"مقاله پژوهشی"

بررسی اثر ضدمیکروبی کلوئید نانوذرات نقره علیه باکتری‌های *Bacillus spp.* و *Vibrio harveyi* و سینتیک رشد آنها

محمود نفیسی‌بهابادی[۱]، فاطمه حسین‌پوردلاور[۲*]، مریم میربخش[۳]، خدابخش نیکنام[۴]، سیدعلی جوهری[۵]

۱-گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران
۲- گروه شیلات، دانشکدهٔ شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران
۳ -گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، پژوهشکده میگو کشور، بوشهر، ایران
۴ -گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران
۵-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۳۰ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۱۱/۲۱

چکیده

شیوع عفونت‌های میکروبی در آبزیان از چالش‌های مهم بهداشتی محسوب می‌شود و آبزی‌پروران در این زمینه با مشکلات عدیده‌ای بویژه مقاومت باکتری‌ها نسبت به پادزیست‌ها مواجه‌هستند. هدف این پژوهش، ارزیابی مقایسه‌ای فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره علیه دو نمونه باکتری گرم مثبت (*Bacillus spp.*) و گرم منفی (*Vibrio harveyi*) بود. در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی برای بررسی فعالیت ضدباکتریایی کلوئید نانوذرات نقره از روش انتشار چاهک با استفاده از اندازه‌گیری قطر هاله مهاری، تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی توسط روش رقیق‌سازی در لوله و سنجش سینتیک رشد بر روی این دو گونه باکتریایی استفاده شد. بر اساس تست انتشار چاهک در آگار، بیشترین میزان هاله عدم رشد مربوط به باکتری باسیلوس با قطر ۰/۱۵ ۶/۴۴± میلی‌متر مشاهده شد. حداقل غلظت مهار کنندگی در دو باکتری *Bacillus spp.* و *V. harveyi* به ترتیب ۱/۹۵ و ۳/۹۱ و حداقل غلظت کشندگی نیز ۳/۹۱ میلی گرم در میلی‌لیتر بود. بررسی سینتیک رشد نیز تائیدی بر نتایج به دست آمده بود، به‌طوری که رشد باکتری‌های *Bacillus spp.* ۵ ساعت و *V. harveyi* ۶ ساعت بعد از مواجهه با نانوذرات نقره متوقف شد. این مطالعه نشان داد که کلوئید نانوذرات نقره اثرات ضدباکتریایی بیشتری بر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی دارد.و البته می‌تواند به‌عنوان گزینه مناسبی برای حذف هر دو نوع باکتری گرم مثبت و منفی، بویژه حذف باکتری‌های عفونت‌زای آبزیان استفاده‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آبزی‌پروری، حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی، ضدباکتریایی، هاله عدم رشد.

* عهده‌دار مکاتبات: fhosseinpour18@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

مقدمه

آبزی‌پروری به عنوان یکی از اصلی‌ترین منابع تولیدات مواد غذایی پروتئینی در جهان به شمار می‌رود. اخیرا به علت فعالیت‌های پرورش متراکم، شیوع بیماری‌های عفونی، بویژه انواع بیماری‌های باکتریایی، یکی از مشکلات اساسی در صنعت آبزی‌پروری به شمار می‌آید که باعث بروز خسارات فراوان به تولید کننده‌ها شده است (حسینی و حاجی‌رضایی، ۱۳۹۳؛ قائدنیا و همکاران، ۱۳۹۹). در طی ۲۰ سال گذشته راه‌های مختلفی از قبیل استفاده از کنترل کننده‌های شیمیایی و پادزیست‌ها توسط پرورش دهندگان در کاهش و پیشگیری از این بیماری‌ها ارائه شده‌است (Mesalhy Aly *et al*., 2008). با توجه به توسعه گونه‌های جدید باکتری‌های مقاوم به پادزیست‌ها، مسئله باقیمانده دارو در بافت‌های آبزیان و مشکلات زیست محیطی، هم‌چنین محدودیت استفاده از پادزیست‌ها، توسعه قابلیت‌های جدید برای محافظت در برابر باکتری‌ها نیازی ضروری است. استفاده از ترکیبات ضدمیکرو ارگانیسم پایدار که باعث ایجاد مقاومت در میکرو ارگانیسم‌ها نشوند اجتناب ناپذیر است (Sharma *et al*., 2009).

باکتری گرم منفی *ویبریو هاروی* عامل بیماری ویبریوزیس درخشان یکی از جدی‌ترین و مهم‌ترین عفونت‌های باکتریایی در مزارع تکثیر و پرورش میگو بوده که سبب بی‌اشتهایی، تغییرات رفتاری، عفونت‌های دهانی و روده‌ای و نیز سپتی سمی و تلفات بالا در مراحل پست لاروی و جوانی میگوها می‌گردد (Nash *et al*., 1990; De la Peña *et al*., 1995). این باکتری که جزو میکرو فلور آب دریا می‌باشد (Karunasagar *et al*., 1994)، یک باکتری میله‌ای، غیر اسپورزا و گرم منفی، اکسیداز مثبت، نمک دوست، متحرک و بی‌هوازی اختیاری می‌باشد (Lightner, 1992; Austin, 2010). معمولاً در محیط‌های آبی بویژه در میان سخت پوستان بالاترین میزان شیوع را دارا است (Gabriel and Felip, 2000).

