[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

مقایسه سمیت سه نوع محصول تجاری از نانو ذرات نقره کلوییدی در لارو بارناکل *Amphibalanus amphitrite*

فاطمه صادقی[۱]، مرتضی یوسف زادی[۱]، سکینه مشجور*[۱]

*sakynemashjoor@gmail.com

۱- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۷

چکیده

در این پژوهش تاثیر سمیت سه نمونه محصول تجاری از نانو ذرات نقره کلوییدی تولید شده توسط شرکت‌های US NANO، Pioneers، نانو نصب پارس، بر لارو بارناکل *Amphibalanus amphitrite* با استفاده از استاندارد OECD ارزیابی گردید. این سخت‌پوستان از نظر اقتصادی و نیز اکولوژیک حائز اهمیت می‌باشند. در این تحقیق میزان LC_{50} طی ۲۴ ساعت برای مراحل ناپلیوسی II، III، IV، V، VI این بارناکل نسبت به سمیت سه نمونه نانو ذرات نقره کلوییدی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل حاکی از آن است که میزان LC_{50} نانوذره نقره شرکت US NANO برای ناپلیوس‌های II، III، IV، V، VI به ترتیب، ۰/۰۷۷، ۰/۰۴۶، ۰/۰۷۱، ۰/۰۰۶، ۰/۰۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر و میزان LC_{50} نانوذره نقره Pioneers برای ناپلیوس های II، III، IV، V، VI بترتیب، ۰/۱۲۲، ۰/۵، ۰/۴۰۲، ۰/۰۱۳، ۰/۰۲۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. میزان LC_{50} نانوذره نقره نانو نصب پارس نیز برای ناپلیوس‌های II، III، IV، V، VI بترتیب، ۰/۲۵۹، ۰/۰۳۷، ۰/۰۱۸، ۰/۰۱۹، ۰/۰۱۷ میکروگرم در میلی‌لیتر ارزیابی شد. این نتایج نشان می‌دهد که نانوذره نقره تولیدی شرکت US NANO، دارای بیشترین سمیت بر تمام مراحل لاروی بارناکل‌ها بوده است و می‌بایست در ارتباط با مدیریت زیست محیطی محصولات تولیدی نانوذرات نقره بازنگری‌های بیشتری اعمال گردد.

لغات کلیدی: نانو ذرات نقره، ناپلیوس بارناکل، LC_{50}

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

مقدمه

بارناکل‌ها سخت‌پوستانی کف‌زی و چسبیده به سطوح بسترهای سخت و صخره‌ای هستند که در صدف‌های آهکی زندگی می‌کنند. این موجودات از منظر بوم‌شناسی گروه بسیار موفقی هستند که تقریباً در تمامی مناطق جغرافیایی و زیستگاه‌های آبی مختلف پراکنده شده‌اند. این سخت‌پوستان زئوپلانکونیک گونه‌های بنیادی در چرخه غذایی مناطق بین جزر و مدی هستند (Savari, 2011). بارناکل‌ها مدل زیستی گسترده در دسترس برای تعیین ویژگی‌های سمیت و ضد چسبندگی زیستی بشمار می‌روند (Marechal and Hellio, 2011). گونه *Amphibalanus amphitrite* به طور گسترده در خطوط ساحلی و مصب‌های نواحی گرمسیری و آبهای سراسر جهان پراکنده شده است. مراحل ناپلیوسی لاروها از ۶ مرحله تشکیل شده است که از نظر اندازه و تحرک نسبت به تنش‌های محیطی حساسیت متفاوتی نشان می‌دهند (Qiu *et al.*, 1997; Botton *et al.*, 1998; Anger *et al.*, 2000; Lopez Greco *et al.*, 2001). پس از مراحل ناپلیوسی لارو وارد آخرین مرحله لاروی (سیپریس)[1] می‌شود. در این مرحله لارو تغذیه نمی‌کند و به سطح بستر می‌چسبد و اقدام به دگردیسی می‌کند و به بارناکل جوان تبدیل می‌شود (Anderson *et al.*, 1994). دلایل خوبی برای انتخاب این دو مرحله وجود دارد: ناپلیوس II که ۶-۴ روز بدون غذا زنده می‌ماند (Lang and Marcy, 1982; Qiu *et al.*, 1997) و می‌تواند ۵ مرحله ناپلیوسی را بدون غذا 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 پژوهشگر می‌تواند لارو را در معرض آزمون سمیت قرار دهد. در سال‌های اخیر، استفاده از نانوفناوری و محصولات نانو در صنایع مختلف به طور وسیعی در حال گسترش می‌باشد. نانو ذرات نقره دارای ویژگی‌های منحصربفردی هستند که کاربرد گسترده آنها در مواد ضد میکروبی، برچسب‌های زیستی، الکترونیک، نوری و دستگاه‌های تجزیه است و به عنوان کاوشگر فلورسنت در داخل بدن نیز برای تصویربرداری مورد استفاده قرار می‌گیرند. نانو ذرات نقره دارای محدوده اندازه ۱۰۰-۱ نانومتر هستند و نسبت سطح به حجم بالایی دارند که می‌تواند به عنوان ترکیبی از اکسید نقره در نظر گرفته شود (Mathivanan *et al.*, 2012). نظر به گسترش سریع صنایع مرتبط با نانوفناوری، افزایش احتمال ورود این نانومواد به منابع آبی (به عنوان مقصد نهایی دسترسی نانوذرات در سیاره زمین) و ایجاد اثرات سمی بر محیط‌زیست و آبزیان (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵) بحث سمیت‌سنجی نانوذرات پرکاربردی چون نانوذرات نقره در زیست بوم آبی بسیار حائز اهمیت است. در این راستا، تحقیقات اخیر نشان داده است که صرفنظر از نوع نانوذرات، کیفیت محصول تولیدی از شرکت‌های مختلف و احتمالاً رویکردها و دستورالعمل انحصاری این شرکت‌ها در ساخت و تولید نانوذرات نیز، در بروز پتانسیل‌های سمی آنها بسیار اثرگذار بوده است. بنحوی که Hedayati و همکاران (۲۰۱۲) نیز سابقاً در بررسی سمیت نانوذرات نقره محصول شرکت‌های Nanocid و Nanosil در ماهی کپورمعمولی *Cyprinus carpio* به تفاوت LC_{50} این دو محصول و سمی‌تر بودن محصول نانونقره کلوییدی تولیدی از شرکت Nanosil اذعان نمودند. لذا، در تحقیق حاضر نیز سمیت سوسپانسیون نانو ذرات نقره کلوییدی تولیدی توسط سه شرکت تجاری US NANO، Pioneers و نانو نصب پارس، بر لارو بارناکل گونه *A. amphitrite* که یکی از نمونه‌های غالب و رایج بسترهای مختلف سواحل خلیج‌فارس و دریای عمان است (Savari, 2011)، ارزیابی و مقایسه گردید.

