که ماهی باس‌دریایی ازنظر حساسیت به سمیت نانو ذرات نقره بیشتر شبیه مداکا می‌باشد. همچنین Shahbazzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۹، LC_{50} ۹۶- نانو ذرات نقره را برای بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، ۲/۳ میلی‌گرم بر لیتر به دست آوردند. در مطالعه سلطانی و همکاران (Soltani *et al.*, ۲۰۱۱) در سال ۲۰۱۱، میزان LC_{50} ۹۶ ساعته در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مواجهه شده با نانو ذرات نقره شیمیایی، ۵ mg/L گزارش شد. Hedayati و همکاران در سال ۲۰۱۲، میزان LC_{50} در ماهی کپور معمولی را در مواجهه با دو نوع نانوذره نقره بانام تجاری Nanosil (کمتر از ۱۰۰nm) و Nanocid (۱۸ nm) به ترتیب ۷۳/۸ و ۰/۴۳ میلی‌گرم بر لیتر گزارش نمودند. Johari و همکاران در سال ۲۰۱۳، حد متوسط کشندگی نانو ذرات نقره (LC^{50}) با اندازه ۱۶/۶ nm نانومتر را در جنین، لارو و بچه ماهی جوان قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب ۰/۲۵، ۰/۷۱ و ۲/۱۶ میلی‌گرم بر لیتر گزارش کردند. در گزارش‌های از سمیت نانو ذرات نقره در ماهیان و حتی در یک‌گونه خاص ماهی تفاوت‌های نسبتاً زیادی مشاهده می‌گردد. دلیل این است که سمیت نانو ذرات نه‌تنها به فاکتورهای مختلفی از قبیل نژاد ماهی، سن و اندازه ماهی، وضعیت فیزیولوژیکی، فعل‌وانفعالات تغذیه‌ای و روش تجویز بستگی دارد (Li *et al.*, ۲۰۰۸)، بلکه عامل مهم‌تر اندازه ذرات نانوی تولیدشده است به‌طوری‌که گفته می‌شود هر چه اندازه ذرات نانو تولید کوچک‌تر باشد اثرات بایولوژیک آن‌ها بیشتر و سمیت آن‌ها نیز بالاتر خواهد بود. لذا در سمیت نانو ذرات حتماً باید اندازه ذرات نانو را مدنظر قرارداد؛ بنابراین لازم است که سمیت نانو ذرات به‌منظور شناخت بهتر اثرات سمی‌شان در محیط‌های آبی بر روی گونه‌های مختلف جداگانه ارزیابی شود. در مطالعه ما علاوه بر متفاوت بودن نوع گونه ماهی، روش سنتز و اندازه نانوذره مورد آزمایش نیز متفاوت است، بنابراین قابل‌انتظار است که نتایج حاصل از سمیت و LC_{50} در مطالعه حاضر با سایر مطالعات متفاوت باشد مقایسه نتایج LC_{50} مطالعه حاضر با مطالعات سایر محققین (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Hedayati *et al.*, ۲۰۱۲) که در گونه‌های مختلف ماهیان انجام‌شده است، نشان می‌دهد که نانو ذرات نقره سنتز شده با روش بیولوژیکی نسبت به نانو ذرات سنتز شده با روش شیمیایی دارای سمیت کمتری می‌باشند. البته در این نوع نانوذره نقره نیز افزایش غلظت نانوذره افزایش تلفات را باعث شده است، به‌طوری‌که غلظت ایجادکننده‌ی ۱۰ درصد، ۲۰ درصد، ۵۰ درصد و ۹۰ درصد تلفات در این ماهی به ترتیب برابر ۳۲/۹، ۳۸/۳، ۵۱/۲، ۷۹/۶ میلی‌گرم در لیتر بوده است که مشخصاً با افزایش غلظت افزایش تلفات را نشان می‌دهد. همچنین در مورد سمیت نانو ذرات نقره بیوسنتزی نیز همانند نانوذره شیمیایی افزایش مدت مجاورت باعث افزایش تلفات گردیده است، به‌طوری‌که غلظت ایجادکننده ۵۰ درصد تلفات بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در این ماهی به ترتیب برابر ۵۱/۲، ۳۶/۹، ۲۶/۳، ۱۹/۷ میلی‌گرم در لیتر بوده است که مشخصاً با افزایش مدت‌زمان مجاورت ماهی با نانو ذرات، افزایش تلفات را نشان می‌دهد. در مطالعات مشابه چنین گزارش‌هایی به چشم می‌خورد؛ بنابراین می‌توان گفت که یکی دیگر از دلایل اختلاف در سمیت تحقیق حاضر با مطالعات سایر محققین، علاوه بر تفاوت در اندازه ذرات، شرایط آزمایش و اندازه ماهی، می‌تواند به دلیل پایداری بیشتر نانو ذرات به‌واسطه بیومولکول‌های موجود در جلبک دریایی و درنتیجه رهاسازی کمتر یون‌های نقره در نانو ذرات سنتز شده با روش بیولوژیکی باشد. برخی محققین سمیت بالاتر نانو ذرات نقره نسبت به یون‌های نقره را علاوه بر خواص فیزیکوشیمیایی ذرات، ناشی از رهاسازی یون‌های نقره از نانو ذرات نقره ذکر کرده‌اند (Mayer *et al.*,

