

بررسی سمیت نانو ذرات نقره کلئیدی در لارو بارناکل *Amphibalanus Amphitrite*

چکیده

با توجه به توسعه روزافزون فناوری، نگرانی‌ها در رابطه با خطرات احتمالی آزادسازی مواد محتوی ذرات نانو به محیط‌زیست در حال افزایش است. بسیاری از ضایعات صنعتی و فاضلاب‌های شهری به گستره‌های آبی (رودخانه‌ها، دریاچه‌ها، آب‌های ساحلی و غیره) می‌ریزند که نگرانی آزادسازی نانو ذرات در محیط‌زیست را افزایش داده است. انتشار نانو ذرات زیست‌محیطی درون محیط‌های آبی از مشکلات جدید زیست‌محیطی به شمار می‌آید که باید مورد مطالعه قرار گیرد. لذا در این مطالعه سمیت نانو ذرات نقره کلئیدی در لارو بارناکل *Amphibalanus amphitrite* با استفاده از استاندارد (OECD) ارزیابی گردید. این سخت‌پوستان از نظر اقتصادی و هم از نظر اکولوژیکی حائز اهمیت می‌باشند. در این تحقیق میزان LC₅₀ در طی ۲۴ ساعت برای ناپلیوس II، III، IV، V، VI نسبت به سمیت نانوذره نقره کلئیدی در غلظت‌های ۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۷، ۰/۱۸، ۰/۰۹، ۰/۰۴۶ و ۰/۰۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر مورد بررسی قرار داده شد. یک گروه تیمار نیز به‌عنوان کنترل بدون نانو ذرات در نظر گرفته شد و نتایج با نرم‌افزار Probit تجزیه و تحلیل گردید. نتایج نشان داد که LC₅₀ در ۲۴ ساعت بعد از مجاورت به ترتیب برابر ۰/۰۷۷ و ۰/۰۴۶ و ۰/۰۷۱ و ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر بود و تلفات با افزایش غلظت نانو ذرات افزایش یافت که گویای سمی بودن این ماده برای لارو بارناکل می‌باشد.

واژگان کلیدی: نانو ذرات نقره، ناپلیوس بارناکل، LC₅₀.

فاطمه صادقی^{۱*}

دکتر مرتضی یوسف زادی^۲

سکینه مشجور^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیولوژی دریا،

دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲. دانشیار گروه بیولوژی دریا، دانشگاه هرمزگان،

بندرعباس، ایران

۳. دانشجوی دکترای بیولوژی دریا، دانشگاه

هرمزگان، بندرعباس، ایران

*مسئول مکاتبات

sadeghi69.fatemeh@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۶۰۱۰۴۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۲۱

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی

ارشد می‌باشد.

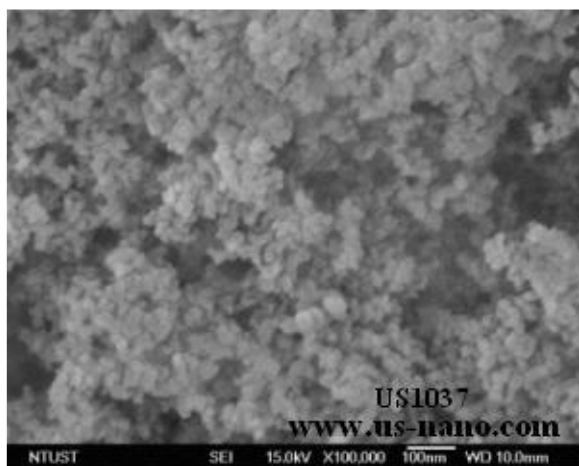
مقدمه

بارناکل‌ها سخت‌پوستانی کف زی و چسبیده به بستر هستند که در صدف‌های آهکی زندگی می‌کنند. این موجودات گروه بسیار موفق هستند که تقریباً در تمامی مناطق جغرافیایی و زیستگاه‌های آبی مختلف پراکنده شده‌اند. این سخت‌پوستان به‌عنوان گونه‌های بنیادی در چرخه غذایی مناطق بین جزرومدی محسوب می‌شوند (سواری، ۱۳۹۱). بارناکل‌ها به‌عنوان یک مدل زیستی گسترده و در دسترس برای تعیین خواص سمیت و ضد بیوفولینگ به شمار می‌روند (Marechal and Hellio, 2011). گونه *Amphibalanus amphitrite* به‌طور گسترده در خطوط ساحلی و مصب‌های نواحی گرمسیری و آب‌های سراسر جهان پراکنده شده است. لاروها از ۶ مرحله ناپلیوسی تشکیل شده‌اند که از نظر اندازه و تحرک نسبت به تنش‌های محیطی حساسیت متفاوتی را نشان می‌دهند (Qiu and Qian, 1997) پس از مراحل ناپلیوسی لارو وارد آخرین مرحله لاروی شده که آن را سیپریس می‌نامند. در این مرحله لارو تغذیه نمی‌کند و به سطح می‌چسبد و اقدام به دگردیسی کرده و به بارناکل جوان تبدیل می‌شود (Anderson, 1994). دلایل خوبی برای انتخاب این دو مراحل وجود دارد: ناپلیوس II که ۴-۶ روز بدون غذا زنده می‌ماند (Qiu and Qiu, 1997)؛ اما می‌تواند ۵ مرحله ناپلیوسی را طی کند و زمانی که غذای مناسب در دسترس باشد به مرحله سیپریس برسد. مدت زمانی که ناپلیوس II به ناپلیوس III تبدیل می‌شود تقریباً ۳-۱ روز است، در این مدت محقق می‌تواند لارو را در معرض آزمون سمیت قرار دهد. امروزه