مواد و روش کار

در این تحقیق سه نوع نانو ذرات نقره کلوییدی بترتیب از شرکت‌های US NANO (A) (آمریکا)، Pioneers (B) (ایران)، نانو نصب پارس(C) (ایران) خریداری شد. این سه ماده کاملاً محلول در آب بودند و ماده حامل نانو ذرات نقره در این محلول آب مقطر است. غلظت نانو ذرات کلوییدی نقره بنا بر برچسب ارائه شده توسط کارخانه روی این محصولات بترتیب برابر با ۴۰۰۰، ۱۰۰۰، ۱۰۰۰

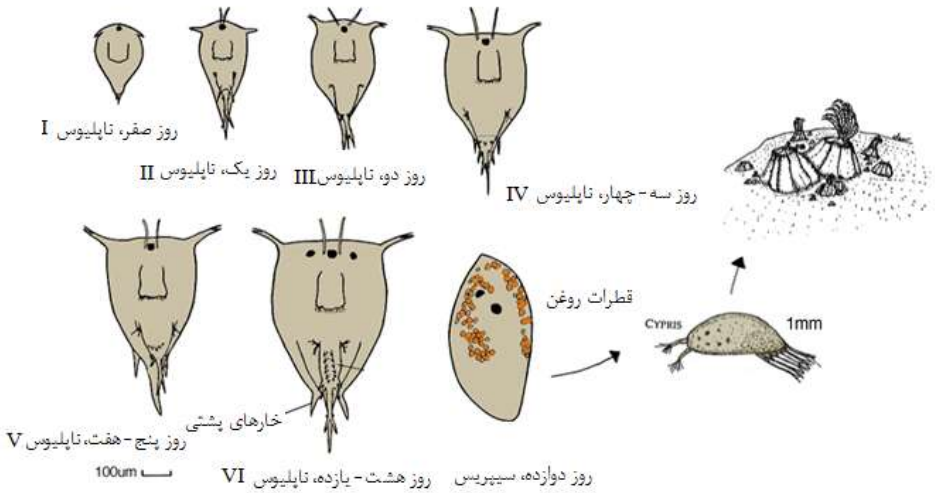
[1] Cypris

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

میلی‌گرم در لیتر بوده است که از آنها به عنوان استوک اصلی استفاده شد و بنا بر غلظت ارائه شده هر محصول، رقت سازی دقیقی در طیف ۰/۰۰۹ – ۳ بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر صورت پذیرفت که در ادامه تشریح شده است. آماده‌سازی این نانو ذرات نقره کلوییدی با درجه خلوص ۹۹٪ و ۹۹/۹۹٪ و ۹۸٪ مطابق با اطلاعات کارخانه بوده و از منظر اندازه ذره هر سه این نانوذرات در طیف اندازه ۳۰-۲۰ نانومتر تعیین‌شده بودند.

پرورش انبوه لارو بارناکل

بارناکل *A. amphitrite* از خانواده *Balanoidae* (شکل ۱) در تابستان سال ۱۳۹۳ در زمان بیشینه جذر (عموماً ساعت ۱ بعد از ظهر) از سواحل بندرعباس، جمع‌آوری و به همراه آب دریا به آزمایشگاه جانورشناسی دانشگاه هرمزگان منتقل گردید. 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 شدند. سپس لاروهای که در مرحله دوم ناپلیوس بودند، جداسازی شده و در آب دریا با شوری ppt ۳۵ نگهداری شدند و برای تغذیه لاروها از کشت میکروجلبکی فیتوپلانکتونی چون *Tetraselmis suecica* و *Chaetoceros calcitrans* با غلظت ۲×۱۰^{۲} سلول در میلی‌لیتر نیز استفاده گردید [این میکروجلبک‌ها سابقاً در آب دریا اتوکلاو شده محتوی محیط کشت نمکی f2 (Guillard 1975) تکثیر شده بودند]. ظروف محتوی کشت لاروی به مکانی با دمای ۱±۲۷ سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شد (Piazza *et al.*, 2014; Nasrolahi *et al.*, 2007).