باسیلوس‌ها نیز جزئی از فلور دستگاه گوارش آبزیان بویژه میگوها محسوب می‌شوند و هم‌چنین در صنعت پرورش میگو به عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند (Purivirojkul & Areechon, 2007). از طرفی این گروه پس از مرگ آبزیان جزء اولین گروه باکتری‌هایی هستند که به بافت‌های مختلف لاشه هجوم می‌برند و موجب گندیدگی آن می‌شوند. از شایع‌ترین عوامل مسمومیت غذایی در انسان به شمار می‌روند (Jay *et al*., 2008). باسیلوس‌ها، باکتری‌های گرم مثبت، میله‌ای، اسپورزا و دارای پراکنش بالا می‌باشند. باسیلوس‌ها به علت اسپورزا بودن تا حدودی دارای مقاومت در برابر تیمارهای ضدمیکروبی می‌باشند. در صورت تکثیر در محصولات غذایی، توکسین‌های خطرناکی را تولید می‌کنند (Tumah, 2009). مسمومیت ناشی از این باکتری‌ها، درمان دارویی خاصی نداشته و بیشترین اقدامات به منظور پیشگیری از بروز این نوع مسمومیت صورت می‌گیرد. بنابراین استفاده از ترکیبات جدید به عنوان مواد ممانعت کننده از رشد این باکتری در مواد غذایی می‌تواند به میزان زیادی از بروز این نوع از مسمومیت‌ها پیشگیری کند.

پیشرفت‌های اخیر در زمینه فناوری نانو به ویژه ساخت نانوذرات در شکل‌ها و اندازه‌های مختلف منجر به ایجاد گروه وسیعی از عوامل ضدمیکروبی شده‌است (Morones *et al*., 2005). نانوذرات نقره نیز یکی از پرکاربردترین محصولات نانو فناوری است که در

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

مقالات گوناگون، از آن به عنوان قوی‌ترین عامل ضد-میکروبی یاد شده‌است (Liu *et al*., 2010). نقره فلزی است غیرسمی و خواص ضدمیکروبی آن سال‌های طولانی است که شناخته شده‌است (Liesje *et al*., 2011). اما اخیرا به علت تولید این ماده به صورت نانو-ذرات با قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر، سطح تماس و خاصیت ضدمیکروبی آن تا بیش از ۹۹ درصد افزایش یافته‌است (Morones *et al*., 2005; Kim *et al*., 2007). از نظر مکانیسم عمل، احتمال می‌رود که این ذرات کوچک با اتصال به گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌ها (SH-) در سطح غشاء باکتری به داخل آن نفوذ کرده و با تغییر در مرفولوژی و نفوذپذیری غشاء و تاثیر در زنجیره تنفسی و تقسیم سلولی در نهایت منجر به مرگ باکتری می‌گردند (Vigneshwaran *et al*., 2007; Woo *et al*., 2008). ویژگی‌های ضدمیکروبی نانوذرات نقره بر علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها در مطالعات متعددی بررسی و اثبات شده است. به عنوان نمونه، Morones و همکاران در سال ۲۰۰۵، فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره را علیه چهار باکتری گرم منفی *اشریشیا کلای*، *ویبریو کلرا*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی* اثبات کردند. Vaseeharan و همکاران نیز در سال‌های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۲، به ترتیب فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره را در مقابل باکتری *ویبریو آلجینولیتیکوس* و باکتری *ویبریو هاروی* اثبات نمودند. در پژوهشی دیگر در سال ۲۰۱۳ فعالیت ضد-باکتریایی نانوذرات اکسید روی علیه باکتری *ویبریو هاروی* مورد مطالعه قرارگرفت (Ramamoorthy *et al*., 2013). هم‌چنین در مطالعه انجام شده توسط Yoon و همکاران در سال ۲۰۰۷ حساسیت باکتری‌های *اشریشیا کلای* و *باسیلوس سوبتلیس* در مقابل دو نوع نانوذره شامل نقره و مس نشان داده‌شد. اگرچه تاکنون مطالعات گسترده‌ای در مورد ویژگی‌های ضدباکتریایی نانوذرات نقره انجام شده است، اما پژوهش‌های اندکی برروی باکتری‌های بیماری‌زای آبزیان دریایی صورت گرفته‌است. بنابراین پژوهش حاضر با هدف تعیین اثر ضدباکتریایی کلوئید نانوذرات نقره بر باکتری گرم منفی *ویبریو هاروی* (*Vibrio harveyi* ISO1 PTTC 1755) و باکتری گرم مثبت باسیلوس (*Bacillus spp.*) به روش انتشار چاهک (برای تعیین هاله عدم رشد) و رقت لوله‌ای (برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)) و سنجش سینتیک رشد انجام شد. نتایج این پژوهش می‌تواند نویدبخش امیدهای تازه‌ای در ارتباط با روش‌های درمان نوین بیماری‌های آبزیان پرورشی باشد.

