



University of Tehran

Journal of Fisheries

Home Page: <https://jfisheries.ut.ac.ir>

Online ISSN: 2423-7809

Application of nanosilver coated filters for controlling Fungal infections during embryo development in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*): survival rate and amount of silver accumulation in larvae

Ashkan Banan^{1*} | Mohammad Reza Kalbassi² | Mahmoud Bahmani³ | Mohammadali Yazdani Sadati⁴

1. Corresponding author, Department of Fisheries and Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran. Email: banan.a@lu.ac.ir
2. Breeding and Rearing of Aquatics Department, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran. Email: kalbassi_m@modares.ac.ir
3. Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. Email: mahmoudbahmani@ymail.com
4. International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. Email: yazdani@sturgeon.ir

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article History:

Received: 11 October 2024

Revised: 21 October 2024

Accepted: 29 May 2025

Published online: 08 July 2025

Keywords:

Bioaccumulation,
Fertilized egg,
Ghareh boroun,
Nanoparticulated silver,
Saprolegnia,
Water filter.

ABSTRACT

In this research, silver nanoparticles [AgNPs] were immobilized on zeolite and silica grains as a filtration substrate to control the fungal infection during the incubation period of Persian sturgeon embryos, and the amount of silver accumulation in produced larvae, its effect on survival, and weight of the larvae until the yolk-sac absorption stage were investigated. In each incubator that was fed by a filter, 750 eggs were placed in three replicates of 250. Filters containing 0.2, 0.5 and 1 percent of AgNPs in two states without agent and with aminopropyltriethoxysilane [APTES] coupling agent along with the control (without filter) were the treatments investigated in this research. The measurement of silver concentrations in larvae obtained from the treatment of 0.5 and 1 percent AgNP at the end of the study period showed that the amount of silver accumulation in the 1percent AgNP filter without APTES was significantly higher than the 0.5 percent filters. However, the amount of measured silver was low and did not cause visible external effects in the larvae. Also, in the treatment of 1 percent AgNP-APTES filter, the survival percentage of larvae up to the yolk-sac absorption stage showed a significant increase compared to the control filter treatment.

Cite this article: Banan, A., Kalbassi, M.R., Bahmani, M., Yazdani Sadati, M.A. (2025). Application of nanosilver coated filters for controlling Fungal infections during embryo development in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*): survival rate and amount of silver accumulation in larvae. *Journal of Fisheries*, 78 (2), 91-106. DOI:<http://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.383541.1443>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.383541.1443>



دانشگاه تهران

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

سایت نشریه: <https://jfisheries.ut.ac.ir>

شاپا الکترونیکی: ۷۸۰۹-۲۴۲۳

نقش فیلترهای حاوی نانوذرات نقره در کنترل عفونت قارچی دوره تکامل جنینی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*): نرخ زنده‌مانی و میزان تجمع نقره در لاروها

اشکان بنان^{۱*} | محمدرضا کلباسی^۲ | محمود بهمنی^۳ | محمدعلی یزدانی ساداتی^۴

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی شیلات و محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران. رایانامه: banan.a@lu.ac.ir

۲. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران. رایانامه: kalbassi_m@modares.ac.ir

۳. مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: mahmoudbahmani@ymail.com

۴. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران. رایانامه: yazdani@sturgeon.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۴/۱۷