شکل۱: الف) نمایی از *A. amphitrite* (Skaphandrus, 2007)، ب) مراحل لاروی بارناکل‌ها (Asnailsodyssey, 2007).

Figure 1: A- View of *A. amphitrite* (Skaphandrus, 2007), B- barnacles larval stages (Asnailsodyssey, 2007).

بررسی ویژگی سمیت

برای بررسی میزان سمیت نانو ذرات نقره، از تمام ۵ مرحله لاروی بارناکل (II، III، IV، V،VI) گونه *A.amphitrite* استفاده گردید. ابتدا ناپلیوس‌ها جمع‌آوری و برای بررسی میزان سمیت نانو ذرات نقره به ظروف ۲۴ خانه‌ای منتقل شدند. برای این منظور، از هر مرحله ناپلیوسی مورد نظر، ۵ لارو ناپلیوس به هر چاهک از پلیت میکروتیتر (پلیت‌های حاوی ۲۴ چاهک پلی استایرنی- با احتساب

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

سه بار تکرار در هر مرحله از آزمون) منتقل شدند که محتوی ۱ میلی‌لیتر از آب دریای فیلتر شده به همراه سوسپانسیونی از غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره (۰، ۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۷، ۰/۱۸، ۰/۰۹) میکروگرم در میلی‌لیتر بودند (رقت های مذکور با توجه به غلظت اولیه استوک مادر از هر محصول جداگانه تهیه گردیدند). آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام پذیرفتند و پس از ۲۴ ساعت تعداد لاروهای مرده با مشاهده توسط استریو میکروسکوپ شمارش شدند و درصد مرگ و میر نسبت به نمونه‌های کنترل محاسبه و مقایسه گردید. برای تعیین درصد مرگ و میر در غلظت‌های متفاوت و محاسبه دقیق LC_{50} از نسخه ۱/۵ نرم افزار EPA Probit Analysis (منتشر شده توسط سازمان حفاظت محیط زیست امریکا) استفاده شد. جهت آنالیز آماری از نرم افزار IBM SPSS 19 و رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 استفاده شد و تمامی مقادیر داده ها بر حسب میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده است. نرمال بودن داده ها و همگنی واریانس ها توسط آزمون Shapiro-wilk بررسی شد ($p<۰/۰۵$). سپس به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون چند دامنه Duncan جهت تعیین معنی داری اختلاف میان تیمارهای مختلف استفاده گردید.

نتایج

نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر نشان داد که حساسیت مراحل مختلف ناپلیوسی نسبت به نانوذرات نقره متفاوت و کاملاً وابسته به غلظت سنجشی نانوذرات نقره بوده است. با این وجود مقایسه غلظت ایجادکننده۵۰ درصد تلفات (LC_{50}) ۲۴ ساعت بعد از مجاورت در مراحل ناپلیوسی II، III، IV، V و VI بین سه محصول نانوذرات نقره در جدول ۱ نشان می‌دهد که در بین این سه محصول، پایین‌ترین سطح از LC_{50} و به تبع آن سمیت نانوذرات نقره نسبت به مراحل ناپلیوسی II، III، IV، V و VI بترتیب برابر با ۰/۰۷۷، ۰/۰۴۶، ۰/۰۷۱، ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر و متعلق به نانوذره نقره تولیدی شرکت US NANO بوده است. از سویی، مشاهده LC_{50} بسیار پایین و سمیت بالای نانونقره نسبت به مراحل ناپلیوسیV و VI خود نشان دهنده حساسیت بالای بارناکل‌ها در این مراحل تکاملی لاروی نسبت به نانوذرات نقره نیز است، زیرا بارناکل‌ها در طی این دو مرحله در حال دگردیسی به مرحله سیپریس هستند. بعلاوه، نسبت تلفات نیز با غلظت نانوذره نقره در این بازه زمانی نسبت مستقیم را نشان داده است.

نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر در ارزیابی سمیت سه محصول نانوذرات نقره به تفکیک هر مرحله ناپلیوسی نشان داد که در بازه زمانی ۲۴ ساعت بعد از مجاورت در غلظت ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر، در مرحله ناپلیوسی II تعداد لاروهای زنده بشدت کاهش یافت و درصد تلفات در هر سه محصول نانو ذرات نقره، افزایش چشمگیری را حتی تا ۱۰۰٪ نشان داد. در غلظت‌های ۱/۵ و ۰/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز درصد کشندگی ۸۰٪ محاسبه شد، اما در غلظت‌های ۰/۳۷ و ۰/۱۸ درصد کشندگی ۶۰٪ بود و غلظت ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر درصد کشندگی بسیار پایین‌تری ارائه نمود (شکل۲). با این وجود، نتایج ارائه شده در شکل ۲ نشان می‌دهد که اگرچه در غلظت‌های بالای نانوذرات نقره، بین اثرات هر سه محصول کلوییدی نانو ذرات نقره تفاوت بارزی مشاهده نشد، اما میان غلظت‌های حد پایین آزمایش (۰/۰۹، ۰/۱۸ میکروگرم در میلی‌لیتر) و غلظت‌های حد میانه و بالای آزمایش (۰/۳۷، ۰/۷۵ و ۱/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) تفاوت‌ها معنی‌دار بود و در این بین نانوذره نقره تولیدی شرکت US NANO، درصد مرگ و میر بالاتری را در مرحله ناپلیوسی II بویژه نسبت به غلظت‌های پایین نانونقره نشان دادند (شکل۲).