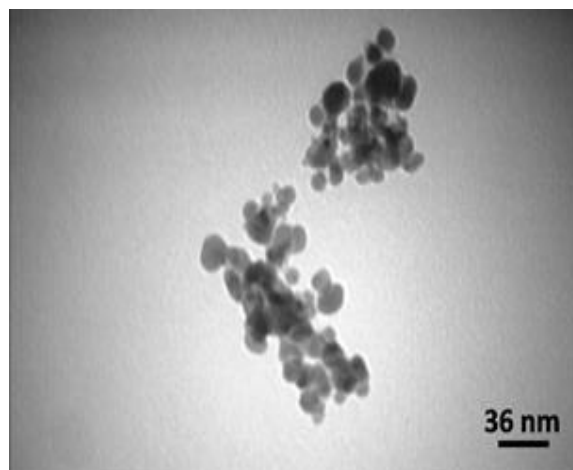
استفاده از نانوفناوری و محصولات نانو در صنایع مختلف به طور وسیعی در حال گسترش می باشد (Barllan et al., 2008). نانو ذرات متعدد به ویژه نانو ذرات نقره به عنوان مواد ضد باکتریایی سابقه طولانی در زندگی بشر دارد و در سال های اخیر استفاده از ترکیبات حاوی نقره مثل کلئید نقره، پوشش های نقره و نانو ذرات نقره به عنوان مواد ضد باکتریایی با کارایی بالا و عوارض جانبی کمتر در صنایع مختلف در حال گسترش است (Rai et al., 2002). کاربرد این نانو ذرات در آبزیان، به منظور درمان بیماری ها و کنترل بار باکتریایی آب قابل بررسی است (Rai et al., 2009). اگرچه کمتر به اثرات این نانو ذرات در جانوران غیر هدف توجه شده است. با توجه به گسترش سریع صنایع مرتبط به نانو ذرات از قبیل صنایع نساجی، ساخت وساز، خودرو، حمل و نقل، ارتباطات، الکترونیک، صنایع نظامی و هوافضا، احتمال ورود این مواد به منابع آبی و ایجاد اثرات سمی بر محیط زیست و موجودات به ویژه آبزیان وجود دارد. لذا در این تحقیق سمیت نانو ذرات نقره محلول بر لارو بارناکل گونه *A. amphitrite* که یکی از نمونه های غالب و رایج بسترهای مختلف سواحل خلیج فارس و دریای عمان است سنجیده شد.