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

(Walker *et al.*, ۲۰۰۳؛ ۲۰۰۸). مقایسه میزان مرگ‌ومیر ماهیان در تیمارهای مواجهه با نانو ذرات نقره با گروه شاهد که هیچ‌گونه تلفاتی در آن مشاهده نشد، نشان می‌دهد که تنها عامل مرگ‌ومیر ماهیان در تیمارهای مختلف، افزودن نانو ذرات نقره به آب بوده است.

نتایج $LC_{۱۰-۹۹}$، ۹۶ ساعته به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر در زمان‌های مختلف، نشان از ارتباط مستقیم بین سمیت و غلظت نانو ذرات نقره می‌باشد ($LC_{۱۰-۹۶h}$=۵۶/۳-۹/۱ mg/L، $LC_{۹۹-۹۶h}$=۷۹/۵-۵۶/۳ mg/L). همچنین طبق آنالیز پروبیت حد بالا و پایین ۵۰ درصد غلظت کشندگی نانو ذرات نقره سنتز شده در طی ۹۶ ساعت با حدود اطمینان ۹۵ درصد به ترتیب ۱۲۲/۵-۵۶/۳ میلی‌گرم بر لیتر، محاسبه شد. ازنظر علائم رفتاری، فعالیت شدید ماهیان و پریدن آن‌ها از آب بلافاصله پس از مواجهه با غلظت‌های بالای نانو ذرات نقره احتمالاً نشان‌دهنده ایجاد استرس شدید و تأثیر سمیت سریع نانوذره نقره سنتز شده در غلظت‌های بالا در مقایسه با غلظت‌های پایین‌تر می‌باشد، بنابراین ماهیان در پاسخ به این عوامل و فرار از شرایط استرس‌زا، چنین عکس‌العمل‌هایی ازنظر رفتاری نشان می‌دادند.

