بررسی رفتار بویایی تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) تحت تاثیر نانوذرات نقره

- **شیدا گلی***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **ولی‌الله جعفری**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **حامد پاکنژاد**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **الکساندر کاسومیان**: گروه ماهی‌شناسی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه ایالتی مسکو، مسکو، روسیه

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۸

چکیده

بویایی یکی از حواس مهم ماهی‌ها برای تشخیص بوها از فاصله‌های دور است و نقش مهمی در رفتارغذایی و جهت‌یابی آن‌ها دارد. این حس می‌تواند معیار قابل اعتمادی جهت سنجش تاثیر آلاینده‌ها بر موجودات آبزی باشد. از این‌رو این مطالعه سعی داشته با بررسی رفتار غذایی بویایی تاس‌ماهی ایرانی تاثیرات نانوذرات نقره را مورد بررسی قرار دهد. این رفتار در ماهی‌های گروه شاهد و ماهی‌هایی که به‌مدت ۷ روز در معرض سه غلظت ۰/۰۱، ۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره قرار گرفته بودند، بررسی شد (هر تیمار در ۳ تکرار). جهت ارزیابی رفتار بویایی تاس‌ماهی ایرانی از شش اسیدآمینه استفاده شد. طی آزمایش آب حاوی اسیدآمینه به‌مدت ۳ دقیقه از یک سمت آکواریوم وارد می‌شد. ۳۰ ثانیه بعد از شروع آزمایش تعداد ماهی‌های حاضر در همان سمت و واکنش و رفتار آن‌ها به اسیدآمینه ثبت می‌شد. طبق نتایج به‌دست آمده تمایل و واکنش ماهی‌ها به اسیدآمینه‌های آلانین، گلایسین و لوسین که جزو اسیدآمینه‌های جاذب برای تاس‌ماهی ایرانی هستند به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته بود که این کاهش تحت تاثیر غلظت نانوذرات نقره بود و در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره بیش‌ترین کاهش مشاهده شد. هم‌چنین پاسخ‌های رفتار بویایی نیز فقط در غلظت ۰/۰۱میلی‌گرم در لیتر نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌دار را نشان داد اما پاسخ ماهی‌ها به اسیدآمینه‌های دافع (تیروزین، اسیدآسپارتیک و اسیدگلوتامیک) در هیچ‌کدام از غلظت‌های نانوذرات نقره معنی‌دار نبود.