مواد و روش ها

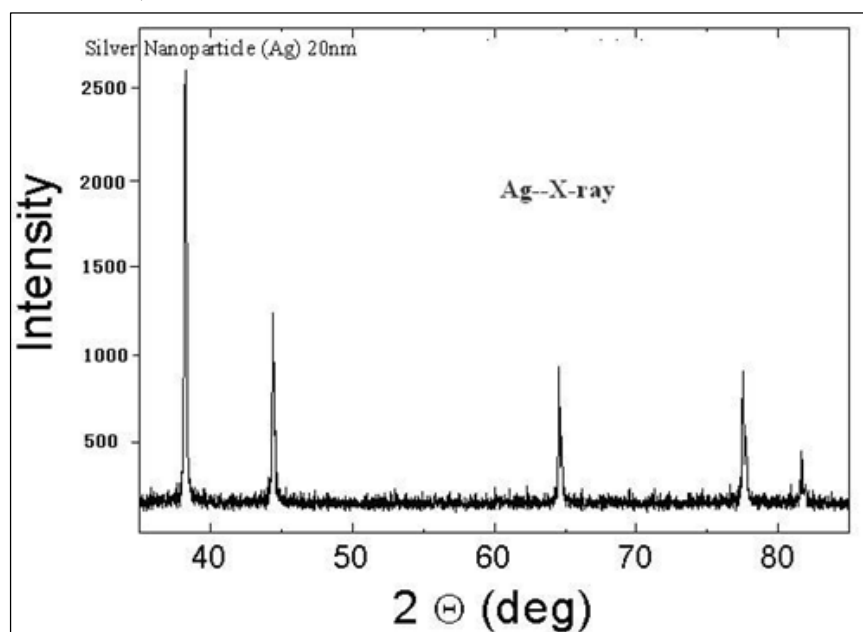
در این تحقیق نانوذره نقره از شرکت اینک در هوستون L-4000 خریداری شد. این ماده کاملاً محلول در آب بوده و ماده حامل نانو ذرات نقره در این محصول آب مقطر می باشد. غلظت نانو ذرات نقره ۴۰۰۰ میلی گرم در میلی لیتر و اندازه نانو ذرات نقره در این محصول با درجه خلوص ۹۹/۹۹ درصد مطابق با اطلاعات کارخانه و بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی گذار سائز نانو ذرات ۳۰-۲۰ نانومتر تعیین شده است. جزئیات رفتار، سائز و خصوصیات شیمیایی نانو ذرات نقره (AgNPs) در آب های دریایی با استفاده از میکروسکوپ نگاره زیست محیطی (ESEM) مجهز به اسپکتروسکوپی انرژی انتشاری مشخص شد (شکل ۱). تعلیق سازی (AgNPs) مطابق بر روش Canesi و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد و به طور خلاصه بدین قرار است که بایست در ابتدا یک غلظت استوک ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر از AgNPs تهیه شده، سپس به مدت ۱۵ دقیقه تحت ولتاژ ۱۰۰ والت و با استفاده از دوره های ۵۰ درصد off/on سونیکیت شده و این سوسپانسیون بر روی حمام یخ در طول مراحل آماده سازی نگهداری شود. سپس غلظت های مختلفی از نانو ذرات نقره کلئیدی صفر (کنترل) (۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۷، ۰/۱۸، ۰/۰۹) میکروگرم در میلی لیتر از آن استوک تهیه شد (Qiu et al., 2005).



(ب)



(الف)



(ج)

شکل (۱: الف) تصویر TEM از نانو ذرات نقره کلوئیدی. (ب) تصویر SEM از نانو ذرات نقره کلوئیدی. (ج) تصویر XRD از نانو ذرات نقره کلوئیدی.

بارناکل *A. amphitrite* از خانواده *Balanoidae* در زمان بیشینه جذر از سواحل بندرعباس در استان هرمزگان که در جنوب ایران بین مختصات جغرافیایی ۲۵ درجه و ۲۴ دقیقه تا ۲۸ درجه و ۵۷ دقیقه عرض شمالی و ۵۳ درجه و ۴۱ دقیقه و ۱۵ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار واقع شده است، روبه‌رو پژوهشکده شیلات جمع‌آوری و به همراه آب دریا به آزمایشگاه جانورشناسی دانشگاه هرمزگان منتقل گردید (شکل ۱). با ایجاد یک نقطه نوری مشخص در یک ظرف حاوی بارناکل‌ها در محیط نسبتاً تاریک لاروهای بارناکل‌ها با استفاده از پیپت پاستور پلاستیکی جمع‌آوری و به ظرف کشت لارو انتقال داده شد. لاروهای جمع‌آوری‌شده در مرحله دوم ناپلیوس بودند. محیط کشت لاروها حاوی آب دریا با شوری ۳۵ ppt، محیط

کشت لاروها حاوی فیتوپلانکتون‌های *Tetraselmis. suecica*, *Chaetoceros. calcitrans* با غلظت 2×10^2 سلول در میلی‌لیتر جهت تغذیه آن‌ها بود. ظروف محتوی کشت لاروی به مکانی با دمای 27 ± 1 سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شد (Piazza et al., 2014; Nasrolahi et al., 2007).

