



Original Research Paper

Comparison of the effect of oral prescription of chemical and biosynthetic silver nanoparticles on growth and biochemical indices of *Lates calcarifer*

Jamshid Shokouhi, Abolfazl Askary Sary*, Mojdeh Chelemal Dezful Nejad, Mojgan Khodadadi, Seyyede Zahra Masoomizadeh

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Key Words

Silver Nanoparticles
Growth indices
Biochemical indices
Lates calcarifer

Abstract

Introduction: Silver nanoparticles are widely used in various industries and it can be considered as the most widely used nano material in the industry.

Materials & Methods: In this study, the effects of eating two types of silver nanoparticles synthesized by chemical and biological methods on growth performance, survival, some immune factors, oxidant/antioxidant indices, biochemical factors and liver enzymes of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) was compared. At first, the synthesis of silver nanoparticles from Sargassum algae was carried out and the average lethal concentration of nanoparticles was determined according to the OECD standard method. The 96-hour chronic lethal concentration of chemical and biosynthetic silver nanoparticles was determined as 1.325 and 18.279 mg/liter, respectively. After investigating the toxicity status of biosynthetic and chemical silver nanoparticles, three concentrations of 5, 15, and 25 ppb were considered for each nanoparticle, and 630 fish were treated in 7 groups. Sampling of fish was done to measure the activity of biochemical indices on days 0, 30 and 60.

Result: During feeding with the diet containing biosynthetic silver nanoparticles, some growth indices had a significant increase, and in the treatments containing chemical silver nanoparticles, these indices were associated with a significant decrease compared to the control group ($p < 0.05$). According to the results, the amount of globulin in the treatments fed with chemical nanoparticles decreased, especially in the chemical treatment 15, and in the biosynthetic nanoparticles treatments, there was a significant increase compared to the control group on days 30 and 60 ($p < 0.05$). The amount of biochemical factors such as glucose and triglyceride also decreased significantly in all treatments containing chemically synthesized silver nanoparticles compared to the control group on days 30 and 60 ($p < 0.05$).

Conclusion: the results showed that silver nanoparticles synthesized by chemical method have more toxic effects than silver nanoparticles synthesized by biological method orally through the reduction of biochemical indices and growth indicators, and the treatments fed with nanoparticles Silver by biological method 15 and 25 can be used as food supplement in sea bass diet.

* Corresponding Author's email: askary_sary@yahoo.com

Received: 30 April 2022; Reviewed: 2 June 2022; Revised: 7 August 2022; Accepted: 10 September 2022

(DOI): [10.22034/AEJ.2022.350205.2840](https://doi.org/10.22034/AEJ.2022.350205.2840)

مقاله پژوهشی

مقایسه تأثیر تجویز خوراکی نانوذرات نقره شیمیایی و بیوسنتزی بر شاخص های رشد و فراسنجه های بیوشیمیایی ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*)

جمشید شکوهی، ابوالفضل عسکری ساری*، مژده چله مال درفول نژاد، مژگان خدادادی، سیده زهرا معصومی زاده

گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

چکیده	کلمات کلیدی
مقدمه: نانوذرات نقره در صنایع مختلف کاربرد بسیار زیادی دارند و شاید بتوان آن را پرکاربردترین نانو ماده در حال حاضر در صنعت دانست. مواد و روش ها: در پژوهش حاضر اثرات خوراکی دو نوع نانوذره نقره سنتز شده با روش شیمیایی و زیستی بر عملکرد رشد، بقا، برخی فاکتورهای ایمنی، شاخص های اکسیدان/آنتی اکسیدانی، فاکتورهای بیوشیمیایی و آنزیم های کبدی ماهی باس دریایی آسیایی (<i>Lates calcarifer</i>) مورد مقایسه قرار گرفت. در ابتدا سنتز نانوذرات نقره از جلبک سارگاسوم انجام شد و غلظت کشنده میانی نانوذرات براساس روش استاندارد OECD تعیین گردید. غلظت کشنده مزم ۹۶ ساعته نانوذرات نقره شیمیایی و بیوسنتزی به ترتیب ۱/۳۲۵ و ۱۸/۲۷۹ میلی گرم در لیتر تعیین شد. بعد از بررسی وضعیت سمیت نانوذرات نقره بیوسنتزی و شیمیایی، از هر نانو ذره سه غلظت ۵، ۱۵ و ۲۵ بخش بر بلیون (ppb) در نظر گرفته شده و تعداد ۶۳۰ قطعه ماهی در ۷ گروه تیمار بندی شدند. نمونه برداری از ماهیان جهت سنجش شاخص های بیوشیمیایی در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ انجام شد. نتایج: طی تغذیه با جیره حاوی نانوذرات نقره بیوسنتزی برخی از شاخص های رشد افزایش معنی داری داشتند که در تیمارهای حاوی نانوذرات نقره شیمیایی این شاخص ها با کاهش معنی دار نسبت به گروه شاهد همراه بوده است ($p < 0/05$). طبق نتایج میزان گلوبولین در تیمارهای تغذیه شده نانوذرات شیمیایی به خصوص در تیمار شیمیایی ۱۵ کاهش و در تیمارهای نانوذرات بیوسنتزی افزایش معنی دار نسبت به گروه شاهد در روز ۳۰ و ۶۰ داشت ($p < 0/05$). میزان فاکتورهای بیوشیمیایی مانند گلوکز و تری گلیسرید نیز در تمام تیمارهای حاوی نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری در روز ۳۰ و ۶۰ داشت ($p < 0/05$). بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی از طریق کاهش شاخص های رشد و بیوشیمیایی اثرات سمی بیش تری نسبت به نانوذرات نقره سنتز شده با روش زیستی به صورت خوراکی دارد و تیمارهای تغذیه شده با نانوذرات نقره به روش زیستی ۱۵ و ۲۵، می تواند به عنوان مکمل غذایی در جیره ماهی باس دریایی مورد استفاده قرار گیرد.	نانوذرات نقره شیمیایی سمیت شاخص های رشد فراسنجه های بیوشیمیایی ماهی باس دریایی آسیایی