کلمات کلیدی: رفتار غذایی، بویایی، اسیدآمینه، جذابیت بویایی، آلاینده

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: golisheyda@gmail.com

مقدمه

نانو مواد در طبیعت از طریق فرآیندهای فیزیک‌وشیمیایی زمین ازجمله‌فوران آتشفشان‌ها،فرسایش و کاهش‌زمین و متابولیسم‌باکتریایی تولید می‌شوند (Griffin و همکاران، ۲۰۱۸). اما تولید این ترکیبات به‌صورت مصنوعی نیز در حال افزایش است. امروزه فن‌آوری نانو مواد درصنایع زیادی ازجمله کارخانه‌های‌نساجی،رنگرزی،صنایع الکترونیک، تولیدات‌پزشکی،محصولات‌آرایشی‌وفن‌آوری‌های‌حذف‌زیستی‌آلاینده‌ها مورداستفاده‌قرارمی‌گیرند(Kahruو Dubourguier، ۲۰۱۰).این‌فن‌آوری دارای برتری زیادی می‌باشد اما در صورت استفاده بیش از حد و عدم بررسی اثرات آن می‌تواند منجر به ایجاد نتیجه نامطلوب برای انسان، دیگر موجودات و محیط‌زیست شود (Kashiwada، ۲۰۱۸). مطالعات تازه در رابطه با میزان سمیت نانو فلزات نشان داده است که نانو ذرات نقره (۱۵ تا ۱۰۰ نانومتر) نسبت به نانو ذراتی مانند آهن، مس، سرب به‌مراتب‌دارای‌سمیت بالاتری هستند(Kahru و Dubourguier، ۲۰۱۰). We و همکاران (۲۰۱۰) نانوذرات نقره و اکسید روی را "به‌شدت سمی" اکسید مس را "خیلی سمی" و دیگر نانو ذرات را "سمی یا خطرناک" دسته‌بندی کرده‌اند. می‌توان گفت نانوذرات نقره علاوه بر سمی بودن از نانوذرات پرکاربرد درصنایع نیزهستندبه‌طوری‌که‌بررسی ۱۶۲۸ محصول مصرفی تولید شده با استفاده از فن‌آوری نانوذرات، نشان داده است که تقریباً در یک چهارم این محصولات از نانوذرات نقره استفاده شده است (Woodrow Wilson Database، ۲۰۱۴). رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و دریاها تحت‌تاثیر آلاینده‌های‌مختلف‌هستند و موجودات آبزی‌ناگزیر در معرض این آلاینده‌ها قرار می‌گیرند. بنابراین جهت کنترل و نظارت روی این آلاینده‌ها باید اثرات آن‌ها مورد مطالعه قرار گیرد. یکی از راه‌های بررسی تاثیر آلاینده‌ها توجه به رفتار موجودات ازجمله رفتار غذایی بویایی می‌باشد. با استفاده از رفتار غذایی می‌توان کمیت غذای مصرفی، عوامل اشتهاآور که منجر به تحریک رفتار تغذیه و مصرف غذا می‌شود و عوامل ضداشتها که باعث کاهش رفتار تغذیه می‌شود را بررسی کرد (Volkoff و Peter، ۲۰۰۶). گیرنده‌های شیمیایی (بویایی و چشایی) نقش‌های مختلفی در بروز رفتار تغذیه‌ای دارند. بویایی یکی از حس‌های مهم ماهی‌ها برای تشخیص بوها از فواصل دور است و نقش مهمی در رفتار غذایی و جهت‌یابی آن‌ها دارد (Hara، ۲۰۱۲). این سیستم در جستجو و یافتن غذا و انتقال پیام مربوطه به دستگاه عصبی مرکزی ایفای نقش می‌کند. در ماهی‌ها و سخت‌پوستان، گیرنده‌های بویایی مستقیماً با آلودگی‌های محیطی در تماس هستندو عملکرد آن‌ها می‌تواند تحت تاثیر آلاینده‌ها قرار گیرد که این می‌تواند منجر به تغییرات رفتاری یا عدم رفتارهای مناسب‌شود(Olsen، ۲۰۱۰).مطالعات زیادی نشان داده است که آلاینده‌ها می‌توانند عملکرد طبیعی گیرنده‌های شیمیایی را از طریق پوشاندن‌و یا خنثی‌نمودن سیگنال‌های‌شیمیایی و زیستی مختل نمایند و یا به‌طور مستقیم سبب آسیب‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیرنده‌های شیمیایی شوند (Baatrup، ۱۹۹۱). اخیراً تعداد مطالعات در رابطه با تاثیر نانو ذرات روی آبزیان در حال افزایش است. از نتایج مطالعات پیشین در رابطه با تاثیر نانوذرات نقره روی آبزیان می‌توان به هیپولاریزه شدن اپیتلیوم بویایی کاراس(*Carassius carassius*) و ماهی سوف(*Eurasian perch*)تحت تاثیر نانوذرات نقره (Bilberg و همکاران، ۲۰۱۱)،سمیت‌سلولی و ژنی(Nair و همکاران، ۲۰۱۱)،اختلال‌در تکامل مراحل اولیه زندگی و بزرگسالی (Wise و همکاران، ۲۰۱۰)، تجمع در بافت‌ها، ایجاد آسیب‌های‌بافتی‌و اختلال‌در‌بیان‌ژن‌ها(Johariو همکاران، ۲۰۱۵؛ Griffitt و همکاران، ۲۰۱۲؛ ۲۰۱۳) استرس اکسیداتیو، مرگ سلولی سلول‌ها و ناهنجاری‌های کروموزومی (Wu و همکاران، ۲۰۱۰) اشاره داشت. با توجه به این‌که دریا مسیر نهایی اکثر آلاینده‌ها است، دریای‌خزر نیز از این امر مستثنی نیست. دریای‌خزر به‌عنوان بزرگ‌ترین اکوسیستم بسته جهان زیستگاه گونه‌های جانوری با ارزشی است که بارزترین آن ماهی‌های خاویاری می‌باشند. در این بین تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان خاویاری دریای خزر است‌که جمعیت آن به‌دلیل صید بی‌رویه، تخریب‌زیستگاه، آلودگی آب‌و رسوبات‌درحال‌کاهش‌است(Dumont، ۱۹۹۸؛Billardو Lecointre، ۲۰۰۰؛ Pourkazemi، ۲۰۰۶). از این‌رو هدف از این مطالعه بررسی تاثیرات نانوذرات نقره با توجه به رفتار غذایی بویایی تاس‌ماهی ایرانی می‌باشد تا با استفاده از آن بتوان به معیار قابل اعتماد از نانوذرات نقره برای این گونه مهم دست یافت.

مواد و روش‌ها

بچه تاس‌ماهی‌های ایرانی از کارگاه پرورش ماهیان خاویاری در ساری تهیه و به سالن شهیدفضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. ماهی‌ها حدود یک ماه به‌منظور سازگاری با شرایط محیطی و رسیدن به وزن مورد نظر در شرایط آزمایشگاهی پرورش داده شدند. هوادهی به‌صورت ۲۴ ساعته و ملایم، تعویض آب به‌صورت روزانه و هر بار ۵۰ درصد، دمای آب ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد و pH ۷/۵ بود. تغذیه نیز روزی دو بار و با ترکیبی از غذای تجاری بیومار و غذای زنده صورت می‌گرفت. بعد از سپری شدن این زمان ماهی‌ها به‌مدت ۷ روز در معرض سه غلظت ۰/۰۱، ۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره قرار گرفتند. یک تیمار نیز به‌عنوان شاهد (بدون نانوذرات نقره) درنظر گرفته شد. هر تیمار در سه تکرار و هر تکرار با ۴ ماهی انجام شد. غلظت کشندگی متوسط به‌صورت ساکن (Static) و براساس روش استاندارد O.E.C.D

