مقایسه سمیت نانو ذرات نقره در سه گونه ماهی کپورمعمولی (*cyprinus carpio*)، آمور (*Ctenopharyngodon idella*) و فیتوفاگ (*Hypophthamichthys molitrix*)

- **مجتبی علیشاهی***: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، صندوق‌پستی: ۱۳۵
- **مهرزاد مصباح**: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، صندوق‌پستی: ۱۳۵
- **زهرا طولابی‌دزفولی**: دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۱۳۵

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۶

چکیده

ترکیبات نقره از دیرباز اثرات ضدعفونی کننده داشته و در آبزیان نیز امکان استفاده دارند. در این تحقیق اثرات سمی (LC۵۰) دو محصول کلوئیدی محلول در آب نانوذرات نقره (L-۲۰۰۰ و LS-۲۰۰۰) در سه گونه ارزیابی گردید. بدین‌منظور ماهی‌ها به‌مدت ۹۶ ساعت در معرض۷ یا ۸ غلظت متوالی (هر غلظت در سه تکرار) از دو نوع نانوذرات نقره قرار داده شده و تلفات روزانه در هر غلظت ثبت گردید. سپس حداکثرغلظت مجاز (MAC) نیز محاسبه شد. طبق نتایج میزانLC۵۰ ۹۶ ساعته L-۲۰۰۰ در ماهی کپور، آمور و فیتوفاگ به‌ترتیب برابر ۰/۰۹۹ و۰/۰۷۶ و ۰/۲۳۸ میلی‌گرم در لیتر ومیزان LC۵۰ ۹۶ ساعته LS۲۰۰۰ به‌ترتیب برابر ۰/۰۵۸ و۰/۰۵۷ و ۰/۰۹٤ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. (LC۹۹) ۹۶ ساعته نانوذرات نقره نوع L-۲۰۰۰ در این سه ماهی به‌ترتیب برابر۰/۲٤٦، ۰/۱۳۵، ۰/٦۵۸ میلی‌گرم در لیتر و در مورد LS۲۰۰۰ به‌ترتیب برابر ۰/۰۹۲، ۰/۰۹٦، ۰/۱٦۱ میلی‌گرم در لیتر بود، که نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار این دو غلظت در هر سه ماهی ذکر شده است (p<۰/۰۵). حداکثر غلظت مجاز (MAC) نانوذرات نقرهL۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰ در ماهی کپور به‌ترتیب برابر ۰/۰۱۰ و ۰/۰۰٦ میلی‌گرم در لیتر، در ماهی آمور به‌ترتیب برابر ۰/۰۰۸ و ۰/۰۰٦ میلی‌گرم در لیتر و برای فیتوفاگ به‌ترتیب برابر ۰/۰۲٤ و۰/۰۰۹ میلی‌گرم در لیتر مشخص گردید. نتایج علاوه بر تأکید بر حساسیت بالای این سه گونه ماهی به این دو نانوذره نقره، تفاوت معنی‌دار سمیت این دو نانوذره در سه گونه ماهی مورد بررسی را نشان داد (p<۰/۰۵).

کلمات کلیدی: کپورمعمولی (*cyprinus carpio*)، آمور (*Ctenopharyngodon idella*)، فیتوفاگ (*Hypophthamichthys molitrix*)، نانوذرات نقره، سمیت، حداکثر غلظت مجاز (MAC)