مواد و روش‌ها

سویه میکروبی: در این مطالعه تجربی، از ۲ سویه استاندارد میکروبی *Bacillus spp.* و *Vibrio harveyi* ISO1 PTTC 1755 تهیه شده از بخش میکروب‌شناسی پژوهشکده میگوی کشور، استفاده شد. محیط کشت‌های مورد استفاده در این پژوهش شامل مولر هینتون آگار (MHA)، مولر هینتون براث (MHB)، تریپتیک سوی براث (TSB) و تریپتیک سوی آگار (TSA) ساخت شرکت مرک آلمان بود.

تهیه نانوذرات نقره: در این پژوهش از کلوئید نانوذرات نقره ساخت شرکت نانونصب‌پارس با نام تجاری نانوسید L2000 استفاده‌گردید. بر اساس نتایج مطالعه Nafisi Bahabadi و همکاران (۲۰۱۷) این کلوئید حاوی نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

در لیتر و میانگین قطر ۲۲/۲۲ نانومتر بود. علاوه براین اطلاعات، برخی دیگر از ویژگی‌های نانوذرات مورد استفاده با استفاده از تکنیک‌های مختلف مورد بررسی قرارگرفت. برای اطمینان از وجود نانوذرات نقره در کلوئید از طیف سنج فرابنفش-مرئی (UV-Vis) مدل UV-1601 pc ساخت شرکت Shimadzu کشور ژاپن استفاده شد. جهت تائید کریستالی بودن نانوذرات نقره از روش طیف سنجی پراش اشعه X (XRD) مدل Bruker D8 Advance مجهز به منبع فتون CuKα و با طول موج ۱/۵۴۰۵۶ آنگستروم ساخت کشور آلمان استفاده‌شد. جهت تعیین اندازه، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی (PDI) نانوذرات نقره از دستگاه ZetaSizer Nano ZS (Red badge) مدل ZEN3600 ساخت شرکت Malvern انگلستان استفاده‌شد. هم‌چنین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) مدل EM-3200 ساخت کشور چین شکل نانوذرات نقره بررسی گردید.

آزمون‌های سنجش فعالیت ضدمیکروبی

الف) تعیین MIC و MBC

به منظور سنجش حداقل غلظت بازدارندگی نانوذرات نقره (MIC)، از روش رقت‌سازی سریالی در لوله‌های استریل حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث (MHB) نمکی استفاده شد. بدین منظور رقت‌های سریالی ۱/۱۰۲۴ – ۱/۲ از کلوئید نانوذرات نقره در لوله‌های محتوی محیط کشت MHB تهیه شد. متعاقب آن ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تازه باکتری با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند (تعداد باکتری $10^8 \times$ ۱/۵) به هر لوله اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار قرارگرفتند. پس از زمان انکوباسیون، کمترین غلظتی از نانوذرات نقره که باعث مهار رشد باکتری گردید و با مشاهده عدم کدورت در لوله‌ها مشخص بود، به عنوان MIC در نظرگرفته‌شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) از تمامی لوله‌های بدون کدورت بر روی محیط تریپتیک سوی آگار (TSA) نمکی کشت انجام شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. پلیت مربوط به لوله‌ای که حاوی کمترین غلظت از نانوذرات نقره بود و رشد باکتری در آن مشاهده نشد، به عنوان MBC در نظر گرفته شد. برای اطمینان از نتایج آزمایش‌ها تمامی این آزمون‌ها سه بار تکرار شد و نتایج با هم مقایسه‌گردید (Finegold, 1982).

ب) روش انتشار چاهکی در آگار (Well Diffusion Agar)

در این روش ابتدا از سوسپانسیون باکتریایی با کدورت ۰/۵ مک فارلند با سوآپ استریل روی محیط کشت مولر هینتون آگار نمکی کشت انجام شد. سپس به کمک پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر روی محیط ایجاد کرده و از کلوئید نانوذرات نقره به میزان ۵۰ میکرولیتر به درون چاهک‌های تعبیه شده اضافه گردید. سپس پلیت‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا نانوذرات موجود در چاهک‌ها جذب آگار شود. در نهایت پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط کلوئید نانوذرات نقره علیه هر یک از باکتری‌های مذکور توسط کولیس دیجیتال و از طریق کم کردن قطر چاهک از قطر هاله عدم رشد محاسبه‌گردید. تمامی مراحل فوق به منظور کاهش

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

خطا با سه تکرار انجام شد (Ramamoorthy *et al*., 2013).