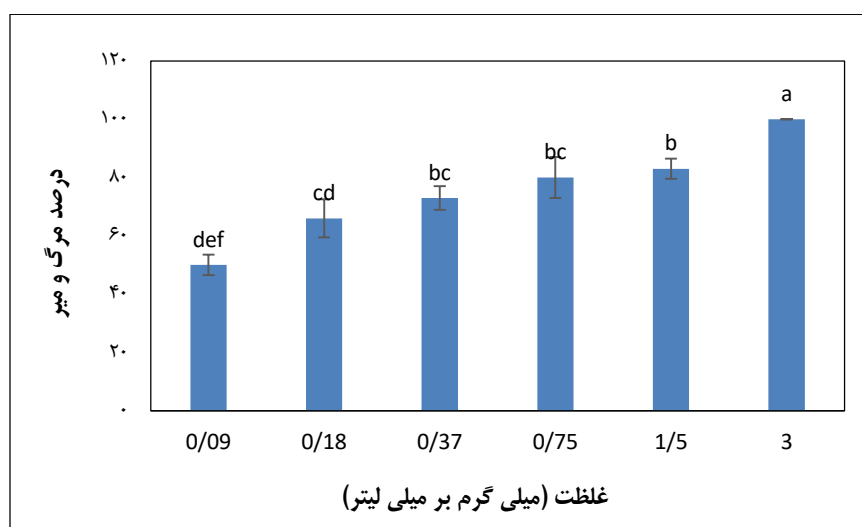


شکل ۱: تصویری از محل نمونه‌برداری بارناکل *Amphibalanus amphitrite*

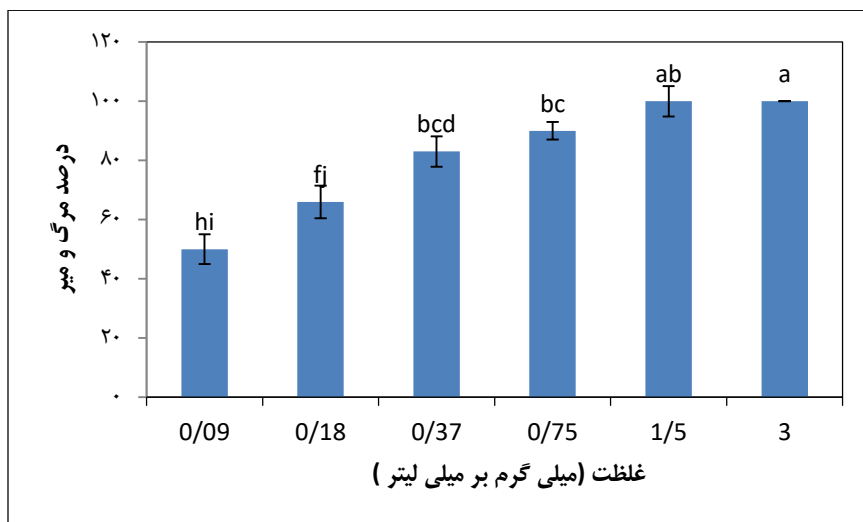
جهت بررسی میزان سمیت نانو ذرات نقره، از تمام ۶ مرحله لاروی بارناکل گونه *A. amphitrite* استفاده گردید. ابتدا ناپلیوس‌ها جمع‌آوری و به ظروف ۲۴ خانه‌ای برای بررسی میزان سمیت نانو ذرات نقره منتقل شدند. برای این منظور ۵ لارو ناپلیوس به هر چاهک از پلیت میکرو تیترا (پلیت های حاوی ۲۴ چاهک پلی استرنی) که از قبل محتوی ۱ میلی‌لیتر از آب دریای فیلتر شده به همراه سوسپانسیون از غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره (۰، ۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۷، ۰/۱۸، ۰/۰۹) میکروگرم در میلی‌لیتر بوده‌اند، منتقل‌شده‌اند. آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام پذیرفت و پس از ۲۴ ساعت تعداد لاروهای مرده تحت یک استریو میکروسکوپ شمارش‌شده و درصد مرگ‌ومیر نسبت به نمونه‌های کنترل محاسبه و مقایسه گردید. نتایج مربوط به غلظت ایجادکننده تلفات در مراحل لاروی *A. amphitrite* در جدول ۱ نشان داده‌شده است. برای ترسیم نمودار از نرم‌افزار Exell (Microsoft office 2010) استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری نیز با استفاده از نرم افزار IBM SPSS statistic ویرایش بیست و دوم انجام گرفت. EC_{50} و LC_{50} آزمون‌های سمیت، با نرم‌افزار Probit ویرایش ۱/۵ محاسبه شد و بررسی اختلاف معنی‌داری بین سمیت نانو ذرات نقره بر مراحل مختلف لاروی بارناکل توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA One way) انجام پذیرفت؛ و مقایسه داده‌ها در سطح معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بررسی گردید.