(سازمان توسعه و همکاری اقتصادی Organization for Economic Cooperation and Development) انجام شد. آزمایش با چهار غلظت از نانوذرات نقره (۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره) و یک گروه شاهد در دو تکرار و هر تیمار با هفت ماهی انجام گرفت. تغذیه ماهی‌ها ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش قطع شد. تعداد مرگ و میر طی ۹۶ ساعت به‌صورت هر ۲۴ ساعت یک‌بار ثبت می‌شد. غلظت کشندگی متوسط نیز با استفاده از آنالیز Probit تعیین شد و در نهایت با استفاده از نتایج حاصل، غلظت‌های زیرکشندگی LC شامل ۳، ۷ و ۱۰ (به‌ترتیب شامل ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره) جهت بررسی رفتار بویایی تاس‌ماهی ایرانی درنظر گرفته شد. نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از شرکت نانونصب تهیه شد. ویژگی‌های این نانوذرات براساس مطالعات پیشین به‌شرح جدول ۱ بود. برای تعیین نرخ رهایش یون نقره نیز ۲۴ ساعت پس از در معرض گذاری ماهی‌ها با نانوذرات نقره ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون نانو ذرات نقره نمونه برداری شد و به‌مدت ۵۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی پلاسمای جفت شده القایی (ICP-MS) مقدار یون در محلول رویی مورد سنجش قرار گرفت.

جدول۱: مشخصات اندازه‌گیری شده نانوذرات نقره (Salari Joo و همکاران، ۲۰۱۳)

ویژگی	روش سنجش	مقدار به‌دست آمده
غلظت (میلی‌گرم/لیتر)	ICP-AES	۳۹۸۰
شکل	TEM	کروی
اندازه ذرات (قطر هیدرودینامیکی)	Zetasizer	۳/۹ تا ۱۶۳/۵ (بالای ۵۰ درصد از ذرات قطر هیدرودینامیکی کم‌تر از ۱۰۰ نانو متر داشتند)
قطر بیشینه	TEM	۱۲۹
خلوص	EDX	فقط عنصر نقره در کلوئید نانونقره وجود داشته بود

مطالعات رفتاری باید در محیطی به دور از استرس انجام شود. بدین‌منظور در سالن تکثیر و پرورش شهیدفضلی برآبادی مکانی جهت انجام این نوع مطالعات طراحی شد (این مکان شامل یک مکان سرپوشیده با دیواره‌های پوشیده شده از پلاستیک مشکی بود). بچه‌ماهی‌های مورد استفاده در این مطالعه ۱/۶±۹/۵ گرم وزن و ۱/۵±۱۳ سانتی‌متر طول داشتند. غذادهی ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش قطع شد. ۱ ساعت قبل ازاجرای آزمایش ۴ قطعه ماهی از یک تکرار به آکواریوم‌های ۴۰×۳۵×۶۰ سانتی‌متری منتقل و آزمایش‌های رفتاری شروع شدند. جهت ارزیابی رفتار بویایی تاس‌ماهی ایرانی از سه اسیدآمینه جاذب بویایی (آلانین، گلایسین، لوسین) و سه اسیدآمینه دافع بویایی (تیروزین، آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید) (جدول۲) و عصاره شیرونومید به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. هدف از کنترل مثبت به‌کارگیری یک ماده‌ای است که جذابیت آن برای ماهی مشخص است و ماهی نسبت به آن واکنش مثبت می‌دهد. عصاره شیرونومید با نسبت ۱۷۵ گرم‌درلیتر تهیه‌شد. جهت تهیه این عصاره به‌مقدار ۱۳ گرم شیرونومید فریز شده با هاون به‌طور کامل له گردید سپس با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و در نهایت فاز رویی به‌آرامی برداشته شد و با ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و جهت آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

طی آزمایش آب حاوی اسیدآمینه با سرعت ۰/۰۳ لیتر در دقیقه به‌مدت ۳دقیقه از یک سمت آکواریوم و جریان حاوی آب خالص از سمت مقابل آن وارد آکواریوم شد. پس از برقراری این دو جریان حضور ماهی‌ها در سمت حاوی محلول اسیدآمینه ۳۰ ثانیه بعد از شروع آزمایش و در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ ثانیه ثبت شد. در واقع با درنظر گرفتن خط فرضی در وسط آکواریوم، تعداد ماهی‌هایی که در لحظه‌های فوق در نیمه مربوط به جریان اسیدآمینه قراردارند، ثبت شد (Shamushaki و همکاران، ۲۰۱۱). آزمایش کنترل مثبت نیز مانند محلول‌های حاوی اسید آمینه انجام شد با این تفاوت که محلول کنترل مثبت حاوی عصاره شیرونومید بود. پس از انجام هر آزمایش آب آکواریوم تعویض می‌شد.

طی آزمایش پاسخ‌های رفتاری براساس پنج مقیاس مورد بررسی قرار گرفت و هر کدام با یک امتیازی مشخص شدند. امتیاز ۰: بدون پاسخ (عدم واکنش ماهی‌ها به بوی اسیدآمینه)، امتیاز ۱: کم‌ترین پاسخ (۲-۱ ماهی داری حرکت S شکل جستجو برای غذا در کف آکواریوم و نزدیک محلی که محلول حاوی عصاره بود را شروع کردند)، امتیاز ۲: نشان دادن رفتار جستجو برای غذا (شنای ۳-۲ ماهی در کف آکواریوم و نزدیک محلی که محلول حاوی عصاره وجود دارد، افزایش رفتار جستجو همراه با حرکات دایره‌ای، S شکل و قاپیدن)، امتیاز ۳: نشان دادن رفتار جستجو برای غذا در بیش‌تر ماهی‌ها. افزایش رفتار جستجو همراه با حرکات دایره‌ای، S شکل و قاپیدن و تکرار این حرکات در کف آکواریوم و بدنه آب، امتیاز ۴: پاسخ سریع و شدید همه ماهی‌ها نسبت به بوی اسیدآمینه‌ها (Kasumyan، ۲۰۰۲).