مقدمه

مصرف سرانه محصولات شیلاتی در جهان در حال افزایش بوده و از طرفی دیگر با افزایش روزافزون جمعیت و برای پاسخ‌گویی به نیازهای غذایی مردم جهان در آینده باید یا پرورش آبزیان را توسعه بخشیم یا با شناخت جنبه‌های مختلف زیستی آبزیان و ارزیابی ذخایر و مدیریت بهینه صید و بهره‌برداری در آب‌های طبیعی از نابودی آن‌ها جلوگیری کنیم. پرورش ماهیان دریایی بیش‌ترین پتانسیل را برای افزایش تولید ماهی و فراهم کردن ذخیره غذایی دارا می‌باشد. در این راستا گونه‌های جدید بیش‌تری جهت آبی‌پروری معرفی گشته که البته برای مصرف انسانی و فعالیت‌های تجاری مربوطه مفید تشخیص داده شده‌اند (۱). ماهی باس دریایی با نام علمی (*Lates calcarifer*) که در آسیا به نام باس دریایی (سی‌باس) و در استرالیا به نام باراموندی شناخته می‌شود یکی از اعضا بزرگ خانواده Centropomidae است که قادر به تحمل محدوده شوری بالا بوده و پراکنش آن از منطقه غرب اقیانوس هند تا اقیانوس آرام از خلیج فارس تا چین، تایوان، پاپوا گینه نو و شمال استرالیا گزارش شده است. باراموندی در دسته ماهیان کاتادروموس (فرورو) تقسیم‌بندی می‌شود که در فصل تولید مثل محل زندگی خود در آب‌های شیرین و لب شور را ترک گفته و به آب‌های شور دریایی (غالباً در دهانه خوریات) مهاجرت می‌نماید. پرورش این ماهی نخستین بار در مرکز تحقیقاتی Songkhala تایلند در ۱۹۷۰ آغاز و به سرعت در سراسر جنوب شرق آسیا گسترش یافت. در حدود سال ۱۹۷۰ تا ۱۹۸۰ میلادی تکثیر و پرورش باراموندی در کشورهای چین، هند، اندونزی، مالزی، فیلیپین، سنگاپور، تایوان، ویتنام و استرالیا رونق چشمگیری یافت. باراموندی در سال‌های اخیر به قصد آبی‌پروری به ایران، گوام، پلی نزی فرانسه، ایالات متحده آمریکا (هاوایی و ماساچوست)، هلند، انگلستان و فلسطین اشغالی نیز معرفی گردیده است (۲). باس دریایی به دلیل رشد سریع، تکثیر آسان، تحمل شوری بالا و توانایی در پذیرش غذای فرموله، از بهترین ماهیان پرورشی دنیا محسوب شده و در مدت ۵ ماه به بیش از ۵۰۰ تا ۶۰۰ گرم می‌رسد که مناسب بازار است (۳). این گونه هم در استخرهای خاکی و هم در قفس پرورش می‌یابد. طبق گزارش FAO از کل تولید ماهیان دریایی، ۷۰ هزار تن مربوط به ماهی باس آسیایی بوده که این نکته بیانگر بازار پسندی این ماهی در دنیا می‌باشد (۴). در پرورش این ماهی در استخرهای خاکی از غذاهای پلت و در پرورش در قفس تا ۷۰ درصد از ضایعات ماهی استفاده می‌شود. هم‌چنین، تلاش‌های تحقیقاتی جهت برآورد نیاز تغذیه‌ای و توسعه غذای فرموله مناسب به‌طور هم‌زمان در حال پیشرفت است (۵). امروزه نانو مواد و محصولات متفاوتی در زمینه نانو به صورت

تجاری در دسترس می‌باشند، کلمه نانو از واژه یونانی به معنای کوتوله یا بسیار کوچک مشتق شده است که به مطالعه ساختارهای بسیار کوچک در محدوده ۰/۱ تا ۱۰۰ نانومتر می‌پردازد (۶). در طول تاریخ بشر از زمان یونان باستان، مردم و به‌خصوص دانشمندان آن دوره بر این باور بودند که مواد را می‌توان آن‌قدر به اجزاء کوچک تقسیم کرد تا به ذراتی رسید که خردناشدنی هستند و این ذرات بنیان مواد را تشکیل می‌دهند (۴). نانوذرات نقره در صنایع مختلف کاربرد بسیار زیادی دارند و شاید بتوان آن را پرکاربردترین نانو ماده در حال حاضر در صنعت دانست. نانوذرات نقره خاصیت ضد میکروبی داشته و در صنایع مختلفی مانند نساجی، غذایی و کشاورزی، دامپزشکی و شیلات می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (۷). در صنعت شیلات و آبی‌پروری نیز، نانوذرات نقره کاربردهای گوناگونی یافته‌اند که از آن جمله می‌توان به ساخت نانوفیلترها، استفاده از بسته‌های محتوی نانوذرات نقره در افزایش کیفیت و ماندگاری غذاهای دریایی و سایر مواد غذایی، ساخت انکوباتور با استفاده از سطوح پوشش داده شده با نانوذرات نقره و استفاده از رنگ‌های حاوی نانوذرات نقره در دیواره استخرها و حوضچه‌های نگه داری ماهیان به منظور ایجاد سطوح آنتی‌باکتریال، اشاره کرد (۷). معمولاً نانوذرات فلزی با استفاده از روش‌های شیمیایی، مکانیکی (۸، ۹) و الکتروشیمیایی (۱۰) سنتز می‌شوند. سنتز نانوذرات با استفاده از این روش‌ها نیازمند سه ماده، شامل یون‌های فلزی، احیاءکننده و محافظت کننده است، که تمام این مواد شیمیایی، سمی بوده و سبب آلودگی محیط زیست می‌شوند (۱۱). بنابراین استفاده از یک‌سری روش‌های جایگزین برای سنتز این نانومواد که با محیط زیست سازگاری بهتری داشته و آلودگی کم‌تری ایجاد کنند، ضروری به نظر می‌رسد، که یکی از این روش‌ها، روش زیستی است. گام بر داشتن در رابطه با فرایندهای قابل اطمینان و سازگار با محیط زیست برای سنتز نانو ذرات فلزی به روش زیستی یکی از مراحل مهم در زمینه کاربرد در نانوبیوتکنولوژی می‌باشد (۱۲). سنتز نانوذرات با استفاده از نهادهای زیستی به واسطه شکل و اندازه ذرات منحصربه‌فردشان و خصوصیات شیمیایی و الکتریکی دارای اهمیت زیادی می‌باشد و دارای کاربردهای بالقوه بسیار زیادی در نانوبیوتکنولوژی خواهند بود. تولید و سنتز نانوذرات با استفاده از توسعه شیمی سبز یا ترکیبات شیمیایی سبز تمیز، غیرسمی و قابل قبول از نظر محیطی، یکی از رویکردهای مفید و با منفعت در بحث نانوذرات خواهد بود. بیوسنتز نانوذرات نقره با شکل (کروی، سه گوش و شش ضلعی) و اندازه مختلف (۷۰-۱ نانومتر) با استفاده از عصاره گیاهان، جلبک‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها انجام شده است (۱۱، ۱۳). بنابراین هدف از مطالعه حاضر مقایسه بررسی تاثیر تجویز خوراکی نانوذرات نقره سنتز شده با روش شیمیایی

و بیوسنتزی با روش زیستی، بر شاخص‌های عملکرد رشد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی ماهی باس دریایی آسیایی بود (۱۴، ۱۵).

