J Oceanography (JOC). 12(45): 76-85, Spring 2021

Journal of Oceanography
Homepage: joc.inio.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH PAPER (Marine Science)

Assessing lethal concentration 50 (LC50) of silver nanoparticles and its comparison with silver nitrate in Caspian Sea gammarus (*Pontogammarus maeoticus*)

Arezoo Behnezhad [1], Fatemeh Kardel [2]*, Hassan Taghavi Jelodar [3], Shila Omidzahir [2]

[1] *Master student, University of Mazandaran, Babolsar, Iran*
[2] *Assistant Prof, University of Mazandaran, Babolsar, Iran*
[3] *Associate Prof, University of Mazandaran, Babolsar, Iran*

ARTICLE INFO

Code: A-10-960-2

Article History:
Received: 2019/12/19
Revised: 2020/10/7
Accepted: 2020/11/16

Keywords:
Silver nanoparticles
LC50
Silver Nitrate
Gammarus
Caspian Sea.

*Corresponding author:
f.kardel@umz.ac.ir

ABSTRACT

Silver nanoparticles are widely used in various sciences and industries. Widespread use of silver nanoparticles has caused entrance of it to the aquatic environment through Wastewater, so it is necessary to investigate the effects of silver nanoparticles on various aquatic organisms. The present study investigated the lethal concentration of silver nanoparticles and its comparison with silver nitrate in the Caspian Sea gammarus (*Pontogammarus maeoticus*). For this purpose, the first experiment was performed to determine the range finding test of silver nanoparticles in gammarus. Then, to determine the lethal concentration 50 (LC50), the gammarus were exposed to concentrations of 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 and 8 mg/L of silver nanoparticles and silver nitrate and their mortality was recorded in 96 hours. Then different lethal concentrations were calculated by statistical analysis. In this study, the 96-h LC50 values for silver nanoparticles and silver nitrate were 3.77 and 5.78 mg/l, respectively. The results of this study showed that the lethal concentration of silver nanoparticles was lower than silver nitrate. A higher mortality rate has been observed for silver nanoparticles compared to silver nitrate with increasing concentrations of silver nanoparticles and exposure time.

NUMBER OF TABLES	NUMBER OF FIGURES	NUMBER OF REFERENCES
4	3	48

مقاله پژوهشی (علوم دریایی)

بررسی غلظت میانه کشندگی (LC50) نانوذرات نقره و مقایسه آن با نیترات نقره در گاماروس دریای خزر (*Pontogammarus maeoticus*)

آرزو به نژاد [۱]، فاطمه کاردل [۲*]، حسن تقوی جلودار [۲]، شیلا امیدظهیر [۳]

[۱] فارغ التحصیل کارشناسی ارشد زیست شناسی دریا، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[۲] دانشیار علوم محیط زیست، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[۴] استادیار زیست شناسی دریا، دانشگاه مازندران بابلسر، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۲۸/۹/۱۳۹۸
تاریخ بازبینی: ۱۶/۷/۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۲۶/۸/۱۳۹۹

واژگان کلیدی:
نانوذرات نقره
غلظت میانه‌کشندگی
نیترات نقره
گاماروس
دریای خزر.

*نویسنده مسئول
f.kardel@umz.ac.ir

چکیده

نانوذرات نقره امروزه به طور گسترده در علوم و صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. کاربرد وسیع نانوذرات نقره سبب ورود آن از طریق پساب به محیط‌های آبی شده است و به همین جهت بررسی اثرات نانوذرات نقره بر موجودات آبزی مختلف امری ضروری است. مطالعه حاضر به بررسی میزان غلظت کشندگی نانوذرات نقره و مقایسه آن با نیترات نقره در گاماروس دریای خزر (*Pontogammarus maeoticus*) پرداخته است. به این منظور ابتدا آزمایش تعیین محدوده کشندگی نانوذرات نقره در گاماروس‌ها انجام شد. سپس برای تعیین غلظت میانه کشندگی (LC50)، گاماروس‌ها در معرض غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی‌گرم بر یک لیتر نانوذرات نقره و نیترات نقره قرار گرفتند و در مدت زمان ۹۶ ساعت میزان مرگ و میر ثبت شد. سپس با استفاده از بررسی آماری مقادیر مختلف غلظت کشندگی محاسبه گردید. در این مطالعه مقدار LC50 ۹۶ ساعته برای نانوذرات نقره و نیترات نقره به ترتیب ۷۷ /۳ و ۵/۷۸ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد غلظت کشندگی نانوذرات نقره در مقایسه با نیترات نقره کمتر می‌باشد و با افزایش غلظت نانوذرات نقره همراه با افزایش مدت زمان مواجهه، میزان مرگ و میر گاماروس‌ها روند افزایشی تندتری نسبت به نیترات نقره می‌یابد.

مقدمه

امروزه استفاده از فن‌آوری نانو و محصولاتی که بر پایه نانو ساخته می‌شوند به طور چشمگیری رو به افزایش می‌باشد [۱]. زمانی که ابعاد مولکولی یک ماده در گذر از میکرومتر به نانومتر تغییر می‌کند، تفاوت زیادی در خواص فیزیکی، شیمیایی و زیستی آن به وجود می‌آید که می‌توان تولیدات جدید با خواص منحصر به فرد از این فن‌آوری به دست آورد [۲]. از جمله تغییرات شیمیایی و فیزیکی به وجود آمده در اصلاح یک ماده به مقیاس نانو می‌توان به افزایش استحکام، کم شدن وزن و سبک‌تر شدن، افزایش مقاومت شیمیایی و مقاومت حرارتی اشاره کرد [۳]. علت ایجاد خواص جدید در این مواد بالا بودن نسبت سطح به حجم ذرات نانو می‌باشد [۴]. امروزه در بسیاری از علوم و صنایع همچون محیط زیست، پزشکی، الکترونیک، داروسازی، لوازم آرایشی، تولید انرژی، کشاورزی، تولید انواع سنسورها، نانو واکسن‌ها، تصفیه فاضلاب، رنگ‌های شیمیایی، لایه محافظ جدید با مقاومت بالا در عینک، شیشه و سرامیک از نانو ذرات استفاده می‌شود [۲]. همچنین از فناوری نانو به میزان چشمگیری در صنعت صید و آبزی‌پروری استفاده می‌شود. به طور مثال جهت صید بیشتر آبزیان، قلاب‌هایی از جنس نانو رنگ‌ها به کار برده می‌شود. ویژگی خاص این نوع رنگ‌ها انعکاس نور در چند جهت می‌باشد که باعث جذب ماهی‌ها شده و میزان صید را تا سه برابر نسبت به قلاب‌های معمولی افزایش می‌دهد [۵].

