فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۵، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۵، صفحه ۱۵- ۲۶

سمیت نانوذرات نقره در مراحل ابتدایی تکامل تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)

اشکان بنان[۱]، محمدرضا کلباسی مسجدشاهی[۲*]، محمود بهمنی[۳]، محمدعلی یزدانی ساداتی[٤]

۱- دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
۲- استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
۳- استاد، موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر ، رشت، ایران
٤- دانشیار، موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر ، رشت، ایران

دریافت: ۹٤/۰٤/۰۸ پذیرش: ۹٤/۱۱/۰۷

*نویسنده مسئول مقاله: kalbassi_m@modares.ac.ir

چکیده:

نانوذرات نقره بیشتر به‌دلیل ویژگی ضدمیکروبی آنها کاربرد گسترده‌ای در محصولات مصرفی یافته‌اند. افزایش روزافزون استفاده از این نانوذرات باعث توجه به اثرهای احتمالی زیست سم‌شناسی آنها شده است. در این مطالعه، ابتدا اثرهای حاد کلوئید نانوذرات نقره در دوران جنینی دو گونه تاس‌ماهی ایرانی و ازون‌برون بررسی شد و سپس اثرهای کوتاه مدت آن در مراحل ابتدایی تکامل (پیش از شروع تغذیه فعال) گونه ازون‌برون ارزیابی گردید. براساس نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های سمیت حاد، نانوذرات نقره در هر دو گونه مورد بررسی سمیت وابسته به غلظت را در مراحل ابتدایی تکامل به دنبال داشتند. سه غلظت ۰/۰۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر کلوئید نانوذرات نقره به همراه تیمار شاهد برای بررسی اثرهای کوتاه مدت در نظر گرفته شد. میزان تجمع نقره در تیمار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معناداری بیشتر از تیمار شاهد ثبت گردید ($p<0/05$)، هر چند در میزان بازماندگی تفاوت معناداری بین تیمارها مشاهده نگردید.

کلید واژگان: نانو زیست سم‌شناسی، کلوئید نانوذرات نقره، ماهیان خاویاری، تجمع زیستی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

مقدمه:

نانوذرات به‌دلیل دارا بودن شکل، ساختار سطحی، اندازه و خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاص دارای ویژگی‌های منحصر به‌فردی می‌باشند. به‌طور ویژه، از آنجایی که ٤٠ تا ٥٠ درصد اتم‌های تشکیل‌دهنده نانوذرات بر روی سطح آنها حضور دارند، نانوذرات از واکنش‌پذیری بالاتری در مقایسه با مواد خارج از مقیاس نانو برخوردارند. از این‌رو، نانوذرات اثرهای زیست شناختی متفاوتی نسبت به نمونه‌های میکرومتری و ماکرومتری خود دارند (Salari Joo و همکاران، ۲۰۱۳). نانوفناوری به‌طور فزاینده در حال گسترش است و شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد نانوذرات پتانسیل ایجاد اثرهای سمی جدی را در آبزیان دارند (Johari و همکاران، ۲۰۱۳؛ Kalbassi و همکاران، ۲۰۱۳؛ Johari، ۲۰۱٤). در این میان، نانوذرات نقره به دلایل مختلفی کاربرد فراوانی دارند که مهم‌ترین آن، ویژگی ضدمیکروبی آنها است (Baker و همکاران، ۲۰۰۵؛ Li و همکاران، ۲۰۱۱؛ Samberg و همکاران، ۲۰۱۱). این ویژگی مصارف فراوانی را برای نانوذرات نقره در صنایع مختلف به ارمغان آورده است که در مطالعات مختلف بدان توجه شده است (Rhim و همکاران، ۲۰۰٦؛ Sun و همکاران، ۲۰۰۹؛ Zodrow و همکاران، ۲۰۰۹). یکی از این مصارف که تاکنون کمتر به آن پرداخته شده است در صنعت آبزی‌پروری و برای فیلتراسیون آب می‌باشد. قهرمانی (۱۳۸۹) به مطالعه کارایی زئولیت و کربن پوشش یافته با نانوذرات نقره در سیستم فیلتراسیون آب برای مقابله با عفونت ناشی از باکتری استرپتوکوکوس اینیائی (*Streptococcus iniae*) طی پرورش بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرداخت. شهیم (۱۳۹۱) از فوم‌های پلی اورتان محتوای نانوذرات نقره برای کنترل عفونت ناشی از استرپتوکوکوس اینیائی طی پرورش بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بهره برد. Johari و همکاران (۲۰۱۵) اقدام به استفاده از زئولیت پوشش داده شده با نانوذرات نقره برای مبارزه با عفونت قارچی دوران انکوباسیون قزل‌آلای رنگین‌کمان نمودند. این کاربردهای متعدد، امکان رهایش این ذرات به محیط‌های آبی را نیز فراهم می‌سازد. از این‌رو، درک تأثیر این ذرات بر محیط‌های آبی با اهمیت است و دریاچهٔ خزر نیز به‌عنوان یکی از پهنه‌های مهم آبی کشور که زیستگاه گونه‌های با ارزش اقتصادی بالا و اهمیت بین‌المللی ویژه‌ای چون تاس‌ماهیان می‌باشد، از این امر مستثنا نیست. نانوذرات نقره قادر به ایجاد انواع سمیت در آبزیان می‌باشند و به‌عنوان مثال سمیت سلولی و ژنی (Wise و همکاران، ۲۰۱۰؛ Nair و همکاران ۲۰۱۱)، اختلال در تکامل جنینی (Scown و همکاران، ۲۰۱۰؛ Cho و همکاران، ۲۰۱۳)، تجمع در بافت‌ها، ایجاد آسیب‌های بافتی و اختلال در بیان ژن‌ها (Griffitt و همکاران، ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳؛ Johari و همکاران، ۲۰۱٤) گزارش شده است. با در نظر گرفتن حساسیت بالای دوران جنینی طی تکامل ماهیان، بررسی اثرهای حاد و کوتاه مدت نانوذرات نقره در گونه‌های مختلف ماهیان حائز اهمیت است. از این‌رو پژوهش حاضر سعی بر آن دارد تا به بررسی اثرهای حاد و کوتاه مدت این نانوذره در دوران جنینی دو گونه ارزشمند تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) بپردازد.

