تجمع بافتی کلوئید نانو ذرات نقره در بافت‌های آبشش و عضله ساقه دمی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

سعید ضیائی‌نژاد *[۱]، راضیه دلاوریان[۱]، فروغ خاکی[۱]، سیدعلی جوهری[۲]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران، صندوق پستی: ۶۳۶۱۶-۴۷۱۸۹

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۲۱

چکیده

با توجه به روند روز افزون مصرف نانو ذرات و رهایش آن در بوم سازگان آبی، بیم خطرات احتمالی برای محیط زیست و پیرو آن، برای انسان می‌رود. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تجمع بافتی نانو ذرات نقره و تأثیر آن بر بازماندگی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) است. به این منظور، طی یک دوره ۶۰ روزه، ماهیان در معرض غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره (۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ ppm) قرار داده شد. طول دوره‌ی آداپتاسیون ۲ هفته در نظر گرفته شد. در هر تانک ۲۵ قطعه ماهی کپور معمولی قرار داده و آزمایش با ۵ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. نتایج حاصل از تجمع نانو ذرات نقره در بافت آبشش و عضله ساقه دمی ماهی کپور معمولی، در پایان دوره تیمار بندی، اختلاف معناداری را بین تجمع بافتی در تیمارها با غلظت‌های متفاوت، نشان داد. با افزایش غلظت نانو ذرات نقره مورد استفاده، تجمع بافتی در بافت‌های مختلف افزایش یافته ($p<۰/۰۵$)، با این حال غلظت ۰/۲ ppm نانو نقره دریافتی، بیشترین میزان تجمع نانو نقره را در همه‌ی بافت‌ها نشان داد. کمترین تجمع بافتی در آبشش و بیشترین تجمع در بافت عضله ساقه دمی مشاهده شد. نتایج درصد بازماندگی در پایان دوره ۶۰ روزه‌ی تیمار بندی با افزایش غلظت نانو ذرات، افزایش کمی را نشان داده، با این حال، هیچ اختلاف معناداری بین درصد بازماندگی در دوزهای مختلف رویارویی ماهیان با نانو ذرات نقره وجود ندارد ($P>۰/۰۵$). به نظر می‌رسد که حضور نانو ذرات نقره چه به عنوان آلاینده محیطی و چه به هدف استفاده از فنانوری نانو باعث تجمع بافتی به خصوص در بافت‌های داخلی ماهی و تأثیر منفی هر چند اندک بر بازماندگی آبزی دارد. با توجه به این که ماهیان به خصوص ماهی کپور معمولی در زنجیره غذایی انسان جایگاه مشخصی دارد، بنابر این جلوگیری از ورود این مواد جدید به چرخه غذایی یا محیط زیستمندان ساکن بوم سازگان‌های آبی بسیار مهم می‌باشد. از طرف دیگر، استفاده از فناوری نانو ذرات نقره به عنوان روش درمانی جهت مبارزه با بیماری‌های آبزیان توصیه نمی‌شود.

کلمات کلیدی: نانو ذرات نقره، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، تجمع بافتی، بازماندگی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). zbsaeed@yahoo.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

مقدمه

افزایش بیش از حد جمعیت و صنعتی شدن جوامع خصوصاً از نیمه دوم قرن بیستم باعث پیدایش مشکلات و مسائل جدید در آلودگی محیط زیست شده است. از جمله آلاینده‌هایی که در فاضلاب صنایع، معادن و رواناب‌های شهری و کشاورزی وجود دارد، می‌توان به فلزات سنگین اشاره کرد. فلزات سنگین به صورت محلول در آب و خاک وارد شده و باعث آلودگی آب‌های سطحی، زیرزمینی و خاک شده و سبب برهم زدن تعادل اکولوژیک اکوسیستم‌هایی که به آن وارد می‌شوند، می‌گردند. انسان‌ها و جانوران با مصرف سبزیجات، گیاهان و مواد غذایی آبیاری شده با چنین آب‌هایی و یا برخاسته از چنین خاک‌های آلوده‌ای و نیز مصرف جانوران و آبزیانی که در معرض این فلزات زندگی می‌کنند، مبتلا به انواع بیماری‌های شناخته شده و یا ناشناخته می‌گردند. بنابراین لازم است نسبت به کنترل و کاهش آلودگی چنین موادی در محیط زیست اقدام شود (Barreiro *et al.*, 1994; Angelidis and Aloupi, 1995; Carballeira *et al.*, 2000).

از طرف دیگر، گسترش فناوری نانو در سطح جهانی و استفاده روز افزون از تولیدات حاصل از این فناوری، با توجه به کاربردهای فراوان نانو مواد در کاهش عفونت میکروبی پوست و زخم‌های سوختگی، همچنین برای جلوگیری از تجمع باکتری بر سطح ابزارهای مختلف مثل پروتزها، مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Martinez-Gutierrez *et al.*, 2010).

استفاده از تکنولوژی نانو همانند سایر فن‌آوری‌ها دارای معایبی است. به عنوان مثال، هنوز از میزان اثرات مخرب این نانو ذره بر بافت و سلول‌های خونی اطلاعات کافی در دست نیست. از طرفی نانو ذرات ممکن است سیستم ایمنی بدن و میزان گلبول‌های خونی را تغییر داده و استفاده از آن‌ها برای بدن مضراتی داشته باشد. کاربرد بسیار زیاد نانو ذرات مختلف در کل جهان و به خصوص در کشور ما، مطالعات دقیق‌تری را برای شبیه سازی مدل‌های حیوانی، پیرامون تأثیرات آن نانو ذره بر روی سیستم‌های مختلف بدن انسان می‌طلبد (Hogstrand and Wood, 1996؛ Hussain *et al.*, 2005).