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: alishahim@scu.ac.ir

مقدمه

ایجاد مقاومت‌های دارویی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها امروزه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین چالش‌های درمانی تبدیل شده است. در صنعت آبزی پروری علاوه بر مشکل ایجاد مقاومت‌های دارویی در برابر عوامل بیماری‌زای آبزیان، این مقاومت با مصرف گوشت ماهی و انتقال باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی می‌تواند به انسان نیز منتقل گردد، به‌علاوه با توجه به روش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های غیرسیستمیک در آبزیان، مشکلات زیست محیطی و آسیب به طبیعت اثرات منفی بیش‌تر و مشهودتری دارد. از این‌رو معرفی مواد جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در بهداشت آبزیان، شاید ضروری‌تر از سایر صنایع دامی باشد (Katuli و همکاران، ۲۰۱۴؛ Monfare و همکاران، ۲۰۱۵). استفاده از فلز نقره به‌عنوان ماده ضدباکتریایی سابقه طولانی در زندگی بشری دارد (Lansdown، ۲۰۰۲). نانوذرات نقره احتمالاً با ایجاد اختلال در تکثیر و سیستم تنفسی باکتری‌ها باعث ایجاد اثرات ضدباکتریایی می‌گردند (Kim و همکاران، ۲۰۰۷؛ Chopra، ۲۰۰۷؛ Holt و Franci و همکاران، ۲۰۱۵). استفاده از نانوتکنولوژی در تولید مواد ضدباکتریایی موثر، با موفقیت همراه بوده است و اثرات ضد باکتریایی برخی نانوذرات به‌ویژه نانوذرات‌نقره به‌اثبات رسیده است و امروزه به‌عنوان مواد ضدباکتریایی مؤثر در صنایع مختلف استفاده می‌شود (Gong و همکاران، ۲۰۰۷). گرایش به استفاده از این مواد در چند سال اخیر رواج یافته و کاربرد این مواد در زمینه‌های مختلف در حال گسترش است (Chen و Schluesener، ۲۰۰۸؛ Nafisi و همکاران، ۲۰۱۶) . آسیب به محیط زیست و تهدید بهداشت انسانی ناشی از استفاده از نانوذرات بسیار کم‌تر از سایر مواد با اثرات مشابه است(Sharma و همکاران، ۲۰۰۹ و ۲۰۱۶). کاربرد این نانوذرات در آبزیان، هم به‌منظور درمان بیماری‌ها و هم برای کنترل بار باکتریایی آب قابل بررسی می‌باشد. باوجود تلاش‌ها برای استفاده از نانو ذرات نقره در صنایع مختلف، متأسفانه در صنعت آبزی‌پروری و پرورش ماهیان زینتی، گزارشات بسیار محدود است (Griffittو همکاران، ۲۰۰۸) و بیش‌تر از ماهی‌زبرای‌دانیو *Rerio danio* که یک ماهی با شباهت زیاد ژنتیکی به انسان است، استفاده شده است(Bar-Ilan و همکاران، ۲۰۰۹). علیشاهی و همکاران (۱۳۹۰) اثر نانوذرات نقره کلوئید را در ۴ گونه ماهی آکواریومی، وحشی و پرورشی مقایسه کردند و مقاومت بیش‌تر ماهیان آکواریومی را گزارش کردند. هم‌چنین Johari و همکاران (۲۰۱۵) به اثر نانوذرات کلوئید نقره بر تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند و امکان استفاده از این نانوذرات را در درمان برخی آلودگی‌های تخم تائید کردند. با وجود مزیت‌های نسبی نانوذرات نقره، تا به‌حال سمیت آن‌ها در ماهی‌های پرورشی موردبررسی‌قرار نگرفته است.از آن‌جا که کشور ایران یکی از کشورهای پیش‌رو در علم نانوتکنولوژی است و احتمالاً کاربرد بیش‌تر نانوذرات را در صنایع مختلف ازجمله صنعت آبزی‌پروری خواهیم داشت، در این تحقیق میزان سمیت نانوذرات نقره (L۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰) در سه گونه از کپور ماهیان به‌عنوان ماهیان پرورشی گرمابی ازجمله کپور معمولی، آمور و فیتوفاگ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نانوذرات نقره از تولیدات شرکت نانو نصب پارس با نام تجاری نانوسید، محصول L-۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰ مورد استفاده قرار گرفت. این مواد کاملاً محلول در آب بوده و ماده حامل نانوذرات نقره در این محصول آب مقطر می‌باشد. غلظت نانو ذرات نقره ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و اندازه ذرات نقره در این محصول ۲±۸ نانومتر بوده و طبق توصیه شرکت سازنده با غلظت ۵ تا ۱۰۰٪ قابل استفاده برای ایجاد اثرات‌ضدباکتریایی‌وضدعفونی کنندگی‌است و تا به‌حال مقاومت نسبت به آن در باکتری‌ها گزارش نگردیده است و به‌علت نیمه‌عمر کم به طبیعت آسیبی نمی‌رساند (بروشور محصول). از مخازن ۲۰ لیتری در آزمایشگاه بهداشت و بیماری‌های آبزیان برای انجام طرح استفاده گردید. بعد از آماده‌سازی مخازن، آب‌گیری آن‌ها صورت گرفت. شرایط فیزیکوشیمیایی آب مورد استفاده در تحقیق عبارت بود از: دما: ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد؛ اکسیژن محلول: ۹/۳ppm±۷/۰ و pH؛ ۸-۹ ppm ؛ NO2<۰/۰۱ ؛ NH3<۰/۱ ppm سختی آب در حد ۸۷۰ میکروزیمنس در سانتی‌متر مربع. تعداد ۴۸۰ قطعه بچه‌ماهی از هر یک از گونه‌ها شامل: کپورمعمولی (با وزن ۰/۹۲±۴/۳۴ گرم)، فیتوفاگ (با وزن ۰/۷۸±۴/۶۷ گرم)، آمور (با وزن ۰/۸۷±۴/۸ گرم) از مرکز تکثیر شهید ملکی خریداری و به سالن آکواریوم دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند. ماهی‌ها به‌مدت ۵ روز برای سازش یافتن بامحیط درحوضچه‌های ۳۰۰ لیتری نگه‌داری گردیدند. سپس براساس روش‌استاندارد تعیین سمیت مواد در آبزیان (OECD guideline for testing of chemicals) سمیت دو نوع نانوذرات نقره (L۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰) که از شرکت نانو نصب پارس خریداری شده بود مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین سمیت دو نانوذره نقره در ماهیان فوق، از آن‌جا که اطلاعاتی در مورد بررسی سمیت این مواد در گونه-های ماهیان موجود نیست، ابتدا اقدام به انجام آزمایشات مقدماتی در سطح کوچک برای به‌دست آوردن حدود غلظت کشنده این دو ماده در هر ماهی گردید. سپس براساس این اطلاعات بین ۷ یا ۸ غلظت (در سه تکرار) از نانوذرات نقره برای هر گونه درنظر گرفته شد. به-طوری‌که غلظت ایجادکننده ۱۰۰٪ تلفات و غلظت غیرکشنده در بین این غلظت‌ها قرار گیرد و یک تیمار کنترل هم برای هر یک درنظر

گرفته شد.غلظت‌های موردنظرمعمولاً از ۰۰۸/ و۰/۰۱۷ تا ۰/۵ و ۱ ppm در نظر گرفته شد.