مواد و روش کار

نانوذرات نقره و ویژگی‌های آن

در این بررسی از کلوئید نانوذرات نقره با نام تجاری نانوسید و غلظت اسمی ٤٠٠٠ میلی‌گرم بر لیتر، خریداری شده از شرکت نانو نصب پارس (تهران، ایران) که در

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

سازمان ثبت اختراعات ایالات متحده امریکا با شماره ۲۰۰۹۰۰۱۳۸۲۵ به ثبت رسیده است (Nia، ۲۰۱۱)، استفاده شد. برخی ویژگی‌های کلوئید به کار رفته در این بررسی براساس آزمایش‌های Salari Joo و همکاران (۲۰۱۳) در جدول ۱ آورده شده است.

تکثیر مصنوعی دو گونه مورد مطالعه مولدین به‌کار رفته در پژوهش حاضر از ساحل جنوبی دریای خزر و به‌طور خاص از صیدگاه‌های محدوده بهشهر (استان مازندران) صید و به مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجایی (ساری، مازندران) منتقل شدند.

پرورش و نگهداری مولدین در حوضچه‌های بتنی حاوی آب با درجه حرارت ۱/۵±۱۸ سانتی‌گراد و pH ۷/٦ تا ۷/۹ صورت گرفت. برای القای رسیدگی جنسی از تزریق عضلانی هورمون سنتتیک گنادوتروپینی (LHRH-A_2[1]) به میزان ۵ تا ۱۰ µg/kg بهره گرفته شد (Aramli و همکاران، ۲۰۱٤). استحصال تخمک و اسپرم از مولدین رسیده و لقاح به روش Amini و همکاران (۲۰۱۲) صورت گرفت و بخشی از تخم‌های لقاح یافته برای پژوهش حاضر استفاده شدند.

1 Luteinizing Hormone-Releasing Hormone-A2

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

جدول ۱ ویژگی‌های اندازه‌گیری شده کلوئید نانوذرات نقره مورد استفاده (Salari Joo و همکاران ۲۰۱۳)

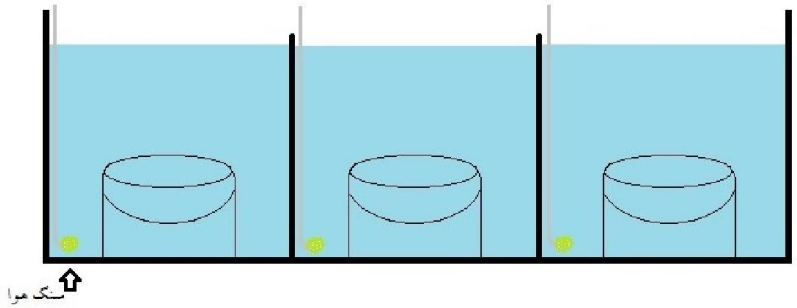
ویژگی	روش اندازه‌گیری	فراسنجه	توضیحات
شکل	TEM	کروی	----------
قطر بیشینه	TEM	۱۲۹	٦٥/١٤ درصد از ذرات قطری بین ۱ تا ۱۳ نانومتر دارند.
غلظت (میلی‌گرم در لیتر)	ICP-AES	۳۹۸۰	با غلظت اعلام شده از شرکت تولیدی اختلاف ناچیزی دارد.
قطر هیدرودینامیکی (نانومتر)	Zetasizer	۳/۹ تا ١٦٣/٥	٥٤/١ درصد از ذرات قطر هیدرودینامیکی کمتر از ۱۰۰ نانومتر دارند.
میانگین قطر هیدرودینامیکی (نانومتر)	Zetasizer	٥٤/٨	----------
خلوص	EDX	----	در کلوئید نانوذرات نقره تنها عنصر نقره وجود دارد.