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی: مطالعه حاضر در بخش بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. این تحقیق در دو مرحله انجام شد، در مرحله اول که تعیین سمیت LC_{50} نانوذرات نقره شیمیایی و بیوسنتزی بود از ۲۵۰ عدد ماهی باس دریایی با وزن متوسط $15 \pm 2/2$ استفاده گردید. در مرحله دوم تحقیق برای تعیین اثر سمیت مزمن نانوذرات شیمیایی و بیوسنتزی بر عملکرد رشد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و فاکتورهای بیوشیمیایی ماهی باس دریایی آسیایی از ۶۳۰ عدد ماهی با وزن متوسط $25 \pm 1/5$ گرم استفاده گردید. ماهی‌ها در دو مرحله از شرکت پرورش ماهی باس دریایی راموز در شهرستان بوشهر تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی بخش بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، منتقل گردیدند. ماهیان قبل از انجام آزمایش اصلی، جهت سازگاری با شرایط اسارت (محیط پرورشی) به مدت ۲ هفته در داخل آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری نگه داری شدند. در طول این مدت به میزان ۲٪ وزن بدن در دو نوبت (صبح و عصر) با غذای کنسانتره تجاری مخصوص ماهی باس دریایی وارداتی (استرالیا) تغذیه شدند. طی مدت سازش پذیری، آب محیط مخازن تجدید می‌شد، بدین منظور حدود ۴۰ درصد آب مخازن یک روز در میان تعویض شده و با آب جدید جایگزین می‌شد تا از تجمع آمونیاک و سایر متابولیت‌ها جلوگیری شود.

تعیین سمیت نانوذرات نقره سنتز شده با روش زیستی و شیمیایی: برای تعیین غلظت مناسب LC_{50} هر یک از نانوذرات، ابتدا یک بررسی پایلوت با سه غلظت در مورد هر نانوذره نقره انجام گرفت و سپس براساس بررسی پایلوت انجام شده غلظت‌های مورد نیاز در فاز اول تحقیق مشخص گردید. غلظت یون‌های نقره موجود در سوسپانسیون نانوذرات نقره سنتز شده، به مقدار ۲۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر یون نقره تعیین شد. از آن جاکه تاکنون مقادیر دقیق غلظت حدکشندگی نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* در ماهی سی باس تعیین نشده بود، بنابراین برای تعیین غلظت کشنده نانوذرات نقره، در ابتدا با انجام آزمایشات مقدماتی، مقادیر واقعی حدکشندگی به دست آمد. محدوده کشندگی براساس کم‌ترین غلظتی که در مدت ۹۶ ساعت، تلفات در آن مشاهده می‌شود و اولین غلظتی که ۱۰۰٪ تلفات را در پی دارد، تعیین گردید. برای این کار، ۵ قطعه ماهی در هر آکواریوم با حجم ۳۰ لیتر، مجهز به سیستم هوادهی، منتقل شده و با غلظت‌های

صعودی نانوذرات نقره سنتز شده از جلبک دریایی *S. angustifolium* مجاور گردیدند (۱۶).

تجویز خوراکی نانوذرات نقره شیمیایی و بیوسنتز شده توسط جلبک: بعد از بررسی وضعیت توکسیسیته نانوذرات نقره بیوسنتزی و شیمیایی از هر نانو ذره سه غلظت ۲۵، ۱۵ و ۵ بخش بر بلیون (ppb) در نظر گرفته شده و تعداد ۶۳۰ قطعه ماهی در ۷ تیمار تیمار بندی شدند. شاخص‌های رشد تیمارهای آزمایشی در انتهای دوره اندازه‌گیری شدند (۱۷).

نمونه برداری: شاخص‌های بیوشیمیایی تیمارهای آزمایشی در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ اندازه‌گیری شدند. بدین منظور تعداد سه ماهی از هر تکرار انتخاب و با استفاده از ۰/۳ میلی‌لیتر ۲-فنوکسی اتانول بی‌هوش شدند. سپس با استفاده از سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتر، خونگیری از ساقه‌دمی انجام شد. پس از آن نمونه‌های خون سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه) شده و سرم‌ها جداسازی شده و برای آنالیز شاخص‌های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت (۱۸).

اندازه‌گیری فاکتورهای رشد: شاخص‌های رشد از جمله وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذا، نسبت بازدهی پروتئین، شاخص وضعیت و درصد بقا در انتهای دوره بر اساس رابطه‌های زیر اندازه‌گیری شد (۱۹، ۲۰).

ضریب رشد ویژه (Specific Growth Rate):

$SGR = \frac{\ln w_2 - \ln w_1}{t} \times 100$ / دوره پرورش به روز

w_2 = وزن نهایی (گرم)، w_1 = وزن اولیه (گرم)

ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Ratio):

$FCR = \frac{\text{میزان کل وزن تر کسب شده (گرم)}}{\text{میزان غذای دریافت شده (گرم)}}$

شاخص وضعیت (Condition Factor):

$CF = [W/L^3] \times 100$

L = طول کل ماهی بر حسب سانتی‌متر، W = وزن ماهی بر حسب گرم

درصد افزایش وزن (Weight Gain):

$WG = \frac{100 \times (\text{متوسط وزن اولیه (گرم)} - \text{متوسط وزن نهایی (گرم)})}{\text{بازدهی پروتئین (Protein Efficiency Ratio):}}$

مقدار پروتئین مصرفی (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم) = PER

درصد بقا (Survival Rate):

$SR = \frac{N_f}{N_0} \times 100$

N_f : تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش، N_0 : تعداد ماهی در انتهای آزمایش

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون: اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتوفتومتر UV/VIS یونیکو (ساخت آمریکا) مدل ۲۱۰۰ صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: آنالیزهای آماری با استفاده از برنامه

SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. برای آنالیز پارامترها ابتدا از آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین نمونه‌ها استفاده شد و در مواردی که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت جهت جدا کردن آن‌ها از آزمون Tukey استفاده شد. میانگین‌ها در سطح اعتماد ۹۵٪ از لحاظ آماری متفاوت قلمداد شدند (۲۱، ۲۲).