جدول شماره ۱: تیماربندی ماهی‌ها براساس نوع نانوذره نقره کلوئید و گونه ماهی که تعداد و میزان غلظت‌های نانوذرات مورد استفاده در تعیین سمیت مشخص شده است

نوع ماهی	نوع ذره	تعداد تیمارها	غلظت نانوذرات مورد استفاده (میلی‌گرم در میکرولیتر)
فیتوفاگ	L۲۰۰۰	۸	صفر، ۰/۰۰۸، ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵ ، ۰/۲۵، ۰/۵
	LS۲۰۰۰	۷	صفر، ۰/۰۰۸، ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵
کپور	L۲۰۰۰	۷	صفر، ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵
	LS۲۰۰۰	۷	صفر، ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵
آمور	L۲۰۰۰	۷	صفر، ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵
	LS۲۰۰۰	۷	صفر، ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵

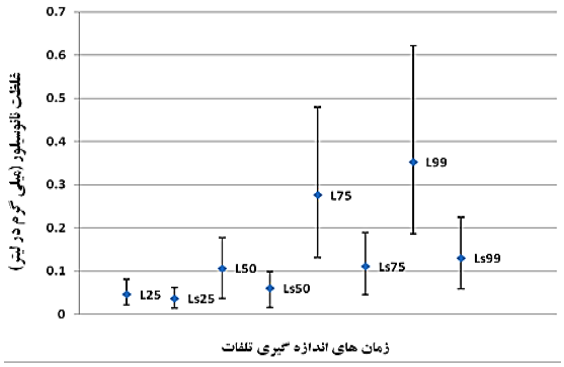
با توجه به‌مایع و محلول در آب بودن نانوذرات نقره مورد بررسی، غلظت‌های موردنظر در هر یک از آکواریوم‌ها ایجاد گردید. قبل از اضافه کردن نانو ذره و ماهی به آب شرایط هوادهی یکسانی برای هر اکواریوم فراهم و اضافه کردن نانوذرات نقره به آب به‌وسیله سرنگ معمولی و سرنگ انسولین انجام شد (در غلظت‌های بالا) و هم‌چنین در غلظت‌های کم‌تر با استفاده از رقیق کردن نانو ذرات در ۱ لیتر آب و اضافه کردن با بشر مدرج انجام شد. سپس ۱۰ قطعه ماهی از هرگونه به هر غلظت اضافه شده و تلفات روزانه تا ۹۶ساعت(۴روز)ثبت گردید.

آزمون آماری: بااستفاده ازبرنامه‌آماری Probit آنالیزآماری انجام شد. در این روش از رگرسیون بین دوز نانوذرات نقره و لگاریتم غلظت استفاده می‌شود. برای مقایسه مقادیر و تعیین معنی‌دار بودن اختلاف بین دوز کشنده نانوذرات نقره در گونه‌های مورد بررسی از هم‌پوشانی حدود مذکور استفاده شد (TCR، ۱۹۸۴). براساس رابطه زیر MAC محاسبه گردید:

MAC (Maximum Acceptable Concentration)=(۹۶ساعته)LC50/۱۰

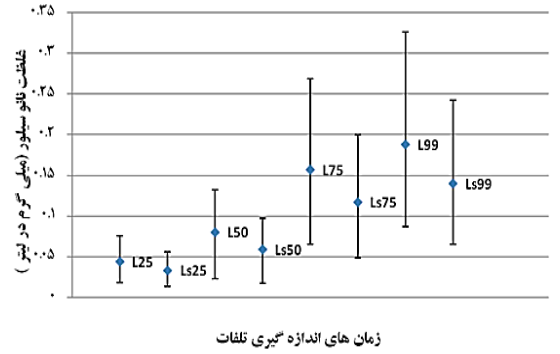
نتایج

نمودارها براساس میانگین، حداکثر و حداقل هر غلظت مشخص گردیده است.