بررسی سمیت حاد نانوذرات نقره در دوره جنینی گونه‌های مورد بررسی

با توجه به شرایط خاص دوران انکوباسیون در تاس‌ماهیان (وجود جریان آب در انکوباتور و حرکت تخم‌های لقاح یافته)، سیستم متفاوتی برای انجام آزمون‌های پژوهش حاضر طراحی گردید (شکل ۱). از مخازن شیشه‌ای ۹ لیتری که با استفاده از دو دیواره شیشه‌ای به ۳ قسمت کاملاً مجزا (هر یک با گنجایش ۳ لیتر) تقسیم و با سیستم مرکزی هوادهی می‌شدند، استفاده شد. در هر قسمت یک سینی پایه‌دار مشبک قرار داده شد. تخم‌های لقاح یافته پس از رفع چسبندگی و جذب آب به این سینی‌ها منتقل شدند. غلظت‌های آزمایشی نانوذرات نقره براساس جمع‌بندی انجام شده از مطالعات مشابه در گونه‌های دیگر به‌ترتیب ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ٤ و ۸ میلی‌گرم در لیتر انتخاب گردید (Cho و همکاران، ۲۰۱۳؛ Johari و همکاران، ۲۰۱۳) و به همراه تیمار شاهد (آب کارگاه) تخم‌های لقاح یافته به‌مدت ۹٦ ساعت و در ۳ تکرار در معرض غلظت‌های مذکور قرار گرفتند. تعداد ۷۵ تخم لقاح یافته در هر تکرار لحاظ گردید. اکسیژن محلول، درجه حرارت و pH به‌صورت روزانه ارزیابی می‌شد. مطالعه سمیت تحت شرایط نیمه‌ساکن (semi-static) انجام شد و آب مخازن هر ٢٤ ساعت یکبار تعویض و غلظت‌های مورد نظر دوباره در مخازن برقرار می‌شد. به‌منظور جلوگیری از قارچ‌زدگی در تیمار شاهد (با توجه به اینکه در سایر تیمارها نانوذرات نقره به‌عنوان عامل ضدمیکروبی مانع از قارچ‌زدگی می‌شد)، ۱ میلی‌گرم در لیتر فرمآلدئید به‌طور روزانه و پس از تعویض آب به مخازن اضافه می‌شد. در طول دوره آزمایش، درصد نسبی تلفات (هرگونه اختلال در روند تکامل جنینی همچون بروز ناهنجاری در تقسیم‌های جنینی، عدم وقوع اندام‌زایی و عدم تفریخ به‌عنوان تلفات ثبت شدند) براساس روش Dettlaff و Ginsburg (۱۹۹۲) در زمان‌های ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعت ثبت گردید. براساس نتایج به‌دست آمده در این بخش، مقادیر غلظت‌های کشنده میانی (LC50) کلوئید نانوذرات نقره طی ٩٦ ساعت برای جنین‌های کیسه زرده‌دار دو گونه فوق با استفاده از نرم‌افزار EPA Probit Analyzer محاسبه گردید.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]



شکل ۱ طرح کلی سیستم انکوباسیون تحقیق حاضر

بررسی سمیت کوتاه مدت[۲] نانوذرات نقره طی مراحل ابتدایی تکامل ازون‌برون

براساس نتایج به‌دست آمده از بررسی سمیت حاد، در کنار تیمار شاهد، سه غلظت غیرکشنده از نانوذرات نقره شامل ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر برای این بررسی انتخاب شدند. تعداد ۵۰ تخم لقاح یافته در هر تکرار لحاظ گردید. با توجه به ماهیت گونه‌های مورد بررسی، طول دوره این آزمون ۸ روز در نظر گرفته شد، به‌طوری‌که پیش از شروع تغذیه فعال، نمونه‌برداری از لاروها برای سنجش تجمع یون‌های فلزی صورت گرفت. همچنین در طی این دوره درصد تفریخ و درصد بازماندگانی ثبت شدند.

تعیین میزان نقره در لاروهای مورد مطالعه

این ارزیابی برای مشخص کردن میزان تجمع یون نقره در لاروها انجام شد. این ویژگی می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای درک اثرهای کوتاه مدت و مزمن نانوذرات نقره به‌کار رود. بدین منظور، نمونه‌های جمع‌آوری شده ابتدا با دستگاه خشک‌کن انجمادی (Freeze dryer) خشک شده و به‌صورت پودر در آمدند. سپس به آزمایشگاه گروه شیمی دانشگاه Nebraska امریکا منتقل شده، عمل هضم با اضافه کردن ٦ میلی‌لیتر اسید نیتریک (٦٥ درصد) و ٤ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن (۳۰ درصد) به ۰/۲ گرم از نمونه‌ها در دمای $^{\circ}C$ ۱۵۰ صورت گرفت (دستگاه هضمی مایکروویو–Milestone MLS 1200). نمونه‌های هضم شده در دمای اتاق خنک شد و به دنبال آن رقیق‌سازی با افزودن آب مقطر به آنها انجام گرفت (Jarić و همکاران، ۲۰۱۱). سنجش میزان نقره با دستگاه طیف‌سنج نشری نوری با پلاسمای جفت شده القایی (ICP-OES[۳]) انجام شد (Varian 720-ES ICP-OES, Agilent Technologies). حد تشخیص نقره با این دستگاه ۱۰۰ میکروگرم در لیتر بود.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نسخه ١٦ نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با استفاده از نسخه ۲۰۱۳ نرم‌افزار Excel انجام شد. به‌منظور مقایسه داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) استفاده گردید و معناداری آنها با استفاده از آزمون Tukey بررسی شد. $p<0/05$ به‌عنوان سطح تفاوت معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

براساس نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر دربارهٔ آزمایش سمیت حاد، غلظت کشنده میانی ۹٦ ساعته کلوئید نانوذرات نقره در جنین‌های کیسه زرده‌دار دو گونه