در مطالعه حاضر تغییرات رفتاری شامل افزایش تحریک‌پذیری و حرکات غیرعادی در ابتدای مسمومیت و کاهش فعالیت و به کف‌نشینی ماهیان در غلظت‌های بالا و قبل از مرگ ماهی مشاهده گردید. در مطالعه صورت گرفته توسط Bilberg و همکاران در سال ۲۰۱۲ در ماهی زبرا در مواجهه با نانو ذرات نقره، علائم رفتاری غیرطبیعی و استرس بلافاصله ۳۰ دقیقه بعد از مواجهه ظاهر گردید که دلیل احتمالی آن تأثیر سریع سمیت نانوذره نقره ذکرشده است، به‌طوری‌که ابتدا ماهیان ابتدا حرکات سریع غیرعادی و بی‌تعادل نشان داده و سپس در کف مخزن بی‌حرکت مانده و میزان تنفسشان افزایش پیدا کرد. همچنین تعدادی از ماهیان قبل از دست دادن تعادل، حرکات پرشی و شنای چرخشی از خود نشان دادند. به‌طورکلی از تحقیق جاری می‌توان نتیجه گرفت که نانو ذرات نقره شیمیایی در ماهی باس‌دریایی آسیایی سمی بوده و افزایش غلظت و افزایش مدت مجاورت باعث تلفات بیشتر در این ماهی می‌گردد، ولی سمیت این نانو ذرات نسبت به نانو ذرات بیوسنتز شده توسط جلبک دریایی ۱۳ برابر بیشتر بوده و استفاده از نانو ذرات بیوسنتزی با توجه به سمیت پایین‌تر در موجودات آبزی اکیداً توصیه می‌شود. لذا با توجه به تهدیدات زیست‌محیطی نانوتکنولوژی در تولید مواد ضدمیکروبی، سنتز زیستی این نانو ذرات با استفاده از مواد گیاهی و جلبک‌ها به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای تولید شیمیایی این نانو ذرات باعث کاهش نگرانی توسعه روزافزون نانو مواد ضدمیکروبی می‌شود.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت مالی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و قطب علمی بهداشت و بیماری‌های ماهیان گرمابی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت.

منابع

شریف پور، ع.، سلطانی، م. و جوادی، م.، ۱۳۸۲. تعیین LC_{50} و ضایعات بافتی ناشی از سم آندوسولفان در بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران (فارسی)، زمستان ۱۳۸۲، دوره ۱۲، شماره ۴، صفحات ۸۴-۶۹.

علیشاهی. م، مصباح. م. و قربان پور. م.، ۱۳۹۰، مقایسه سمیت نانو نقره در چهار گونه ماهی، مجله دامپزشکی ایران، دوره هفتم. شماره ۱، صفحات ۴۱-۳۶.

علیشاهی، م.، دادار، م. و محمدیان، ب.، ۱۳۹۰. بررسی سمیت نانو ذرات نقره بر ماهی کپور معمولی: اثر بر فاکتورهای خونی، ایمنی و بافت‌ها، دومین کنفرانس ملی علوم شیلات و آبزیان ایران، صفحات ۱۲-۱.

کرمی، ا.، طولابی دزفولی، ز.، بیتا، س. و مصباح، م.، ۱۳۹۶. بررسی اثرات نانو ذرات نقره بیوسنتز شده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* بر شاخص های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، مجله علمی پژوهشی اکو بیولوژی تالاب، دوره ۹، شماره ۲، صفحات ۸۲-۷۱.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

هدایتی. س. ع.، جهانبخشی. ع.، قادری رمازی، ف.، ۱۳۹۲. سم‌شناسی آبزیان، انتشارات دانشگاه گرگان، چاپ اول، صفحات ۷۰-۷۶.

Ahmed, M., Karns, M., Goodson, M., Rowe, J., Hussain, S. M., Schlager, J. J. and Hong, Y., ۲۰۰۸. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. Toxicology and Applied Pharmacology, ۲۳۳: ۴۰۴–۴۱۰.

Bilberg, K., Hovgaard, M. B., Besenbacher, F. and Baatrup, E., ۲۰۱۲. In Vivo Toxicity of Silver Nanoparticles and Silver Ions in Zebrafish (*Danio rerio*). Journal of Toxicology, ۱-۹.

Campbell, L. A., Gormley, P. T., Bennett, J. C., Murimboh, J. D. and MacCormack, T. J., ۲۰۱۹. Functionalized silver nanoparticles depress aerobic metabolism in the absence of overt toxicity in brackish water killifish, Fundulus heteroclitus. Aquatic Toxicology, ۲۱۳, ۱۰۵۲۲۱.

Catherine. J., SmithBenjamin, J., ShawRichard, D. and Handy, D., ۲۰۰۷. Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects, doi.org/۱۰,۱۰۱٦/j.aquatox.۲۰۰۷,۰۲,۰۰۳

Cazenave, J., Ale, A., Bacchetta, C. and Rossi, A. S., ۲۰۱۹. Nanoparticles toxicity in fish models. Current Pharmaceutical Design, ۲۵(۳۷): ۳۹۲۷-۳۹٤۲.