نانو ذرات به دلیل اثرات خاص و ویژگی‌های منحصر به فردشان ورود گسترده‌ای به دنیای کشاورزی و بیولوژی داشته‌اند (Oberdorster *et al.*, 2005). این ذرات به اشکال مختلف در محیط زیست آزاد شده و تاثیرات ناشناخته آن‌ها بر موجودات زنده و اکوسیستم، موجبات نگرانی‌های بسیاری را فراهم آورده است. استفاده از نانو ذرات، در سطح جهان هر روزه در حال افزایش است ولی هنوز اطلاعات محدودی در مورد اثرات زیست محیطی آن‌ها، به ویژه برای موجودات آبزی در دسترس است. نانو مواد عمدتاً نسبت به مواد با ترکیبات مشابه، تفاوت معنی داری در خصوصیات منحصر به فرد فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی نشان می‌دهند (Masciangioli and Zhang, 2003).

با وجود تلاش‌ها برای استفاده از نانو ذرات نقره در صنایع مختلف، متاسفانه در صنعت آبزی‌پروری و پرورش ماهیان، گزارشات بسیار محدود بوده (Griffitt *et al.*, 2008) و از ماهی گورخری دانیو (*Danio rerio*) که شباهت زیاد ژنتیکی به انسان دارد، بیشتر استفاده شده است (Bar-Ilan *et al.*, 2009).

در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به بحث نانومواد در زیست بوم‌های آبزیان شده است و مطالعات متعددی نیز در زمینه اثرات نانوذرات نقره بر آبزیان انجام شده

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

است که از جمله مطالعات انجام شده می‌توان به تحقیقات Griffitt و همکاران (۲۰۰۸ و ۲۰۱۳)، Farmen و همکاران (۲۰۱۲)، Scown و همکاران (۲۰۱۰)، Sharifian و همکاران در سال ۲۰۱۳، Louei Louei Monfared و Soltani در سال ۲۰۱۳، درافشان و همکاران، ۱۳۹۳، کلباسی و همکاران، ۱۳۹۱b، Tokatli و همکاران در سال ۲۰۱۳، Chojnacki و Sliwinski در سال ۲۰۱۳ بر روی گونه‌های آبزی نام برد.

از آنجایی که آبزیان و به خصوص ماهی کپور معمولی از منابع غذایی مهم مورد استفاده بشر می‌باشد، لذا ضرورت انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه احساس می‌شود. در برخی از مطالعات (جواهری بابلی و همکاران، ۱۳۹۳؛ یونسی پور و همکاران، ۱۳۹۳) تجمع برخی از فلزات سنگین در بافت ماهی کپور معمولی بررسی شده است، اما در خصوص نانو ذرات نقره تحقیق چندانی صورت نپذیرفته است. از این روی در این تحقیق تجمع بافتی نانو ذرات نقره و تأثیر آن بر بازماندگی در ماهی خوراکی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نانو ذرات نقره (Ag-NPs) مورد استفاده در این تحقیق، از تولیدات شرکت نانو نصب پارس (تهران- ایران) با نام تجاری نانوسید (Nanocid) مورد استفاده قرار گرفت (United State Patent application under No US/2009/0013825). این ماده به صورت کلوییدی در آب بوده و ماده حامل نانو ذرات نقره در این محصول آب مقطر می‌باشد و محصول L-2000 بوده و غلظت اسمی ۴۰۰۰ میلی گرم بر لیتر دارد و اندازه ذرات در این محصول ۱±۷ نانومتر بوده و طبق توصیه شرکت سازنده با غلظت ۵ تا ۱۰۰ درصد قابل استفاده برای ایجاد اثرات ضد باکتریایی و ضد عفونی کنندگی می‌باشد. بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی (TEM)، میانگین نانو ذرات این محصول کمتر از ۱۰ نانومتر از سوی شرکت سازنده اعلام شده است. تا بحال مقاومت نسبت به نانو ذرات در باکتری‌ها گزارش نشده و بعلت نیمه عمر کم، به طبیعت آسیبی نمی رساند (بروشور محصول). از آنجا که نانو ذرات بصورت محلول کاملا قابل حل در آب بودند، بعد از مشخص شدن غلظت، میزان مورد نیاز از ماده به آب تانک‌های فایبرگلاس اضافه گردید. این محصول در سازمان ثبت اختراعات ایالات متحده آمریکا با شماره ۲۰۰۹۰۰۱۳۸۲۵ به ثبت رسیده است. مشخصات نانو ذره مورد استفاده در این تحقیق بر اساس آنالیزهای پیشین (Salari Joo *et al.*, 2013) به شرح جدول۱ بود.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

جدول ۱: برخی از مشخصات اندازه گیری شده کلوئید نانوذرات نقره توسط Salari Joo و همکاران (۲۰۱۳)

پارامتر	روش سنجش	فراسنجه	توضیحات
غلظت (mg/L)	ICP-AES	۳۹۸۰	با غلظت اعلام شده از کارخانه تولیدی اختلاف ناچیزی دارد.
شکل	TEM	کروی	-
اندازه ذرات (قطر هیدرودینامیکی) (nm)	Zetasizer	۳/۹ تا ۱۶۳/۵	۵۴/۱ ٪ از ذرات هیدرودینامیکی کم تر از ۱۰۰ nm دارند.
میانگین قطر هیدرودینامیکی (nm)	Zetasizer	۵۴/۸	-
قطر بیشینه (nm)	TEM	۱۲۹	۶۵/۱۴ ٪ از ذرات قطری بین ۱۳ nm-۱ دارند.
خلوص	TEM		تنها عنصر نقره در کلوئید نانو ذرات نقره وجود دارد.