2 Short-term Toxicity Test

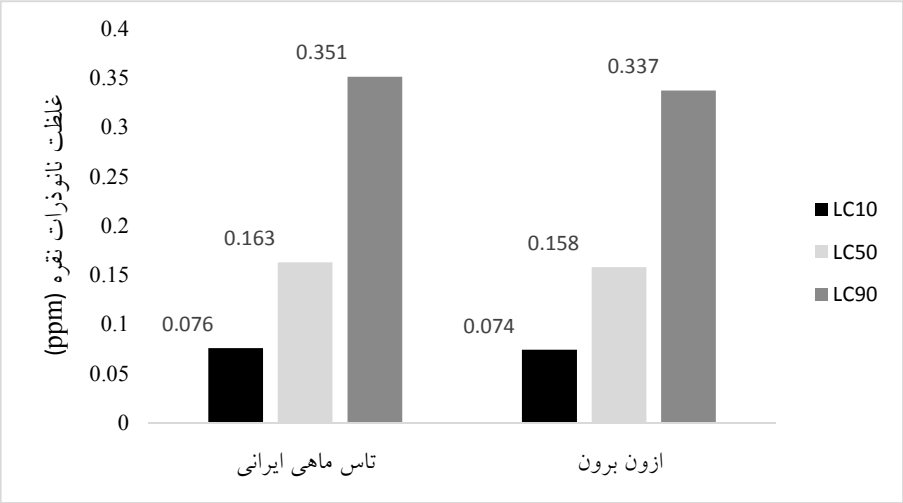
3 Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

تاس‌ماهی ایرانی و ازون‌برون به‌ترتیب ۰/۱۶۳ و ۰/۱۵۸ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید (شکل ۲). نتایج نشان می‌دهد که با گذشت زمان و در ۲٤ ساعت پایانی، غلظت‌های پایین نانوذرات نقره نیز سبب تلفات شدند.

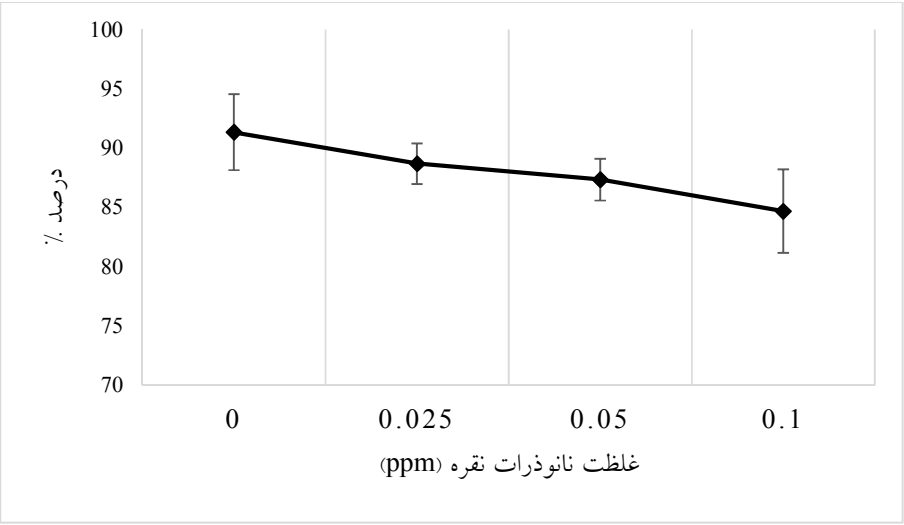
نتایج حاصل از بررسی سمیت کوتاه مدت کلوئید نانوذرات نقره در گونه ازون‌برون بیانگر نبود اختلاف معنادار در درصد تفریخ و بازماندگی بین تیمارهای مورد بررسی و تیمار شاهد طی ۸ روز دوره مطالعه بود ($p>0/05$). هرچند با افزایش غلظت نانوذرات نقره، درصد تفریخ و بازماندگی کاهش نشان دادند (شکل‌های ۳ و ٤). نتایج به‌دست آمده از سنجش میزان تجمع یون نقره در لاروهای بررسی شده نشان داد که میزان تجمع در تیمار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معناداری بیشتر از تیمار شاهد بود ($p<0/05$) (شکل ۵). هرچند اختلاف معناداری بین تیمارهای مختلف نانوذرات نقره مشاهده نشد ($p>0/05$) (شکل ۵).



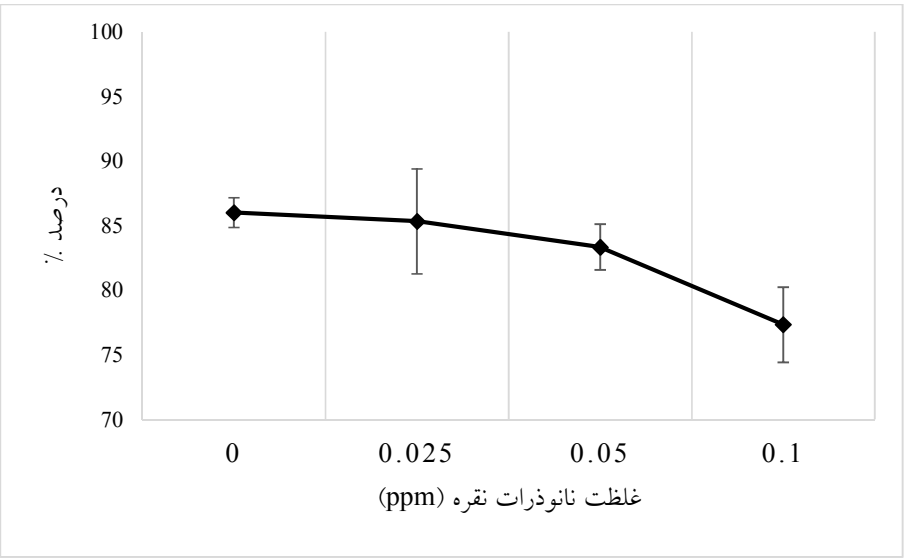
شکل ۲ مقایسه غلظت‌های کشنده ۹٦ ساعته حاصل از کلوئید نانوذرات نقره در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) و ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]