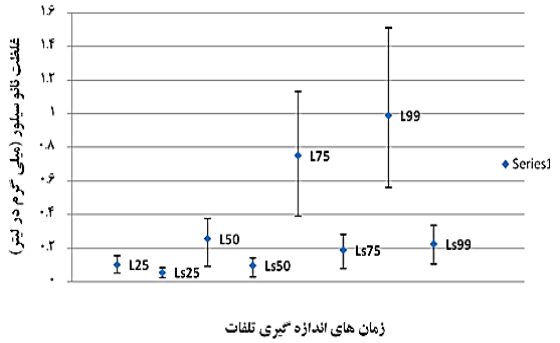
شکل ۱: نمودار غلظت‌های دو نانو ذره L۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰ بعد از ۹۶ ساعت با ایجاد ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۹۹ درصد تلفات در ماهی کپورمعمولی

شکل ۱ نشان‌دهنده سمیت بیش‌تر LS۲۰۰۰ نسبت به L۲۰۰۰ در ماهی کپورمعمولی است. زیرا غلظت نانو ذره LS۲۰۰۰ به‌میزان کم‌تری نشان داده شده و این امر نشان‌دهنده سمیت بیش‌تر این نانو سیلور می‌باشد.



شکل ۲: نمودار غلظت‌های دو نانو ذره L۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰ بعد از ۹۶ ساعت با ایجاد ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۹۹ درصد تلفات در ماهی آمور

شکل ۲ نشان‌دهنده سمیت بیش‌تر LS۲۰۰۰ نسبت به L۲۰۰۰ در ماهی آمور است.



شکل ۳: نمودار غلظت‌های دو نانو ذره L۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰ بعد از ۹۶ ساعت با ایجاد ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۹۹ درصد تلفات در ماهی فیتوفاگ

شکل ۳ نشان‌دهنده سمیت بیش‌تر LS۲۰۰۰ نسبت به L۲۰۰۰ در ماهی فیتوفاگ است.

جدول ۲: نتایج LC25 ، LC50 ، LC75 وLC99 هر دو ذره نانو سیلور برای ماهی کپور، آمور و فیتوفاگ

نام گونه	نوع نانو ذره	دوز کشنده	۲۴ساعته	۴۸ساعته	۷۲ساعته	۹۶ساعته
کپور	L۲۰۰۰	$LC_{۲۵}$	۰/۰۸۹	۰/۰۸۹	۰/۰۴۹	۰/۰۴۸
		$LC_{۵۰}$	۰/۱۴۶	۰/۱۴۶	۰/۱۰۴	۰/۰۹۹
		$LC_{۷۵}$	۰/۲۴۱	۰/۲۴۱	۰/۲۱۸	۰/۲۰۷
		$LC_{۹۹}$	۰/۲۷۱	۰/۲۷۱	۰/۲۶۰	۰/۲۴۶
	LS۲۰۰۰	$LC_{۲۵}$	۰/۰۴۸	۰/۰۴۲	۰/۰۴۲	۰/۰۴۰
		$LC_{۵۰}$	۰/۰۶۸	۰/۰۶۱	۰/۰۶۱	۰/۰۵۸
		$LC_{۷۵}$	۰/۰۹۴	۰/۰۸۹	۰/۰۸۹	۰/۰۸۴
		$LC_{۹۹}$	۰/۱۰۲	۰/۰۹۷	۰/۰۹۷	۰/۰۹۲
آمور	L۲۰۰۰	$LC_{۲۵}$	۰/۰۵۵	۰/۰۵۰	۰/۰۴۹	۰/۰۴۸
		$LC_{۵۰}$	۰/۰۹۷	۰/۰۹۱	۰/۰۸۹	۰/۰۷۶
		$LC_{۷۵}$	۰/۱۷۳	۰/۱۶۶	۰/۱۶۱	۰/۱۲۱
		$LC_{۹۹}$	۰/۱۹۹	۰/۱۹۲	۰/۱۸۵	۰/۱۳۵
	LS۲۰۰۰	$LC_{۲۵}$	۰/۰۴۷	۰/۰۴۲	۰/۰۳۹	۰/۰۳۵
		$LC_{۵۰}$	۰/۰۶۹	۰/۰۶۲	۰/۰۵۹	۰/۰۵۷
		$LC_{۷۵}$	۰/۱۰۱	۰/۰۹۱	۰/۰۹۰	۰/۰۹۰
		$LC_{۹۹}$	۰/۱۱۰	۰/۰۹۹	۰/۰۹۹	۰/۰۹۶
فیتوفاگ	L۲۰۰۰	$LC_{۲۵}$	۰/۱۳۵	۰/۱۳۲	۰/۱۰۵	۰/۱۰۵
		$LC_{۵۰}$	۰/۲۸۲	۰/۲۷۶	۰/۲۳۸	۰/۲۳۸
		$LC_{۷۵}$	۰/۵۸۹	۰/۵۷۸	۰/۵۴۲	۰/۵۴۲
		$LC_{۹۹}$	۰/۷۰۱	۰/۶۸۸	۰/۶۵۸	۰/۶۵۸
	LS۲۰۰۰	$LC_{۲۵}$	۰/۰۸۲	۰/۰۸۲	۰/۰۷۵	۰/۰۶۰
		$LC_{۵۰}$	۰/۱۱۱	۰/۱۱۱	۰/۱۰۶	۰/۰۹۴
		$LC_{۷۵}$	۰/۱۵۲	۰/۱۵۲	۰/۱۵۰	۰/۱۴۵
		$LC_{۹۹}$	۰/۱۶۴	۰/۱۶۴	۰/۱۶۳	۰/۱۶۱