نتایج

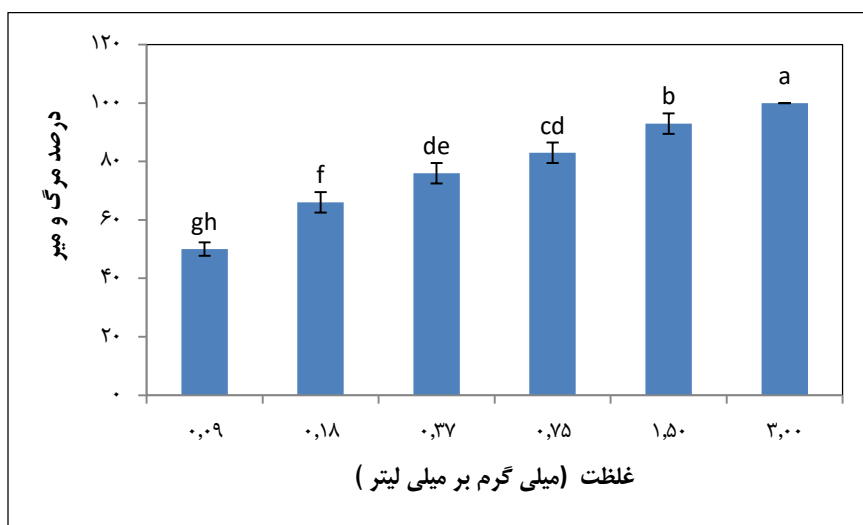
نتایج سمیت نانوذره نقره (L-4000) در لاروهای بارناکل در جدول و شکل‌های (۲ تا ۶) خلاصه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود سمیت نانوذره نقره در بارناکل با افزایش اندازه افزایش می‌یابد. به گونه‌ای که غلظت ایجادکننده ۵۰ درصد تلفات (LC_{50}) ۲۴ ساعت بعد از مجاورت در مراحل II، III، IV، V، VI به ترتیب ۰/۰۷۷، ۰/۰۴۶، ۰/۰۷۱، ۰/۰۰۶، ۰/۰۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده و نسبت تلفات نیز با غلظت نانوذره نقره در هر دوره زمانی نسبت مستقیم نشان داد. به گونه‌ای که در زمان ۲۴ ساعت بعد از مجاورت در غلظت ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در ناپلیوس II (شکل ۲) تمام لاروها از بین رفتند. در غلظت ۱/۵ و ۰/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، درصد کشندگی ۸۰ محاسبه شد. غلظت ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر درصد کشندگی بسیار پایین‌تری داشت. در ناپلیوس III (شکل ۳)، در غلظت‌های ۱/۵ و ۰/۳۷ میکروگرم در میلی‌لیتر، میانگین درصد کشندگی ۹۴/۳۳ و ۷۵/۳۳ بود. در ناپلیوس IV (شکل ۴) در غلظت ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر، هیچ لارو زنده‌ای مشاهده نشد و در غلظت ۰/۱۸ و ۰/۰۹ نیز میانگین درصد کشندگی ۵۲ و ۴۱ بوده است. در ناپلیوس V (شکل ۵) در غلظت‌های ۰/۳۷ و ۰/۱۸ میکروگرم در میلی‌لیتر میانگین درصد کشندگی، ۸۰ و در غلظت ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر میانگین درصد کشندگی، ۷۵ بود. در ناپلیوس VI (شکل ۶) در غلظت‌های ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۷، ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر، میانگین درصد کشندگی به ترتیب ۱۰۰، ۸۶، ۷۶، ۶۶ بود. تمامی این مراحل در لاروهای کنترل هیچ‌گونه مرگ‌ومیری مشاهده نشد.



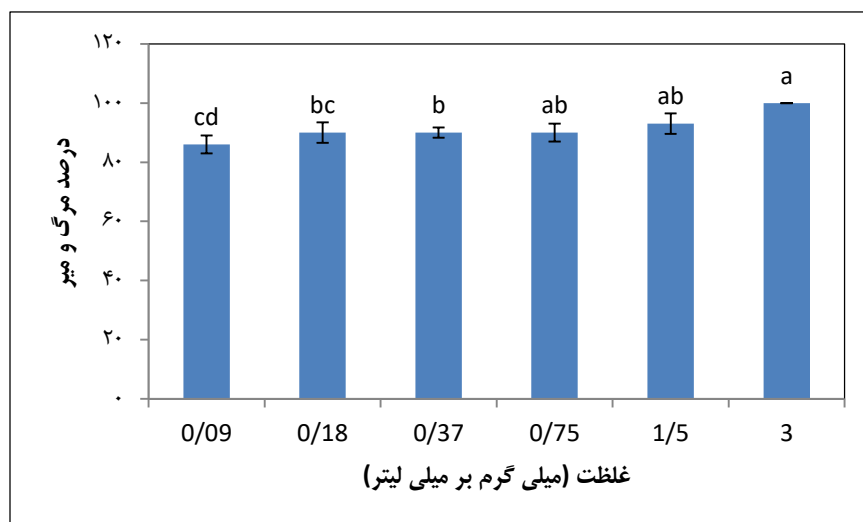
شکل ۲: مقایسه اثرات غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره بر ناپلیوس مرحله II لارو بارناکل *Amphibalanus* آنتیک نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره. *Amphitrite*