نتایج حاصل از ارزیابی درصد مرگ‌ومیر لاروهای ناپلیوس مرحله III نیز طی رویارویی با سه محصول نانو ذرات نقره کلوییدی در غلظت‌های (۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۷، ۰/۱۸، ۰/۰۹) میکروگرم در میلی‌لیتر، نشان داد که میانگین درصد کشندگی در غلظت ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در هر سه محصول نانو ذرات نقره کلوییدی ۱۰۰ درصد بوده است.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]

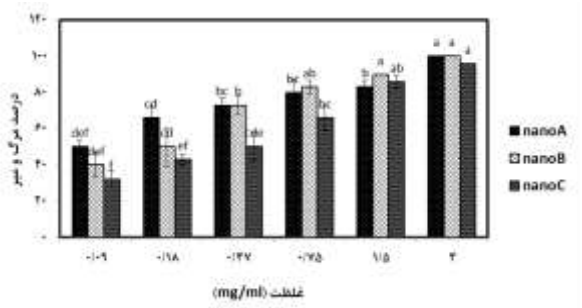
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

جدول۱: نتایج مربوط به غلظت ایجادکننده تلفات (میکروگرم در میلی‌لیتر) در مراحل لاروی *A. amphitrite* بعد از رویارویی با نانو ذرات نقره (AgNPs). محاسبه به کمک نرم افراز Probit ویرایش ۱/۵ (AgNPs- A: US NANO در Houston، AgNPs- B: Pioneers در ایران، AgNPs- C: نانونصب پارس در ایران).

Table 1: Results of the lethal concentration (µg/ml) in *A. amphitrite* larval stages after *exposing* to silver nanoparticles (AgNPs). Computed by *Probit Software* v.1.5 (AgNPs- A: US NANO in Houston, AgNPs- B: Pioneers in Iran, AgNPs- C: Nanonasb Pars in Iran).

نوع نانوذره	غلظت کشنده	ناپلیوس II	ناپلیوس III	ناپلیوس IV	ناپلیوس V	ناپلیوس VI
AgNPs- A	LC_{10}	۰/۰۳۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۵	۰	۰
	LC_{15}	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۰۸	۰	۰
	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}	۲۶/۱۴۹	۰/۵۰۹	۱/۰۷۸	۱۸/۷۳۰	۲۹/۹۸
AgNPs- B	LC_{10}	۰/۰۲۱	۰/۰۵۸	۰/۰۳۲	۰	۰
	LC_{15}	۰/۰۳۰	۰/۰۸۸	۰/۰۵۳	۰	۰/۰۰۱
	LC_{50}	۰/۱۲۲	۰/۵۰۰	۰/۴۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۲۳
	LC_{85}	۰/۴۹۹	۲/۸۴۵	۳/۰۶۹	۰/۳۶۸	۰/۹۸
	LC_{90}	۰/۶۹۶	۴/۲۹۳	۴/۹۶۵	۰/۸۱۱	۲/۳۸
	LC_{99}	۲/۸۷۱	۲۴/۷۶۶	۳۸/۵۶۸	۲۳/۵۸۰	۱۰۴/۷۷
AgNPs- C	LC_{10}	۰/۰۲۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰
	LC_{15}	۰/۰۳۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰
	LC_{50}	۰/۲۵۹	۰/۰۳۷	۰/۰۱۸	۰/۰۱۹	۰/۰۱۷
	LC_{85}	۱/۸۷۴	۰/۲۵۲	۰/۱۰۲	۰/۱۱۱	۰/۶۸۳
	LC_{90}	۲/۹۹۳	۰/۳۹۶	۰/۱۵۲	۰/۱۶۸	۱/۶۴
	LC_{99}	۲۲/۰۲۰	۲/۷۱۳	۰/۸۵۴	۰/۹۸۹	۶۹/۱۳۳

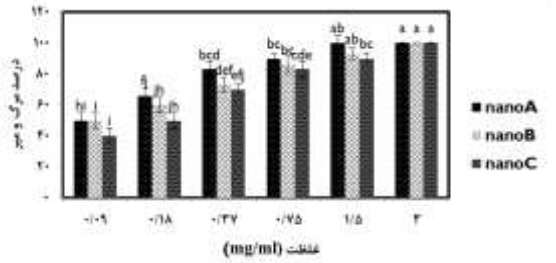


شکل۲: مقایسه تاثیر غلظت‌های متفاوت سه نوع نانو ذرات نقره بر ناپلیوس مرحله II لارو بارناکل *A. amphitrite*، میله‌های خطا (Error bar)، نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره است (شرکت‌های تجاری به اختصار عبارتند از: نانو A: US NANO در Houston، نانو B: Pioneers در ایران، نانو C: نانو نصب پارس در ایران).

Figure 2: Comparison of the effects of different concentrations of three types of silver nanoparticles on larval stages II of barnacle *A. amphitrite*, Error bars indicate a standard deviation and non-similar letters indicating a significant difference between the different concentrations of silver nanoparticles (Abbreviated letters for the company's brand: Nano A: US NANO in Houston, Nano B: Pioneers in Iran, Nano C: Nanonasb Pars in Iran).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

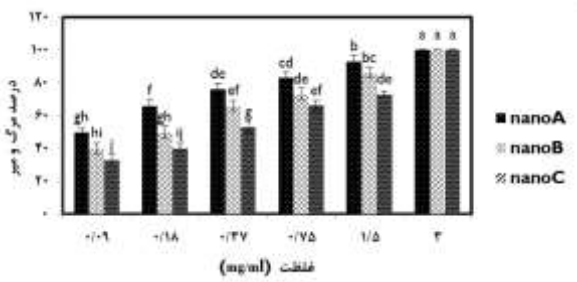
اما در غلظت‌های ۱/۵ و ۰/۳۷ میکروگرم در میلی‌لیتر، بالاترین میانگین درصد کشندگی لاروی نسبت به نانوذره نقره تولیدی شرکت US NANO مشاهده گردید که بترتیب برابر با ۹۴/۳۳ و ۷۵/۳۳ درصد بود و در غلظت‌های ۰/۱۸ و ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز بترتیب برابر با ۵۸/۶۶ و ۴۶/۶ درصد برآورد گردید (شکل ۳).