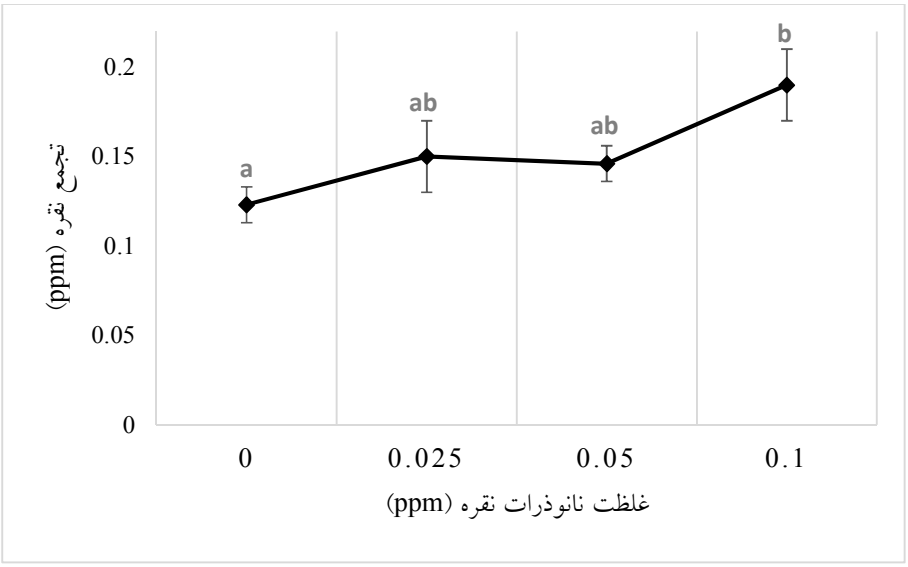
شکل ۳ درصد تفریخ در تیمار شاهد و سایر تیمارهای حاوی نانوذرات نقره در گونه ازون‌برون



نمودار ٤ درصد بازماندگی جنین‌ها از لقاح تا پایان دوره پژوهش در تیمار شاهد و سایر تیمارهای حاوی نانوذرات نقره در گونه ازون‌برون

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]



شکل ۵ میزان تجمع یون نقره در تیمار شاهد و سایر تیمارهای حاوی نانوذرات نقره در گونه ازون‌برون (وجود حروف لاتین در بالای نقاط نشان‌دهندهٔ معنادار بودن اختلاف‌ها در ویژگی مذکور است ($p<۰/۰۵$)

بحث

آزمون سمیت حاد برای تعیین غلظت‌هایی از یک ماده که در مدت زمان کوتاه اثرهای مضر ویژه‌ای برای موجود به‌دنبال دارند، اختصاص دارد و با توجه به اینکه تعیین میزان مرگ و میر به روشنی قابل انجام است، آزمون تلفات حاد رایج‌ترین آزمون سمیت کوتاه مدت است. در بسیاری از کشورها، فرایند ثبت یک ماده شیمیایی ترکیبی شامل شماری از آزمون‌ها برای بررسی ابعاد اثرهای محیط زیستی آن است که آزمون سمیت حاد یکی از آنها است (Johari و همکاران، ۲۰۱۳). براساس قوانین اتحادیه اروپا (EC، ۲۰۰۸) و دستورالعمل ٦٧/٥٤٨/EEC (EC، ۱۹۹۹) هر ماده‌ای که غلظت کشنده میانی ۹٦ ساعته آن در ماهیان کمتر از یک میلی‌گرم در لیتر تعیین گردد به‌عنوان «بسیار سمی» برای آن گونه تلقی می‌گردد. از این‌رو، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که کاربرد نانوذرات نقره در این مرحله از چرخه زندگی (جنینی) هر دو گونه تاس‌ماهی ایرانی و ازون‌برون به‌طور حاد کشنده است.

مطالعات مختلف در این زمینه بسته به نوع گونه و طول مدت آزمون نتایج متفاوتی به‌دنبال داشته‌اند (جدول ۲). نتایج به‌دست آمده در اکثر مطالعات نشان می‌دهد که حساسیت جنین‌های کیسه زرده‌دار به نانوذرات نقره بیشتر از حساسیت آنها در سایر مراحل زندگی می‌باشد. Korwin-Kossakowsli (۲۰۰۸) نشان دادند که زمان سپری شده پس از تفریخ، حساس‌ترین مرحله چرخه زندگی ماهیان است و از این‌رو آن را مرحلهٔ جبرانی تکامل نامیدند. این موضوع با نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر کاملاً همخوانی دارد به‌طوری‌که مرگ و میر کامل لاروهای تفریخ شده در غلظت‌های بالای ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره ثبت شد. همچنین، تفاوت‌ها در نتایج به‌دست آمده در مطالعات مختلف (جدول ۲) به این دلیل است که عوامل متعددی بر میزان سمیت نانومواد تأثیرگذار می‌باشد که از این میان می‌توان به اندازه ذرات، شکل آنها، درصد ناخالصی‌ها و حتی مدت زمان و شرایط نگهداری آنها اشاره کرد (Kittler و همکاران، ۲۰۱۰).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