با افزایش تولیدات صنعتی و کاربرد گوناگون نانو مواد در زندگی روزمره بشر، انتشار این مواد از طریق زباله‌های شهری، صنعتی و کشاورزی در محیط افزایش یافته است که این امر خطرات زیست محیطی متعددی در پی داشته است [۶, ۷]. یکی از چالش‌های به‌کارگیری فن‌آوری‌های نوین، ورود مواد آلاینده و خصوصاً نانوذرات به منابع آبی است (صیدایی و همکاران ۱۳۹۳) زیرا آلاینده‌های فلزی از دسته آلاینده‌های پایدار در محیط زیست هستند و قابلیت تجزیه زیستی ندارند [۸]. پژوهش‌های مختلف نشان داده است یکی از دلایل سمیت نانوذرات، اندازه بسیار کوچک آن‌ها است. زیرا این ذرات با دارا بودن اندازه کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر قابلیت رقابت با سایر اجزا زیستی مانند گلبول‌های قرمز (۶-۸µm) برای عبور از غشاء سلولی را داشته و می‌توانند وارد سلول شوند. تحقیقات سم شناسی حاکی از آن است که در صورت در معرض قرارگرفتن اندام‌های تنفسی جانوران با نانو مواد،

پاسخ‌های التهابی مضرتری نسبت به زمانی که در معرض ذرات میکرومتری با ترکیب شیمیایی و غلظت برابر قرار می‌گیرند، ایجاد می‌شود [۹]. زیرا کوچک بودن اندازه ذرات نانو، منجر به بروز التهابات تنفسی شدیدتری نسبت به اندازه بزرگتر همان ذرات شود [۱۰].

در بین نانوذرات فلزی، نانو ذرات نقره از جمله ذراتی هستند که امروزه به طور گسترده‌ای استفاده می‌شوند [۱۱]. نانوذرات نقره به عنوان آنتی بیوتیک‌های مؤثر علیه باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها استفاده می‌شوند [۱۲]. ترکیبات نقره به عنوان ضدعفونی‌کننده قوی در علم پزشکی بسیار به کار گرفته می‌شوند. به طور مثال از سولفید نقره برای درمان عفونت چشمی نوزادان و یا از ترکیبات نقره برای از بین بردن عامل سوزاک استفاده می‌شود [۱۳]. از جمله کاربردهای نانوذرات نقره در صنعت نساجی جلوگیری از عفونت باکتریایی است. مثلاً برای مقابله با پاتوژن‌هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس نانوذرات نقره در لباس‌های بیمارستانی به کار می‌روند [۱۴] و یا در تولید البسه‌ای مانند جوراب برای جلوگیری از بوی ناخوشایند ناشی از فعالیت میکروارگانیسم‌ها از نانونقره بهره گرفته می‌شود [۱۵].

به کارگیری روزافزون نانوذرات نقره با توجه به کاربرد وسیع آن سبب ورود این نانو مواد از طریق پساب به محیط‌های آبی شده که لزوم بررسی اثرات آن بر موجودات آبزی مختلف را ضروری ساخته است [۱۶].

نانو ذرات نقره نسبت به میکرو ذرات نقره سمیت بیشتری از خود نشان می‌دهند که تا به امروز مکانیسم آن به روشنی مشخص نشده است [۱۷]. سطح نانوذرات نقره در محیط و در بدن موجودات زنده به سهولت اکسیده شده و منجر به رهاسازی یون نقره Ag^+ می‌شود [۱۸]. سمیت بالاتر ایجاد شده توسط نانوذرات نقره، می‌تواند بدلیل ساطع شدن یون‌های نقره از سطح این نانو مواد باشد. یون نقره Ag^+ در میان سایر نانوذرات، یکی از سمی‌ترین اشکال نقره در محیط آبی بوده و از عوامل بازدارنده فعالیت آنزیم‌های مؤثر بر چرخه عناصر فسفر، گوگرد و نیتروژن است [۱۹]. علاوه بر این، یون نقره باعث اختلال در همانندسازی DNA شده و مانع تنفس باکتریایی و سنتز ATP می‌گردد [۲۰]. به همین دلیل تعیین غلظت کشنده و همچنین حداکثر غلظت مجاز این نانوذرات در انواع مختلف ماهی و سخت‌پوستانی که به عنوان غذای آغازین سایر آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند ضروری است.

تاکنون گزارشات مختلفی از سمیت نانوذرات نقره بر روی موجودات آبزی آب‌های شیرین و دریایی صورت گرفته است [۱]. در مطالعه‌ای میزان LC50 نانوذرات نقره در طول ۴۸ ساعت در دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) ۰/۴۱۶ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و با افزایش غلظت و مدت مجاورت میزان سمیت آن افزایش یافت [۲۱]. بررسی اثرات مزمن نانوذرات نقره بر بازماندگی و ویژگی‌های تولیدمثلی آرتمیای دریاچه ارومیه (*Artemia urmian*) حاکی از کاهش بازماندگی و توان تولیدمثلی این جانور بود [۲۲]. میزان LC50 نانوذرات نقره در ناپلی آرتمیا *Artemia franciscana* در مدت ۴۸ ساعت ۳۱/۸ میلی‌گرم در لیتر محاسبه شده است [۲۳]. اثرات نانوذرات نقره بر روی بافت آبشش گربه‌ماهی رنگین‌کمان به صورت هایپرپلازی رشته های آبششی و تیغه‌های ثانویه، کوتاه‌شدن و حلقه‌ای شدن تیغه‌های ثانویه آبششی مشاهده گردید [۲۴]. در مطالعه‌ای نانوذرات نقره در گاماروس *Gammarus pseudosyriacus* سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتانیون پراکسیداز و استیل کولین استراز گردید [۲۵]. مطالعات نشان دادند نانوذرات نقره سبب استرس اکسیداتیو و اختلال در تنظیم فشار خون در ماهی‌های سفید (*Rutilus kutum*) دریای خزر گردید [۲۶]. برخی از پارامترهای فیزیکی- شیمیایی آب سبب تغییر اثرات سمی نانونقره بر آبزیان در محیط‌های آبی می‌گردد. بعنوان مثال مطالعه سالاری جو و همکاران (۱۳۹۰) [۲۷] نشان دادند میانه کشندگی نانوذرات نقره (LC50)۹۶ ساعته بر بچه ماهی قزل‌آلا رنگین کمان در آب لب‌شور دریای خزر ۱۲ برابر کمتر از آب شیرین است.