ج) سنجش سینتیک رشد

به منظور تعیین منحنی رشد باکتری‌های مذکور در حضور نانوذرات نقره از روش سنجش OD در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده گردید. برای این منظور ۵ درصد از استوک شبانه هر باکتری به صورت جداگانه (۵۰ میلی‌لیتر با ODA600=۰/۲) به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت TSB حاوی نانوذرات نقره با غلظت معادل MIC (تقریبا معادل ۴ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب برای *ویبریو هاروی* و باسیلوس) اضافه گشت و سپس در انکوباتور شیکردار ۳۰ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه گرمخانه گذاری شد. میزان دانسیته نوری هر کدام از باکتری‌ها در غلظت‌های ذکر شده به مدت ۷ ساعت در فاصله زمانی ۳۰ دقیقه و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در ۶۰۰ نانومتر خوانده‌شد و سپس منحنی رشد باکتری‌ها ترسیم گردید (Chatterjee *et al*., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری

یافته‌های این مطالعه با استفاده از نرم افزارهای SAS Portable 9.1.3 و X'Pert High Score Version 1.0d 2003 و Excel 2010 مورد بررسی و مقایسه قرارگرفتند. برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و آزمون دانکن استفاده‌شد.

نتایج

مشخصات کلوئید نانوذرات نقره

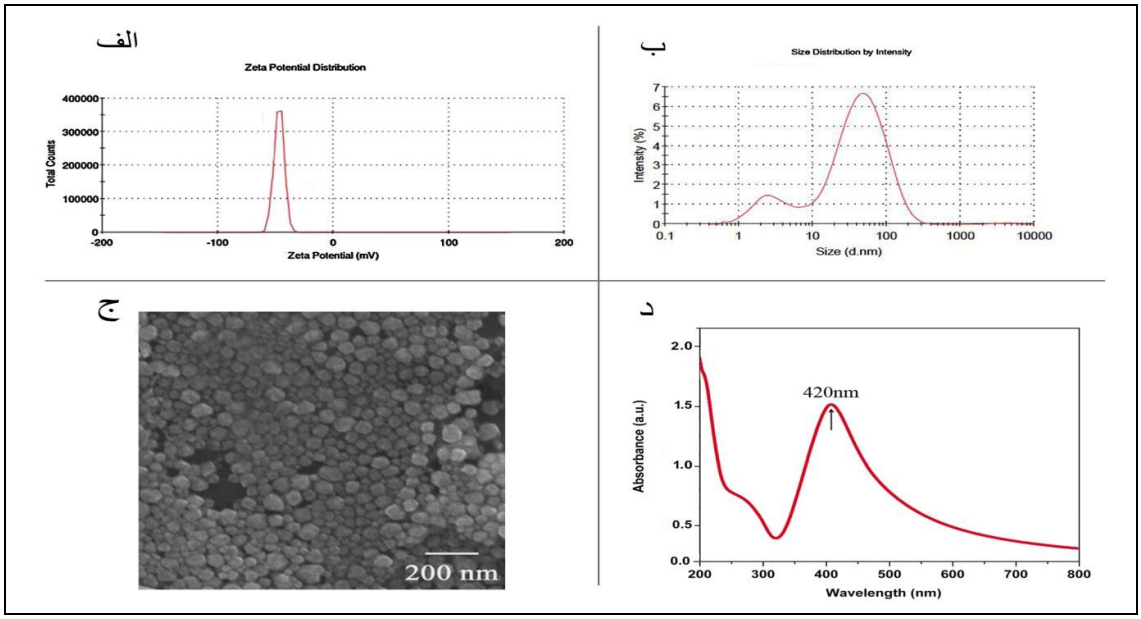
طیف جذبی UV-Vis کلوئید نانوذرات نقره در شکل ۱ (د) قابل مشاهده‌است. در این طیف بیشینه پیک جذبی در طول موج ۴۲۰ نانومتر مشاهده گردید که مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات نقره می‌باشد و اثبات کننده حضور نانوذرات در کلوئید می‌باشند. بر اساس منابع معتبر بیشینه پیک جذبی نانوذرات نقره بین طول موج‌های ۴۰۰ تا ۴۵۰ نانومتر قراردارد.

براساس نتایج به دست آمده از تحلیل داده‌های طیف سنجی پراش اشعه ایکس (شکل ۲)، فلز نقره در این کلوئید دارای ساختار fcc می‌باشد که با نمونه استاندارد نانو کریستال‌های نقره کاملا هم‌خوانی دارد.