نتایج

نتایج تعیین سمیت نانوذرات نقره سنتز شده با روش

زیستی و شیمیایی: نتایج به دست آمده از بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از جلبک سارگاسوم و غلظت کشنده میانی (حد متوسط کشندگی) دو نوع نانوذره نقره سنتز شده با روش زیستی و شیمیایی همراه با سنجش فعالیت پارامترهای بیوشیمیایی سرم و شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای در ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) تغذیه شده با این نانوذرات بر حسب میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد به شرح ذیل آورده شده است. آنالیز اندازه ذرات نانو نقره سنتز شده با روش زیستی و شیمیایی (جدول ۱) انجام شد، هم چنین میزان سمیت نانوذرات نقره سنتز شده با روش شیمیایی و زیستی با مجاورت دادن ماهی با غلظت‌های مختلف نانوذرات طی زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به دست آمد (جدول ۲ و شکل ۱). آنالیز تلفات ایجاد شده در ماهی باس دریایی مجاورت داده شده با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت نیز اندازه گیری شد (جدول ۳). همان طور که در شکل ۱ مشخص است سمیت نانوذرات بیوسنتزی بسیار کم تر از نانوذرات شیمیایی بوده به طوری که غلظت ایجاد کننده ۹۰٪ تلفات بعد از ۹۶ ساعت مجاورت ماهی باس دریایی با نانوذرات بیوسنتزی ۱۲/۷۹ برابر بیش تر از نانو ذرات نقره شیمیایی است.

جدول ۱: نتایج مربوط به آنالیز اندازه ذرات نانو نقره سنتز شده با

روش زیستی و شیمیایی				
نوع نانوذرات	میانگین ± Span	d(10)	d(50)	d(90)
بیوسنتزی با جلبک <i>S. angustifolium</i>	۲/۹۰ ± ۱/۹۹	۴/۴۹	۷/۴۹	۸/۷۷
نانوذرات شیمیایی	۷/۱ ± ۱/۴۹	۳/۶۶	۷/۸۸	۱۱/۹۲

نتایج اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون: نتایج مربوط

به شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی سی باس دریایی آسیایی تغذیه شده با نانوذرات نقره شیمیایی و سنتز شده از جلبک سارگاسوم در جدول ۴ آورده شده است. در روز ۳۰ هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان آلومین، پروتئین کل، کلسترول، کلسیم و اوره بین گروه‌های

مختلف با گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). مقدار تری گلیسرید در تیمارهای بیوسنتزی ۲۵ و ۵ و شیمیایی ۵ به صورت معنی‌داری پایین تر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). مقدار گلوکز در تیمارهای بیوسنتزی ۱۵ و شیمیایی ۱۵ به صورت معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). در روز ۶۰ هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین کل، کلسترول و کلسیم بین گروه‌های مختلف با گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). مقادیر گلوکز، تری گلیسرید و اوره در تیمارهای بیوسنتزی ۲۵ به صورت معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). هم چنین مقدار آلومین در تیمارهای شیمیایی ۵، ۱۰ و ۱۵ به صورت معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$).

جدول ۲: نتایج مربوط به سمیت نانوذرات نقره سنتز شده با روش شیمیایی و زیستی طی مجاورت ماهی با غلظت‌های مختلف نانوذرات

نانونقره سنتز شده با روش شیمیایی				
غلظت (ppm)	تعداد مرگ و میر ماهی باس دریایی آسیایی طی ۹۶ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
شاهد (۰)	۰	۰	۰	۰
۱	۰	۰	۰	۳
۲	۱	۱	۳	۵
۴	۴	۴	۵	۱۰
۸	۶	۶	۸	۱۰

نانونقره سنتز شده با روش زیستی				
غلظت (ppm)	تعداد مرگ و میر ماهی باس دریایی آسیایی طی ۹۶ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
شاهد (۰)	۰	۰	۰	۰
۱۰	۰	۰	۰	۲
۲۰	۰	۰	۱	۲
۴۰	۲	۲	۴	۸
۵۰	۶	۶	۸	۱۰
۶۰	۶	۶	۱۰	۱۰



شکل ۱: سمیت نانوذرات نقره بیوسنتزی و نانوذرات شیمیایی در ماهی باس دریایی

نتایج اندازه گیری فاکتورهای رشد: نتایج مربوط به شاخص های رشد و تغذیه ماهی سی باس دریایی آسیایی تغذیه شده با نانوذرات نقره شیمیایی و سنتز شده از جلبک سارگاسوم در جدول ۵ آورده شده است. در مطالعه حاضر هیچ اختلاف معنی داری در میزان وزن اولیه، نهایی، شاخص، ضعیف و درصد بقاء بین گروه های مختلف مشاهده نشد ($p > 0.05$). شاخص ضریب رشد ویژه در تمامی تیمارهای غنی شده با نانوذرات نقره شیمیایی و سنتز شده از جلبک سارگاسوم به صورت معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). هم چنین شاخص ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای شیمیایی ۵ و ۱۰ و بیوسنتزی ۵ به صورت معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). نسبت بازدهی پروتئین در تمام تیمارها به جز تیمار بیوسنتزی ۲۵ به صورت معنی داری پایین تر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$).

جدول ۳: نتایج حاصل از آنالیز تلفات ایجاد شده در ماهی باس دریایی مجاور شده با غلظت های مختلف نانوذرات نقره

غلظت کشنده (LC10-90) mg/L				نانونقره سنتز شده با روش شیمیایی			
۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
ساعته	ساعته	ساعته	ساعته	ساعته	ساعته	ساعته	ساعته
LC10	۲/۰۱۳	۱/۳۸۶	۰/۷۷۶	۰/۷۶۴			
LC25	۳/۳۲۶	۲/۲۵۰	۱/۱۹۹	۱/۰۵۶			
LC50	۵/۸۱۲	۳/۸۵۵	۱/۹۴۷	۱/۳۲۵			
LC90	۱۶/۷۸۲	۱۰/۷۲۰	۴/۸۸۵	۳/۳۵۸			

غلظت کشنده (LC10-99) mg/L				نانونقره سنتز شده با روش زیستی			
۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶
ساعته	ساعته	ساعته	ساعته	ساعته	ساعته	ساعته	ساعته
LC10	۳۲/۸۸۷	۲۲/۹۶۵	۱۳/۴۰۱	۹/۱۳			
LC25	۴۰/۵۴۶	۲۸/۷۳۲	۱۸/۴۴۶	۱۳/۱۱۵			
LC50	۵۱/۱۶۴	۳۶/۸۵۲	۲۶/۳۰۷	۱۸/۲۷۹			
LC90	۱۹/۵۹۷	۵۹/۱۳۶	۵۱/۶۴۰	۴۲/۵			