جدول ۳: نتایج حداکثر غلظت مجاز MAC در هر سه گونه ماهی (براساس میلی‌گرم در لیتر)

نتایج حداکثر نوع گونه	نوع نانو ذره	MAC
کپور	L۲۰۰۰	۰/۰۱۰
	LS۲۰۰۰	۰/۰۰۶
آمور	L۲۰۰۰	۰/۰۰۸
	LS۲۰۰۰	۰/۰۰۶
فیتوفاگ	L۲۰۰۰	۰/۰۲۴
	LS۲۰۰۰	۰/۰۰۹

بحث

در سال‌های اخیر استفاده از نانوذرات نقره در صنایع مختلف توسعه بسیار زیادی یافته است(Chenو Schluesener، ۲۰۰۸). تابه‌حال گزارش‌های معدودی از مطالعه سمیت نانوذرات نقره در صنعت آبزی پروری وجود دارد (Shahbazzadeh و همکاران، ۲۰۰۹؛ Griffitt و همکاران، ۲۰۰۸) ، از طرفی استفاده زیاد از مواد ضدباکتریایی مثل آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری به‌عنوان یک معضل در حال گسترش مطرح بوده و یافتن جایگزین‌های مناسب دغدغه متولیان این صنعت می‌باشد. هرچند اثرات منفی نانوذرات نقره بر محیط زیست متفاوت بوده، از این‌رو برخی محققین به علت نیمه‌عمر کم این مواد، آن‌را دوست‌دار طبیعت شناخته‌اند(Reynoldsو همکاران، ۲۰۰۱)، ولی Kim و همکاران (۲۰۰۵) اثر منفی نانوذرات نقره با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر در رشد ریشه برخی گیاهان را گزارش نمودند. علی‌رغم توسعه این صنعت در کشور متأسفانه در مورد امکان استفاده از این مواد در صنعت آبزیان مطالعات بسیار محدودی انجام گرفته است. نتایج تحقیق جاری نشان داد که هر دو نانوسیلور L۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰ دارای سمیت بالایی در هر سه گونه ماهی بوده و غلظت ایجادکننده ۵۰٪ تلفات (LC۵۰) بعد از مجاورت ۹۶ ساعته با L۲۰۰۰ برای ماهی کپور معمولی، آمور و فیتوفاگ به‌ترتیب برابر ۰/۰۹۹، ۰/۰۷۶ و ۰/۲۳۸ میلی‌گرم در لیتر مشخص گردید و غلظت ایجادکننده ۵۰٪ تلفات (LC۵۰) بعد از مجاورت ۹۶ ساعته با LS۲۰۰۰ به‌ترتیب برابر ۰/۰۵۸، ۰/۰۵۷ و ۰/۰۹۴ میلی‌گرم در لیتر مشخص گردید که سمیت بسیار بالایی می‌باشد. یعنی در بین ماهی‌های مورد بررسی در این تحقیق آمور بیش‌ترین و فیتوفاگ کم‌ترین حساسیت را نسبت به این دو نانو ذره نشان دادند. از طرفی در هر سه گونه مورد بررسی سمیت LS از L به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود. مقایسه سمیت این دو نانوذره با سمیت سایر نانوذرات در ماهی‌های مختلف نشان‌دهنده سمیت نسبتاً بالای آن‌ها می‌باشد، به‌طوری‌که Lee و همکاران (۲۰۰۷)