شکل۳: مقایسه تاثیر غلظت‌های متفاوت سه نوع نانو ذرات نقره بر ناپلیوس III لارو بارناکل *A. amphitrite*، میله‌های خطا، نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره است (شرکت‌های تجاری به اختصار عبارتند از: نانو A: US NANO در Houston، نانو B: Pioneers در ایران، نانو C: نانو نصب پارس در ایران).

Figure 3: Comparison of the effects of different concentrations of three types of silver nanoparticles on larval stages III of barnacle *A. amphitrite*, Error bars indicate a standard deviation and non-similar letters indicating a significant difference between the different concentrations of silver nanoparticles (Abbreviated letters for the company's brand: Nano A: US NANO in Houston, Nano B: Pioneers in Iran, Nano C: Nanonasb Pars in Iran).

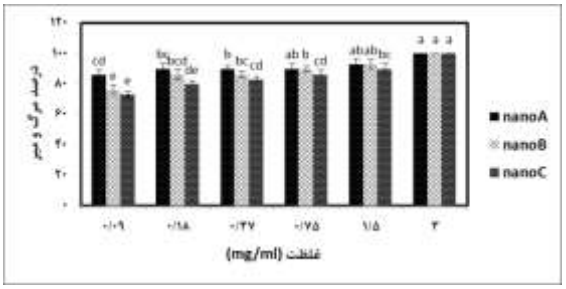
ارزیابی درصد مرگ‌ومیر لاروهای ناپلیوس مرحله IV در رویارویی با سه محصول نانو ذرات نقره کلوییدی در غلظت‌های (۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۷، ۰/۱۸، ۰/۰۹) نشان می‌دهد که میانگین درصد کشندگی در غلظت ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در هر سه محصول نانو ذرات نقره کلوییدی ۱۰۰ درصد بوده است. اما در غلظت‌های ۱/۵ و ۰/۳۷ میکروگرم در میلی‌لیتر، بالاترین میانگین درصد کشندگی نسبت به نانوذره نقره تولیدی شرکت US NANO بود که بترتیب برابر با ۸۴ و ۷۶ درصد و در غلظت ۰/۱۸ و ۰/۰۹ نیز بترتیب برابر با ۵۲ و ۴۱ درصد محاسبه گردید (شکل ۴).



شکل۴: مقایسه تاثیر غلظت‌های متفاوت سه نوع نانو ذرات نقره بر ناپلیوس IV لارو بارناکل *A. amphitrite*، میله‌های خطا، نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره است (شرکت‌های تجاری به اختصار عبارتند از: نانو A: US NANO در Houston، نانو B: Pioneers در ایران، نانو C: نانو نصب پارس در ایران).

Figure 4: Comparison of the effects of different concentrations of three types of silver nanoparticles on larval stages IV of barnacle *A. amphitrite*, Error bars indicate a standard deviation and non-similar letters indicating a significant difference between the different concentrations of silver nanoparticles (Abbreviated letters for the company's brand: Nano A: US NANO in Houston, Nano B: Pioneers in Iran, Nano C: Nanonasb Pars in Iran).

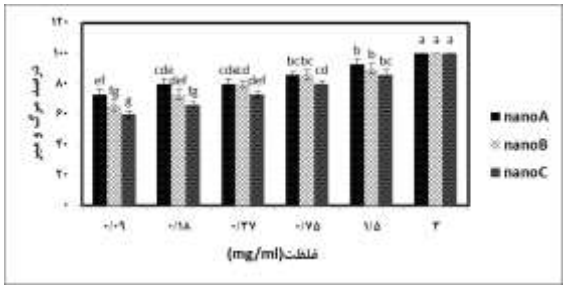
نتایج حاصل از سمیت سنجی لاروهای ناپلیوس V در رویارویی با هر سه محصول از نانوذرات نقره نشان داد که میانگین درصد کشندگی در غلظت ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در هر سه نوع نانو ذرات نقره کلوییدی۱۰۰ درصد بوده است. در غلظت‌های ۱/۵ و ۰/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، میانگین درصد کشندگی در هر سه محصول نانو ذرات نقره برابر با ۸۶/۳۳ درصد و در غلظت‌های ۰/۳۷ و ۰/۱۸ میکروگرم در میلی‌لیتر، میانگین درصد کشندگی سه محصول به تقریب برابر ۸۰ درصد برآورد گردید، اما در غلظت ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز، بالاترین میانگین درصد کشندگی، برابر با ۷۵ درصد بود که نسبت به نانوذره نقره تولیدی شرکت US NANO مشاهده شد (شکل ۵).