Demarchi, C. A., da Silva, L. M., Niedźwiecka, A., Ślawska-Waniewska, A., Lewińska, S., Dal Magro, J. and Rodrigues, C. A., ۲۰۲۰. Nanoecotoxicology study of the response of magnetic O-Carboxymethylchitosan loaded silver nanoparticles on Artemia salina. Environmental Toxicology and Pharmacology, ۷٤, ۱۰۳۲۹۸.

Durán, N., Fávaro, W. J. and Seabra, A. B., ۲۰۲۰. What do we Really Know about Nanotoxicology of Silver Nanoparticles In vivo? New Aspects, Possible Mechanisms, and Perspectives. Current Nanoscience, ۱٦(۳): ۲۹۲-۳۲۰.

Harborne, J. B., ۱۹۹۸. Phytochemical methods A guide to modern technique of plant analysis. London, Champman and Hall, ۱۹۹۸, pp ۱۸۲-۹۰.

Hedayati, A., Kolangi, H., Jahanbakhshi, A. and Shaluei, F., ۲۰۱۲. Evaluation of silver nanoparticles ecotoxicology in silver carp (*Hypophthalmichtys molitrix*) and goldfish (*Carassius auratus*). Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, ۱۵ (۳): ۱۷۲–۱۷۷.

Hedayati, A., Shaluei, F. and Jahanbakhshi, A., ۲۰۱۲. Comparison of Toxicity Responses by Water Exposure to Silver Nanoparticles and Silver Salt in Common Carp (*Cyprinus carpio*). Global Veterinaria, ۸ (۲): ۱۷۹-۱۸٤.

Johari, S. A., Kalbassi, M. R., Soltani, M. and Yu, I. J., ۲۰۱۳. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, ۱۲ (۱): ۷٦ -۹۵.

Bilberg, K. Hovgaard, M. B. and Besenbacher, F., ۲۰۱۲. In vitro effects of suspensions of selected nanoparticles (C٦۰ fullerene, TiO۲, SiO۲) on Mytilus hemocytes. Aquatic Toxicology, ۹٦: ۱۵۱-۱۵۸.

Kumar, P., Senthamil Selvi, S., Lakshmi Prabha, A., Prem Kumar, K., Ganeshkumar, R. S. and Govindaraju, M., ۲۰۱۲. Synthesis of silver nanoparticles from *Sargassum tenerrimum* and screening phytochemicals for its antibacterial activity. Nano Biomedicine Engineering, ٤ (۱): ۲-۱٦.

Kumar, P., Senthamil Selvi, S., Lakshmi Prabha, A., Selvaraj, M., Macklin Rani, L., Suganthi, P., Devi, S. and Govindaraju, M., ۲۰۱۲. Antibacterial activity and in-vitro cytotoxicity assay against brine shrimp using silver nanoparticles synthesized from *Sargassum ilicifolium*. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, ۷ (٤): ۱٤٤۷-۱٤۵۵.

Li, H., Zhang, J., Wang, T., Luo, W., Zhou, Q. and Jiang, G., ۲۰۰۸. Elemental selenium particles at nano-size (Nano-Se) are more toxic to Medaka (*Oryzias latipes*) as a consequence of hyper-accumulation of selenium: a comparison with sodium selenite. Aquatic Toxicology, ۸۹: ۲۵۱–۲۵٦.

Mayer, G. D., Leach, A., Kling, P., Olsson, P. E. and Hogstrand, C., ۲۰۰۳. Activation of the rainbow trout metallothionein—a promoter by silver and zinc. Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol, ۱۳٤: ۱۸۱–۱۸۸.

Naddy, R. B., Mcnerney, G. R., Gorsuch, J. W., Bell, R. A., Kramer, J. R., Wu, K. B. and Paquin, P. R., ۲۰۱۱. The effect of food on the acute toxicity of silver nitrate to four freshwater test species and acute-to-chronic ratios. Ecotoxicology ۲۰: ۲۰۱۹–۲۰۲۹.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]

Jegadeeswaran, P., Shivaraj, R. and Venckatesh, R., ۲۰۱۲. Green synthesis of silver nanoparticles form extract of padina tetrastromatica leaf, Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, ۷ (۳): ۹۹۱ – ۹۹۸.