در مورد سمیت نانوذرات نقره بر روی گاماروس مطالعات اندکی صورت گرفته است و اطلاعات کافی در مورد میزان سمیت و غلظت میانه‌کشندگی نانوذرات نقره در محیط‌های دریایی برگاماروس‌ها وجود ندارد. گاماروس از مهمترین سخت پوستان سواحل دریای خزر و از خانواده گاماریده (*Gammaridae*) می‌باشد که نقش مهمی در زنجیره غذایی ایفاء می‌کند و با تغذیه از پوده‌ها، انرژی را به رده‌های بالاتر غذایی مانند ماهی‌های اقتصادی دریای خزر (انواع تاس ماهی‌ها، سوف، اردک ماهی، کفال وکپور ماهی‌ها) و پرندگان (پاشلک و فلامینگوها) انتقال می‌دهد [۲۸]. همچنین از گاماروس در صنعت آبزی پروری به دلیل ارزش غذایی بالا، قابلیت تولید مثل زیاد، پراکنش زیاد در محیط‌های آبی ایران و کارتنوئیدهای موجود در این آبزی برای تولید پیگمان رنگی و افزایش کیفیت گوشت ماهی‌ها در جیره غذایی برای تکثیر و پرورش ماهی‌های اقتصادی استفاده می‌شود [۲۹].

این موجودات آبزی یکی از مناسب‌ترین موجودات برای مدلسازی و بررسی سمیت زیستی نانوذرات در محیط‌های آبی مختلف آب شیرین، شور و لب شور به شمار می‌آیند [۳۰]. انتخاب گاماروس به عنوان یک گونه آزمایشی جهت زیست سنجی آلودگی‌ها، به دلیل فراوانی، اندازه کوچک، چرخه زندگی کوتاه، حساسیت بالا به خیلی از انواع مواد شیمیایی و سهولت استفاده از این آبزی نسبت به سایر آبزیان مانند ماهی‌ها در شرایط آزمایشگاهی است [۳۰]. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی میزان غلظت کشندگی نانوذرات نقره و مقایسه آن با نیترات نقره در گاماروس *Pontogammarus maeoticus* انجام شده است.

روش پژوهش

۱. نمونه برداری و نحوه نگه‌داری و سازگاری گاماروس‌ها در محیط آزمایشگاه

ابتدا آب دریا از عمق حدود ۲ متری با استفاده از قوطی پلاستیکی از جنس پلی پروپیلن تیره نمونه برداری شدو غلظت نقره نمونه آب دریا

با سه تکرار با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله تعیین شد. در تحقیق حاضر گاماروس دریای خزر *P. maeoticus* با میانگین طولی ۲/۳۷± ۸/۴۰ میلی‌متر و میانگین وزنی ۱/۰۲۷۶± ۰/۷۸۳ گرم در بهار ۱۳۹۷ از سواحل شنی جنوبی دریای‌خزر واقع در منطقه می‌رود در بابلسر به وسیله تور دستی دارای مش با اندازه یک سانتی‌متر جمع‌آوری و در ظروف پلاستیکی حاوی آب دریا به آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی دانشگاه مازندران منتقل گردید. قبل از شروع آزمایش به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید، گاماروس‌ها به مدت یک هفته در شرایط آزمایشگاهی (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی؛ دمای آب ۰/۵۳±/۲۱ درجه سانتی‌گراد؛ هوادهی با استفاده از پمپ هوادهی) و در ظروف پلاستیکی حاوی یک لیتر آب صاف شده دریا (به منظور جداسازی مواد جامد معلق در آب دریا به وسیله صافی توری پارچه‌ای و سپس عبور از کاغذ صافی اندازه ۵۸ × ۵۸ سانتی متر صاف شد) نگهداری شدند. در طول این مدت، آب ظروف را یک روز در میان با آب تازه صاف شده دریا تعویض کرده تا گاماروس‌ها در معرض میزان کافی اکسیژن و مواد مغذی موجود در آب دریا قرار گیرند. در طی دوره سازگاری گاماروس‌ها هر ۴۸ ساعت یکبار با سیب زمینی پخته به مقدار ۱ گرم برای هر ظرف تغذیه شدند.

۲. آماده‌سازی محلول نانوذرات نقره

محلول نانوذرات نقره ۹۸ درصد (Nanomaterials Inc, USA) با غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و اندازه ذرات ۸-۵ نانومتر از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان مشهد خریداری شد. غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر روی دستگاه همزن مغناطیسی بدون حرارت قرار داده شد، تا محلول نسبتاً همگنی به دست آید. جهت انحلال بیشتر، بشر محتوی غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره داخل حمام اولتراسونیک قرار داده شد و سپس حجم مشخصی از محلول به وسیله پیپت مدرج جدا شده و به آب دریا اضافه گردید. جهت تعیین غلظت محلول‌های نانوذرات نقره استفاده شده در این تحقیق از فرمول زیر استفاده شد:

C1 × (غلظت محلول اولیه)V1 (حجم محلول اولیه)= C2(غلظت محلول مورد نظر) ×V2(حجم محلول مورد نظر)

۳. آماده‌سازی محلول نیترات نقره

در تحقیق حاضر از پودرکریستاله نیترات نقره ۹۹ درصد (شرکت پردیس آرمان شیمی، ایران) استفاده شد. جهت تهیه محلول استوک یا ذخیره ۱ گرم از پودر نیترات نقره را به وسیله ترازو (OHAUS PA214, Swiss) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شد و در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه حل گردید و به مدت ۱ دقیقه بر روی دستگاه همزن مغناطیسی بدون حرارت قرار داده شد و سپس جهت انحلال کامل در حمام اولتراسونیک گذاشته شد. سپس جهت تهیه محلول‌هایی با غلظت‌های برابر با غلظت نانوذرات نقره با استفاده از پیپت مدرج مقدار مورد نیاز از محلول استوک جدا و به آب دریا اضافه گردید.

۴. تعیین محدوده کشندگی نانوذرات نقره

در مطالعه حاضر جهت یافتن غلظت میانه‌کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره برای گاماروس، ابتدا آزمایش تعیین محدوده کشندگی (Rang Finding Test) در ۱۴ تیمار شامل ۴۵ عدد گاماروس در هر تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره شامل ۰، ۰/۰۴، ۰/۱، ۰/۲، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به روش ساکن و براساس دستورالعمل O.E.C.D. (TRC, 1984) انجام شد. برای انجام این آزمایش، ۲۴ ساعت قبل از آزمایش تغذیه گاماروس‌ها متوقف شد. میزان مرگ و میر گاماروس‌ها در هریک از غلظت‌های نانوذرات نقره در مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت ثبت و گاماروس‌های تلف شده از تیمارهای مورد آزمایش خارج شدند.