جدول ۴: مقایسه (Means $\pm$ SD) تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی برای تیمارهای آزمایشی در روزهای مختلف نمونه گیری

پارامترها	تیمارها	۰	۳۰	۶۰
آلبومین	کنترل	۰/۶ $\pm$ ۰/۰۴ Aa	۰/۶۶ $\pm$ ۰/۰۴۹ Aa	۰/۶۲ $\pm$ ۰/۰۹۲ Ac
	بیوسنتزی ۲۵	۰/۶۵ $\pm$ ۰/۰۰۷ Aa	۰/۶۷ $\pm$ ۰/۰۱۲۹ Aa	۰/۶۲ $\pm$ ۰/۰۱۳ Ac
	بیوسنتزی ۱۵	۰/۶۳ $\pm$ ۰/۰۰۴۲ Aa	۰/۶ $\pm$ ۰/۰۱۷۶ Aa	۰/۷۲ $\pm$ ۰/۰۱۲۱ Abc
	بیوسنتزی ۵	۰/۶۹ $\pm$ ۰/۰۱۶ Aa	۰/۷۵ $\pm$ ۰/۰۱۹ Aa	۰/۶۸ $\pm$ ۰/۰۱۲۱ Aabc
	شیمیایی ۱۵	۰/۶۷ $\pm$ ۰/۰۰۵۵ Aa	۰/۶۳ $\pm$ ۰/۰۱۱ Aa	۰/۷۷ $\pm$ ۰/۰۱۵۸ Ab
	شیمیایی ۱۰	۰/۶۸ $\pm$ ۰/۰۱۷۴ Aa	۰/۷۴ $\pm$ ۰/۰۱۸۵ Aa	۰/۸۸ $\pm$ ۰/۰۱۸۴ Aa
	شیمیایی ۵	۰/۶۸ $\pm$ ۰/۰۰۷۷ Ba	۰/۷۸ $\pm$ ۰/۰۱۶۵ Ba	۰/۹۶ $\pm$ ۰/۰۰۸۷ Aa
پروتئین کل	کنترل	۳/۰۹ $\pm$ ۰/۰۳۱۴ Aa	۳/۳۶ $\pm$ ۰/۰۵۲۶ Aab	۳/۳۸ $\pm$ ۰/۰۴۵۵ Aab
	بیوسنتزی ۲۵	۳/۴۸ $\pm$ ۰/۰۳۹۳ Aa	۳/۵ $\pm$ ۰/۰۷۴۷ Aab	۳/۸۵ $\pm$ ۰/۰۴۴۳ Aab
	بیوسنتزی ۱۵	۳/۴۴ $\pm$ ۰/۰۰۴۰۲ Aa	۳/۵۶ $\pm$ ۰/۰۵۵۴ Aab	۳/۷۹ $\pm$ ۰/۰۲۴۴ Aab
	بیوسنتزی ۵	۳/۰۷ $\pm$ ۰/۰۰ Ba	۵/۸۴ $\pm$ ۰/۰۱۷۷ Aa	۳/۲۳ $\pm$ ۰/۰۰۷۹ Bb
	شیمیایی ۱۵	۳/۴۸ $\pm$ ۰/۰۴۵۷ Aa	۴/۰۴ $\pm$ ۰/۰۱۲۹ Aab	۳/۹۴ $\pm$ ۰/۰۱۱۱ Aab
	شیمیایی ۱۰	۳/۴۸ $\pm$ ۰/۰۴۱۴ Aa	۳/۶۸ $\pm$ ۰/۰۱۹۲ Aab	۴/۸۶ $\pm$ ۰/۰۱۸۸ Aa
	شیمیایی ۵	۳/۱۹ $\pm$ ۰/۰۰۷۰۶ Aa	۳/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱۹۸ Ab	۴/۲ $\pm$ ۰/۰۲۵۱ Aab
تری گلیسرید	کنترل	۱۰۸/۵۲ $\pm$ ۲۹/۵۵ Aa	۱۱۲/۱۴ $\pm$ ۱۹/۳۱ Aab	۱۰۹/۵۶ $\pm$ ۱۷/۹ Ab
	بیوسنتزی ۲۵	۱۱۱/۷۳ $\pm$ ۱۷/۰۴ Ba	۵۸/۳۶ $\pm$ ۲۲/۳۶ Bbcd	۳۴۹/۲۹ $\pm$ ۱۷۲/۳۲ Aa
	بیوسنتزی ۱۵	۱۰۱/۰۹ $\pm$ ۱۴/۴۹ Ba	۱۱۳/۴۴ $\pm$ ۲۸/۹۳ Bab	۲۱۳/۶۴ $\pm$ ۷۰/۴۹ Aab
	بیوسنتزی ۵	۱۰۶/۶۹ $\pm$ ۴۱/۰۶ ABa	۴۹/۱۳ $\pm$ ۱۳/۷۳ Bcd	۱۳۳/۵۸ $\pm$ ۳۸/۲۳ Ab
	شیمیایی ۱۵	۱۱۱/۱۴ $\pm$ ۱۴/۴۸ ABa	۱۲۳/۹ $\pm$ ۴۵/۶۴ Aa	۷۰/۸۸ $\pm$ ۳۴/۱۴ Bb
	شیمیایی ۱۰	۱۰۲/۱۳ $\pm$ ۳۳/۴۳ Aa	۹۹/۷۵ $\pm$ ۴۶/۶۶ Abc	۱۱۴/۵۱ $\pm$ ۴۱/۷۸ Ab
	شیمیایی ۵	۱۰۴/۵۴ $\pm$ ۳۷/۱ Aa	۲/۲۳ $\pm$ ۳/۱۱ Bd	۷۹/۱ $\pm$ ۲۲/۱۳ Ab
کلسترول	کنترل	۷۱/۵۵ $\pm$ ۲۳/۰۱ Aa	۷۱/۱۳ $\pm$ ۲۵/۱۱ Aa	۷۴/۹۱ $\pm$ ۲۵/۹۳ Aab
	بیوسنتزی ۲۵	۷۱/۱۸ $\pm$ ۲۷/۰۱ Aa	۸۲/۴۹ $\pm$ ۳۴/۹۴ Aa	۷۶/۲۶ $\pm$ ۱۴/۸۲ Aab
	بیوسنتزی ۱۵	۷۴/۵۳ $\pm$ ۲۳/۴۱ Ba	۱۲۹/۹۶ $\pm$ ۳۷/۷ Aa	۱۲۰/۶۱ $\pm$ ۱۸/۵۹ ABa
	بیوسنتزی ۵	۸۱/۳۸ $\pm$ ۸/۷۲ Aa	۷۶/۴۳ $\pm$ ۳۰/۷ Aa	۹۱/۲۴ $\pm$ ۲۵/۹۲ Aab
	شیمیایی ۱۵	۶۷/۳ $\pm$ ۱۹/۹۹ Ba	۱۰۵/۹۴ $\pm$ ۳۳/۹۶ Aa	۶۲/۹۶ $\pm$ ۱۹/۰۲ Bb
	شیمیایی ۱۰	۷۴/۷۵ $\pm$ ۲۲/۹۷ Aa	۹۵/۴۵ $\pm$ ۳۲/۶۲ Aa	۹۵/۳۹ $\pm$ ۳۵/۰۸ Aab
	شیمیایی ۵	۸۷/۷۱ $\pm$ ۲۰/۹۷ Aa	۸۳/۶۱ $\pm$ ۳۸/۷۳ Aa	۵۰/۲۸ $\pm$ ۲۵/۷۶ Ab