Mansuya, P., Aruna, P., Sridhar, S., Suresh Kumar, J. and Sarangam Babu, S., ۲۰۱۰. Antibacterial Activity and Qualitative Phytochemical Analysis of Selected Seaweeds from Gulf of Mannar Region, ۱(۸): ۲۳-۲٦.

Rainuzzo, J., ۲۰۱۰. Nanotechnology applications in Fisheries and Aquaculture. SINTEF Fisheries and Aquaculture. SFH۸۰ A۱۰۵۰۰٤: ۱-۲۰.

Griffitt, Y., Robert, J., Nancy, J., Brown-Peterson, Y., Daniel, A., Savinz, C., Steve, M., Idrissa, B., Ryan, R. A. and Marius, B., ۲۰۱۲. Effect of chronic nanoparticle silver exposure to adult and juvenile sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). Environmental Toxicology and Chemistry, ۳۱(۱): ۱٦۰–۱٦۷.

Kaviya, S., Santhanalakshmi, J. and Viswanathan, B., ۲۰۱۱. Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines. Toxicology and Applied Pharmacology, ۱۷۵: ۱۹۱–۱۹۹.

Schmid, G. and Corain, B., ۲۰۰۳. Nanoparticulated gold: Syntheses, structures, electronics and reactivities .Eur.J.Inorg anicChemistry, ۳۰۸۱-۳۰۹۸.

Shah, B. R. and Mraz, J., ۲۰۲۰. Advances in nanotechnology for sustainable aquaculture and fisheries. Reviews in Aquaculture, ۱۲(۲): ۹۲۵-۹٤۲.

Shahbazzadeh, D. A., Ahari. H. B., Rahimi. N. M., Dastmalchi, F. And Soltani, M., ۲۰۰۹. The effects of Nanosilver on survival percentage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Corain*), Pakistan Journal of Nutrition, ۸ (۸): ۱۱۷۸-۱۱۸۰.

Singaravelu, G., Arockiamary, J. S., Ganesh Kumar, V. and Govindaraju, K., ۲۰۰۷. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. Colloids Surf. B Biointerfaces, ٥۷: ۹۷-۱۰۱.

Singaravelu, G., Arockiamary, J. S., Kumar – Colloids, V. G. and Surfaces, B., ۲۰۰۷. Cytotoxicity and enotoxicity of silver nanoparticles in human cells. ACS Nano, ۳: ۲۷۹-۲۹۰.

Singaravelu, G., Arockiamary, J. S., Kumar – Colloids, V. G. and surfaces, B., ۲۰۰۷. Biological properties of "naked" metal nanoparticles. Advanced Drug Delivery Reviews, ٦۰ (۱۱): ۱۲۸۹–۱۳۰٦.

Soltani, M., Esfandiary, M., Sajadi, M. M., Khazraeenia, S., Bahonar, A. R. and Ahari, H., ۲۰۱۱. Effect of nanosilver particles on hatchability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg and survival of the produced larvae. Iranian Journal of Fisheries Sciences. ۱۰(۱), ۱٦۷-۱۷٦.

Walker, PA., Kille, P., Hurley, A., Bury, N. R. and Hogstrand, C., ۲۰۰۸. An in vitro method to assess toxicity of waterborne metals to fish. Toxicol. Appl. Pharmacol, ۲۳۰: ٦۷–۷۷.

Wu, Y. and Zhou, Q., ۲۰۱۳. Silver nanoparticles cause oxidative damage and histological changes in medaka (*Oryzias latipes*) after ۱٤ days of exposure. Environmental Toxicology and Chemistry, ۳۲ (۱): ۱٦٥–۱۷۳.

Yeo, M. K. and Kang, M., ۲۰۰۸. Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebrafish embryogenesis. Bulletin of the Korean Chemical Society, ۲۹(٦): ۱۱۷۹-۱۱۸٤.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2025-07-08]