نانوذرات نقره قبل از هر بار استفاده به مدت ۶۰ دقیقه به منظور یکنواخت پخش شدن در محلول، سونیکاسیون شدند. تانک‌های آزمایش ۹۶ ساعت قبل از ماهی دار کردن به غلظت مورد نظر رسیدند، سپس شسته شده و مجدداً قبل از ماهی دار کردن به غلظت مورد نظر رسیدند تا میزان کاهش غلظت ذرات در اثر چسبیدن به سنگ هوا و شیشه تانک ایجاد می‌شود، به حداقل برسد. هر ۴۸ ساعت یک بار به میزان ۵۰ ٪ از حجم آب هر تانک تعویض شده و تنظیم غلظت مورد نظر تحت شرایط ساکن- تجدید صورت گرفته شد (کلباسی و همکاران، ۱۳۹۱a). مراحل انجام آزمایش در آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه صنعتی خاتم النبیاء واقع در شهرستان بهبهان (استان خوزستان) انجام گردید. قبل از انتقال ماهیان تمامی شرایط آزمایشگاه از نظر وسایل مورد نیاز و شرایط فیزیکوشیمیایی بررسی شد. دمای داخل آزمایشگاه بین ۲۷ تا ۲۹ درجه سانتی گراد تنظیم شد. از این روی ۱۵ تانک فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری برای تیمارها و ۲ تانک ۵۰۰ لیتری برای آب ذخیره‌ای، شست و شو و ضدعفونی شد. بعد از شستن کارگاه، تانک‌های فایبرگلاس به ترتیب در سه ردیف پنج تایی قرار داده شدند.

سپس لوله‌های هوادهی که در سر هر کدام سنگ‌های هوای ۴۰ سانتی متری تعبیه شده بود، درون هر کدام از تانک‌ها قرار داده شد. در این پروژه از یک پمپ هوای قوی که به خوبی همه‌ی تانک‌ها را هوادهی می‌کرد، استفاده شد. لازم به ذکر است چون این تحقیق در فصل پاییز اجرا شد برای بالا بردن دمای آب و ثابت نگه داشتن آن در هر تانک از هیترهای آکواریومی ۲۰۰ واتی استفاده شد. بعد از آب گیری تانک‌ها، تا ۴۸ ساعت هوادهی شدند تا کلر آب شهری خارج شود. آب مورد نیاز این پروژه از آب لوله کشی شهری در دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان تأمین می‌شد.

در این تحقیق ماهی کپور معمولی جوان با وزن حدود ۱/۵۰ ± ۴۰ گرم و طول نسبی ۱ ± ۱۱ سانتیمتر در

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

نظر گرفته شد از این روی بعد از انجام هماهنگی‌های لازم در تاریخ ۲۹ مهر ماه سال ۱۳۹۴ اقدام به انتقال کپور ماهیان از مزرعه آقای رنجبر واقع در جاده سیمان شهرستان بهبهان به کارگاه گردید. برای این کار از کیسه‌های پلاستیکی بزرگ دو لایه استفاده شد. تعداد ۴۵۰ قطعه ماهی کپور معمولی با وزن حدودی ۴۰ گرم خریداری شد. بعد از تقسیم ماهی‌ها در ۵ کیسه، ۱/۳ کیسه را از آب و ۲/۳ آن را با اکسیژن پر و سر آن را با کش محکم گره زده و به کارگاه منتقل شد. در ابتدای ورود به کارگاه، کیسه‌های حاوی ماهی در تانک ذخیره که از قبل آماده شده بود، قرار داده شد تا آب کیسه‌ها با آب تانک ذخیره به آرامی هم دما شود در غیر این صورت ماهی دچار شوک حرارتی شده و تلفات می‌داد. در طی این مدت لوله‌های هوادهی درون کیسه‌ها قرار داده شد تا ماهی دچار کمبود اکسیژن نشود. بعد از دو ساعت به آهستگی آب درون کیسه همراه با ماهی‌ها وارد تانک ذخیره شد.

طول دوره‌ی آداپتاسیون ۲ هفته در نظر گرفته شد. برای غذادهی ماهیان در این دوره از جیره ی صنعتی مخصوص کپور ماهیان (کارخانه نقشین، تولید کننده تخصصی خوراک آبزیان، کرمانشاه، سر پل ذهاب، شهرک صنعتی سر پل ذهاب) استفاده شد.

سپس به صورت تصادفی بین ۱۵ تانک فایبرگلاس آماده برای تیمار بندی با حجم کلی ۱۰۰ لیتر و هوادهی شده با سنگ هوای ۲ سانتی متری و پر شده با آب شیر بدون کلر (پس از ۲۴ ساعت هوادهی مداوم) توزیع شدند تا شرایط تراکم استاندارد رعایت شود. در هر تانک ۲۵ قطعه ماهی کپور معمولی قرار داده شد. آزمایش با ۵ تیمار و ۳ تکرار انجام شد که تیمار شاهد برای بررسی‌های بافتی شناسی در مقایسه با تیمارها در نظر گرفته شد. بعد از آن به وسیله نام گذاری تانک‌ها با اعداد ۱ تا ۱۵، قرعه کشی برای تعیین تیمارهای هر کدام از تانک‌ها صورت گرفت. تانک‌ها با اسامی: (C_1، C_2، C_3) برای گروه شاهد، (N_{1-1}، N_{1-2}، N_{1-3}) برای غلظت ۰/۰۲۵ ppm، (N_{2-1}، N_{2-2}، N_{2-3}) برای غلظت ۰/۰۵ ppm، (N_{3-1}، N_{3-2}، N_{3-3}) برای غلظت ۰/۱ppm و (N_{4-1}، N_{4-2}، N_{4-3}) برای غلظت ۰/۲ ppm نانو ذرات نقره نام گذاری شدند و در قالب طرح آزمایشی کاملا تصادفی اجرا شد (جدول۲).