پارامترها	تیمارها	۰	۳۰	۶۰
کلسیم	کنترل	0.86 ± 0.21 Aa	0.78 ± 0.2 Aa	0.78 ± 0.25 Aab
	بیوسنتزی ۲۵	0.77 ± 0.28 Ba	0.59 ± 0.24 Ba	$1/32 \pm 0.29$ Aab
	بیوسنتزی ۱۵	0.76 ± 0.14 Ba	$2/94 \pm 1/28$ Aa	$1/75 \pm 0.23$ Ba
	بیوسنتزی ۵	0.69 ± 0.16 Ba	$1/6 \pm 0.73$ Ba	$3/04 \pm 1/29$ Aab
	شیمیایی ۱۵	0.67 ± 0.21 Aa	0.97 ± 0.32 Aa	0.79 ± 0.22 Aa
	شیمیایی ۱۰	0.63 ± 0.13 Ba	0.78 ± 0.71 Ba	$1/74 \pm 0.18$ Aab
	شیمیایی ۵	0.64 ± 0.17 Ba	$1/39 \pm 1/24$ Ba	$3/04 \pm 0.91$ Ab
گلوکز	کنترل	$54/08 \pm 11/4$ Aa	$62/2 \pm 21/43$ Abc	$65/21 \pm 24/62$ Ab
	بیوسنتزی ۲۵	$59/74 \pm 10/18$ Aa	$77/56 \pm 29/16$ Abc	$95/6 \pm 27/78$ Aa
	بیوسنتزی ۱۵	$55/55 \pm 16/54$ Ba	$171/23 \pm 55/08$ Aa	$51/2 \pm 12/88$ Bab
	بیوسنتزی ۵	$52/2 \pm 15/42$ Aa	$50/09 \pm 21/21$ Ac	$81/81 \pm 30/63$ Aab
	شیمیایی ۱۵	$62/21 \pm 7/37$ Ba	$122/44 \pm 35/97$ Aab	$54/39 \pm 19/76$ Bab
	شیمیایی ۱۰	$55/21 \pm 14/59$ Aa	$72/58 \pm 26/59$ Abc	$42/63 \pm 17/36$ Ab
	شیمیایی ۵	$54/56 \pm 14/96$ Aa	$78/85 \pm 44/51$ Abc	$63/75 \pm 18/43$ Aab
اوره	کنترل	$7/72 \pm 3/66$ Aa	$11/17 \pm 7/03$ Aa	$9/06 \pm 3/85$ Ab
	بیوسنتزی ۲۵	$7/53 \pm 2/68$ Ba	$15/35 \pm 4/69$ Ba	$36/44 \pm 9/05$ Aa
	بیوسنتزی ۱۵	$6/98 \pm 1/98$ Aa	$8/3 \pm 7/05$ Aa	$5/25 \pm 1/73$ Ab
	بیوسنتزی ۵	$8/3 \pm 3/31$ Ba	$15/86 \pm 4/06$ Aa	$4/83 \pm 1/26$ Bb
	شیمیایی ۱۵	$6/13 \pm 2/56$ Aa	$9/36 \pm 2/95$ Aa	$10/07 \pm 3/75$ Ab
	شیمیایی ۱۰	$6/49 \pm 3/64$ ABa	$14/47 \pm 7/17$ Aa	$5/07 \pm 2/96$ Bb
	شیمیایی ۵	$7/55 \pm 3/96$ Aa	$9/06 \pm 6/37$ Aa	$12/21 \pm 3/35$ Ab

حروف کوچک لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ستون و حروف بزرگ ناهمنام نشانگر تفاوت معنی‌دار در هر سطر است ($P < 0.05$).

جدول ۵: نتایج حاصل از عملکرد تغذیه‌ای ماهی باس دریایی آسیایی تغذیه شده با نانوذرات نقره شیمیایی و سنتز شده از جلبک سارگاسوم

شاخص	شاهد	بیوسنتزی ۲۵	بیوسنتزی ۱۵	بیوسنتزی ۵	شیمیایی ۱۵	شیمیایی ۱۰	شیمیایی ۵
وزن اولیه (گرم)	$20/5 \pm 0/35$ a	$19/6 \pm 0/35$ a	$19/89 \pm 1/02$ a	$19/2 \pm 1/11$ a	$20/2 \pm 0/15$ a	$18/9 \pm 0/28$ a	$19/3 \pm 1/39$ a
وزن نهایی (گرم)	$111/65 \pm 1/16$ a	$127/11 \pm 0/06$ a	$124/14 \pm 7/20$ a	$115/03 \pm 1/7$ a	$118/22 \pm 0/3$ a	$117/28 \pm 1/1$ a	$118/14 \pm 0/9$ a
ضریب رشد ویژه	$1/02 \pm 0/016$ a	$0/85 \pm 0/067$ b	$0/76 \pm 0/089$ c	$0/54 \pm 0/09$ d	$0/74 \pm 0/055$ c	$0/56 \pm 0/006$ d	$0/83 \pm 0/008$ e
ضریب تبدیل غذا	$1/42 \pm 0/02$ a	$1/38 \pm 0/31$ a	$1/3 \pm 0/18$ a	$2/13 \pm 0/18$ b	$1/62 \pm 0/017$ a	$2/12 \pm 0/02$ b	$1/4 \pm 0/007$ c
نسبت بازدهی پروتئین	$1/91 \pm 0/02$ a	$1/96 \pm 0/17$ a	$1/68 \pm 0/15$ b	$1/28 \pm 0/16$ c	$1/67 \pm 0/018$ b	$1/27 \pm 0/012$ c	$1/3 \pm 0/023$ d
شاخص وضعیت	$1/27 \pm 0/01$ a	$1/38 \pm 0/019$ a	$1/41 \pm 0/052$ a	$1/37 \pm 0/07$ a	$1/50 \pm 0/04$ a	$1/33 \pm 0/015$ a	$1/42 \pm 0/018$ a
بقاء (درصد)	$100 \pm 0/00$ a	$100 \pm 0/00$ a	$100 \pm 0/00$ a	$100 \pm 0/00$ a	$100 \pm 0/00$ a	$100 \pm 0/00$ a	$100 \pm 0/00$ a

حروف کوچک لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر سطر است ($P < 0.05$).