۵. تعیین غلظت میانه‌کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره و نیترات نقره

پس از تعیین محدوده کشندگی، آزمایش تعیین غلظت میانه کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره و نیترات نقره به روش ساکن و مطابق دستورالعمل O.E.C.D. انجام شد. گاماروس‌ها در ۷ تیمار با تعداد ۳۰ گاماروس در هر تیمار با غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی‌گرم بر یک لیتر نانوذرات نقره و نیترات نقره به طور جداگانه در سه تکرار تقسیم شدند. در مدت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مرگ و میر هر تیمار ثبت و گاماروس‌های تلف شده خارج شدند. در مدت آزمایش خواص فیزیکوشیمیایی آب شامل میزان اکسیژن محلول، شوری، دمای آب و pH با استفاده از دستگاه مولتی پارامترسنج ((Tiwan,AZ8603, اندازه‌گیری شدند.

۶. تجزیه و تحلیل داده‌ها

ابتدا مدل رگرسیونی بین غلظت در معرض قرارگیری و درصد مرگ و میر برای هر یک از زمان‌های در معرض قرارگیری در نرم‌افزار اکسل بدست آمد. سپس آزمایش سمیت حاد با استفاده از روش پروبیت در سطح آماری ۹۵ درصد تجزیه و تحلیل شدند. محدوده و غلظت کشندگی (LC25, LC50, LC75, LC90) با استفاده از نرم افزار MedCalc محاسبه شد. اثر زمان و غلظت بر تعداد مرگ و میر با استفاده مدل خطی تعمیم یافته و با استفاده از نرم افزار آماری R نسخه ۳. ۵. ۱ تعیین گردید. مقادیر LC90 LC25,LC75,LC50، همچنین حداکثر غلظت مجاز (MAC) یا غلظت غیرموثر (NOEC) نانوذرات نقره و نیترات نقره در این تحقیق تعیین شد.

نتایج و بحث

۱. میزان نقره در آب و گاماروس جمع آوری شده از دریای خزر قبل از شروع آزمایش

میزان نقره در آب دریای خزر ۰/۰۱±۰/۰۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است.

۲. تعیین محدوده‌کشندگی نانوذرات نقره

نتایج حاصل از آزمایش تعیین محدوده کشندگی نشان داد با افزایش غلظت نانو ذرات نقره در طی مدت زمان ۲۴ تا ۹۶ ساعت میزان مرگ و میر گاماروس‌ها افزایش پیدا کرد. بر اساس مرگ و میر گاماروس‌ها در غلظت‌های ۰، ۰/۰۴، ۰/۱، ۰/۲۵، ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، محدوده کشندگی نانوذرات نقره برای گاماروس‌ها در این مطالعه بین ۰/۲ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر انتخاب شد، زیرا میانه کشندگی (۵۰ درصد کشندگی) در غلظت کمتر از ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر در طی مدت زمان ۹۶ ساعت رخ داد (جدول ۱).

جدول ۱: تعداد مرگ و میر گاماروس *P. maeoticus* در آزمایش تعیین محدوده کشندگی (n=۴۵)

Table 1: Mortality rate of P. maeoticus gamarus in lethal range test (n = 45)

غلظت نانونقره (میلی‌گرم بر لیتر)	تعداد مرگ و میر گاماروس‌ها			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۰	۰	۱	۰	۰
۰/۰۴	۰	۰	۱	۱
۰/۱	۱	۱	۲	۲
۰/۲	۱	۲	۴	۵
۱۰	۵	۱۸	۲۷	۳۵
۲۰	۱۰	۲۰	۲۸	۴۱
۵۰	۳	۱۸	۴۵	۴۵
۱۰۰	۸	۳۰	۴۵	۴۵

۳. تعیین غلظت میانه کشندگی (LC50) نانوذرات نقره و نیترات نقره

برای تعیین غلظت میانه کشندگی، گاماروس‌ها در معرض غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره و نیترات نقره قرار گرفتند. درصد مرگ و میر گاماروس‌ها در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت نانوذرات نقره و نیترات نقره به ترتیب در جداول ۲ و ۳ آورده شده است. احتمال رسیک غلظت کشندگی و غلظت میانه کشندگی (LC50) در ۹۶ ساعت برای نانو ذرات نقره ۳/۷۷ میلی‌گرم بر لیتر و برای نیترات نقره ۵/۷۸ میلی‌گرم بر لیتر با استفاده از نرم افزار MedCalc براساس داده‌های بدست آمده از آزمایشات تحقیق حاضر محاسبه و ترسیم گردید (شکل ۱ و جدول ۴) و حداکثر غلظت مجاز (MAC) یا غلظت غیرموثر (NOEC) که مقدار آن معادل ۱۰٪ غلظت میانه کشندگی (LC50) در مدت ۹۶ ساعت در آب دریای خزر می‌باشد، به ترتیب ۰/۰۴ و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد.

نتایج همبستگی بین غلظت نانوذرات نقره و درصد مرگ و میر گاماروس‌ها در طی ۹۶ ساعت نشان داد هر چه غلظت نانوذرات نقره بیشتر باشد، درصد مرگ و میر افزایش می‌یابد. همچنین رابطه همبستگی بین غلظت نانوذرات نقره در محلول آبی و درصد مرگ و میر گاماروس‌هایی که در معرض زمان‌های بیشتر (۷۲ و ۹۶ ساعت) قرار گرفتند، قوی‌تر و معنی‌دار بوده است (شکل ۲).

نتایج مشابه اما با همبستگی ضعیف‌تری در زمان ۹۶ ساعت بین غلظت نیترات نقره و درصد مرگ و میر گاماروس‌ها نیز مشاهده شد (شکل ۳).