جدول ۲: تعداد تیمار و غلظت‌های بکار رفته نانو ذرات نقره در آنها

گروه‌ها	غلظت‌های بکار رفته در هر تیمار (ppm)
C(شاهد)	۰
N1	۰/۰۲۵
N2	۰/۰۵
N3	۰/۱
N4	۰/۲

در آغاز، هر تانک روزانه به اندازه ۴ درصد وزن بدن ماهیان غذادهی می‌شد.

غذای روزانه به صورت دستی در ۲ نوبت (ساعات ۸:۳۰ و ۱۶) به نسبت مساوی در اختیار کپور ماهیان قرار داده شد. ۴۸ ساعت قبل از پایان دوره تیماربندی و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

شروع نمونه برداری جهت بررسی تجمع بافتی کلوئید نانو ذرات نقره در بافت‌های آبشش و عضله ساقه دمی، غذادهی به ماهیان قطع گردید تا از جذب نانو ذرات به مواد غذایی و مدفوع ماهیان جلوگیری شود. همچنین این کار باعث جلوگیری از افزایش کربن آلی محلول در آب می شود که عامل اخیر در صورت وجود، می تواند باعث برآورد اشتباه سمیت در سیستم‌های ساکن گردد. کپور ماهیان به مدت ۶۰ روز در معرض نانو ذرات نقره قرار گرفتند.

آب مخازن قبل از استفاده به مدت دو هفته در مخازن ۳۰۰ لیتری نگه داری شد تا رسوبات و مواد معلق موجود در آن ته نشین شوند. قبل از شروع آزمایش‌ها، شاخص‌های مهم شیمیایی آب‌های مذکور اندازه گیری گردید. تانک‌های فایبرگلاس مورد استفاده در این پروژه، دارای مجرای تخلیه از کف بوده و هر ۴۸ ساعت یکبار ۵۰ درصد آب تانک‌ها را تعویض و با سیفون آلودگی‌ها و مواد معلق را خارج کرده و مقدار نانو ذرات نقره تجدید می‌شد.

در طول دوره تمامی شرایط محیطی یکسان بوده و پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب (دمای آب، اکسیژن محلول و pH) به صورت هفتگی ارزیابی شد. دمای آب به وسیله دماسنج جیوه‌ای، اکسیژن به وسیله اکسیژن متر (WTW DO meter, USA) و pH به وسیله pH متر مدل Research Jenway 3330 سنجش شد. میانگین شاخص‌های مورد سنجش در طول دوره آزمایش به ترتیب معادل ۱±۲۴ درجه سانتی گراد، اکسیژن محلول ۷/۵ میلی گرم در لیتر و۰/۳±۷/۵ pH بود. رژیم نوری در این دوره به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی رعایت شد.

تلفات روزانه ی هر کدام از تانک‌های تیمار بندی شده، در جدول ثبت شده تا در انتهای دوره درصد بازماندگی ماهیان محاسبه شود. هر کدام از ماهیان تلف شده، تشریح و عوامل غیر عادی قابل رویت از قبیل عدم تعادل، تغییر در نحوه تنفس، نحوه شنا، ایجاد رنگدانه و تغییر شکل ظاهری کاملا ثبت شد. خوشبختانه در کل دوره هیچ عامل بیماری‌زایی یا تلفات شدید دیده نشد.

آنالیزهای مورد نظر در این تحقیق شامل شاخص بازماندگی و شاخص تجمع نانو ذرات نقره در بافت‌های مختلف ماهی کپور معمولی از جمله آبشش و عضله ساقه دمی می باشد. در پایان دوره ی ۶۰ روزه، به منظور بررسی میزان تجمع نانو نقره در بافت‌ها اقدامات لازم صورت گرفت. ابتدا از هر کدام از تانک‌ها ۵ عدد ماهی بصورت تصادفی انتخاب شده، سپس در سطل‌های حاوی گل میخک با دوز بالا انداخته تا ماهی کشته شد. سپس نمونه برداری برای انجام آنالیزهای مورد نظر صورت گرفت. در این زمان، سر، باله‌ها و دم ماهیان جدا شده و با دقت بافت‌های مورد نظر جدا شد. هنگام تشریح ماهی، بافت‌ها به وسیله‌ی تیغه استیل جدا و پس از توزین در پتریدیش قرار گرفته و برای خشک کردن در آون قرار داده شدند. تمامی نمونه‌های به دست آمده، به مدت ۳۶ ساعت در آون با دمای۵۵ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت قرار گرفته، سپس از آون خارج شدند. نمونه‌های خشک شده در هاون چینی کوبیده شد تا به صورت پودر در بیایند. مطابق دستورالعمل MOOPAM 1999 (جلالی و همکاران، ۱۳۹۲) یک گرم از هر نمونه بافت عضله را در یک لوله شیشه‌ای ریخته و به آن ۶ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ (۶۵٪) اضافه شد. پس از بستن درب

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

لوله‌ها، در قفسه‌های آلومنیومی به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه و سپس به مدت ۵ تا ۸ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۷۰ درجه در زیر هود قرار داده شدند تا عمل هضم کامل صورت گیرد پس از اینکه محلول شفافی به دست آمد، محلول به دست آمده را از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده و در بالون ژوژه با آب دو بار تقطیر به حجم نهایی ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد . در نهایت همه نمونه‌ها جهت سنجش به دستگاه جذب اتمی با شعله تزریق گردید و تجمع بافتی آن‌ها توسط دستگاه خوانش شد.