بحث

یکی از گونه‌های مهم باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) می‌باشد، گونه مذکور که تحت عنوان باراماندی (Barramundi) نیز شناخته می‌شود، از ماهیان کاتادروموس بوده که قابلیت سازگار شدن در هر دو محیط آب شور و شیرین را دارد (۲۳). سنتز نانوذرات معمولاً با دو روش بالا به پایین و پایین به بالا انجام می‌شود، که تولید نانوذرات از طریق روش شیمیایی و زیستی جزو روش‌های پایین

به بالا می‌باشد (۲۴). در این تحقیق سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی جلبک *Sargassum angustifolium* به صورت بیولوژیکی خارج سلولی با روش پایین به بالا انجام شد. جهت ارزیابی سمیت نانوذرات چندین معیار شناخته شده و ناشناخته وجود دارد (۲۵) که تعیین غلظت کشندگی میانی (LC50) به عنوان اولین مرحله از تست سمیت در مطالعات سم‌شناسی موجودات زنده و آبزیان به کار می‌رود. در مطالعه Bita و همکاران، غلظت کشنده میانی نانوذرات نقره سنتز

مشهود بود این مسئله می تواند ناشی از عدم اشتباهی ماهیان مذکور بر اثر مسمومیت با نانوذرات نقره باشد و به نظر می رسد ماهیان از طریق غذا نخوردن، سعی در مقابله با ورود ماده سمی به بدن داشته اند. بنابراین تولید و تجاری نمودن نانوذرات نقره با استفاده از ترکیبات طبیعی از جمله جلبک ها به جای نانوذرات شیمیایی بسیار ضروری بوده و در صورت استفاده از نانوذرات نقره شیمیایی، جلوگیری از ورود این مواد به چرخه غذایی موجودات زنده ساکن بوم سازگان های آبی مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب پایان نامه و با استفاده از امکانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گردید، در این خصوص از اعطای پژوهانه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

1. Garza-Gil, M.D., Varela-Lafuente, M. and Caballero Miguez, G., 2009. Price and production trends in the marine fish aquaculture in Spain. *Aquac. Res.* 40(3): 274-281. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02106.x>
2. Morshedi, V., Bojarski, B., Hamed, S., Torahi, H., Hashemi, G. and Faggio, C., 2021. Effects of dietary bovine lactoferrin on growth performance and immunophysiological responses of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) fingerlings. *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 13(6):1790-1797. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09805-4>
3. Allen, G.R., Midgley, S.H. and Allen, M., 2002. Field guide to the freshwater fishes of Australia: Western Australian Museum.
4. Li, D., Prinyawiwatkul, W., Tan, Y., Luo, Y. and Hong, H., 2021. Asian carp: A threat to American lakes, a feast on Chinese tables. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 20(3): 2968-2990. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12747>
5. Oujifard, A., Hoseini, S.V. and Taheri, A., 2014. Effect of bambara groundnut (*Voandzeia subterranean*) protein isolate as protease inhibitor on autolysis and gel properties of surimi from lizard fish (*Saurida tumbil*). *J. Fish.* 67(1): 1-12. <https://dx.doi.org/10.22059/jfisheries.2014.50349>
6. Lugani, Y., Kaur, G., Oberoi, S. and Sooch, B.S., 2018. Nanotechnology: current applications and future prospects. *World j. adv. health.* 2(5): 137-139.
7. Rainuzz, J., 2009. Nanotechnology Applications in Fisheries and Aquaculture: Global and Norwegian Opportunities and Challenges: A Pre-project.
8. Balantrapu, K. and Goia, D.V., 2009. Silver nanoparticles for printable electronics and biological applications. *J. Mater. Res.* 24(9): 2828-2836. <https://doi.org/10.1557/jmr.2009.0336>

شده از جلبک سارگاسوم بر ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، ۱۱/۳۴ میلی گرم بر لیتر تعیین شد (۲۶)، میزان LC50 در ماهی کپور معمولی را در مواجهه با دو نوع نانوذره نقره با نام تجاری Nanosil (کمتر از ۱۰۰ nm) و Nanocid (۱۸ nm) به ترتیب ۷۳/۸ و ۰/۴۳ میلی گرم بر لیتر گزارش نمودند (۲۲). عملکرد رشد و متابولیک مربوط به فرایندهای هوموستاتیک است که ممکن است منعکس کننده خصوصیات مواد مغذی موجود در خوراک باشد (۲۷). افزایش در شاخص های رشد در ماهیان باس دریایی آسیایی تغذیه شده با نانوذرات نقره بیوسنتزی احتمالاً ناشی از دخیل بودن عصاره جلبک سارگاسوم هست. در مطالعه ای توسط Dobrochna و همکاران، بر ماهی قزل آلا رنگین کمان طی مواجهه با نانوذرات نقره و مس پایین ترین میزان رشد نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (۲۸). با افزایش تولید نانوذرات نقره و کاربرد گسترده آن بخشی از نانوذرات مورد استفاده وارد آب شده و ممکن است از طریق چرخه غذایی وارد بدن موجودات زنده شوند (۲۹). یکی از روش های ارزیابی خطرات این مواد از طریق سنجش تغییرات بیوشیمیایی سرم خون است. در واقع مهم ترین فاکتورهایی که می توان فعالیت آن ها را طی ورود آلاینده ها و نانوذرات به بدن از طریق غذا بررسی نمود، فاکتورهای بیوشیمیایی از قبیل آلومین، تری گلیسرید، کلسترول، کلسیم، گلوکز و اوره هستند که در مطالعه حاضر نیز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه ماهیان باس دریایی آسیایی با نانوذرات نقره سنتز شده به روش بیوسنتزی و گروه کنترل سبب کاهش معنی دار مقدار آلومین سرم نسبت به سایر گروه ها در روز ۶۰ گردید، اما تغذیه این ماهیان با نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی سبب افزایش معنی دار آلومین در این تیمارها شد. کاهش و یا افزایش در فعالیت این پروتئین می تواند به دلیل اثر مستقیم آلاینده بر ویژگی های هیدرولیتیک آنزیم و یا اثرات سمی غیرمستقیم آن باشد که بر ساخت و ترشح آن ها تاثیر می گذارد (۳۰). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از عصاره جلبک سارگاسوم سبب تولید زیستی نانوذرات نقره شد و با توجه به استفاده از عصاره جلبک سارگاسوم در سنتز نانوذرات نتایج حاصل از سمیت و تعیین LC50 نیز دلالت بر سمیت بیش تر نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی دارد. هر چند که یکی از فاکتورهای تاثیرگذار بر سمیت نانوذرات نقره اندازه آن ها هست به طوری که هر چقدر اندازه ذرات کوچک تر باشد اثرات آن بر موجودات بیش تر هست، اما در مطالعه حاضر علی رغم اندازه کوچک تر نانوذرات نقره سنتز شده با روش زیستی نسبت به روش شیمیایی اما اثرات منفی نانوذرات سنتز شده شیمیایی بیش تر بود. در پژوهش حاضر، کاهش رشد ماهیان تغذیه شده با جیره های محتوی غلظت بالای نانوذرات نقره کاملاً