در این مطالعه، پس از بررسی اثرهای حاد کلوئید نانوذرات نقره در کوتاه مدت، به‌منظور شناخت واکنش آنها به غلظت‌های غیرکشنده این نانوذره در مدت زمان به‌نسبت طولانی‌تر از آزمون سمیت کوتاه مدت در گونه ازون‌برون استفاده شد. نتایج به‌دست آمده در پایان دوره ۸ روزه این آزمون، حاکی از کاهش غیرمعنادار و البته وابسته به غلظت نانوذرات نقره در درصد تفریخ و بازماندگی بود (شکل‌های ۳ و ٤) که از این نظر با نتایج به‌دست آمده از سوی Cho و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت. Kashiwada و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که ذرات با قطر ۳۹/٤ تا ٤۲۰۰۰ نانومتر در لایه کوریون تخم‌های لقاح یافته گونه مداکا جذب شده و در آنجا درون قطرات چربی تجمع می‌یابند و به‌طور خاص، ذرات با قطر ۳۹/٤ نانومتر طی تکامل جنینی به داخل کیسه زرده و صفرا انتقال می‌یابند. در مطالعه‌ای با استفاده از ردیاب‌های فلوئورسنت نشان داده شد که نانوذرات نقره (با قطر ۵ تا ٤٦ نانومتر) از طریق انتشار وارد مجاری کوریون ماهی گورخری (*Danio rerio*) می‌شوند (Lee و همکاران، ۲۰۰۷) و می‌توانند از طریق مسدود کردن کانال‌های کوریون سبب ایجاد آسیب‌های جدی طی تکامل جنینی شوند. نتایج مطالعه حاضر نیز با فرضیه فوق همخوانی دارد به‌طوری‌که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، کاهش درصد تفریخ و در نهایت درصد بازماندگی مشاهده شد.

جدول ۲ آزمون سمیت حاد نانوذرات نقره در مراحل مختلف چرخه زندگی چند گونه ماهی آب شیرین

گونه (مرحله زندگی)	طول مدت آزمون حاد (ساعت)	غلظت کشنده میانی (میلی‌گرم در لیتر)	منبع
قزل‌آلای رنگین‌کمان (جنین کیسه زرده‌دار)	۹٦	۰/۲۵	Johari و همکاران، ۲۰۱۳
قزل‌آلای رنگین‌کمان (لارو)	۹٦	۰/۷۱	Johari و همکاران، ۲۰۱۳
قزل‌آلای رنگین‌کمان (بچه ماهی)	۹٦	۲/۱٦	Johari و همکاران، ۲۰۱۳
کپور نقره‌ای (بالغ)	۹٦	٦٦/٤	Jahanbakhshi و همکاران، ۲۰۱۲
کپور معمولی (بالغ)	۹٦	۸۳/۹	Jahanbakhshi و همکاران، ۲۰۱۲
مداکا (جنین کیسه زرده‌دار)	۹٦	۰/۸٤	Cho و همکاران، ۲۰۱۳
مداکا (جنین کیسه زرده‌دار)	۹٦	۱/۳۹	Kashiwada و همکاران، ۲۰۱۲
مداکا (بالغ)	٤۸	۱/۰۳	Wu و همکاران، ۲۰۱۰
مداکا (بالغ)	۹٦	۰/۰۳٤٦	Chae و همکاران، ۲۰۰۹

سنجش میزان نقره در لاروهایی که تحت شرایط آزمون کوتاه مدت سمیت پرورش یافته بودند اگرچه در تیمار ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با تیمار ۰/۰۲۵ نشانگر کاهشی اندک بود، اما به‌طور کلی با افزایش غلظت نانوذرات نقره، افزایش نشان داد. Asharani و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثرهای سه نانوذره طلا، نقره و پلاتینیوم در مرحله جنینی ماهی گورخری، میزان تجمع فلزها را در تیمارهای مورد بررسی ارزیابی کردند که در مورد هر سه نانوذره با افزایش غلظت آنها، میزان تجمع فلزها افزایش را نشان می‌داد. از این‌رو، نانوذرات علاوه بر اثرهای حاد

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

زیانبار، از طریق ورود و تجمع تدریجی داخل بدن جنین می‌توانند سبب ایجاد نقص‌های عمده‌ای چون از کارافتادگی اندام شوند (Asharani و همکاران، ۲۰۱۱).