جداولی جهت یاداشت تلفات روزانه در طی دوره تیماربندی در نظر گرفته شد. این جداول برای محاسبه درصد بازماندگی (Survival Rate) در ماهی کپور معمولی تیمار بندی شده، استفاده شد (Ng *et al.*, 2013).

فرمول مورد استفاده برای این منظور در زیر آورده شده است:

- درصد بازماندگی:

$$\text{درصد بازماندگی} = \frac{\text{تعداد ماهیان انتهای آزمایش}}{\text{تعداد ماهیان ابتدای آزمایش}} \times ۱۰۰$$

تمامی نتایج حاصل را به نرم افزار Microsoft Office Excel 2013 منتقل کرده و محاسبات مورد نیاز صورت گرفت. سپس اطلاعات حاصل از آن به نرم افزار IBM SPSS Statistical v 21 وارد شد. در این تحقیق، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (one – way ANOVA) برای مقایسه بین واریانس تیمارها استفاده شد و در صورت مشاهده اختلاف میان داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) و T-Test برای مقایسه میانگین‌ها و وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد، بین میانگین تیمارهای مختلف استفاده شد. جهت رسم نمودارها از IBM SPSS Statistical v 21 و Excel 2013 استفاده گردید.

نتایج

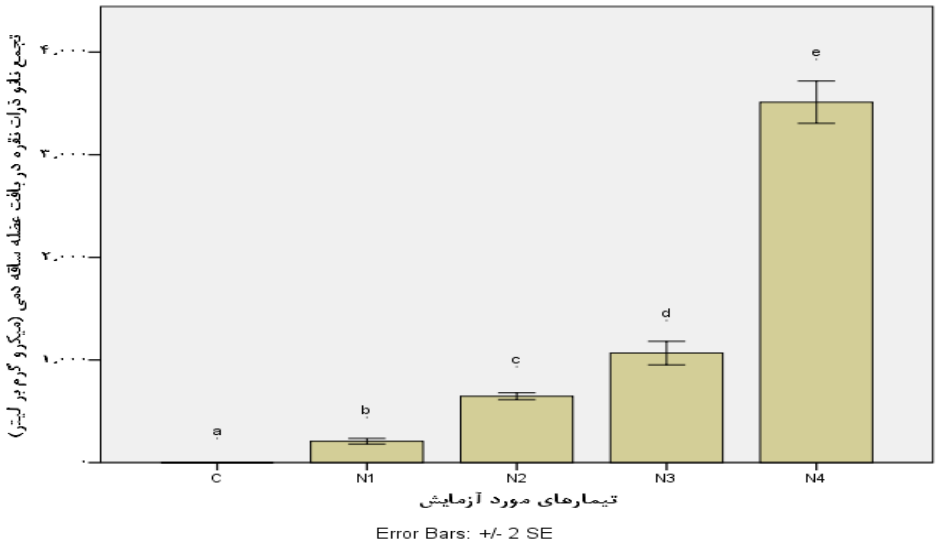
همان گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، نتایج حاصل از تجمع نانو ذرات نقره در بافت عضله ساقه دمی ماهی کپور معمولی در پایان دوره تیمار بندی در تیمار کنترل یا گروه C با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشته ($P<۰/۰۵$) و کمترین تعداد تجمع نانو نقره را نشان می‌دهد. بین دیگر تیمارهای N_1، N_2 و N_3 تجمع نانو ذرات نقره در بافت عضله به ترتیب ۱۳/۶۹ ± ۲۰۷/۶۷، ۱۶/۷۵ ± ۶۴۶/۶۷، ۵۷/۲۰ ± ۱۰۶۷/۳۳ µg/L می‌باشد. با این حال تیمار N_4 با ۱۰۲/۸۶ ± ۳۵۱۲/۰۰ µg/L بیشترین تعداد تجمع نانو نقره را در بافت عضله نشان می دهد ($P>۰/۰۵$).

با بررسی تجمع نانو ذرات نقره در آبشش ماهی، تیمار N_1 با ۳۵/۹۸ ± ۱۱۴۱/۳۳ µg/L پایین ترین میزان سنجش شده و تیمار N_4 با ۲۳۵/۱۸ ± ۳۴۶۸/۶۷ µg/L بافت بیشترین میزان سنجش شده را به خود اختصاص داده‌اند ($P<۰/۰۵$). میزان نانو اندازه‌گیری شده در تیمار N_2 با ۲۱/۶۲ ± ۱۴۰۲/۳۳ µg/L، کمتر از میزان نانو اندازه گیری شده در تیمار N_3 با ۳۱/۵۶ ± ۱۶۲۹/۰۰ µg/L می‌باشد اما این اختلاف معنادار نبوده است (شکل ۲).