سمیت نانو ذرات نقره مشابه نانوذرات مورد بررسی در این تحقیق را در ماهی گورخری دانیو به‌میزان ۱۰۰-۵ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند که کم‌تر از ۰/۱ میزان سمیت ایجاد شده در ماهیان تحقیق جاری بود. سمیت نانوذرات مختلف در گونه‌های اقتصادی ماهی در تحقیقات مختلف اندازه‌گیری شده است که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: Shahbazzadeh و همکاران (۲۰۰۹) و هم‌چنین Soltani و همکاران (۲۰۰۹) غلظت نوعی نانوسیلور مشابه نانوسیلور استفاده شده در این تحقیق در ماهی قزل‌آلا را حدود ۵ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند که نشان‌دهنده مقاومت بالاتر ماهی قزل‌آلا نسبت به ماهی‌های مورد مطالعه در این تحقیق نسبت به نانوذرات نقره می‌باشد. هم‌چنین Bar-Ila و همکاران (۲۰۰۹) نیز سمیت نانوذرات نقره و طلا را در جنین ماهی زبرای دانیو (ماهی مدل آزمایشگاهی) مطالعه و سمیت بالای نانوذرات نقره را در این ماهی گزارش نمودند، در صورتی‌که نانو ذرات طلا فاقد سمیت برای این ماهی بود، که البته در نانوذرات طلا به‌علت قدرت ضدباکتریایی پایین و قیمت بالا، کاربرد زیادی در ضدعفونی کننده‌ها ندارند. در تحقیقی دیگر Scown و همکاران (۲۰۱۰) روی ماهی مینوی سرچرب (Fathead minnow) دوز کشنده نانو ذرات نقره را بین ۱ تا ۲۵ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند، که میزان حساسیت کم‌تر نسبت به گونه‌های مورداستفاده در تحقیق جاری را نشان می‌دهد. اندازه ذرات نانو با سمیت آن‌ها مرتبط است و هرچه اندازه ذرات نانو کوچک‌تر باشد کارایی آن‌ها بیش‌تر و سمیت آن‌ها نیز بالاتر خواهد بود، به‌طوری‌که Choi و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی دوز کشنده نانو ذرات نقره با اندازه ۲۰ نانومتر را طی ۲۴ ساعت، در ماهی گورخری ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند، در صورتی‌که در تحقیقات مشابه با اندازه ذرات زیر ۱۰ نانومتر دوز کشنده حدود ۵ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است. هم‌چنین استفاده از نانوذرات نقره در اندازه بزرگ‌تر در ماهی قزل‌آلا نیز کاهش سمیت را به‌دنبال داشته است به‌طوری‌که Bilberg و همکاران (۲۰۱۰) دوز کشنده نانو ذرات نقره با سایز ۱۵۰ نانومتر را در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان حدوداً ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم گزارش نمودند که نسبت به گزارشات قبلی که با نانوذرات با اندازه زیر ۱۰ نانومتر بوده حدود ۱۰ برابر سمیت کم‌تری نشان می‌دهد. Wu و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی نانو ذرات نقره با سایز ۲۵ نانومتر را در ماهی مداکای ژاپنی، با دوزهای ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم در لیتر طی زمان ۷۰ روز بر روی مراحل اولیه تکامل جنین، لارو و ماهیان جوان بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که بیش‌ترین اثرات منفی ازجمله کندشدن رشد و کاهش رنگدانه‌های بدن در دوزهای بالاتر از ۴۰۰ میکروگرم در لیتر رخ می‌دهد. سمیت نانوذرات در آبزیان دیگر نیز مورد مطالعه قرار گرفته است مثلاً McCarthy و همکاران (۲۰۱۳) اثر نانوذرات نقره و یون‌های محلول نقره در بافت‌های آبشش و هپاتوپانکراس صدف خوراکی (*Crassostrea virginica*) را بررسی نمودند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که بافت آبشش در مواجهه با یون‌های محلول نسبت به آسیب‌های اکسیداتیو حساس‌تر بوده درحالی‌که هپاتوپانکراس نسبت به نانو ذرات نقره حساس‌تر بود، بدین معنی که آسیب بافتی بیش‌تری در آن مشاهده گردید. در تحقیق مشابه علیشاهی و همکاران (۱۳۹۰) اثر نانوذرات نقره کلوئید را در ۴ گونه ماهی آکواریومی، وحشی و پرورشی مقایسه کردند و مقاومت بیش‌تر ماهیان آکواریومی افرا و گوپی را نسبت به ماهی برزم وحشی و کپورمعمولی گزارش کردند. هم‌چنین Johari و همکاران (۲۰۱۵) به اثر نانوذرات کلوئید نقره بر تخم قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند و امکان استفاده از این نانوذرات را در درمان برخی آلودگی‌های تخم تایید کردند.

به‌طورکلی سمیت نانو ذرات نقره (Ag-NPs) در موجودات زنده به حمل یون‌های نقره (Ag^+) توسط آن‌ها نسبت داده می‌شود، که می‌تواند صدماتی را بر غشای سلولی و دیگر ترکیبات درون سلولی وارد سازد و این صدمات عمدتاً در ارتباط با استرس اکسیداتیو، اثرات القایی آن بر DNA، لیپوپروتئین‌ها و فعالیت‌های متابولیسمی است و میزان سمیت نیز وابسته به فاکتورهای مختلفی چون طبیعت نانوذره، شکل، سایز و برخی فاکتورهای محیطی چون شوری، دما و اکسیژن محلول بوده، از این‌رو برهم‌کنش‌های نانوذرات Ag-NPs با پدیده‌های زیستی در آب‌های شور و شیرین متفاوت است (Lapresta-Ferna´ndez و همکاران، ۲۰۱۲). در تحقیق مشابه، علیشاهی و همکاران (۱۳۹۰)، مقدار غلظت کشنده میانی نانوذرات نقره در چهار گونه ماهی پرورشی و آکواریومی را بین ۰/۳ تا ۷ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند.