جدول ۲: درصد مرگ و میر *P. maeoticus* در آزمایش تعیین غلظت میانه کشندگی نانوذرات نقره (n=۳۰)

Table 2: Percentage of mortality of P. maeoticus in the experiment to determine the average lethal concentration of silver nanoparticles (n = 30)

غلظت نانوذرات نقره (میلی‌گرم بر لیتر)	درصد مرگ و میر			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۰	۰	۰	۰	۰
۰/۲۵	۰	۰	۱/۱۱	۳/۳۳
۰/۵	۷/۷۷	۱۰	۱۴/۴۴	۲۱/۱۱
۱	۱۱/۱۱	۱۶/۶۷	۳۳/۳۳	۴۸/۸۹
۲	۱۱/۱۱	۱۷/۷۸	۳۸/۸۹	۴۹/۹۳
۴	۱۱/۱۱	۲۱/۱۱	۴۴/۴۴	۶۰
۸	۱۰	۱۵/۵۶	۴۲/۲۲	۶۷/۷۸

جدول ۳: درصد مرگ و میر *P. maeoticus* در آزمایش تعیین غلظت میانه کشندگی نیترات نقره (n=۳۰)

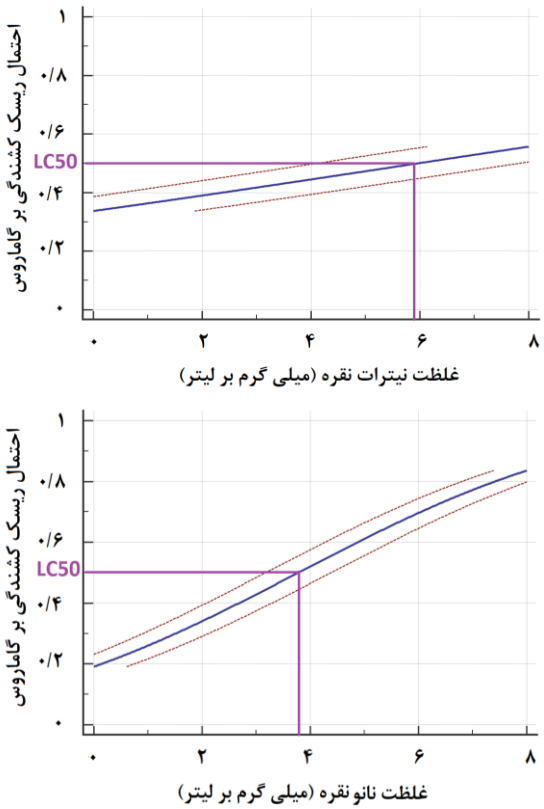
Table 3: Mortality rate of P. maeoticus in the experiment to determine the median lethal concentration of silver nitrate (n = 30)

غلظت نیترات نقره (میلی‌گرم بر لیتر)	درصد مرگ و میر			
	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
۰	۰	۰	۰	۰
۰/۲۵	۱/۱۱	۱۲/۲۲	۲۷/۷۸	۴۳
۰/۵	۵/۵۶	۱۴/۴۴	۲۲/۲۲	۳۹
۱	۲/۲۲	۱۴/۶۷	۲۷/۷۸	۴۹
۲	۳/۳۳	۲۰	۴۰	۴۸
۴	۱/۱۱	۲۳/۳۳	۴۱/۱۱	۵۰
۸	۶/۶۷	۱۶/۴۴	۳۷/۷۸	۵۰

جدول ۴: غلظت کشندگی نانوذرات نقره و نیترات نقره بر گاماروس‌های دریای خزر طی ۹۶ ساعت در مطالعه حاضر

Table 4: Kill concentration of silver nanoparticles and silver nitrate on gammaruses of the Caspian Sea during 96 hours in the present study

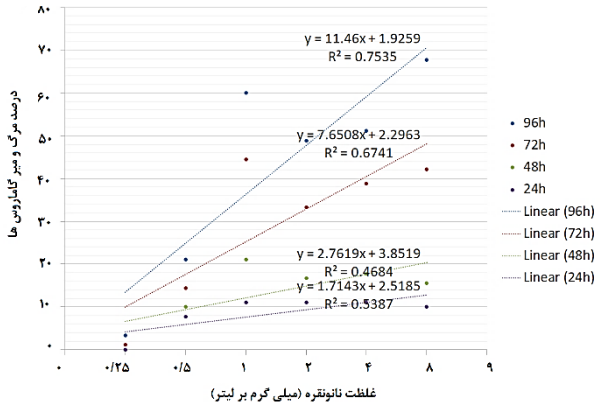
	غلظت کشندگی (میلی‌گرم بر لیتر)	
	نانونقره	نیترات نقره
LC25	۰/۸۶	۰/۱۷
LC50	۳/۷۷	۵/۷۸
LC75	۶/۶۹	۱۱/۳۹
LC90	۹/۳۱	۱۶/۴۴



شکل ۱: احتمال ریسک غلظت کشندگی و غلظت میانه کشندگی (LC50) نانوذرات نقره و نیترات نقره در گاماروس در مطالعه حاضر

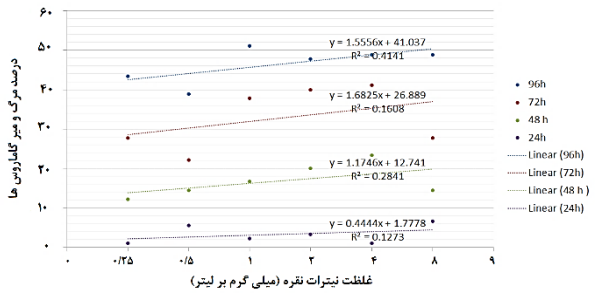
Fig 1: Risk probability of lethal concentration and intermediate lethal concentration (LC50) of silver nanoparticles and silver nitrate in Gamarus in the present study

ورود نانوذرات به بوم‌سازگان آبی می‌تواند مضرات زیادی بر روی موجودات آبزی داشته باشد. ورود آلاینده‌های فلزی به خصوص نانوذرات فلزی سبب مختل شدن کارکرد سطوح مختلف زیستی در بوم‌سازگان آبی می‌گردد [۳۱]. آزمایش سمیت حاد اولین اقدام جهت تعیین اثرات آلاینده‌ها است که با بهره‌گیری از باکتری‌ها، بی‌مهرگان و ماهی‌ها جهت نشان دادن پتانسیل خطر این ترکیبات شیمیایی در بوم‌سازگان آبی انجام می‌شود [۳۲].