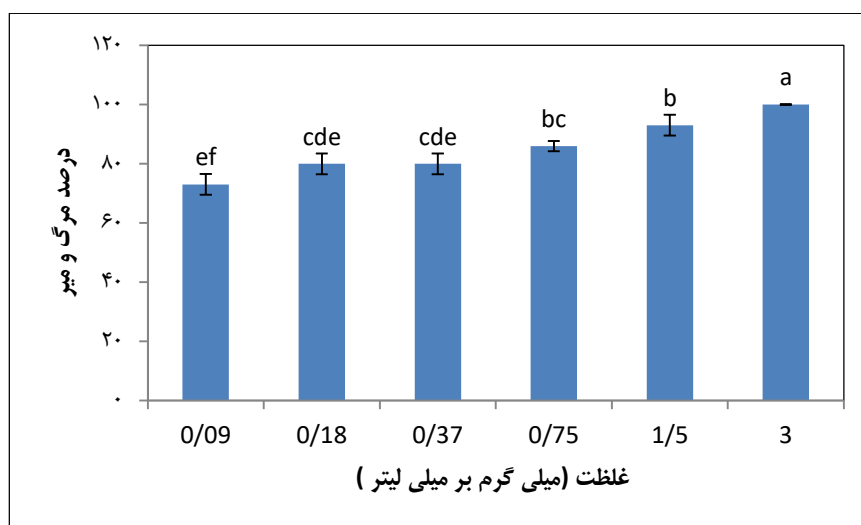
شکل ۳: مقایسه اثرات غلظت‌های متفاوت سه نوع نانو ذرات نقره بر ناپلیوس III لارو بارناکل *Amphibalanus Amphitrite*. آنتیک نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره.



شکل ۴: مقایسه اثرات غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره بر ناپلیوس IV لارو بارناکل *Amphibalanus Amphitrite*. آنتیک نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره.



شکل ۵: مقایسه اثرات غلظت‌های متفاوت سه نوع نانو ذرات نقره بر ناپلیوس V لارو بارناکل *Amphibalanus Amphitrite*. آنتیک نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره.



شکل ۶: مقایسه اثرات غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره بر ناپلیوس VI لارو بارناکل *Amphibalanus Amphitrite*. آنتیک نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره.

جدول ۱: نتایج مربوط به غلظت ایجادکننده تلفات در مراحل لاروی *Amphibalanus amphitrite* بعد از مواجهه با

نانو ذرات نقره (AgNPs). محاسبه به کمک نرم افزار Probit ویرایش ۱/۵.

غلظت ایجادکننده تلفات	ناپلیوس II	ناپلیوس III	ناپلیوس IV	ناپلیوس V	ناپلیوس VI
LC ₅₀	۰/۰۷۷	۰/۰۴۶	۰/۰۷۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۹
LC ₈₅	۱/۰۳۵	۰/۳۱۸	۰/۶۱۵	۰/۲۰۸	۰/۳۴
LC ₉₀	۱/۹۱۲	۰/۵۰۱	۱/۰۲۵	۰/۴۸۸	۰/۷۹
LC ₉₉	۲۴/۱۴۹	۰/۵۰۹	۱/۰۷۸	۱۸/۷۳۰	۲۹/۹۸