در تحقیق اخیر حداکثر غلظت مجاز (MAC) این دو ماده L۲۰۰۰ و LS۲۰۰۰ در ماهی کپور به‌ترتیب برابر ۰/۰۱۰ و ۰/۰۰۶ میلی‌گرم در لیتر، در ماهی آمور به‌ترتیب برابر ۰/۰۰۸ و ۰/۰۰۶ میلی‌گرم در لیتر و برای فیتوفاگ به‌ترتیب برابر ۰/۰۲۴ و ۰/۰۰۹ میلی‌گرم در لیتر مشخص گردید. نتایج علاوه بر تأکید بر حساسیت بالای این سه گونه ماهی به این دو نانوذره نقره، تفاوت معنی‌دار سمیت این دو نانوذره در هر ماهی را نشان می‌دهد. علاوه براین از نتایج این تحقیق می‌توان در مشخص نمودن غلظت مجاز ترکیبات نانوذره نقره خروجی از کارخانجات مرتبط با نانوتکنولوژی که به آب‌های سطحی راه می‌یابند نیز استفاده نمود تا در صورت استفاده از این آب‌ها در آبزی‌پروری این محدودیت‌ها را درنظر داشت. با توجه به گسترش صنایع مرتبط با نانوتکنولوژی در کشور ضرورت چنین بررسی در گونه‌های مختلف ماهی احساس می‌شد. Chae و همکاران (۲۰۰۹) اثرات نانو ذرات نقره و یون‌های محلول نقره در میزان بیان ژن‌های مرتبط با استرس در ماهی مداکای ژاپنی (*Oryzias latipes*) بررسی کردند. نتایج پژوهش این محققین نشان داد که نانو ذرات نقره منجر به آسیب سلولی و القای بیان ژن‌های مرتبط با

استرس اکسیداتیو، متابولیسم و سم زدایی فلزات و هم‌چنین افزایش میزان رادیکال‌های آزاد گردید. از طرف دیگر یون‌های محلول نقره، پاسخ التهابی و فرایندهای سم‌زدایی فلزات در کبد ماهیان مواجه شده را تحریک کرده ولی میزان بیان ژن‌های استرس اکسیداتیو کم‌تر بود.

به‌طورکلی ماهیان موردبررسی در این تحقیق حساسیت بیش‌تری نسبت به نانوذرات نقره نسبت به تحقیقات مشابهی که در سایر کشورها انجام شده بود نشان دادند. هر دو نانوذره نقره مورد بررسی سمیت نسبتاً بالایی در سه گونه ماهی کپور معمولی، آمور و فیتوفاگ داشتند. سمیت نانوذره LS در هر سه گونه ماهی بیش‌تر از L بود به‌همین دلیل علی‌رغم برخی ویژگی‌های مناسب LS، استفاده از L در آبزیان توجیه بیش‌تری دارد. ماهی آمور و کپور معمولی و فیتوفاگ به‌ترتیب بیش‌ترین حساسیت را نسبت به این نانوذره نشان دادند. با توجه به سمیت بالای این نانوذرات در ماهی توصیه می‌شود روی تولیدات دیگر نانو، مثل نانو فیلترها در آبزی‌پروری تحقیق صورت گیرد، هم‌چنین اثرات این ترکیبات نانو در بافت‌های مختلف ماهی بررسی گردد.

منابع

۱. **علیشاهی، م.؛ مصباح، م. و قربانپور، م.، ۱۳۹۰.** بررسی سمیت نانوذرات نقره در چهار گونه ماهی، مجله دامپزشکی ایران. دوره ۷، شماره ۱، صفحات ۳۶ تا ۴۱.

۲. **Bar-Ilan, O.; Albrecht, R.M.; Fako, V.E. and Furgeson, D.Y., 2009.** Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos. Small. Vol. 5, pp: 1897-1910.

۳. **Bilberg, K.; Malte, H.; Wang, T. and Baatrup, E., 2010.** Silver nanoparticles and silver nitrate cause respiratory stress in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). Aquatic Toxicology. Vol. 96, pp: 159-165.

۴. **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. Vol. 94, pp: 320-327.

۵. **Chen, X. and Schluesener, H.J., 2008.** Nanosilver: A nanoproduct in medical application. Toxicology letters. Vol. 176, pp: 1-12.

۶. **Choi, J.E.; Kim, S.; Ahn, J.H.; Youn, P.; Kang, J.S.; Park, K.; Yi, J. and Ryu, D.Y., 2010.** Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. Aquatic Toxicology. Vol. 100, pp: 151-159.

۷. **Choi, O. and Hu, Z., 2008.** Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. Environmental Science and Technology. Vol. 42, pp: 4583-4588.

۸. **Choi, O.; Yu, C.P.; Fernández, G.E. and Hu, Z., 2010.** Interactions of nanosilver with Escherichia coli cells in planktonic and biofilm cultures. Water Research. Vol. 44, pp: 6095-6103.

۹. **Chopra, I., 2007.** The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: A useful development or a cause for concern? The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vol. 59, pp: 587-590.

۱۰. **Franci, G.; Falanga, A.; Galdiero, S.; Palomba, L.; Rai, M.; Morelli, G. and Galdiero, M., 2015**. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. Molecules. Vol. 20, pp: 8856-8874.

۱۱. **Gong, P.; Li, H.; He, X.; Wang, K.; Hu, J.; Tan, W.; Zhang, S. and Yang, X., 2007.** Preparation and antibacterial activity of Fe_3O_4-Ag nanoparticles. Nanotechnology. Vol. 18, pp: 285604.