جدول۲: اسیدآمینه‌های مورد استفاده جهت بررسی رفتار غذایی بویایی در تاس‌ماهی ایرانی (Shamushaki و همکاران، ۲۰۰۸)

اسید آمینه	آلانین	گلایسین	لوسین	تیروزین	آسپارتیک اسید	گلوتامیک اسید	شیرونومید
غلظت (مول در لیتر)	۰/۱	۰/۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۱۷۵گرم در لیتر

تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار spss انجام شد. پس از ثبت فاکتورهای مطرح شده، ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون

کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. سپس جهت بررسی اختلاف معنی‌دار از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه دانکن انجام گرفت. هم‌چنین برای آنالیز پاسخ‌های رفتاری از آزمون ناپارامتریک من-ویتنی U استفاده شد.

نتایج

اسیدآمینه‌های آلانین، گلایسین و لوسین جزو جاذب‌های بویایی در تاس‌ماهی ایرانی هستند. در زمان‌های ۶۰ تا ۱۸۰ ثانیه در تیمار ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره تعداد ماهی‌هایی که به آلانین واکنش مثبت نشان داده بودند به‌صورت معنی‌داری کم‌تر از گروه ماهی‌های شاهد بود ($p<0/05$) اما تیمارهای ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۵ تفاوت معنی‌دار را با شاهد نشان‌نداد($p>0/05$). در مورد اسیدآمینه گلایسین نیز در زمان‌های ۹۰ تا ۱۸۰ ثانیه جذابیت در گروه شاهد بیش‌تر از سه گروه دیگر بود اما فقط با گروه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌دار را نشان داد($p<0/05$)در زمان‌های‌اولیه نیز تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. در مورد اسیدآمینه لوسین جذابیت در گروه شاهد بیش‌تر از سه گروه‌دیگر بودو فقط درغلظت ۰/۰۱ و در زمان‌های ۳۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ ثانیه تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($p<0/05$). تیروزین، اسیدگلوتامیک و اسیدآسپارتیک در تاس‌ماهی ایرانی جزو اسیدآمینه‌های دافع هستند. اسیدگلوتامیک و اسیدآسپارتیک در همه زمان‌ها بین سه غلظت از نانوذرات نقره و شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($p>0/05$). تیروزین نیز به‌جز زمان ۱۵۰ ثانیه در سایر زمان‌ها تفاوت معنی‌داری را با شاهد نشان نداد. از عصاره شیرونومید به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد. عصاره شیرونومید میزان جذابیت بالایی را در هر چهار گروه ایجاد کرده بود اگرچه میزان جذابیت آن در گروه شاهد بیش‌تر از سه گروه دیگر بود اما تفاوت معنی‌داری بین شاهد و سایر گروه‌ها مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول ۳). تاثیر غلظت نانوذرات نقره بر جذابیت بویایی فقط در اسید آمینه‌های آلانین، لوسین وگلایسین تفاوت‌معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$)(جدول ۴).

جدول ۳: مقایسه میانگین‌های تعداد ماهی‌ها در محدوده حاوی اسیدهای آمینه، تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره

اسیدآمینه	زمان (ثانیه) / نانوذرات نقره (mg L-1)	۳۰	۶۰	۹۰	۱۲۰	۱۵۰	۱۸۰
آلانین	۰/۰۱	۴۱/۷±۸/۳^{A}	۴۱/۷±۸/۳^{C}	۵۰/۰±۱۴/۴^{B}	۵۸/۳±۸/۳^{B}	۶۶/۶±۸/۳^{A}	۵۰/۰±۰/۰^{B}
	۰/۰۰۱	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۶۶/۶±۸/۳^{B}	۸۳/۳±۸/۳^{AB}	۶۶/۶±۱۶/۵^{AB}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۹۱/۶±۸/۳^{A}
	۰/۰۰۵	۵۰/۰±۰^{A}	۹۱/۷±۸/۳^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{AB}	۶۶/۶±۸/۳^{AB}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۹۱/۶±۸/۳^{A}
	۰	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۷۵/۰±۰/۰^{AB}	۹۱/۵±۸/۳^{A}	۱۰۰/۰±۰/۰^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۱۰۰/۰±۰/۰^{A}
گلایسین	۰/۰۱	۵۰/۰±۰/۰^{A}	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{B}	۴۱/۶±۱۶/۶^{B}	۵۰/۰±۰^{B}	۵۸/۳±۸/۳^{B}
	۰/۰۰۱	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{AB}	۹۱/۶±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۱۲/۵^{AB}
	۰/۰۰۵	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{AB}	۵۸/۳±۱۶/۶^{AB}	۹۱/۶±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{AB}
	۰	۶۶/۷±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۹۱/۶±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{AB}	۹۱/۶±۸/۳^{A}	۹۱/۶±۸/۳^{A}
لوسین	۰/۰۱	۲۵/۰±۱۴/۴^{B}	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{B}	۵۸/۳±۸/۳^{B}	۴۱/۶±۸/۳^{B}
	۰/۰۰۱	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۶۶/۶±۸/۳^{A}	۶۶/۶±۸/۳^{A}	۶۶/۶±۸/۳^{AB}	۷۵/۰±۰/۰^{AB}	۸۳/۳±۸/۳^{A}
	۰/۰۰۵	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۹۱/۶±۸/۳^{A}	۹۱/۶±۸/۳^{A}
	۰	۷۵/۰±۰/۰^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۱۰۰/۰±۰/۰^{A}	۷۵/۰±۰/۰^{AB}	۱۰۰/۰±۰/۰^{A}
تیروزین	۰/۰۱	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۶۶/۶±۸/۳^{A}	۵۸/۰±۸/۳^{A}	۵۰/۰±۰/۰^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{A}
	۰/۰۰۱	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{AB}	۵۸/۳±۸/۳^{A}
	۰/۰۰۵	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{AB}	۳۳/۳±۸/۳^{A}
	۰	۲۵/۰±۱۴/۴^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۶۶/۶±۸/۳^{A}	۲۵/۰±۱۴/۴^{A}	۲۵/۰±۰/۰^{B}	۳۳/۳±۸/۳^{A}
اسیدآسپارتیک	۰/۰۱	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{A}	۱۶/۶±۸/۳^{B}
	۰/۰۰۱	۱۶/۶±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۱۶/۶±۸/۳^{B}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۵۰/۰±۰/۰^{A}
	۰/۰۰۵	۱۶/۶±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۲۵/۰±۰/۰^{A}
	۰	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{AB}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۲۵/۰±۱۴/۴^{AB}
اسیدگلوتامیک	۰/۰۱	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۵۰/۰±۰/۰^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۶۶/۶±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}
	۰/۰۰۱	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۲۵/۰±۱۴/۴^{A}	۴۱/۶±۱۶/۶^{A}	۲۵/۰±۱۴/۴^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{AB}	۴۱/۶±۸/۳^{A}
	۰/۰۰۵	۵۰/۰±۰/۰^{A}	۲۵/۰±۰/۰^{A}	۴۱/۶±۱۶/۶^{A}	۸/۳±۰/۰^{A}	۲۵/۰±۱۴/۴^{B}	۴۱/۶±۱۶/۶^{A}
	۰	۴۱/۶±۸/۳^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۳۳/۳±۸/۳^{A}	۵۸/۳±۸/۳^{AB}	۴۱/۶±۱۶/۶^{A}
شیرونومید	۰/۰۱	۵۰/۰±۰/۰^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{A}	۶۶/۶±۱۲/۵^{A}	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{A}
	۰/۰۰۱	۵۰/۰±۱۴/۴^{A}	۷۵/۰±۰/۰^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{A}	۵۸/۳±۱۲/۵^{A}	۶۶/۶±۱۲/۵^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}
	۰/۰۰۵	۵۰/۰±۰/۰^{A}	۵۸/۳±۱۲/۵^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{A}	۶۶/۶±۱۲/۵^{A}	۸۳/۳±۱۶/۶^{A}
	۰	۶۶/۶±۸/۳^{A}	۷۵/۰±۱۴/۴^{A}	۶۶/۶±۱۲/۵^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}	۸۳/۳±۸/۳^{A}

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد (α =۰/۰۵).

جدول ۴: تاثیر غلظت‌های نانوذرات نقره روی جذابیت بویایی تاس‌ماهی ایرانی

اسیدآمینه		مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	Sig
آلانین	غلظت	۹۹۶۲/۸	۳	۳۳۲۰/۹	۱۱۱/۶	۰/۰۰
	خطای غلظت	۲۳۸/۱	۸	۲۹/۷		
لوسین	غلظت	۱۴۳۷۵/۰	۳	۴۷۹۱/۶	۴۰/۲۵	۰/۰۰
	خطا	۹۵۲/۳	۸	۱۱۹/۰		
گلایسین	غلظت	۱۳۶۵۳/۳	۳	۴۵۵۱/۱	۵۰/۹	۰/۰۰
	خطا	۷۱۴/۳	۸	۸۹/۳		
تیروزین	غلظت	۱۶۲۹/۴	۳	۵۴۳/۱	۲/۰	۰/۱۹
	خطا	۲۱۴۲/۸	۸	۲۶۷/۸		
اسیدآسپارتیک	غلظت	۴۱۶/۶	۳	۱۳۸/۸	۰/۷۱	۰/۵۷
	خطا	۱۵۴۷/۶	۸	۱۹۳/۴		
اسیدگلوتامیک	غلظت	۲۴۴۰/۴	۳	۸۱۳/۴	۱/۹	۰/۲۰
	خطا	۳۳۳۳/۳	۸	۴۱۶/۷		
شیرونومید	غلظت	۱۸۶۷/۵	۳	۶۲۲/۵	۰/۲۵	۰/۸۵
	خطا	۱۹۴۰۴/۷	۸	۲۴۲۵/۶		

همه اسیدهای آمینه در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره از نظر پاسخ‌های رفتاری تفاوت معنی‌دار را با شاهد نشان دادند اما عصاره شیرونومید از نظر این فاکتور تفاوت معنی‌داری را با شاهد ایجاد نکرد. در غلظت ۰/۰۰۱ لوسین و گلایسین و در غلظت ۰/۰۰۵ آلانین، لوسین و گلایسین تفاوت معنی‌دار را با شاهد نشان دادند ($p<0/05$) (جدول ۵).