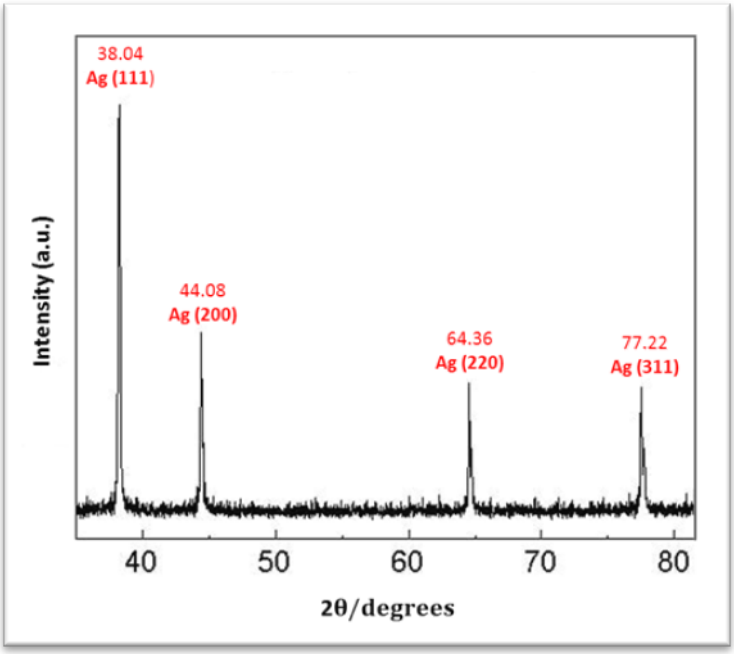
بر اساس داده‌های دستگاه زتاسایزر، میانگین قطر هیدرودینامیک نانوذرات نقره در این کلوئید ۲۲/۲۲ نانومتر ثبت گردید. همان‌طور که در شکل ۱ (ب) مشخص است منحنی توزیع ذرات به شکل زنگوله‌ای است که نشان‌دهنده پراکندگی یکنواخت نانوذرات نقره در کلوئید می‌باشد. هم‌چنین شاخص پراکندگی نانوذرات (PDI)، ۰/۲۴ ثبت گردید که نشان دهنده یکنواختی بالای توزیع اندازه ذرات در این کلوئید می‌باشد (برای یک نمونه کلوئید یکنواخت نانوذرات نقره، PDI بین ۰/۰۱ تا ۰/۷ است. هم‌چنین پتانسیل زتای ثبت شده به میزان ۵۲/۸۳- میلی‌ولت (شکل ۱، الف)، نشان‌گر پایداری مناسب این کلوئید است (پتانسیل زتای بالاتر از ۳۰+ میلی‌ولت و کمتر از ۳۰- میلی‌ولت، نشان‌دهنده پایداری بالای نانوذرات است. براساس تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (شکل ۱،

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

ج) نانوذرات نقره مورد استفاده در این پژوهش دارای شکل نسبتا کروی و منظم هستند.



شکل ۱: نمودار پتانسیل زتای کلوئید نانوذرات نقره (الف)، میانگین اندازه نانوذرات نقره (ب)، تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره نانوذرات نقره (ج) و طیف جذبی UV-Vis کلوئید نانوذرات نقره (د).



شکل ۲: الگوی طیف سنجی پراش اشعه X کلوئید نانوذرات نقره.

نتایج مطالعات میکروبیولوژی

در این پژوهش تاثیر ضدباکتری کلوئید نانوذرات نقره بر باکتری‌های باسیلوس و *ویبریو هاروی* مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده از آزمایشات بررسی فعالیت ضدمیکروبی کلوئید نانوذرات نقره به روش رقت‌سازی سریالی، مقدار MIC برای باکتری‌های *ویبریو هاروی* و باسیلوس به ترتیب ۳/۹۱ و ۱/۹۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد. هم-

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

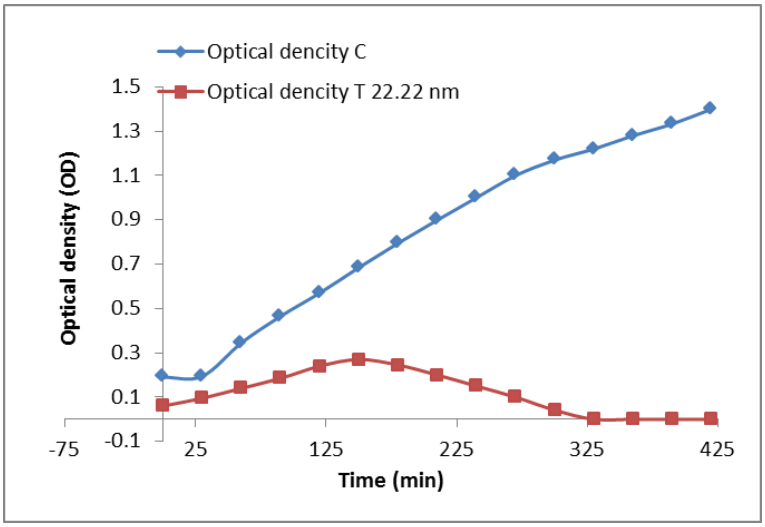
چنین مقدار MBC کلوئید نانوذرات نقره در رابطه با باکتری‌های *ویبریو هاروی* و باسیلوس برابر با ۳/۹۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (جدول ۱). نسبت حداقل غلظت مهارکنندگی رشد به حداقل غلظت کشندگی از رشد باکتری (MIC/MBC) برای هر دو سویه از باکتری بررسی شد که نتایج (جدول ۱) نشان داد که کلوئید نانوذرات نقره برای باکتری *ویبریو هاروی* داری خاصیت باکتری‌کُشی است ولی فاقد اثر مهار کنندگی هستند. هم‌چنین این ویژگی در مقابل باکتری باسیلوس به صورت باکتریواستاتیکی (مهار کننده رشد) است.