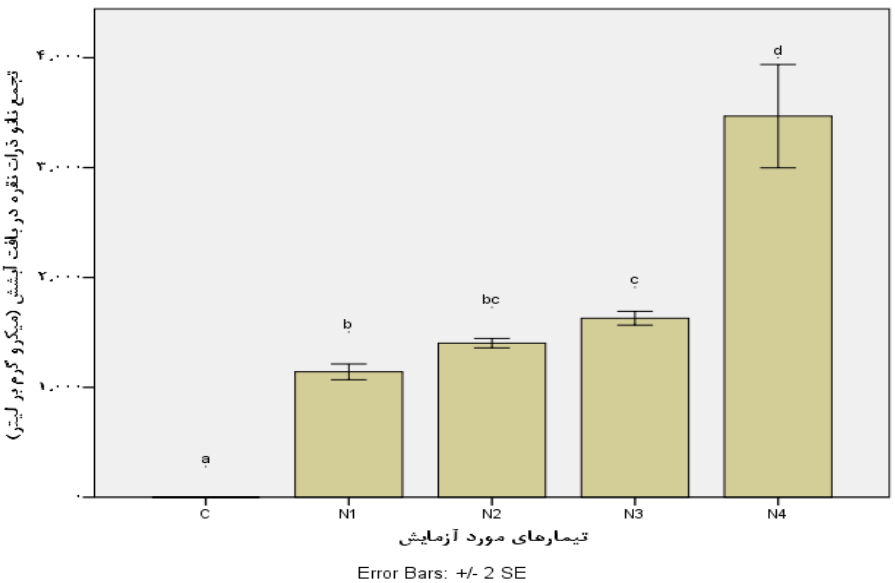
در شکل ۳ نتایج درصد بازماندگی (SR) در پایان دوره ۶۰ روزه‌ی تیماربندی نشان می‌دهد که هیچ اختلاف معناداری بین تیمارهای مورد نظر وجود ندارد

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

(P>۰/۰۵). در عین حال تیمار شاهد با ۰۰/۰ ± ۱۰۰ درصد، بیشترین درصد بازماندگی و تیمار N_4 با ۱/۳۳ ± ۹۴/۶۷ درصد، کمترین درصد بازماندگی را به خود اختصاص داده است.

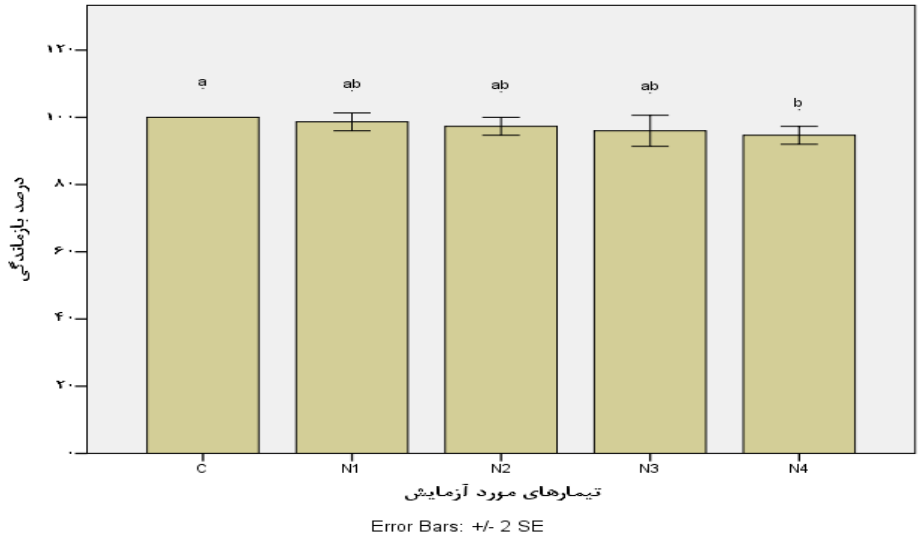


شکل ۱: تجمع نانو ذرات نقره در بافت عضله ساقه دمی (حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است)



شکل ۲: تجمع نانو ذرات نقره در بافت آبشش (حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]



شکل ۳- درصد بازماندگی (حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است)

بحث

تجمع بافتی در عضله ساقه دمی این پژوهش نشان داد که در دوزهای ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ ppm نسبت به بافت آبشش تجمع کم‌تری دارد. بافت عضله ساقه دمی در دوز ۰/۱ ppm اختلاف معناداری با تجمع بافتی آبشش نشان نداده است. در این آزمایش، نتایج درصد بازماندگی در پایان دوره ۶۰ روزه‌ی تیمار بندی افزایش کمی را نشان می‌دهد که هیچ اختلاف معناداری بین درصد بازماندگی در دوزهای مختلف رویارویی ماهیان با نانو ذرات نقره وجود ندارد (P>۰/۰۵).

بافت آبشش از جمله بافت‌های مورد توجه پژوهشگران برای بررسی تأثیرات نانو ذرات نقره بوده است. Griffitt و همکاران (۲۰۰۸) تغییرات مولکولی و بافت‌شناسی در آبشش ماهی گورخری با قرار گرفتن در معرض نانو ذرات فلزی را بیان کردند. آن‌ها طی آزمایش دیگری رابطه مثبت بین افزایش غلظت نانوذرات نقره در ستون آب و غلظت نقره در آبشش و بافت خالص لاشه را نشان دادند (Griffitt *et al.*, 2013). از طرف دیگر، حضور نانوذرات نقره در آب‌های سطحی نرم طبیعی، باعث افزایش تجمع نقره در آبشش ماهی آزاد اقیانوس اطلس می‌شود و در نتیجه پاسخ‌های متعدد فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشان دهنده سمیت نقره‌ای می‌باشد (Farmen *et al.*, 2012).

نتایج Scown و همکاران (۲۰۱۰) این موضوع را تأیید کرد که قرار گرفتن در معرض نانوذرات نقره برای ماهی قزل‌آلای‌رنگین کمان در غلظت‌های نزدیک به برآوردهای فعلی سطح محیط زیست می‌تواند منجر به تجمع نقره در آبشش و کبد ماهی شود و به احتمال زیاد می‌تواند بر متابولیسم اکسیداتیو در آبشش اثر بگذارد. تأثیر نانوذرات نقره در ماهی Medaka (*Oryzias latipes*) هم این موضوع را تأیید می‌کند (WU & ZHOU, 2012).