بحث و نتیجه گیری

انتشار نانو ذرات در اکوسیستم‌های آبی می‌تواند برای موجودات زنده در این محیط مضر باشد. اختلاف در LC₅₀ معمولاً به عوامل زیستی و فیزیکی-شیمیایی بستگی دارد. حتی نتایج سمیت حاد ممکن است در گونه‌های مختلف متفاوت باشد به همین دلیل سمیت به‌اندازه، سن، جنس و شرایط گونه‌های آزمایش به همراه عوامل مداخله‌گر بستگی دارد (Kumar et al., 2008). موادی مانند شوری، pH، سختی، یون‌های دو ظرفیتی و تک‌ظرفیتی و کربن آلی محلول در آب می‌تواند اثر شگرفی بر تراکم و اثرات سمی نانو ذرات در محیط‌های آبی داشته باشد (OECD, 2012). Kittler و همکاران در سال ۲۰۱۰ بیان کردند که بخش زیادی از سمیت ایجادشده توسط نانو ذرات نقره، ناشی از یون‌های نقره ساطع‌شده از سطح این نانو مواد است. از این‌رو یافتن غلظت کشنده و نیز حداکثر غلظت مجاز این مواد در گونه‌های مختلف ماهی و حتی آرتمیا و بارناکل به‌عنوان غذای آغازین بچه ماهیان و جانوران دیگر، می‌تواند ضروری باشد. گزارش‌ها مختلفی از سمیت ترکیبات نانو بر موجودات به‌ویژه آبزیان وجود دارد. مشخص‌شده است که نانو ذرات نقره مورد استفاده برای آرتمیا که یک سخت‌پوست مقاوم نسبت به شوری آب می‌باشد سمی بوده به‌طوری‌که هم با افزایش غلظت و هم با افزایش زمان مجاورت آرتمیا با سم، تلفات آرتمیا افزایش می‌یابد (Barllan et al, 2009). غلظت نانو ذرات برای ایجاد ۵۰ درصد تلفات در چهار گونه ماهی پرورشی و آکواریومی بین ۰/۳ تا ۷ میلی گرم در میلی لیتر گزارش گردید (Alishahi et al., 2009). همچنین در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان غلظت حدود ۵ میلی گرم در لیتر نانوذره نقره عامل ایجاد ۵۰ درصد تلفات گزارش شده است (Soltani et al., 2009). سمیت حاد، مزمن نانو سیلور بر روی دافنی مگنا *Daphnia magna* به‌عنوان یک معرف زیستی آلودگی در آب‌های شیرین بررسی شده است که نشان‌دهنده تجمع زیست‌محیطی بالای این ماده می‌باشد، به‌طوری‌که تماس دافنی با نانو سیلور با غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر ایجاد ۵۰ درصد تلفات نمود، همچنین غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر این ماده کاهش رشد و باروری دافنی را باعث گردید (Chun-Mei and Wen-xiong, 2011). بر اساس نتایج بالا می‌توان نتیجه گرفت مراحل اولیه ناپلیوس (II, III, IV) در برابر نانو ذرات نقره نسبت به مراحل آخر ناپلی مقاوم‌تر هستند. به بیانی دیگر مقاومت ناپلی نسبت به نانو ذرات نقره در طول مراحل مختلف لاروی کاهش می‌یابد. با توجه به سمی بودن نانو ذرات نقره این احتمال داده شد که مراحل آخر ناپلی (VI, V) حساس‌ترین مراحل ناپلی به شمار می‌آید زیرا بیشترین میزان مرگومیر در این دو مرحله مشاهده گردید. البته عملکرد مکانیسم داخلی نانو ذرات نقره در لاروهای بارناکل شناخته‌نشده است اما می‌توان این احتمال را مبنی بر سمیت بالای نانو ذرات نقره بر دگرذیسی لاروهای بارناکل به‌منظور رسیدن به مرحله سپیریس دانست. سپیریس تغذیه نمی‌کند و مقاومت بالایی دارد از این‌جهت است که برای آزمون‌های ضد فولینگ از سپیریس استفاده می‌شود (Qiu et al, 2005). اگرچه اغلب برای آزمون‌های سمیت از ناپلیوس II استفاده شده است که این امر تا حدودی می‌تواند ناشی از حجم تولیدی بسیار بالای آن و مقاومت بیشتر آن‌ها در برابر نانو ذرات باشد. در هر صورت حتی با پذیرفتن اثرات منفی این ماده بر محیط‌زیست نیز این اثرات یقیناً کمتر از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی ضد باکتریایی مرسوم با اثرات مشابه است (Sharma et al, 2009). این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه Qiu و همکاران در سال (۲۰۰۵) که به

بررسی اثر سمیت مس بر مراحل مختلف لاروی بارناکل *A. amphitrite* پرداختند، مطابقت داشته است. Qiu و همکارانش بیان کردند که با افزایش غلظت مس میزان مرگ‌ومیر لاروهای بارناکل افزایش می‌یابد. همچنین مشخص نمودند که ناپلیوس VI.V حساسیت بیشتری در برابر مس نسبت به مراحل دیگر لاروی دارند. ناپلیوس II مقاوم‌ترین مرحله شناخته شد که می‌توان از آن برای آزمودن‌های سمیت استفاده کرد. همچنین نتایج تحقیق حاضر با بررسی که توسط Arulvasu و همکاران در سال ۲۰۱۳ در ارتباط با اثرات سمیت نانو ذرات نقره در میگوی آب‌شور (آرتمیا) *A. salina* پرداخته‌شده بود مطابقت داشت. در این مطالعه محققین بیان کردند که با افزایش غلظت نانو ذرات نقره، میزان سمیت بیشتر و درصد تخمه‌گشایی سیستم‌های آرتمیا کاهش می‌یابد. همچنین مشخص شد علت این پدیده به دلیل تجمع نانو ذرات نقره داخل روده‌های ناپلی آرتمیا است و همچنین با دگرذیسی آرتمیا، مقاومت آن‌ها در برابر سمیت نانو ذرات نقره کاهش می‌یابد. به بیانی دیگر، بالغین آرتمیا حساس‌ترین مرحله در برابر نانو ذرات نقره به شمار می‌آیند. Falugi و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثرات نانو ذرات نقره را بر تولیدمثل و توسعه مدل‌های ارگانایسم‌های مختلف مانند توتیای دریایی، بارناکل‌ها، آرتمیا و ماهی زیر بررسی کردند. نتایج سمیت نانو ذرات نقره بر بارناکل *A. amphitrite* نشان داد که در غلظت ۰/۱ تا ۰/۰۰۱ گرم بر لیتر در ۲۴ ساعت، ۱۰۰ درصد مرگ‌ومیر داشته است اما آرتمیا حساسیت کمتری نسبت به نانو ذرات نقره داشته و بعد از ۴۸ ساعت میزان مرگ‌ومیر آن افزایش‌یافته است. میزان LC₅₀ در ناپلیوس II بارناکل در معرض نانوذره نقره کلونیدی به مدت ۲۴ ساعت، ۰/۰۳۲ و آرتمیا ۰/۰۰۵ گرم بر لیتر بود. حاکی از حساسیت بیشتر بارناکل به نانو ذرات نقره نسبت به آرتمیا است و با نتایج به‌دست‌آمده در بررسی حاضر که حساس‌تر بودن لارو بارناکل را نشان داد، کاملاً مطابقت دارد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در LC₅₀ بین غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره کلونیدی وجود دارد ($P \leq 0.05$).