نتایج ارزیابی روش انتشار در چاهک در محیط آگار نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد کلوئید نانوذرات نقره در مورد باکتری‌های *ویبریو هاروی* و باسیلوس به ترتیب ۰/۲ ±۴۲/۱ و ۰/۱۵ ±۴۴/۶ میلی‌متر (میانگین ± SD) می‌باشد. مقایسه بین این دو باکتری گرم منفی و گرم مثبت از نظر قطر هاله عدم رشد نشان داد که بین آن‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ($p<0/001$). با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد که باکتری گرم مثبت باسیلوس در مقایسه با باکتری گرم منفی *ویبریو هاروی* در مقابل نانوذرات نقره حساسیت بیشتری را نشان می‌دهد.

نتایج جذب نوری (سینتیک رشد) در ۶۰۰ نانومتر نیز نشان می‌دهد که رشد باکتری‌های باسیلوس و *ویبریو هاروی* به ترتیب ۵ و ۶ ساعت بعد از شروع کشت متوقف شده است (شکل ۳ و ۴). لذا با توجه به این نتایج می‌توان چنین عنوان کرد کلوئید نانوذرات نقره اثرات ضدباکتریایی بیشتری بر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی دارد.

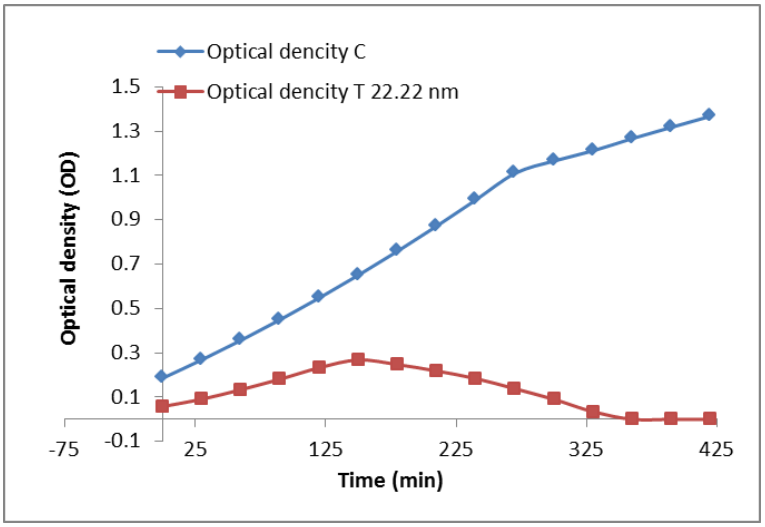
جدول۱ : نتایج MIC و MBC روی سویه‌های مورد مطالعه.

نوع میکروب	غلظت MIC (ppm)	غلظت MBC (ppm)	نسبت MIC/MBC
ویبریو هاروی	۳/۹۱	۳/۹۱	۱
باسیلوس	۱/۹۵	۳/۹۱	۰/۵



شکل ۳: منحنی رشد باکتری *Bacillus spp.* در حضور و عدم حضور نانوذرات نقره.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]



شکل ۴: منحنی رشد باکتری *Vibrio harveyi* ISO1 PTTC 1755 در حضور و عدم حضور نانوذرات نقره.