تحقیقات Sharifian و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی ماهی کلمه انگشت قد (*Rutilus rutilus caspicus*)، پژوهش Louei Monfared و Soltani در سال ۲۰۱۳ بر روی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

(*Oncorhynchus mykiss*) و بررسی گربه ماهی رنگین کمان (*Pangasianodon hypophthalmus*) (درافشان و همکاران، ۱۳۹۳) صدمات حاصل از نانو نقره را بر بافت آبشش را به روشنی نشان دادند. با این تفاسیر تغییرات هیستوپاتولوژیک آبشش می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب برای آلودگی نانونقره از محیط‌های آبی در نظر گرفته شود. نتایج ما نشان داد که تجمع بافتی نانو ذرات نقره در دوزهای ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۱ ppm در بافت آبشش بیشترین تجمع را نسبت به بافت عضله ساقه دمی داشته است.

در آب‌های شیرین یون نقره با اختلال در فعالیت آنزیم Na^+/K^+ATPase (Nichols *et al*., 2006) و (Webb *et al*., 2001) و کاهش آنزیم آنیدراز کربونیک در آبشش به ترتیب منجر به ممانعت در جذب یون‌های کلر و سدیم توسط آبشش‌های ماهی می‌شود (Hogstrand *et al*., 1998 و کلباسی و همکاران، ۱۳۹۱b)

تحقیقاتی که توسط Tokatli و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی گونه‌های مختلف S.cii، *C.tinca* و *B.oligolepis* انجام گرفت تجمع ذرات بر روی بافت‌های مختلف از جمله عضله را تأیید می‌کند.

اما بررسی نتایج تحقیقات صورت گرفته بر روی نانو ذرات نقره در ماهی نوجوان قزل آلای اقیانوس اطلس که توسط Farmen و همکاران (۲۰۱۱) و لارو و نوجوان ماهی (.*Leuciscus idus* (L که Chojnacki و Sliwinski در سال ۲۰۱۳ ، نشان می‌دهد که بطور بالقوه، رویارویی با نانو ذرات نقره، افزایش قابل توجهی از مرگ و میر ماهی را به خود اختصاص می‌دهد. شایان ذکر است، نتایج به دست آمده از این دو تحقیق به تنوع مقاومتی در گونه‌های مختلف اشاره داشته، زیرا به نظر می رسد در هردو تحقیق از ترکیب ثابت نانو ذره نقره استفاده شده است. بنابراین این موضوع، تاکید کننده تنوع اثراتی است که ممکن است فراورده‌های مختلف نانوذرات نقره بوجود آورند.

در مجموع با توجه به نتایج این تحقیق و دیگر مطالعات صورت گرفته در این زمینه، به نظر می‌رسد که حضور نانو ذرات نقره چه به عنوان آلاینده محیطی و چه به هدف استفاده از فنانوری نانو باعث تجمع بافتی به خصوص در بافت‌های داخلی ماهی و تأثیر منفی هر چند اندک بر بازماندگی آبزی دارد. با توجه به این که ماهیان به خصوص ماهی کپور معمولی در زنجیره غذایی انسان جایگاه مشخصی دارد، بنابر این جلوگیری از ورود این مواد جدید به چرخه غذایی یا محیط زیستمندان ساکن بوم سازگان‌های آبی بسیار مهم می‌باشد. از طرف دیگر، استفاده از فناوری نانو ذرات نقره به عنوان روش درمانی جهت مبارزه با بیماری‌های آبزیان توصیه نمی‌شود.

با این حال ، مطالعات گسترده‌تری جهت ارتباط تجمع نانو ذرات در بافت‌های ماهی خوراکی و تأثیر آن بر سلامت انسان، ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از تمامی مسئولین و پرسنل محترم دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، که ما را در انجام این پروژه حمایت کردند، کمال تشکر و قدردانی را می‌نماییم.

منابع

۱. جلالی، ک.، ابطحی، ب.، سمیعی، ک. و سرافرازی اردکانی، م.ر.، ۱۳۹۲. بررسی تاثیر

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

اندازه (طول کل)و جنسیت در تجمع فلز سرب در بافت‌های کبد وعضله ماهی زمین کن دم نواری *Platycephalus indicu* درمنطقه خورموسی (شمال غرب خلیج فارس)، مجله بوم شناسی آبزیان، ۲ (۴)، ۱۷-۱۱.

۲. جواهری بابلی، م.، مکتبی، پ.، جعفری نژاد، ع.، عسکری ساری، ا.، ۱۳۹۱. بررسی میزان عنصر سرب در بافت‌های ماهی کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*)، رسوب و آب برخی استخرهای پرورش ماهیان گرم آبی استان خوزستان، نشریه توسعه آبزی پروری، ۶ (۲) ،۱۱- ۲۲.

۳. درافشان، س.، رزم آرا، پ.، پیکان حیرتی، ف.، طالبی، م. و رنجبر، م.، ۱۳۹۳. اثر نانوذرات نقره کلوئیدی و نیترات نقره محلول در آب بر تغییرات بافتی آبشش گربه ماهی رنگین کمان (*Pangasianodon hypophthalmus*)، مجله بوم شناسی آبزیان، ۳ (۳)، ۱۸-۱۰.

۴. کلباسی، م. ر.، سالاری جو، ح. و جوهری، س. ع. ۱۳۹۱a. تأثیر شوری آب بر سمیت حاد ذرات نقره کوئیدی در بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*oncorhynchus mykiss*). مجله سلامت و محیط، فصل نامه پژوهشی. دوره پنجم، شماره اول، بهار ۱۳۹۱، ۱۳۲-۱۲۱.