شکل ۵: مقایسه تاثیر غلظت‌های متفاوت سه نوع نانو ذرات نقره بر ناپلیوس V لارو بارناکل *A. amphitrite* میله‌های خطا، نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره است (شرکت‌های تجاری به اختصار عبارتند از: نانو A: US NANO در Houston، نانوB: Pioneers در ایران، نانو C: نانو نصب پارس در ایران).

Figure 5: Comparison of the effects of different concentrations of three types of silver nanoparticles on larval stages V of barnacle *A. amphitrite*, Error bars indicate a standard deviation and non-similar letters indicating a significant difference between the different concentrations of silver nanoparticles (Abbreviated letters for the company's brand: Nano A: US NANO in Houston, Nano B: Pioneers in Iran, Nano C: Nanonasb Pars in Iran).

در شکل ۶ درصد مرگ و میر لاروهای ناپلیوس VI طی یک رویارویی ۲۴ ساعته با سه محصول نانو ذرات نقره کلوییدی نشان می‌دهد که میانگین درصد کشندگی در غلظت ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در هر سه محصول نانو ذرات نقره کلوییدی ۱۰۰ درصد بود. در غلظت‌های ۱/۵ و ۰/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، میانگین درصد کشندگی در سه محصول به تقریب برابر با ۸۶ درصد بود و در غلظت‌های ۰/۳۷ و ۰/۱۸ میکروگرم در میلی‌لیتر نیز، میانگین درصد کشندگی برابر با ۷۶/۵ درصد بود. با این وجود، در غلظت ۰/۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر، بالاترین میانگین درصد کشندگی برابر با ۶۶/۳۳ درصد بود که نسبت به نانوذره نقره تولیدی شرکت US NANO مشاهده گردید. در این مرحله ناپلیوسی نیز همچنان میزان مرگ و میر بالا بوده است.



شکل۶: مقایسه تاثیر غلظت‌های متفاوت سه نوع نانو ذرات نقره بر ناپلیوس VI لارو بارناکل *A. amphitrite* میله‌های خطا، نشانه انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره است (شرکت‌های تجاری به اختصار عبارتند از: نانوA: US NANO در Houston، نانو B: Pioneers در ایران، نانو C: نانو نصب پارس در ایران).

Figure 6: Comparison of the effects of different concentrations of three types of silver nanoparticles on larval stages VI of barnacle *A. amphitrite*, Error bars indicate a standard deviation and non-similar letters indicating a significant difference between the different concentrations of silver nanoparticles (Abbreviated letters for the company's brand: Nano A: US NANO in Houston, Nano B: Pioneers in Iran, Nano C: Nanonasb Pars in Iran).

بحث

انتشار نانو ذرات در اکوسیستم‌های آبی می‌تواند برای موجودات زنده در این محیط مضر باشد. Kittler و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که بخش زیادی از سمیت ایجاد شده توسط نانو ذرات نقره، ناشی از یون‌های نقره ساطع شده از سطح این نانو مواد است. ازاینرو، یافتن غلظت کشنده و نیز حداکثر غلظت مجاز این مواد در گونه‌های مختلف ماهی و حتی آرتمیا و بارناکل به عنوان غذای آغازین بچه ماهیان و سایر جانوران می‌تواند ضروری باشد. گزارش‌های مختلفی از سمیت ترکیبات نانو بر موجودات بویژه آبزیان وجود دارد. امروزه، مشخص شده است که نانو ذرات نقره حتی نسبت به آرتمیا که یک سخت‌پوست مقاوم نسبت به شوری آب است نیز می‌تواند سمیت‌زا باشد. بطوریکه با افزایش غلظت و زمان مجاورت آرتمیا با سم، تلفات آرتمیا افزایش یافته بود (Bar-Ilan *et al.*, 2009). از آنجایی که فعالیت ضد میکروبی و ضد باکتریایی نانو ذرات نقره به اثبات رسیده است (Chopra,

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

2007)، توجه بسیاری از کشورهای پیشرفته در حوزه فناوری نانو، به این مهم معطوف گشته و به دلیل برخورداری از مزایا و کاهش هزینه‌ها در صنایع مرتبط، بهره‌برداری از محصولات نانوذرات نقره در سطح کلان مورد توجه بسیاری از صنعتگران و نیز محققان و دانشمندان علوم زیستی قرارگرفته است.