جدول ۵: پاسخ‌های رفتاری بچه تاس ماهیان ایرانی قرار گرفته در معرض نانوذرات نقره نسبت به اسیدهای آمینه

اسیدآمینه / نانوذرات نقره (mg L-1)	آلانین	لوسین	گلایسین	تیروزین	اسیدآسپارتیک	اسیدگلوتامیک	شیرونومید
۰/۰۱	۱/۶±۰/۳*	۲/۰±۰/۳*	۲/۰±۰/۳*	۲/۰±۰/۰*	۱/۳±۰/۳*	۲/۰±۰/۰*	۲/۶±۰/۳
۰/۰۰۱	۳/۶±۰/۳	۲/۳±۰/۳*	۳/۰±۰/۰*	۳/۳±۰/۳	۲/۶±۰/۳	۳/۰±۰/۰	۳/۶±۰/۳
۰/۰۰۵	۳/۰±۰/۰*	۳/۰±۰/۰*	۲/۳±۰/۳*	۲/۶±۰/۳	۳/۳±۰/۳	۲/۶±۰/۳	۲/۶±۰/۳
۰	۴/۰±۰/۰	۴/۰±۰/۰	۴/۰±۰/۰	۳/۶±۰/۳	۳/۶±۰/۳	۳/۳±۰/۳	۳/۶±۰/۳

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۰/۰۵

بحث

آلاینده‌ها به چند روش قادرند در رفتار جاندار تداخل ایجاد کنند. این ترکیبات ممکن است بر سیستم‌های حسی موجودات یا در برخی مواقع بر اندام‌های حرکتی آن‌ها تاثیر بگذارند و یا این‌که از طریق سازوکارهای فیزیولوژیکی (تنفس و سوخت و ساز) باعث ایجاد تنش در اندام‌های حسی آن‌ها گردند (Lari و همکاران، ۲۰۱۵). در این مطالعه سعی شد با استفاده از بررسی‌های رفتاری تاثیر نانوذرات نقره بر سیستم حسی بویایی مورد مطالعه قرار گیرد. طبق نتایج به‌دست آمده تمایل و واکنش ماهی‌ها به اسیدآمینه‌های آلانین، گلایسین و لوسین که جزو اسیدآمینه‌های جاذب برای تاس‌ماهی ایرانی هستند به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته بود که این کاهش تحت تاثیر غلظت نانوذرات نقره بود و در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره بیش‌ترین کاهش مشاهده شد. هم‌چنین نشان داده شد که حتی رویارویی ماهی‌ها با غلظت‌های پایین‌تر نانوذرات نقره نیز پاسخ‌های بویایی تاس‌ماهی ایرانی را کاهش می‌دهد.

بوها توسط نرون‌های حسی دریافت می‌شوند این نرون‌ها تقریباً به‌طور مستقیم با محیط آبی در ارتباط هستند و اغلب با یک حفره پوشیده شده از مخاط محافظت می‌شود. در چنین حالتی قرارگیری در معرض آلاینده‌ها می‌تواند عملکرد نورون را مختل کنند و منجر به ایجاد تغییرات رفتاری شود. این تغییرات در عملکرد بویایی می‌تواند به‌صورت از بین رفتن کامل حس بویایی، کاهش توانایی بویایی یا پردازش اشتباه در اطلاعات بویایی رخ دهد (Tierney و همکاران،

۲۰۱۰). در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره منجر به کاهش توانایی بویایی در ماهی‌ها شده است. این کاهش توانایی می‌تواند به‌دلیل انسداد گیرنده‌های اپیتلیوم بویایی و ایجاد کمپلکس بوها با نانوذرات نقره باشد که مانع اتصال بوها به گیرنده‌ها می‌شود (Tierney و همکاران، ۲۰۱۰). اندوسیتوز یک سازوکار امکان‌پذیر است که نانوذرات ممکن است از این طریق وارد سیستم بویایی شوند (Tierney و همکاران، ۲۰۱۰). هم‌چنین تجمع نانوذرات نقره در سطح گیرنده‌های بویایی منجر به افزایش زمان پاسخ و تولید موکوس می‌شود (Bilberg و همکاران، ۲۰۱۱). موکوس در واقع یک لایه محافظتی است (Klaprat و همکاران، ۱۹۹۲) اما با افزایش ترشح موکوس در واکنش به حضور نانوذرات فاصله بوها برای رسیدن به پروتئین‌های گیرنده‌واقع بر روی نورون‌های عصبی افزایش و در نتیجه زمان پاسخ به بوها نیز افزایش می‌یابد (Tierney و همکاران، ۲۰۱۰) این افزایش منجر به کاهش سرعت واکنش به طعمه و کارایی شکار هدفمند در ماهی می‌شود (Kasumyan، ۲۰۰۱).

در این مطالعه تعداد ماهی‌هایی که به اسیدآمینه‌ها پاسخ می‌دادند تحت تاثیر غلظت نانوذرات نقره قرار گرفتند و با افزایش غلظت نانوذرات نقره تعداد ماهی‌هایی که در محدوده اسیدآمینه حضور داشتند کم‌تر می‌شد که دلیل آن را می‌توان اختلال در سیستم بویایی در تشخیص اسیدآمینه‌ها و یا افزایش زمان دریافت سیگنال‌های بویایی دانست. Hyun و همکاران (۲۰۱۸) تجمع نانوذرات نقره و ترشح موکوس بالا را عامل ایجاد ولتاژ اپیتلیوم ناپایدار و امواج نامنظم در آزمایش‌های رفتاری الکتروفیزیولوژیکی در ماهی‌های قرار گرفته در معرض نانوذرات نقره بیان کردند. Viswaprakash و همکاران (۲۰۰۹) دلیل عدم واکنش‌های بویایی در موش‌های قرار گرفته در معرض نانوذرات نقره را افزایش در تعداد و اندازه سلول‌های ترشح کننده موکوس دانستند.