۵. کلباسی، م.، عبداله زاده، الف.، سالاری جو، ح. ۱۳۹۱b. تأثیر نانو ذرات نقره کلوئیدی بر جمعیت فلور باکتریایی روده ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی. شماره ۶۷، ۱۸۹-۱۸۱.

۶. یونسی پور، ح.، نصراله زاده ساروی، ح.، ساداتی پور، م. ت.، ۱۳۹۳. بررسی تجمع زیستی فلزات سنگین ضروری (آهن، مس و روی) و نیمه ضروری (نیکل، کبالت و منگنز) در بافت خوراکی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) دریای خزر. نشریه توسعه آبزی پروری، ۸ (۱)،۹۵-۱۰۶.

7. Angelidis, M.O., and Aloupi, M., 1995. Metals in sediments for Rhodes Harbor, Greece, Marine Pollution Bulletin 31, 273–276.
8. Bar-Ilan, O., R.M. Albrecht, V.E. Fako and D.J. Furgeson., 2009. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos. Small, 5, 1897-1910.
9. Barreiro, R., Real, C., Carballeira, A., 1994. Heavy metals in sediment cores from a NW Spain estuary. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 53, 368–373.
10. Carballeira, A., Carral, E., Puente, X., and Villares, R., 2000. Regionalscale monitoring of coastal contamination. Nutrients and heavy metals in estuarine sediments and organisms on the coast of Galicia (Northwest Spain), International Journal of Environment and Pollution, 13, 534–572.
11. Chojnacki M., Śliwiński J., 2013. The effects of exposure of ide's larvae and juvenile *Leuciscus idus (L.)* to silver nanoparticles via the digestive tract. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio EE. Zootechnica, 31, 4, 42-54.
12. Farmen, M., Mikkelsen, H.N., Evensen, O. Einset, J., Heier, L.S., Rosseland, B.O., Salbu, B., Tollefsen, K.E. and Oughton, D.H., 2012. Acute and sub-lethal effects in juvenile Atlantic salmon exposed to low _ g/L concentrations of Ag nanoparticles, Aquatic Toxicology, 108, 78– 84.
13. Griffitt, R.J., J. Luo, J. Gao, J.C. Bonzongo and D.S. Barber., 2008. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]

aquatic organisms. Environmental Toxicology and Chemistry, 27, 1972-1978.
14. 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
15. Hogstrand C, Wood CM., 1998. Toward a better understanding of the bioavailability, physiology, and toxicity of silver in fish: implications for water quality criteria. Environmental Toxicology and Chemistry,17(4),547-61.
16. Hussain, S. M., Hess, K. L., Gearhart, J. M., Geiss, K. T., and Schlager, J. J., 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. Toxicol. In Vitro, 19, 975–983.
17. Louei Monfared, A. and Soltani, S., 2013. Histological, Histometric and biochemical alterations of the gill and kidney of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to silver nanoparticles, European Journal of Experimental Biology, 3 (2), 391-395.
18. Martinez-Gutierrez F., Olive P.L., Banuelos A., Orrantia E., Nino N., Sanchez E.M., Ruiz F., Bach H., Av-Gay Y., 2010. Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. Nanomedicine, 6(8), 681-8.
19. Masciangioli, T., Zhang, W., 2003. Environmental technologies at the nanoscale. Environmental Science and Technology. 37, 102-108.
20. Ng, W. K., Chong, C. Y., Wang, Y., Romano, N., 2013. Effect of dietary fish and vegetable oils on the growth, tissue fatty acid composition, oxidative stability and vitamin E content of red hybrid tilapia and efficacy of using fish oil finishing diets. Aquaculture 372 – 375.
21. Nichols JW, Brown S, Wood CM, Walsh PJ, Playle RC., 2006. Influence of salinity and organic matter on silver accumulation in Gulf toadfish (*Opsanus beta*). Aquatic Toxicology, 78(3), 253-61.
22. Oberdorster, G., Oberdorster, E., Oberdorster, J., 2005. Nanotxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environmental Health Perspect, 113(7), 823-39.
23. Salari Joo, H., Kalbassi, M.R., Yu, I.J., Lee, J.H., Johari, S.A., 2013. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Influence of concentration and salinity. Aquatic Toxicology, 140, 398-406.
24. 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., Aerle, R. V. and Tyler, Ch. R., 2010. Effects of Aqueous Exposure to Silver Nanoparticles of Different Sizes in Rainbow Trout. Toxicological Sciences, 115(2), 521-534.
25. Sharifian, M., Khani, F., Khosravi, Kh., Khalili, M. and Hedayati, A., 2013. Sublethal effect of nanosilver on the structure of gill of Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) fingerlings, International Journal of Aquatic Biology, 1(2), 55-60.
26. Tokatli1, C., Arslan, N., Çiçek, A., Köse, E., Emiroğlu, O., Dayioğlu, H., 2013. Effect of Silver on Aquatic Ecosystems of Emet Stream Basin, Turkey. Pakistan Journal of Zoology, 45(2), 521-529.
27. Webb N.A., Shaw J.R., Morgan J., Hogstrand C., Wood C.M., 2001. Acute and chronic physiological effects of silver exposure in three marine teleosts. Aquatic Toxicology, 54(3-4), 161-78.
28. Wu, Y., and Zhou, Q., 2013. Silver nanoparticles cause oxidative damage and histological changes in medaka (*Oryzia slatipes*) after 14 dyes of exposure. Environmental Toxicology and Chemistry, 32, 165–173.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1397.12.4.4.4]