شکل ۲: همبستگی بین غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره و درصد مرگ و میر گاماروس‌ها در زمان‌های مختلف درمعرض قرارگیری

Fig 2: Correlation between different concentrations of silver nanoparticles and gamma-ray mortality at different times of exposure



شکل ۳: همبستگی بین غلظت‌های مختلف نیترات نقره و درصد مرگ و میر گاماروس‌ها در زمان‌های مختلف درمعرض قرارگیری

Fig 3: Correlation between different concentrations of silver nitrate and mortality percentage of gammaruses at different times of exposure

در مطالعه حاضر نتایج آزمایش سمیت حاد نشان داد، گاماروس‌های دریای‌خزر در مواجهه با غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره و محلول نیترات نقره به مدت ۹۶ ساعت، با افزایش غلظت نانوذرات نقره و نیترات نقره و همچنین افزایش مدت زمان مواجهه درصد مرگ و میر بیشتری داشتند. افزایش کشندگی با افزایش مدت زمان مواجهه و افزایش غلظت ماده سمی، دور از انتظار نیست و با نتایج گزارش شده در مطالعات دیگر در زمینه بررسی سمیت حاد سموم مختلف بر موجودات زنده مطابقت دارد [۲۱, ۳۳, ۳۴].

بررسی سمیت نانوذرات نقره بر آرتمیا (*Artemia urmiana*) نشان داد، میزان بازماندگی این جانور با افزایش غلظت نانوذرات نقره، کاهش یافت و افزایش مدت زمان در معرض قرارگیری موجب افزایش میزان مرگ و میر به ویژه در تیمار با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره شد [۲۲]. قابلیت نفوذ نانو ذرات به دیواره سلولی و عبور از آن و در نتیجه انباشتگی آن‌ها در بدن موجودات زنده ارتباط زیادی با غلظت و زمان مواجهه با نانوذرات دارد [۳۵].

کمتر بودن غلظت میانه‌کشندگی (LC_{50}) نانونقره (۳/۷۷ میلی‌گرم بر لیتر) در مقایسه با نیترات نقره (۵/۷۸ میلی‌گرم بر لیتر) می‌تواند به ویژگی‌های فیزیکی ذرات نانو مرتبط باشد. نانوذرات با توجه به شکل و اندازه می‌توانند بر سدهای فیزیولوژیکی غلبه کرده و با عبور از آن‌ها و تجمع در بافت‌ها مضرات خود را نشان دهند. همچنین ذرات در اندازه نانو تمایل زیادی به ایجاد پیوند و تراکم دارند که با افزایش میزان انرژی مغناطیسی این ویژگی در آن‌ها افزوده می‌شود. این خاصیت نانوذرات منجر به رسوب این ذرات شده و نتیجه آن می‌تواند انسداد عروق در بدن موجودات زنده باشد [۳۶]. نانو ذرات تمایل زیادی به کاهش بار سطحی و تجمع در محیط زیست دارند و ممکن است با اتصال به ذرات طبیعی، مورد تغذیه موجودات زنده قرار گرفته و وارد زنجیره غذایی شوند [۳۷]. وجود نانوذرات فلزی در محیط‌های آبی می‌تواند باعث پراکسید شدن چربی‌های غشای سلولی در ماهیان و سایر موجودات آبزی شود [۳۸].

به نظر می‌رسد نانوذرات نقره مانند سایر مواد سمی می‌تواند منجر به هم ریختن تعادل در تنظیمات یونی موجودات زنده شود [۳۹]. از دیگر

عوارض نانو مواد، هایپرپلازی آبششی و در نهایت هایپوکسی موجودات آبزی، تخریب ساختار نوکلئیک اسیدها و تغییر در بیان ژن می‌باشد [۳۹-۴۱].

ورود نانوذرات به اکوسیستم‌های آبی، بازماندگی و پویایی جمعیت آبزیان و در نهایت پایداری منابع آبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۴۲]. همچنین مشخص شده است که قرارگیری موجودات آبزی به مدت طولانی در معرض انواع سموم به ویژه نانوذرات، می‌تواند منجر به اختلال در روند رشد و تولیدمثل آنها شود [۴۳].

در مطالعه‌ای اثر سمیت نانوذرات نقره بر روی چهارگونه ماهی پرورشی و آکواریومی آمور (*Ctenopharyngodom idella*)، شیربت (*Barbus grypus*)، اسکار (*Astronorus ocellatus*) و سوروم (*Cichlosoma severums*) بررسی شد و میزان LC50 به ترتیب برابر ۰/۱۲، ۰/۰۸۶، ۶/۸۵ و ۷/۸۹ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد [۴۴]. ایجاد ۵۰ درصد تلفات در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز در برابر نانوذرات نقره غلظتی حدود ۵ میلی‌گرم در لیتر به دست آمده است [۴۵].

تحقیقات نشان داده است، غلظت میانه‌کشندگی نانوذرات نقره در دافنی ماگنای بالغ (*Daphnia magna*) در مدت زمان ۲۴ ساعت، ۰/۴۱۶ میلی‌گرم در لیت [۲۱] و در بارناکل (*Amphibalanus Amphitrite*) ۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر [۴۶] بوده است که نسبت به غلظت میانه‌کشندگی نانونقره (۳/۷۷ میلی‌گرم بر لیتر) در گاماروس‌های دریای خزر در مطالعه حاضر غلظت کمتری می‌باشد و این می‌تواند نشان دهنده سمیت بالای نانوذرات نقره بر جمعیت دافنی‌ها و بارناکل‌ها در مقایسه با گاماروس‌های دریای خزر باشد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، مدت زمان مواجهه و افزایش غلظت نقره دو عامل اصلی و مهم در افزایش درصد مرگ و میر گاماروس‌ها می‌باشد. هچنین غلظت میانه‌کشندگی (LC_{50}) نانوذرات نقره در مقایسه با نیترات نقره کمتر می‌باشد و به عبارتی سمیت حاد نانونقره برای گاماروس‌ها در آب دریای‌خزر بیشتر از سمیت حاد نیترات نقره است.

نتایج تحقیق حاضر می‌تواند در زمینه تأثیر آلاینده‌های فلزی مانند نانو ذرات نقره در بوم‌سازگان آبی مورد استفاده قرار گیرد و حاکی از آن است که ورود انواع آلاینده‌ها به ویژه نانو ذرات به بوم‌سازگان آبی می‌تواند جمعیت آبزیان مختلف را تحت تأثیر قرار دهد و تجمع این ترکیبات در بدن آبزیان سبب انتقال آن در طی زنجیره غذایی به سطوح بالاتر خواهد شد. [۴۷] [۴۸]

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان به یک میزان در نگارش این مقاله مشارکت داشته اند.