Bilberg و همکاران (۲۰۱۱) هیپرپولاریزاسیون اپیتلیوم بویایی در کپور معمولی را در حضور نانوذرات نقره مشاهده کردند. سمیت نانوذرات نقره تا حدودی به تغییر شکل آن‌ها در محیط‌های بیولوژیکی و زیست‌محیطی از جمله اکسیداسیون سطحی، آزاد شدن یون‌های نقره و واکنش با ماکرومولکول‌های زیستی بستگی دارد (McShan و همکاران، ۲۰۱۸). در این مطالعه نرخ رهایش یون نقره حدود ۲ درصد بود بنابراین می‌توان عامل اصلی تاثیر نقره را نانوذرات نقره دانست. Asharani و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه روی مکانیسم سمیت نانو ذرات نقره به این نتیجه رسیده‌اند که نانوذرات نقره می‌تواند با پروتئین‌های غشای و مسیرهای سیگنالی فعال واکنش دهد و هم‌چنین با آسیب به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در داخل سلول منجر به مهار تکثیر سلول شود. وجود یک آلاینده همراه با بوی یک ماده غذایی (مانند یک اسید آمینه) می‌تواند منجر به اختلال در تشخیص غلظت واقعی آن ماده شود و در نهایت غلظت آستانه آن را افزایش دهد که در این صورت ماهی همان بو را در غلظت بالاتر می‌تواند تشخیص دهد (Steele و همکاران، ۲۰۱۸).

در این مطالعه پاسخ بویایی ماهی‌های قرار گرفته در معرض غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره با ماهی‌های سالم (شاهد) تفاوت معنی‌دار داشت که دلیل آن را می‌توان کاهش قدرت بویایی ماهی‌ها در تشخیص غلظت واقعی اسیدآمینه‌ها دانست.

بررسی تاثیرات آلاینده‌ها با استفاده از رفتار ماهی‌ها می‌تواند روش مناسب و اخلاقی جهت بررسی این اثرات باشد و ماهی‌های قرار گرفته در معرض آلاینده را دوباره با قرار دادن در آب بدون آلودگی بازیابی کرد، بنابراین بدون این‌که موجودی از بین رود تاثیر آلاینده نیز بررسی می‌شود. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه براساس آزمایش بر روی نانوذرات نقره و تاس‌ماهی ایرانی می‌باشد و با توجه به این‌که نرخ بروز اختلالات مورفولوژیکی در گیرنده بویایی و تغییرات رفتار بویایی در گونه‌های مختلف ماهی، حتی در غلظت‌های یکسان از آلاینده‌ها نیز متفاوت است لذا نمی‌توان این نتایج را به همه آبزیان نسبت داد. در این مطالعه نشان داده شد که غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره می‌تواند منجر به اختلال در قدرت بویایی و تشخیص درست بوهای جاذب در تاس‌ماهی ایرانی شود. لذا توصیه می‌شود قبل از رهاسازی پسماندهای حاوی نانوذرات نقره به محیط‌های آبی مقدار آن در کم‌ترین مقدار ممکن و یا در حد صفر باشد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر جافر و مهندس نعیمی کارشناسان آزمایشگاه‌های گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع

۱. **Asharani, P.V.; Kah Mun, G.L.; Hande, M.P. and Valiyaveettil, S., 2009**. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. ACS Nano. Vol. 3, pp: 279-290.

۲. **Baatrup, E., 1991**. Structural and functional effects of heavy metals on the nervous system, including sense organs, of fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology. Vol. 100, pp: 253-257.

۳. **Bilberg, K.; Doving, K.B.; Beedholm, K. and Baatrup, E., 2011**. Silver nanoparticles disrupt olfaction in Crucian

carp (*Carassius carassius*) and Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). Aquatic toxicology. Vol. 104, pp:145-152.

۴. **Billard, R. and Lecointre, G., 2000**. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. Reviews in Fish Biology and Fisheries. Vol. 10, pp: 355-392.

۵. **Dumont, H.J., 1998**. The Caspian Lake: history, biota, structure, and function. Limnology and Oceanography. Vol. 43, pp: 44-52.

۶. **Goli, S.; Jafari, V.; Ghorbani, R. and Kasumyan, A., 2015.** Taste preferences and taste thresholds to classical taste substances in the carnivorous fish, *Rutilus frisii kutum* (Teleostei: Cyprinidae). Physiology and behavior. Vol. 140, pp: 111-117.

۷. **Griffin, S.; Masood, M.; Nasim, M.; Sarfraz, M.; Ebokaiwe, A.; Schafer, K.H.; Keck. C. and Jacob, C., 2018**. Natural nanoparticles: A particular matter inspired by nature. Antioxidants. Vol. 7, pp: 1-21.