بنابراین توسعه تجاری فناوری نانو بدون درک تأثیر و سرانجام نانوذرات در محیط زیست، یک خطر زیستی بالقوه محسوب شده و مسئولانه نیست. در این تحقیق، روشی کارامد برای بررسی سمیت نانوذرات در تاس‌ماهیان ارائه شد. اگرچه مقادیر به‌دست آمده غلظت‌های کشنده میانی (LC50) در دو گونه مورد بررسی از نقطه‌نظر سمیت‌شناسی، نقطه آغاز مناسبی محسوب می‌شوند، اما انجام مطالعات تکمیلی دربارهٔ سازوکار و همچنین وسعت تأثیر نانوذرات نقره بر تخم لقاح یافته و لارو این خانواده از ماهیان از طریق بررسی‌های بافتی و میکروسکوپیک بسیار حائز اهمیت است.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس نوری، مسئول کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری و سایر کارکنان مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجایی به‌دلیل همکاری‌های‌شان قدردانی می‌نمایم. بخشی از هزینه‌های انجام این تحقیق از محل حمایت مالی ستاد فناوری نانو ریاست جمهوری در قالب رساله دکتری تأمین شده است.

منابع

شهیم، ا.س.، ۱۳۹۱. کاربرد فوم های پلی اورتان محتوی نانوذرات نقره و زئولیت نقره در سیستم فیلتراسیون آب پرورش بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌منظور کنترل عفونت ناشی از استرپتوکوکوس اینیایی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس.

قهرمانی، م.، ۱۳۸۹. مطالعه کارایی نانوذرات نقره (زئولیت و کربن) و یون نقره (زئومیک گرانولی و الیاف) در سیستم فیلتراسیون آب پرورش بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جهت کاهش باکتری استرپتوکوکوس اینیایی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس.

Amini, K. Siraj S. S. Mojazi Amiri, B. Mirhashemi Rostami, S. A. Sharr, A. and Hossienzadeh, H. 2012. Evaluation of LHRH-a acute release implantation on final maturation and spawning in not-fully matured broodstocks of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897).

Aramli, M. S. Kalbassi, M. R. Gharibi, M. R. 2014. Effects of multiple collections on spermatozoa quality of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*: motility, density and seminal plasma composition. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 99(1): 66-72.

Asharani, P. V. Wu, Y. L. Gong, Z. Valiyaveettil, S. 2008. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. Nanotechnology. 19(25), 255102.

Baker, C. Pradhan, A. Pakstis, L. Pochan, D. J. and Shah, S. I. 2005. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. Journal of Nanoscience and Nanotechnology 5, 244–249.

Chae, Y. J. Pham, C. H. Lee, J. Bae, E. Yi, J. and Gu, M. B. 2009. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Aquatic Toxicology. 94, 320–327.

Cho, J. Kim, K. Ryo, T. Lee, J. Kim, J. Kim, J. Lee, B. Jo, E. Yoon, J. Eom, I. Choi, K. and Kim, P. 2013. Stepwise embryonic toxicity of silver nanoparticles on *Oryzias latipes*. BioMed Research International 2013:494671.

Dettlaff, T. A. Ginsburg, A. S. and Schmalhausen, O.I. 1992. Sturgeon Fishes: Developmental Biology and Aquaculture. Translated by Gause G.G. and Vassetzky. Springer –Verlag. Germany. pp. 300.

EC, 1999. Annex VI of Directive 1999/45/EC to consolidated version of directive 67/548/EEC. General classification and labeling requirements for dangerous substances and preparations.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

(Oncorhynchus mykiss) eggs. Aquac Int. DOI: 10.1007/s10499-015-9906-7

Kalbassi, M. R. Johari, S. A. Soltani, M. and Yu, I. 2013. Particle size and agglomeration affect the toxicity levels of silver nanoparticle types in aquatic environment. Ecopersia 1 (3), 273–290.

Kashiwada, S. Ariza, M. E. Kawaguchi, T. Nakagame, Y. Jayasinghe, B. S. Gärtner, K. Nakamura, H. Kagami, Y. Sabo-Attwood, T. Ferguson, P. L. and Chandler, G.T. 2012. Silver nanocolloids disrupt medaka embryogenesis through vital gene expressions. Environmental Science and Technology. 46 (11): 6278-6287.

Kittler, S. Greulich, C. Diendorf, J. Koller, M. and Epple, M. 2010. Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions. Chemistry of Materials 22, 4548–4554.

Korwin-Kossakowski, M. 2008. The influence of temperature during the embryonic period on larval growth and development in carp, *Cyprinus carpio* L., and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.): theoretical and practical aspects. Archives of Polish fisheries. 16, 231–314.

Lee, K. J. Nallathamby, P. D. Browning, L. M. Osgood, C. J. and Xu, X. 2007. *In vivo* imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of Zebrafish embryos. ACS Nano. 1 (2), 133-143.

Li, W. R. Xie, X. B. Shi, Q. S. Duan, S. S. Ouyang, Y. S. Chen, Y. B. 2011. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. Biometals 24, 135–141.

Nair, P. M. Park, S. Y. Lee, S. W. and Choi, J. 2011. Differential expression of ribosomal protein gene, gonadotrophin releasing hormone gene and balbiani ring protein gene in silver nanoparticles exposed *Chironomus riparius*. Aquatic Toxicology 101, 31–37.

Nia, J. R. 2011. Preparation of colloidal nanosilver. Google Patents.

Rhim, J-W. Hong, S-I. Park, H-M. Ng, P. K. W. 2006. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with anti- microbial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54:5814–5822.

Salari Joo, H. Kalbassi, M. R. Yu, I. J. Lee, J. H. and Johari, S. A. 2013. Bioaccumulation of silver

EC, 2008. Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labeling and packaging of substances and mixtures, Official J. Eur. Union, 31.12.2008.