بحث

در سال‌های اخیر استفاده از نانوذرات نقره در درمان بیماری‌های آبزیان به منظور جبران مقاومت باکتری‌ها به پادزیست‌های رایج رونق یافته‌است. تاکنون گزارش‌های معدودی درباره اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره در برابر انواع میکروب‌ها در آبزیان دریایی منتشر شده‌است. در مطالعه‌ای Vaseeharan و همکاران (۲۰۰۹)، پتانسیل ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره برگ چای را در برابر باکتری *ویبریو هاروی* مورد بررسی قراردادند. آنها دریافتند که این ترکیب اثرگذاری مطلوب و مناسبی را بر روی باکتری مورد آزمایش‌دارد. طبق یافته‌های به دست آمده در پژوهش حاضر، مقایسه نتایج در دو باکتری باسیلوس و *ویبریو هاروی* نشان می‌دهد که اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره به نوع باکتری بستگی دارد. نتایج تعیین مقدار MIC و MBC نشان داد که باکتری باسیلوس نسبت به *ویبریو هاروی* از حساسیت بیشتری برخوردار می‌باشد. به عبارت دیگر، باکتری *ویبریو هاروی* نسبت به نانوذرات نقره مقاوم‌تر بود. هم‌چنین نتایج آزمون چاهک‌گذاری نشان داد که قطر هاله عدم رشد در باکتری گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود به طوری که نتایج تجزیه و تحلیل آماری ارتباط معنی‌داری بین میزان قطر هاله عدم رشد بین دو باکتری نشان داده است. هم‌چنین در پژوهش حاضر بررسی سینتیک رشد تایید کننده نتایج فوق بود. یکی از دلایل حساسیت پایین‌تر باکتری *ویبریو هاروی* می‌تواند به این دلیل باشد که غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی مانند *ویبریو هاروی* به طور غالب از لیپو پلی ساکارید (LPS) مستحکم تشکیل شده است که سد مقاومی در برابر ورود نانوذرات محسوب می‌شود. هم‌چنین این نتایج نشان‌دهنده آن است که نانوذرت نقره دارای اثر باکتریواستاتیکی بر باکتری باسیلوس و اثر باکتری‌کُشی قوی بر باکتری *ویبریو هاروی* است، چرا که این نانوذرات در غلظت کم سبب مرگ *ویبریو هاروی* شدند. نتایج این پژوهش با نتایج Yoon و همکاران (۲۰۰۷) که اثر نانوذرات مس و نقره را بر باکتری‌های *اشریشیا کلای* و *باسیلوس سوبتلیس* سنجیدند مشابهت دارد، به‌طوری که در آن مطالعه باکتری‌های گرم مثبت در برابر نانوذرات حساس‌تر

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

بودند. Nanda و همکاران نیز در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که نانوذرات نقره در مقابل باکتری‌های گرم مثبت عملکرد بهتری دارند. با این حال در برخی مطالعات نتایجی عکس نتایج فوق گزارش شده است، به عنوان مثال MubarakAli و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره را بر باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی *اشریشیا کلای* بررسی کرده و گزارش کردند که نانوذرات نقره علیه باکتری‌های گرم منفی موثرتر از باکتری‌های گرم مثبت عمل می‌کنند و علت این امر را ضخامت بیشتر دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت ذکر کردند. به هر حال احتمالا کارایی باکتری‌کُشی نانوذرات نقره تنها منحصر به نوع دیواره سلولی در باکتری‌های گرم مثبت یا گرم منفی نیست و مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز می‌باشد.

باید به این نکته نیز توجه نمود که در آزمایشاتی که در محیط‌های مایع نمکی بر روی باکتری‌ها صورت می‌گیرد احتمال توده‌ای شدن نانوذرات نقره بر اثر واکنش با ترکیبات نمکی وجود دارد که این امر باعث بزرگ شدن اندازه ذرات و در نتیجه کاهش سطح تماس بین نانوذرات و باکتری‌ها می‌شود. بنابراین در چنین مطالعاتی به منظور جلوگیری از رسوب نانوذرات، باید محلول‌ها به خوبی هم زده شوند که این امر می‌تواند اثرات منفی تجمع نانوذرات را کم رنگ یا خنثی کند (Ruparelia *et al*., 2008).

براساس یافته‌های این پژوهش مطالعه می‌توان این‌طور جمع‌بندی نمود که نانوذرات نقره از پتانسیل بالایی برای کاهش میکرو ارگانیسم‌های بیماری‌زا در سیستم‌های تکثیر و پرورش آبزیان و عوامل فساد میکروبی در آبزیان برخوردانند. با این حال استفاده مستقیم از کلوئید نانوذرات نقره در آبزی‌پروری نیازمند مطالعات بیش‌تر و وسیع‌تری است. در عوض پیشنهاد می‌شود که از این مواد به صورت غیرمستقیم و در قالب فیلترهای تصفیه آب و یا پوشش‌های ضدمیکروبی بر روی ادوات آبزی‌پروری استفاده گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از ریاست محترم پژوهشکده میگوی کشور به خاطر همکاری در تأمین هزینه این پژوهش و همچنین از زحمات خانم مهندس عصمت محمدی باغملائی سپاس‌گزاری می‌گردد.

منابع

۱. حسینی، س.ح.، حاجی رضایی، س.، ۱۳۹۳. تاثیر پرورش توام میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) و ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بر تنوع و شیوع گونه‌های باکتری جنس ویبریو در مزارع پرورش میگو. نشریه توسعه آبزی پروری، ۹ (۱)، ۳۱-۲۵.

۲. قائدنیا، ب.، میربخش، م.، ذریه زهرا، ج. ۲۰۲۰. تاثیر جیره حاوی پروبیوتیک (*Bacillus subtilis*) بر شاخص‌های سلامتی، عملکرد سیستم ایمنی و پیشگیری از بیماری لکه سفید در میگوی سفید غربی. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۴ (۳)، ۹۹-۸۸.