منابع

- سواری، ر.، ۱۳۹۱. مطالعه مقدماتی برخی ویژگی‌های تولیدمثلی دو گونه بارناکل بین جزر و مدی *Microeuraphia permitini* و *Amphibalanus amphitrite* در سواحل بندرعباس خلیج فارس. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، زیست‌شناسی دریا- جانوران دریا، دانشگاه هرمزگان، ۱۲۰ ص.
- Alishahi, M., Mesbah, M. and Gorbanpoor, M., 2009. Study of nanosilver toxicity if four species of fish. International Journal of Iran Veterinary, 7: 37-42.
- Anderson, R. A., 1994. Algal culturing techniques. International Journal of Elsevier, 5: 598.
- Arulvasu, C., Micheal, S., Prabhu, D. and Chandhirasekar, D., 2013. Toxicity effect of silver Nanoparticles in Brine shrimp Artemia. International Journal of the Scientific world, 10: 10.
- Bar-Ilan, O., Albrecht, R. M., Fako, V. E. and Furgeson, D. Y., 2008. Toxicity assessment of multisized gold and silver nanoparticles in zebra fish embryos. International Journal of Small, 5: 1897-1910.
- Canesi, L., Ciacci, C., Fabbri, R., Marcomini, A., Pojana, G. and Gallo, G., 2010. Bivalve molluscs as a unique target group for nanoparticle toxicity. International Journal of National Institutes of Health, 76: 16-21.
- Chun- Mei, Z. and Wen-xiong, W., 2011. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. Journal of Environmental Toxicology and Chemistry, 30: 885-892.
- Daughton, C. G., 2010. Non-regulated water contaminants. International Journal of emerging Research Environmental Impact assessment Review, 25: 711-732.
- Falugi, C., Aluigi, M.G., Faimali, M., Fervando, S., Gambardella, C., Gatti, A., Ramoino, P., 2012. Does dependent effects of silver nanoparticles on reproduction and development of different Biologicals models. International Journal of Environmental Quality, 8: 61-65.
- Kittler, S., Greulich, C., Diendorf, J., Koller, M. and Eppe, M., 2010. Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions. International Journal of Chemistery of Materials, 22: 4548-455.

- Kumar Pandey, R., Nayan Siagh, R. and Krishna Das, V., 2008.** Effects of temperature on mortality and behavioral response in fresh water catfish (*Heteropneusies fostillis*) (Bloch) exposed to Dimethoate. Global International Journal of Environmental Research, 2: 126-132.
- Marechal, J. P., Hellio, C., 2011.** Antifouling activity against barnacle cypris larvae: Do target species metter(*Amphibalanus Amphitrite* versus *semibalanus balanoides*)? International Journal of Biodeterioration and Biodegradation Society, 65: 92-101.
- Nasrolahi, A., Sari, A., Saifabadi, S. and Malek, M., 2007.** Effects of algal diet on larval survival and growth of the Barnacle *Amphibalanus* (= *Balanus*) improvises. International Journal of the Marine Biological Association of the UK, 65: 1227-1233.
- OECD, 2010.** Environment, Health and safety publications, series on the safety of manufactured Nanomaterials. International Journal of Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, France, 10: 25.
- Piazza, V., Dragi, I., Sepcic, K., Faimali, M., Garaventa, F., Turk, T. and Berno, S., 2014.** Antifouling activity of synthetic Alkylpyridinium polymers using the barnacle model. International Journal of Marine Drugs, 5: 1995-1976.
- Qiu, J. W. and Qian, P. Y., 1997.** Effects of food availability, larval source and culture method on larval development of *Balanus amphitrite* Drawn implications for experimental design. International Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 217: 47-61.
- Qiu, J. W., Thiyagarajan, V., Cheung, S. and Qian, P. Y., 2005.** Toxic effects of copper on larval development of the barnacle *Balanus Amphitrite*. International Journal of Marine Pollution Bulletin, 16: 688-693.
- Rai, M., Yadav, A. and Gade, A., 2009.** Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, International Journal of Biotechnology. Adv, 27: 76-83.
- Soltani, M., Torabzadeh, N. and Soltani, A., 2009.** Toxicity of nano silver suspension (nanocide in *Rainbow trout*). The first International Congress on Aquatic Animal Health Management and Disease, 170: 112.
- Sharma, K., Yngard, R. A. and Lin, Y., 2009.** Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities, International Journal of Advantage. Coll, 145: 83-96.