بررسی اثر سمیت سه نوع نانو ذرات نقره مورد مطالعه در این تحقیق بر روی مراحل مختلف لاروی بارناکل *A. amphitrite* مشخص نمود که نانوذره نقره A (تولیدی توسط شرکت US NANO، آمریکا) دارای بیشترین سمیت بر تمام مراحل لاروی بارناکل بوده است و همچنین مراحل اولیه ناپلیوس (II، III و IV) در برابر نانو ذرات نقره نسبت به مراحل آخر ناپلی مقاوم‌ترند. به عبارت دیگر، مقاومت ناپلی نسبت به نانو ذرات نقره در طول مراحل مختلف لاروی کاهش یافته است، بنحوی که مراحل آخر ناپلی (V و VI)، حساس‌ترین مراحل ناپلیوسی نسبت به تاثیرات سمی نانوذرات نقره قلمداد گردید. بگونه‌ای که با توجه به نتایج ارائه شده از نرم‌افزار Probit غلظت ایجادکننده۵۰ درصد تلفات (LC_{50}) ۲۴ ساعت بعد از مجاورت در این دو مرحله V و VI بترتیب برابر با ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۹ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که نشانی از سمیت بسیار بالای این ماده است. از سویی، بیشترین میزان مرگ‌ومیر نیز در این دو مرحله مشاهده گردید. این نتایج با گزارش Qiu و همکارانش (۲۰۰۵) که به بررسی اثر سمیت مس بر مراحل مختلف لاروی بارناکل *A. amphitrite* پرداختند، مطابقت داشته است. آنها همچنین نشان دادند که با افزایش غلظت مس میزان مرگ و میر لاروهای بارناکل افزایش می‌یابد و مراحل ناپلیوس V و VI حساسیت بیشتری در برابر مس نسبت به سایر مراحل لاروی نشان می‌دهند. از سویی، این محققین مرحله ناپلیوس II را مقاوم‌ترین مرحله شناخته شده برای آزمون‌های سمیت بارناکل‌ها عنوان نمودند. از آنجایی که لاروها در این دو مرحله تغذیه نمی‌کنند و در حال تغییر شکل، دگردیستی و ورود به مرحله سیپریس هستند، بنظر می‌رسد نسبت به سموم و استرس‌های محیطی از درجات مقاومت پایین‌تری، در مقایسه با سایر مراحل تکاملی بارناکل‌ها برخوردار باشند. البته عملکرد مکانیسم داخلی و سمیت سلولی نانو ذرات نقره در لاروهای بارناکل هنوز شناخته نشده است. اما این احتمال می‌رود که سمیت بالای نانو ذرات نقره در این مراحل ناپلیوسی، عمدتاً متوجه تغییرات دگردیسی تکاملی لاروی بارناکل‌ها در جهت فولینگ زیستی آنها بوده باشد. زیرا اگرچه سیپریس ها تغذیه نمی‌کند و مقاومت غذایی بالایی دارند (Qiu *et al.*, 2005)، اما بنظر می‌رسد احتمالاً بنا بر جذب و ربایش پوستی نانوذرات نقره به سطوح بدن سیپریس، افزایش وزن مخصوص این جانداران، شناوری نامتعادل و از دست رفت سهم بیشتری از انرژی، توان نشست و سکنی گزینی در این مرحله تکاملی جاندار، تضعیف شده و جاندار علائم سمیت را ابراز نموده است. غلظت نانو ذرات برای ایجاد ۵۰ درصد تلفات در چهار گونه ماهی پرورشی و آکواریومی ۷-۰/۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش گردید (Alishahi *et al.*, 2009). همچنین در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان غلظت حدود ۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذره نقره عامل ایجاد ۵۰ درصد تلفات گزارش‌شده است (Soltani *et al.*, 2009). سمیت حاد، مزمن نانو نقره بر دافنی *Daphnia magna* به عنوان یک معرف زیستی آلودگی در آبهای شیرین بررسی‌شده است که نشان‌دهنده تجمع زیست‌محیطی بالای این ماده می‌باشد، بطوریکه تماس دافنی با نانو نقره با غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ایجاد ۵۰ درصد تلفات نمود، همچنین غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر این ماده موجب کاهش رشد و باروری دافنی گردید (Zhao and Wang, 2011). اگرچه غالب تحقیقات پیشین نظیر مشجور و همکاران (۱۳۹۷) در این حوزه، مبتنی بر آزمون‌های سمیت ناپلیوسی در مرحله II بارناکل‌ها بوده است که این امر تا حدودی می‌تواند ناشی از نرخ تولید لاروی و درصد زنده‌مانی بسیار بالای ناپلیوس‌ها در این مرحله لاروی و مقاومت بیشتر آنها در برابر سموم باشد.لذا، پاسخ‌های سمیت سنجی ارائه شده در تحقیق حاضر در سطوح متفاوت مراحل تکامل لاروی بارناکل‌ها، اگرچه در بحث نانو بوم سم شناسی نانوذرات نقره، گامی نوین محسوب می‌شود، اما تفسیر و تحلیل دقیق مکانیسم‌های دخیل در بروز سمیت در این جانداران

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

آبزی، نیازمند ارزیابی‌های پیشرفته در سطوح سلولی و فراساختارهای سلولی در بارناکل‌ها می‌باشد. 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 نبوده است (Sharma *et al.*, 2009). بنابراین، اگرچه توان ضدمیکروبی نانوذرات در بحث صنعتی شدن این ماده برای کاربری های پزشکی دارویی بسیار شایان توجه بوده است و حتی بنا بر نتایج این تحقیق پتانسیل کاربری این نانوذرات نقره در تهیه پوشش‌های ضدفولینگ نیز قابل طرح می‌باشد، اما در هر حال، بایست پیامدهای زیستی و آثار مخرب این ماده بر زیستمندان آبزی نیز دور از انتظار ندانست و تدابیر زیست بوم مدیریتی هدفمندی را در بحث بوم سم شناسی نانوذرات اتخاذ نمود.

منابع

محمدی، ش.، سروری مغانلو، ک.، آتشبار، ب. و ایمانی، ا. ۱۳۹۵. مطالعه اثرات مزمن نانو ذرات نقره بر رشد، بازماندگی و ویژگی‌های تولید مثلی آرتمیای دریاچه ارومیه(*Artemia urmiana*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۴): ۶۳-۷۵. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110299

مشجور، س.، یوسف زادی، م. و علیشاهی، م. ۱۳۹۵. ارزیابی سمیت سوسپانسیون آبی نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4) بر شاخص‌های زیستی آب شور (بارناکل) و آب شیرین (روتیفر). مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۳): ۱۴۱-۱۵۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2018.117175

Alishahi, M., Mesbah, M. and Gorbanpoor, M., 2009. Study of nanosilver toxicity in four species of fish. *Iranian Veterinary Journal*, 7: 37-42. (In Persian).