3. Austin, B., 2010. Review Vibrios as causal agents of zoonoses. Veterinary Microbiology, 140, 310-317.
4. De la Peña, L. D., Kakai, T., Muroga, K., 1995. Dynamics of Vibrio sp PJ in organs of orally infected kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. Journal of Fish Pathology, 30, 39-45.
5. Finegold, S.M., Martin, W.J., 1982. Diagnostic microbiology. 6nd edition,

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

Missouri: The C. V. Mosby Company Inc., 532-659.
6. Gabriel, A.G., Felipe, A.V., 2000. Infectious disease in shrimp species with aquaculture Potential. Recent research developments in microbiology, 4: 333-348.
7. Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A., 2005. *Bacillus cereus* Gastroenteritis. In: Modern Food Microbiology, 7th ed, New York, Springer Science, 583-590.
8. Karunasagar, I., Pai, R., Malathi, G. R., Karunasagar, I. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic resistant *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture, 128, 203-209.
9. Kim, J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J.H., Park, S.J., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y.K., Park, Y.H., Hwang, C.Y., Kim, Y.K., Lee, Y.S., Jeong, D.H., Cho, M.H., 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine, 3(1), 95-101.
10. Liesje, S., Bart, D., Paul, V., Benny, F., Pyck, G. 2011. The Antibacterial activity of biogenic silver and its mode of action. Applied Microbiology and Biotechnology, 31,(2), 113-189.
11. Lightner, D.V., Bell, T.A., Redman, R.M., Mohney, L.L., Natividad, J.N., Rukyani, A., Poernomo, A., 1992. A review of some major diseases of economic significance in penaeid prawn/ shrimps of the Americas and Indopacific. in: Diseases in Asian Aquaculture I. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 57–80.
12. Liu, J., Sonshine, D.A., Shervani, S., Hurt, R.H., 2010. Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces. Journal of ACS Nano, 4(11), 6903-6913.
13. Mesalhy Aly, S., Abd-El-Rahman A.M., John, G., Mohamed, M.F., 2008. Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. Aquaculture, 277, 1-6.
14. Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., Yacaman, M.J. 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology, 16, 2346.
15. MubarakAli, D., Thajuddin, N., Jeganathan, K., Gunasekaran, M. 2011. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 85, 360-365.
16. Nafisi Bahabadi, M., Hosseinpour Delavar, F., Mirbakhsh, M., Niknam, K. and Johari, S.A., 2017. Assessment of antibacterial activity of two different sizes of colloidal silver nanoparticle (cAgNPs) against *Vibrio harveyi* isolated from shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture International, 2(1), 463-472.
17. Nanda, A., Saravanan, M. 2009. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. Nanomedicine, 5, 452-456.
18. Nash, G.L., 1990. *Penaeus monodon* grow-out diseases. in: New, M.B., de Saram, H., Singh, T. (Eds)., Technical and Economic Aspects of Shrimp Farming. Proceedings of the Aquatech ’90 Conference, Kuala Lumpur, Malaysia.
19. Purivirojkul, W., Areechon, N., 2007. Application of *Bacillus spp*. isolated from the intestine of black tiger shrimp (*Penaeus monodon Fabricius*) from natural habitat for control pathogenic bacteria in aquaculture. Kasetsart Journal (Natural Science), 41, 125-132.
20. Ramamoorthy, S., Kannaiyan, P., Moturi, M., Devadas, T., Muthuramalingam, J., Natarajan, L., Arunachalam, N., Ponniah, A.G., 2013. Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles against *Vibrio harveyi.* Indian Journal of Fisheries, 60(4), 107-112.
21. Ruparelia, J.P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P., Mukherji, S., 2008. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomaterialia, 4(3), 707-716.
22. Sharma, Y.K., Yngard, R.A., Lin, Y., 2009. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. Advances in Colloid and Interface Science, 145, 83-96.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]

23. Tumah, H.N., 2009. Bacterial biocide resistance. Journal of Chemotherapy, 1, 5-15.
24. Vaseeharan, B., Ramasamy, P., Chen, J.C., 2010. Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by tea leaf extracts against pathogenic *Vibrio harveyi* and its protective efficacy on juvenile *Feneropenaeus indicus*. Letters in Applied Microbiology, 50, 352-356.
25. Vigneshwaran, N., Kathe, A.A., Varadarajan, P.V., Nachane, R.P., Balasubramanya, R.H., 2007. Functional finishing of cotton fbrics using silver anoparticles. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 7, 1893-1897.
26. Woo, K., Hye, Ch., 2008. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in Staphylococcus Aurous and Escherichia Coli. Journal of the American Dental Association. 74 (7), 217–247.
27. Yoon, K., Byeon, J.H., Park. J-H, Hwang, J., 2007. Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. Science of the Total Environment, 373, 572-5.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1401.16.2.5.9]
[DOI: 10.52547/aqudev.16.2.133]