21. Singaravelu, G., Arockiamary, J., Kumar, V.G. and Govindaraju, K., 2007. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 57(1): 97-101. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.01.010>
22. Bitá, S., Mesbah, M., Shahryari, A. and Ghorbaanpoor Najafabad, M., 2019. Investigating the effect of silver nanoparticles synthesized using *Sargassum angustifolium* on the bacterial flora of common carp skin, *Cyprinus carpio*. *Exp. Anim. Biol.* 8(1): 11-18. <https://dx.doi.org/10.30473/eab.2019.5976>
23. Jerry, D.R., 2013. *Biology and Culture of Asian Seabass Lates Calcarifer*. CRC Press.
24. Narayanan, K.B. and Sakthivel, N., 2011. Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Adv. Colloid Interface Sci.* 169(2): 59-79. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.08.004>
25. Kumar, A., Singh, S., Shanker, R. and Dhawan, A., 2017. Nanotoxicology: challenges for biologists. In *Nanotoxicology: Experimental and Computational Perspectives*. 1-16. <https://doi.org/10.1039/9781782623922-00001>
26. 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*). *Glob. Vet.* 8(2): 179-184.
27. Sarkar, B., Kumar, M., Rathore, R.M. and Verma, S., 2015. Effect of dietary nanosilver on gut proteases and general performance in Zebrafish (*Danio rerio*). *Int. J. Aquat. Biol.* 3(2): 60-67. <https://doi.org/10.22034/ijab.v3i2.48>
28. Dobrochna, A., Jerzy, Ś., Teresa, O., Magda, F., Małgorzata, R., Yuichiro, M. and Kacper, M., 2018. Effect of copper and silver nanoparticles on trunk muscles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 18(6): 781-788. http://dx.doi.org/10.4194/1303-2712-v18_6_04
29. Hussain, S., Hess, K., Gearhart, J., Geiss, K. and Schlager, J., 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol in vitro*. 19(7): 975-983. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.06.034>
30. Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C. and Rainbow, P.S., 2012. *Ecological biomarkers: indicators of ecotoxicological effects*. CRC Press.
9. Saxena, A., Tripathi, R. and Singh, R., 2010. Biological synthesis of silver nanoparticles by using onion (*Allium cepa*) extract and their antibacterial activity. *Dig J Nanomater Bios.* 5(2): 427-432.
10. Patakfalvi, R. and Dékány, I., 2002. Preparation of silver nanoparticles in liquid crystalline systems. *Colloid Polym Sci.* 280(5): 461-470. <https://doi.org/10.1007/s00396-001-0629-0>
11. Kumar, P., Senthamil Selvi, S., Lakshmi Prabha, A., Prem Kumar, K., Ganeshkumar, R. and Govindaraju, M., 2012. Synthesis of silver nanoparticles from *Sargassum tenerrimum* and screening phytochemicals for its antibacterial activity. *Nano Biomed Eng.* 4(1): 12-16.
12. Ali, D.M., Sasikala, M., Gunasekaran, M. and Thajuddin, N., 2011. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using marine cyanobacterium, *Oscillatoria willei* NTDM01. *Dig J Nanomater Biostruct.* 6(2): 385-390.
13. Bhainsa, K.C. and D'souza, S., 2006. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigatus*. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 47(2): 160-164. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2005.11.026>
14. Aalamifar, H., Soltanian, S., Vazirzadeh, A., Akhlaghi, M., Morshedi, V., Gholamhosseini, A. and Torfi Mozanzadeh, M., 2020. Dietary butyric acid improved growth, digestive enzyme activities and humoral immune parameters in Barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquac. Nutr.* 26: 156-164. <https://doi.org/10.1111/anu.12977>
15. Islam, M.A., Jacob, M.V. and Antunes, E., 2021. A critical review on silver nanoparticles: From synthesis and applications to its mitigation through low-cost adsorption by biochar. *J. Environ. Manage.* 281: 111918. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111918>
16. Bilberg, K., Hovgaard, M.B., Besenbacher, F. and Baatrup, E., 2012. In vivo toxicity of silver nanoparticles and silver ions in zebrafish (*Danio rerio*). *J. Toxicol.* <https://doi.org/10.1155/2012/293784>
17. Salas-Leiton, E., Anguis, V., Martín-Antonio, B., Crespo, D., Planas, J.V. and Infante, C., 2010. Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): potential effects on the immune response. *Fish Shellfish Immunol.* 28(2): 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.11.006>
18. Molayemraftar, T., Peyghan, R., Razi Jalali, M. and Shahriari, A., 2022. Single and combined effects of ammonia and nitrite on common carp, *Cyprinus carpio*: Toxicity, hematological parameters, antioxidant defenses, acetylcholinesterase, and acid phosphatase activities, *Aquaculture*. 548: 737676. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737676>
19. Chelemaal Dezfoulnejad, M. and Molayemraftar, T., 2021. Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract as a growth promoter and immunostimulant in common carp. *Aquac. Res.* 53(4): 1553-1562. <https://doi.org/10.1111/are.15690>
20. Mohammadian, T., Ghanei-Motlagh, R., Molayemraftar, T., Mesbah, M., Zarea, M., Mohtashamipour, H. and Jangaran Nejad, A., 2021. Modulation of growth performance, gut microflora, nonspecific immunity and gene expression of proinflammatory cytokines in shabout (*Tor grypus*) upon dietary prebiotic supplementation. *Fish Shellfish Immunol.* 112: 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.02.012>