۸. **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 sheep shead minnows (*Cyprinodon variegatus*). Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 31, pp: 160-167.

۹. **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. Vol. 130, pp: 192-200.

۱۰. **Hara, T.J., 2012**. Fish chemoreception. Vol. 6. Springer Science and Business Media.

۱۱. **Hyun, J.S.; Lee, B.S.; Ryu, H.Y.; Sung, J.H.; Chung, K.H. and Yu, I.J., 2008**. Effects of repeated silver nanoparticles exposure on the histological structure and mucins of nasal respiratory mucosa in rats. Toxicology. Letter. Vol. 182, pp: 24-28.

۱۲. **Johari, S.A.; Kalbassi, M.R.; Yu, I.J. and Lee, J.H., 2015**. Chronic effect of waterborne silver nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histopathology and bioaccumulation. Comparative Clinical Pathology. Vol. 24, pp: 995-1007.

۱۳. **Kahru, A. and Dubourguier, H.C., 2010**. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. Toxicology. Vol. 269, pp: 105-119.

۱۴. **Kashiwada, S.; Ariza, M.E.; Kawaguchi, T.; Nakagame, Y.; Jayasinghe, B.S.; Gartner, K. and Chandler, G.T., 2012.** Silver nanocolloids disrupt medaka embryogenesis through vital gene expressions. Environmental science and technology. Vol. 46, pp: 6278-6287.

۱۵. **Kasumyan, A.O., 2001**. Effects of chemical pollutants on foraging behavior and sensitivity of fish to food stimuli. Journal of Ichthyology. Vol. 41, pp: 76-87.

۱۶. **Kasumyan, A.O., 2002**. Sturgeon food searching behaviour evoked by chemical stimuli: a reliable sensory mechanism. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 18, pp: 685-690.

۱۷. **Klaprat, D.A.; Evans, R.E. and Hara, T.J., 1992.** Environmental Contaminants and Chemoreception in Fishes. In Fish Chemoreception. Chapman and Hall, London, UK. pp: 321-341.

۱۸. **Lari, E.; Abtahi, B.; Hashtroudi, M.S.; Mohaddes, E. and Doving, K.B., 2015**. The effect of sublethal concentrations of the water-soluble fraction of crude oil on the chemosensory function of Caspian roach (*Rutilus rutilus*). Environmental toxicology and chemistry. Vol. 34, pp: 1826-1832.

۱۹. **McShan, D.; Ray, P.C. and Yu, H., 2014**. Molecular toxicity mechanism of nanosilver. Journal of food and drug analysis. Vol. 22, pp: 116-127.

۲۰. **Nair, P.M.G. and Choi, J., 2011.** Characterization of a ribosomal protein L15 cDNA from *Chironomus riparius* (Diptera; Chironomidae): transcriptional regulation by cadmium and silver nanoparticles. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. Vol. 159, pp: 157-162.

۲۱. **Olsen, K.H., 2010**. Effects of Pollutants on Olfactory Mediated Behaviors in Fish and Crustaceans. In: Breithaupt, T. and Thiel, M., (eds) Chemical Communication in Crustaceans. Springer, New York, NY. pp: 507-529.

۲۲. **Pourkazemi, M., 2006**. Caspian Sea sturgeon conservation and fisheries: past present and future. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 22, pp: 12-16.

۲۳. **Salari Joo, H.; Kalbassi, M.R.; Yu, I.J.; Lee, J.H. and Johari, S.A., 2013**. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): influence of concentration and salinity. Aquatic Toxicology. Vol. 140, pp: 398-406.

۲۴. **Shamushaki, V.A.J.; Abtahi, B. and Kasumyan, A.O., 2011.** Olfactory and taste attractiveness of free amino acids for Persian sturgeon juveniles, *Acipenser persicus*: a comparison with other acipenserids. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 27, pp: 241-245.

۲۵. **Steele, C.W.; Owens, D.W. and Scarfe, A.D., 1990.** Attraction of Zebrafish (*Brachydanio rerio*) to Alanine and its Suppression by Copper. Fish Biology. Vol. 36, pp: 341-353.

۲۶. **Tierney, K.B.; Baldwin, D.H.; Hara, T.J.; Ross, P.S.; Scholz, N.L. and Kennedy, C.J., 2010.** Olfactory toxicity in fishes. Aquatic toxicology. Vol. 96, pp: 2-26.

۲۷. **Viswaprakash, N.; Dennis, J.C.; Globa, L.; Pustovyy, O.; Josephson, E.M.; Kanju, P.; Morrison, E.E. and Vodyanoy, V.J., 2009.** Enhancement of odorant-induced responses in olfactory receptor neurons by zinc nanoparticles. Chemical Senses. Vol. 34, pp: 547-557.

۲۸. **Volkoff, H. and Peter, R.E., 2006**. Feeding behavior of fish and its control. Zebrafish. Vol. 3, pp: 131-140.

۲۹. **Wise, J.P.; Goodale, B.C.; Wise, S.S.; Craig, G.A.; Pongan, A.F.; Walter, R.B. and Spalding, M.J., 2010**. Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells. Aquatic Toxicology. Vol. 1, No. 97, pp: 34-41.

۳۰. **Woodrow Wilson Database. 2014**. Nanotechnology consumer product inventory. http://www.nanotechproject.org/cpi/about/ analysis/ accessed at 10/14/2014.

۳۱. **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. Vol. 100, pp: 160-167.