تشکر و قدردانی

به این وسیله، نویسندگان این مقاله از کلیه کسانیکه در این مطالعه نقشی داشته اند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافعی برای این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Bar-Ilan O, Albrecht RM, Fako VE, Furgeson DY. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos. *Small*. 2009;**5**(16):1897-1910. **doi:** 10.1002/smll.200801716 **pmid:** 19437466
2. Kreyling WG, Semmler-Behnke M, Chaudhry Q. A complementary definition of nanomaterial. *Nano Today*. 2010;**5**(3):165-168. **doi:** 10.1016/j.nantod.2010.03.004
3. Aschberger K, Micheletti C, Sokull-Kluttgen B, Christensen FM. Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health--lessons learned from four case studies. *Environ Int*. 2011;**37**(6):1143-1156. **doi:** 10.1016/j.envint.2011.02.005 **pmid:** 21397332
4. Shabrang Heredasht M, Miroaghafi A. Applications of nanoparticles in aquaculture, fishing and processing. *Nanotechnol Month*. 2012;**6**:13-15.
5. Rather MA, Sharma R, Aklakur M, Ahmad S, Kumar N, Khan M, et al. Nanotechnology: a novel tool for aquaculture and fisheries development. A prospective mini-review. *Fisher Aquacul J*. 2011;**16**(1-5):3.
6. Daughton CG. Non-regulated water contaminants: emerging research. *Environ Impact Assess Rev*. 2004;**24**(7-8):711-732. **doi:** 10.1016/j.eiar.2004.06.003
7. Moore MN. Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environ Int*. 2006;**32**(8):967-976. **doi:** 10.1016/j.envint.2006.06.014 **pmid:** 16859745
8. de Mora S, Fowler SW, Wyse E, Azemard S. Distribution of heavy metals in marine bivalves, fish and coastal sediments in the Gulf and Gulf of Oman. *Mar Pollut Bull*. 2004;**49**(5-6):410-424. **doi:** 10.1016/j.marpolbul.2004.02.029 **pmid:** 15325209
9. Warheit DB, Laurence BR, Reed KL, Roach DH, Reynolds GA, Webb TR. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Toxicol Sci*. 2004;**77**(1):117-125. **doi:** 10.1093/toxsci/kfg228 **pmid:** 14514968
10. Midander K, Cronholm P, Karlsson HL, Elihn K, Moller L, Leygraf C, et al. Surface characteristics, copper release, and toxicity of nano- and micrometer-sized copper and copper(II) oxide particles: a cross-

disciplinary study. *Small*. 2009;**5**(3):389-399. **doi:** 10.1002/smll.200801220 **pmid:** 19148889
11. Bernhardt ES, Colman BP, Hochella MF, Jr., Cardinale BJ, Nisbet RM, Richardson CJ, et al. An ecological perspective on nanomaterial impacts in the environment. *J Environ Qual*. 2010;**39**(6):1954-1965. **doi:** 10.2134/jeq2009.0479 **pmid:** 21284292
12. Marambio-Jones C, Hoek EM. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J Nanopartic Res*. 2010;**12**(5):1531-1551. **doi:** 10.1007/s11051-010-9900-y
13. Roshanayi K, Razavian MH, Ahmadi R, Heydarieh N, Masaei Manesh MB. The effect of oral nano-silver on blood, hormonal and urinary factors of field rats, Wistar race. *J Qom Univ Med Sci*. 2012;**6**:65-70.
14. Durán N, Marcato PD, De Souza GI, Alves OL, Esposito E. Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment. *J Biomed Nanotechnol*. 2007;**3**(2):203-208. **doi:** 10.1166/jbn.2007.022
15. Perera S, Bhushan B, Bandara R, Rajapakse G, Rajapakse S, Bandara C. Morphological, antimicrobial, durability, and physical properties of untreated and treated textiles using silver-nanoparticles. *Colloid Surface Physicochem Engineer Aspect*. 2013;**436**:975-989. **doi:** 10.1016/j.colsurfa.2013.08.038
16. Navarro E, Piccapietra F, Wagner B, Marconi F, Kaegi R, Odzak N, et al. Toxicity of silver nanoparticles to Chlamydomonas reinhardtii. *Environ Sci Technol*. 2008;**42**(23):8959-8964. **doi:** 10.1021/es801785m **pmid:** 19192825
17. Tang J, Xiong L, Wang S, Wang J, Liu L, Li J, et al. Distribution, translocation and accumulation of silver nanoparticles in rats. *J Nanosci Nanotechnol*. 2009;**9**(8):4924-4932. **doi:** 10.1166/jnn.2009.1269 **pmid:** 19928170
18. McShan D, Ray PC, Yu H. Molecular toxicity mechanism of nanosilver. *J Food Drug Anal*. 2014;**22**(1):116-127. **doi:** 10.1016/j.jfda.2014.01.010 **pmid:** 24673909
19. Ratte HT. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: a review. *Environ Toxicol Chem*. 1999;**18**(1):89-108. **doi:** 10.1002/etc.5620180112
20. Kumar R, Howdle S, Munstedt H. Polyamide/silver antimicrobials: effect of filler types on the silver ion release. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;**75**(2):311-319. **doi:** 10.1002/jbm.b.30306 **pmid:** 16001422
21. Etemadzadeh M, The victim R, Hedayati AA, Hersij M, Kashiri H. Determination of lethal toxicity of silver nanoparticles on adult Daphnia magna. *J Aquatic Exploit Breed*. 2016;**5**(1):47-56.
22. Mohammadi Sh, Survey Moghanloo K, Atshiar B. Study of chronic effects of silver particles on growth, survival and reproductive characteristics of Artemia urmiana. *Sci J Fisher*. 2016;**4**:63-75.
23. Mashjur S, Alishahi M, Delafuli Dezfuli Z. Comparison of the toxicity of chemically and biologically produced silver nanoparticles on the stages of Napolius and adult Artemia franciscana. *J Animal Biol*. 2017;**9**(4):91-105.
24. Razmara P, Derafshan S, Peykan Hairati F, Talebi M, Ranjbar M. The effect of colloidal silver nanoparticles and water-soluble silver nitrate on tissue changes in the gills of the rainbow cat Pangasianodon hypophthalmus. *J Aquatic Ecol*. 2013;**3**(3):10-18.
25. Shirvani F, Arabi M, NooriDiziche A. Evaluation of oxidative stress biomarkers and acetylcholinesterase activity in Gammarus pseudosyriacus exposed to nanosilver. *J Pharmaceut Health Sci*. 2013;**2**(1):39-44.
26. Masouleh FF, Amiri BM, Mirvaghefi A, Ghafoori H, Madsen SS. Silver nanoparticles cause osmoregulatory impairment and oxidative stress in Caspian kutum (Rutilus kutum, Kamensky 1901). *Environ Monit Assess*. 2017;**189**(9):448. **doi:** 10.1007/s10661-017-6156-3 **pmid:** 28799136
27. Salari Joo H, Kalbasi MR, Johari SA. The effect of water salinity on the acute toxicity of colloidal silver nanoparticles in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *J Health Environ*. 2012;**5**(1):121-132.
28. Attaran A, Javanshir Lhoyi A, Islahnejad A, Lak R, Igdari S. Comparison of biosorption by (Gammarus sp.) And abiotic (sandy sediment) of cadmium on the Caspian coast. *Iran J Natur Resource*. 2015;**69**:791-802.
29. Azimi E, Hosseini SA, Trader M, Aslan Parviz H. The effect of replacing Gamarus powder with a part of Caspian Sea kilka powder on growth performance, feed conversion ratio and survival of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Iran J Fisher*. 2011;**20**(3):63-74.
30. Alonso A, De Lange HJ, Peeters ET. Contrasting sensitivities to toxicants of the freshwater amphipods Gammarus pulex and G. fossarum. *Ecotoxicology*. 2010;**19**(1):133-140. **doi:** 10.1007/s10646-009-0398-y **pmid:** 19697125
31. Handy RD, Henry TB, Scown TM, Johnston BD, Tyler CR. Manufactured nanoparticles: their uptake and effects on fish--a mechanistic analysis. *Ecotoxicology*. 2008;**17**(5):396-409. **doi:** 10.1007/s10646-008-0205-1 **pmid:** 18408995
32. Yilmaz M, Gul A, Karakose E. Investigation of acute toxicity and the effect of cadmium chloride (CdCl2 . H2O) metal salt on behavior of the guppy (Poecilia reticulata). *Chemosphere*. 2004;**56**(4):375-380. **doi:** 10.1016/j.chemosphere.2003.11.067 **pmid:** 15184000
33. Sadeghi F, Yousefnejad M, Mashjoor S. Toxicity of colloidal silver nanoparticles in Barnacle Amphibalanus Amphitrite larvae. *J Marine Biol*. 1396;**9**(33):1-10.
34. Zhao CM, Wang WX. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to Daphnia magna. *Environ Toxicol Chem*.