Griffitt, R. J. Brown-Peterson, N. J. Savin, D. A. Manning, C. S. Boube, I. Ryan, R. A. and Brouwer, M. 2012. Effects of chronic nanoparticulate silver exposure to adult and juvenile sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*). Environmental Toxicology and Chemistry 31, 160–167.

Griffitt, R. J. Lavelle, C. M. Kane, A. S. Denslow, N. D. and Barber, D. S. 2013. Chronic Nanoparticulate Silver Exposure Results in Tissue Accumulation and Transcriptomic Changes in Zebrafish. Aquatic Toxicology 130-131, 192-200.

Jahanbakhshi, A. Shaluei, F. and Hedayati, A. 2012. Detection of silver nanoparticles (Nanosil) LC50 in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and goldfish (*Carassius auratus*). World Journal of Zoology. 7, 126–130.

Jarić, I. Višnjić-Jeftić, Ž. Cvijanović, G. Gačić, Z. Jovanović, L. Skorić, S. and Lenhardt, M. 2011. Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube River in Serbia by ICP-OES. Microchemical Journal 98, 77–81.

Johari, S. A. Kalbassi, M. R. Soltani, M. and Yu, I. J. 2013. Toxicity comparison of col- loidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Fisheries Sciences 12 (1), 76–95.

Johari, S. A. 2014. Toxicity effect of colloidal silver nanoparticles on fertilization capacity and reproduction success of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Nanomedicine Research 1, 000001.

Johari, S. A. Kalbassi, M.R. Yu, I.J. and and Lee, J.H. 2014. Chronic effect of waterborne silver nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histopathology and bioaccumulation. Comparative Clinical Pathology. DOI: 10.1007/s00580-014-2019-2.

Johari SA, Kalbassi MR, Sltani M, Yu IJ 2015. Application of nanosilver-coated zeolite as water filtermedia for fungal disinfection of rainbow trout

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

Wise Sr, J. P. Goodale, B. C, Wise, S. S. Craig, G. A. Pongan, A. F. Walter, R. B. Thompson, W. D. Ng, A. K. Aboueissa, A. M. Mitani, H. Spalding, M. J. and Mason, M. D. 2010. Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells. Aquatic Toxicology. 97, 34–41.

Wu, Y. Zhou, Q. Li, H. Liu, W. Wang, T. and Jiang, G. 2010. Effects of silver nanoparticles on the development and histopathology biomarkers of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) using the partial-life test. Aquatic Toxicology. 100(2), 160-167.

Zodrow, K. Brunet, L. Mahendra, S. Li, D. Zhang, A. Li, Q. Alvarez, P. J. J. 2009. Polysulfone ultrafiltration membranes impregnated with silver nanoparticles show improved biofouling resistance and virus removal. Water Research. 43:715–723.

nanoparticles in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Influence of concentration and salinity. Aquatic Toxicology, 140-141 (7): 398-406.

Samberg, M. E. Orndorff, P. E. and Monteiro-Riviere, N. A. 2011. Antibacterial efficacy of silver nanoparticles of different sizes, surface conditions and synthesis methods. Nanotoxicology 5, 244–253.

Scown, T. M. Santos, E. M. Johnston, B. D. Gaiser, B. Baalousha, M. Mitov, S. Lead, J. R. Stone, V. Fernandes, T. F. Jepson, M. van Aerle, R. and Tyler, C. R. 2010. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. Toxicological Sciences 115, 521–534.

Sun, H. Choy, T.S. Zhu, D. R. Yam, W. C. Fung, Y. S. 2009. Nano-silver- modified PQC/DNA biosensor for detecting E. coli in environmental water. Biosensors and Bioelectronics. 24:1405–1410.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 5, No. 1, Spring 2016

Toxicity of silver nanoparticles in Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) and Starry Sturgeon (*Acipenser stellatus*) during early life stages

Ashkan Banan[1], Mohammad Reza Kalbassi Masjed Shahi[2*], Mahmoud Bahmani[3], Mohammad Ali Yazdani Sadati[4]

1- Ph.D Student, Fisheries Department, School of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
2- Professor, Fisheries Department, School of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
3- Professor, International Sturgeon Research Institute, Rasht, Iran
4-Associate Professor, International Sturgeon Research Institute, Rasht, Iran

Received: 29.06.2015 Accepted: 27.012016

*Corresponding author: kalbassi_m@modares.ac.ir

Abstract:

Silver nanoparticles (AgNPs) are widely used in consumer products mainly due to their antimicrobial action. The rapid increase in the use of nanoparticles has driven more attention to their possible ecotoxicological effects. In this study: first, acute effects of colloidal AgNPs during embryonic stage of Persian sturgeon and Starry sturgeon were investigated and then in Starry sturgeon, their short-term effects during early life stages (before active feeding commences) were analyzed. Based on the obtained results from the acute toxicity tests, AgNPs induced a dose-dependent toxicity in both species during early life stages. The short-term toxicity test was performed using 0, 0.025, 0.05 and 0.1 mg/l of colloidal AgNPs. Silver accumulation in larvae exposed to 0.1 mg/l AgNPs was recorded significantly higher than the control treatment ($P<0.05$). However, the obtained survival rate data did not indicate any significant differences among treatments.

Keywords: Nanoecotoxicology, Colloidal silver nanoparticles, Sturgeons, Bioaccumulation

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.1.7.2]