۱۲. **Griffitt, R.J.; Luo, J.; Gao, J.; Bonzongo, J.C. and Barber, D.S., 2008.** Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 27, pp: 1972-1978.

۱۳. **Holt, K.B. and Bard, A.J., 2005.** Interaction of silver (I) ions with the respiratory chain of Escherichia coli: An electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag. Biochemistry. Vol. 44, pp: 13214-13223.

۱۴. **Johari, S.A.; Kalbassi, M.R.; Soltani, M. and Yu, I.J., 2015.** Study of fungicidal properties of colloidal silver nanoparticles (AgNPs) on trout egg pathogen, *Saprolegnia sp*. International J of Aquatic Biology. Vol. 3, pp: 191-198.

۱۵. **Katuli, K.K.; Massarsky, A.; Hadadi, A. and Pourmehran, Z. 2014.** Silver nanoparticles inhibit the gill Na+/K+-ATPase and erythrocyte AChE activities and induce the stress response in adult zebrafish. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 106, pp: 173-180.

۱۶. **Kim, J.S.; Kuk, E.; Yu, K.N.; Kim, J.H.; Park, S.J.; Lee, H.I.; Kim, S.H.; Park, S.J.; Park, Y.H.; Hwang, C.Y.; Kim, Y.K.; Lee, Y.S.; Jeong, D.H. and Cho, M.H., 2007.** Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine. Vol. 3, pp: 95-101.

۱۷. **Kim, S.H.; Woo, K.S.; Liu, B.Y.H. and Zachariah, M.R., 2005.** Method of measuring charge distribution of nanosized aerosols. Journal of Colloid and Interface Science. Vol. 282, pp: 46-57.

۱۸. **Lansdown, A.B., 2002.** Silver I: Its antibacterial properties and mechanism of action. Journal of Wound Care. Vol. 11, pp: 125-130.

۱۹. **Lapresta-Ferna´ndez, A.; Ferna´ndez, A. and Blasco, J., 2012.** Nanoecotoxicity effects of ngineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms. Trends in Analytical Chemistry. Vol. 32, pp: 40-59.

۲۰. **Lee, H.J. and Jeong, S.H., 2005.** Bacteriostasis and skin innoxiousness of nanosize silver colloids on textile fabrics. Textile Research Journal. Vol. 75, pp: 551-556.

۲۱. **Lee, K.J.; Nallathamby, P.D.; Browning, L.M.; Osgood, C.J. and Xu, X.H.N., 2007.** In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. ACS Nano. Vol. 1, pp: 133-143.

۲۲. **McCarthy, M.P.; Carroll, D.L. and Ringwood, A.H., 2013.** Tissue specific responses of oysters, Crassostrea virginica, to silver nanoparticles. Aquatic Toxicolog. Vol.138, pp: 123-128.

۲۳. **Monfared, A.L.; Bahrami, A.M.; Hosseini, E.; Soltani, S. and Shaddel, M., 2015.** Effects of nano-particles on histo pathological changes of the fish. Jornal of Environment and Health Sciences and Engineering. Vol. 13, pp: 62- 73.

۲۴. **Nafisi Bahabadi, M.; Hosseinpour Delavar, F.; Mirbaksh, M.; Niknam, K.H. and Johari, S.A., 2016**. Assessing antibacterial effect of filter media coated with silver nanoparticles against *Bacillus spp*. Iranian South Medical Journal. Vol. 19, pp: 1-14.

۲۵. **Reynolds, G.H., 2001.** Environmental Regulation of Nanotechnology: Some Preliminary Observations. Environmental Law Reporter News and Analysis. Vol. 31, pp: 10681-10688.

۲۶. **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. and van Aerle, R., 2010.** Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. Toxicological Sciences. Vol. 115, pp: 521-534.

۲۷. **Shahbazzadeh, D.; Ahari, H.; Rahimi, N.M.; Dastmalchi, F. and Soltani, M.; Fotovat, M.; Rahmannya, J. and Khorasani, N., 2009.** The effects of Nanosilver on survival percentage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Pakistan Journal of Nutrition. Vol. 8, pp: 1178-1180.

۲۸. **Sharma, V.K.; Yngard, R.A. and Lin, Y., 2009.** Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Advances in Colloid and Interface Science. Vol. 145, pp: 83-96.

۲۹. **Sharma, N.; Rather, M.A.; Ajima, M.N., Gireesh-Babu, P.; Kumar, K.; and Sharma. R., 2016**. Assessment of DNA damage and molecular responses in *Labeo rohita*, following short-term exposure to silver nanoparticles. Food and Chemical Toxicology. Vol. 96, pp: 122-132.

۳۰. **Soltani, M.; Torabzadeh, N. and Soltani, A., 2009.** Toxicity of nanosilver suspension (Nanocide) in rainbow trout. The First International Congress on Aquatic Animal Health Management and Disease. 112 p.

۳۱. **TCR, 1984.** OECD guideline for testing of chemicals. Section 2. Effect on biotic systems. pp: 1-39

۳۲. **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.