2011;**30**(4):885-892. **doi:** 10.1002/etc.451 **pmid:** 21191880
35. Wang WX, Fisher NS, Luoma SN. Kinetic determination of trace element bioaccumulation in the mussel Mytilus edulis. *Marine Ecol Progress Series*. 1996;**140**:11-91. **doi:** 10.3354/meps140091
36. Neuberger T, Schopf B, Hofmann H, Hofmann M, Von Rechenberg B. Superparamagnetic nanoparticles for biomedical application: possibilities and limitations of a new drug delivery system. *J Magnet Magnetic Material*. 2005;**293**(1):483-496. **doi:** 10.1016/j.jmmm.2005.01.064
37. Zhu X, Tian S, Cai Z. Toxicity assessment of iron oxide nanoparticles in zebrafish (Danio rerio) early life stages. *PLoS One*. 2012;**7**(9):e46286. **doi:** 10.1371/journal.pone.0046286 **pmid:** 23029464
38. Gambardella C, Mesaric T, Milivojevic T, Sepcic K, Gallus L, Carbone S, et al. Effects of selected metal oxide nanoparticles on Artemia salina larvae: evaluation of mortality and behavioural and biochemical responses. *Environ Monit Assess*. 2014;**186**(7):4249-4259. **doi:** 10.1007/s10661-014-3695-8 **pmid:** 24590232
39. Griffitt RJ, Hyndman K, Denslow ND, Barber DS. Sources fate and effects of engineered nanomaterials in the aquatic environment. *Toxicol Sci*. 2009;**107**:404-412.
40. Lee KJ, Nallathamby PD, Browning LM, Osgood CJ, Xu XH. In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. *ACS Nano*. 2007;**1**(2):133-143. **doi:** 10.1021/nn700048y **pmid:** 19122772
41. Yeo MK, Kang MS. Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebrafish embryogenesis. *Bullet Korea Chem Soc*. 2008;**29**(6):1179-1184. **doi:** 10.5012/bkcs.2008.29.6.1179
42. Bilberg K, Hovgaard MB, Besenbacher F, Baatrup E. In Vivo Toxicity of Silver Nanoparticles and Silver Ions in Zebrafish (Danio rerio). *J Toxicol*. 2012;**2012**:293784. **doi:** 10.1155/2012/293784 **pmid:** 22174711
43. Manfra L, Savorelli F, Pisapia M, Magaletti E, Cicero AM. Long-term lethal toxicity test with the crustacean Artemia franciscana. *J Vis Exp*. 2012(62). **doi:** 10.3791/3790 **pmid:** 22525984
44. Alishahi M, Mesbah M, Gorbanpoor M. Study of nanosilver toxicity if four species of fish. *Int J Iran Veterinar*. 2009;**7**:37-42.
45. Soltani M, Torabzadeh N, Soltani A. Toxicity of nano silver suspension (nanocide in Rainbow trout). The first International Congress on Aquatic Animal Health Management and Disease2009.
46. Falugi C, Aluigi MG, Chiantore MC, Privitera D, Ramoino P, Gatti MA, et al. Toxicity of metal oxide nanoparticles in immune cells of the sea urchin. *Mar Environ Res*. 2012;**76**:114-121. **doi:** 10.1016/j.marenvres.2011.10.003 **pmid:** 22104963
47. Al-Weher SM. Levels of heavy metal Cd, Cu and Zn in three fish species collected from the Northern Jordan Valley, Jordan. *Jordan J Biol*. 2008;**1**(1):41-46.
48. TRC. OECD Guideline for testing if chemical, Section 2, Effects on biotic systems. OECD1984.

AUTHOR(S) BIOSKETCHES

Behnezhad, A., Master Student, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.
behnezhad_a@yahoo.com

Kardel F. Assistant Prof, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
f.kardel@umz.ac.ir

Taghavi Jelodar H. Assistant Prof, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
H.Taghavi@umz.ac.ir

Omidzahir, Sh. Associate Prof, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
sh.omidzahir@umz.ac.ir

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Citation (Vancouver) *Behnezhad A, Kardel F, Taghavi Jelodar H, Omidzahir Sh. Assessing lethal concentration 50 (LC50) of silver nanoparticles and its comparison with silver nitrate in Caspian Sea gammarus (Pontogammarus maeoticus). J Oceanography. 2021; 12(45): 76-85.*

http://doi.org/10.12345/joc.12.45.75
http://joc.inio.ac.ir/article-1-1471-fa.html
https://orcid.org/0000-0002-8311-5238

COPYRIGHTS

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.