Anderson, R.A.,1994. Algal culturing techniques. Elsevier Academic Press, New York, 598p.

Anger, K., Riesebeck, K. and Pueschel, C., 2000. Effects of salinity on larval and early juvenile growth of an extremely euryhaline crab species, *Armases miersii* (Decapoda: Grapsidae). *Hydrobiologia*, 426: 161–168. DOI: 10.1023/A:1003926730312

Asnailsodyssey, 2007. Ontario - Oakville - Hostpapa. http://www.asnailsodyssey.com. Cited 16 Oct, 2007.

Bar-Ilan, O., Albrecht, R.M., Fako, V.E. and Furgeson, D.Y., 2009. Toxicity assessment of multisized gold and silver nanoparticles in zebra fish embryos. *Small*, 5: 1897-1910. DOI: 10.1002/smll.200801716

Botton, M.L., Johnson, K., Helleby, L., 1998. Effects of copper and zinc on embryos and larvae of the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 35: 25–32. DOI:10.1007/s002449900344

Chopra, I., 2007. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59: 587-590. DOI: 10.1093/jac/dkm006

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith, W.L. and Chanley, M.H., (ed) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, USA. pp. 26-60. DOI: 10.1007/978-1-4615-8714-9_3

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

Hedayati, A., Shaluei, F. and Jahanbakhshi, A., 2012. Comparison of toxicity responses by water exposure to silver nanoparticles and silver salt in common carp (*Cyprinus carpio*). *Global Veterinaria*, 8(2): 179-184.

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(16): 4548-4554. DOI: 10.1021/cm100023p

Lang, W.H., Marcy, M., 1982. Some effects of early starvation on the survival and development of barnacle nauplii, Balanus improvisus (Darwin). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 60: 63–70.

Lopez Greco, L.S., Bolan˜ os, J., Rodrı´guez, E.M. and Herna´ndez, G., 2001. Survival and molting of the Pea Crab larvae Tunicotheres moseri Rathbun 1918 (*Brachyura, Pinnotheridae*) exposed to copper. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 505–510. DOI: 10.1007/s002440010203

Marechal, J.P. and Hellio, C., 2011. Antifouling activity against barnacle cypris larvae: Do target species matter (*Amphibalanus amphitrite* versus *Semibalanus balanoides*)? *International Biodeterioration and biodegradation*, 65(1):92-101. DOI: 10.1016/j.ibiod.2010.10.002

Mathivanan, V., Ananth, S. and Ganesh Prabue, P., 2012. Role of silver nanoparticles behavior and effects in the aquatic environment, A review. International journal of research in biological sciences, 2: 77-82.

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*. Journal of the marine biological association of the UK, 87: 1227-1233.

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. *Marine Drugs*, 12: 1995-1976. DOI: 10.3390/md12041959

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. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 217: 47-61. DOI: 10.1016/s0022-0981(97)00037-3

Qiu, J.W., Thiyagarajan, V., Cheung, S. and Qian, P.Y., 2005. Toxic effects of copper on larval development of the barnacle *Balanus Amphitrite*. *Marine pollution Bulletin*, 51: 688-693. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2004.11.039

Savari, R. 2011. Preliminary study some reproductive charachteristics of intertidal barnacles species *Amphibalanus amphitrite, Microeuraphia permitin* in Persian gulf Bandarabbas seaside. Phd thesis, 120p. (In Persian).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]

Sharma, K., Yngard, R.A. and Lin, Y., 2009. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145: 83-96. DOI: 10.1016/j.cis.2008.09.002

Skaphandrus, 2007. Dublin - Giglinx Inc. http://www.skaphandrus.com**.** Cited 28 May, 2007.

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, 27-28 January, Tehran, p112.

Zhao, C.M. and Wang, W.X., 2011. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology* and *Chemistry*, 30:885-892. DOI: 10.1002/etc.451

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.3.4]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118887]

Toxicity effect of three kinds of colliodal silver nanoparticles on barnacle larvae *Amphibalanus Amphitrite*

Sadeghi F.[1]; Yosezadi M.[1]; Mashjoor S.[1*]

[*]sakynemashjoor@gmail.com

1- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

Abstract

In this study, the toxicity of colloidal silver nanoparticles produced from three companies (US NANO, Pioneers, Nanonasb Pars) in the larvae of barnacles *Amphibalanus amphitrite* was evaluated using standard OECD. These crustaceans are important economically and ecologically. In this research, the LC_{50} within 24 hours for nauplius stages II, III, IV, V and VI examined against toxicity of the three types of silver colloidal nanoparticles. The results suggested that the calculated LC_{50} of silver nanoparticles from US NANO company for naupli II, III, IV, V and, VI, were 0.077, 0.046, 0.071, 0.006 and,0.009 mg/ml, respectively, and the LC_{50} of silver nanoparticles from Pioneers company for naupli II, III, IV, V and VI were 0.122,0.5, 0.402, 0.013 and, 0.023 mg/ml, respectively. The evaluated LC_{50} of silver nanoparticles from Nanonasb Pars for naupli, II, III, IV, V and VI were 0.259, 0.037, 0.018, 0.019 and, 0.017 mg/ml, respectively. This result indicated that silver nanoparticles of US NANO companys have been the most toxic on all larval barnacle stages and should be reviewed in correlation with the environment management products of silver nanoparticles.

Key words: Silver nanoparticles, Barnacles nauplius, LC_{50}

[*]Corresponding author