در این پژوهش، تثبیت نانوذرات نقره (Silver Nanoparticles [AgNPs]) روی دانه‌های زئولیت و سیلیس به‌عنوان بستر فیلتراسیون در کنترل عفونت قارچی دوران انکوباسیون جنین تاسماهی ایرانی صورت گرفت و میزان تجمع نقره در لاروهای تولیدی، اثر آن بر بازماندگی و وزن لاروها تا مرحله جذب کیسه زرده مورد بررسی قرار گرفت. در هر انکوباتور مورد استفاده که توسط یک فیلتر تغذیه می‌شد، تعداد ۷۵۰ تخم در سه تکرار ۲۵۰ تایی قرار داده شد. فیلترهای محتوی ۰/۲، ۰/۵ و ۱ درصد نانوذرات نقره در دو حالت بدون عامل و دارای عامل جفت‌شونده آمینوپروپیل تری‌اتوکسی سیلان به‌همراه شاهد (بدون فیلتر)، تیمارهای مورد بررسی در پژوهش حاضر بودند. سنجش غلظت نقره در لاروهای حاصل از تیمار فیلترهای ۰/۵ و ۱ درصد وزنی نانوذرات نقره در پایان دوره مطالعه نشان داد که میزان تجمع نقره در فیلتر ۱ درصد بدون عامل به‌طور معنی‌داری بالاتر از فیلترهای ۰/۵ درصد است. هرچند میزان نقره سنجش شده کم بود و منجر به ایجاد عوارض خارجی قابل مشاهده در لاروها نگردید. همچنین، در تیمار فیلترهای ۱ درصد عامل‌دار، درصد بازماندگی لاروها تا مرحله جذب کیسه زرده، به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار فیلتر شاهد، افزایش نشان دادند.

کلیدواژه:

تجمع زیستی،

تخم لقاح‌یافته،

ساپرولگنیا،

فیلتر آب،

قره‌برون،

نانوذره نقره.

استاد: بنان؛ اشکان، کلباسی؛ محمدرضا، بهمنی؛ محمود، یزدانی ساداتی؛ محمدعلی (۱۴۰۴). نقش فیلترهای حاوی نانوذرات نقره در کنترل عفونت قارچی دوره تکامل جنینی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۸ (۲)، ۹۱-۱۰۶. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.383541.1443>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2024.383541.1443>



۱. مقدمه

تاسماهیان، گونه‌های ارزشمندی از ماهیان با اهمیت بالای زیست‌شناختی و اقتصادی تلقی می‌گردند. بیش از ۸۰ درصد گونه‌های موجود تاسماهیان به دلایل مختلفی از جمله سن بلوغ بالا، صید بیش از حد، تخریب و آلودگی زیستگاه و بسترهای تخم‌ریزی در خطر انقراض اند (Cinulli et al., 2020). از این‌رو، پرورش تاسماهیان فعالانه در سرتاسر جهان در حال توسعه و رشد است، موضوعی که نقش اساسی در بازسازی جمعیت‌های طبیعی و تولید گوشت و نیز خاویار دارد (Anokhina et al., 2023). براساس آمارهای سازمان خواروبار جهانی، میزان تولید کل آبی‌پروری تاسماهیان و پاروپوزه‌ها به حدود ۱۴۳ هزار تن در سال ۲۰۲۱ رسیده است (FAO, 2024). به دلیل محدودیت منابع آبزیان دریاها و اقیانوس‌ها، پرورش آبزیان به‌ویژه در دهه‌های اخیر به تدریج جایگزین صید و صیادی برای تأمین منابع پروتئین دریایی گردیده است، از این‌رو بدون شک یکی از راه‌های موفقیت در صنعت آبی‌پروری در آینده، پیشگیری از بیماری‌های آبزیان خواهد بود که هم اکنون بزرگترین عامل ضرر و زیان در صنعت پرورش آبزیان به‌شمار می‌آیند. از این‌رو بهینه‌سازی فرآیند پرورش تاسماهیان به‌عنوان یکی از مناسب‌ترین گزینه‌های آبی‌پروری کشور حائز اهمیت است (Banan et al., 2011). این عقیده وجود دارد که تاسماهیان از دیدگاه مقایسه‌ای با دیگر گونه‌های ماهیان مقاومت بالاتری در مقابل بیماری‌ها دارند (Radosavljevic et al., 2019)، اما کپک یا قارچ آبی ساپروولگنیا، آسیب بزرگی را در طی انکوباسیون تخم تاسماهیان ایجاد می‌نماید (Ghiasi et al., 2010). در راستای مبارزه با آسیب و خسارت این منبع، مطالعات مختلف نشان داده‌اند که کاربرد ترکیبات شیمیایی ضدعفونی کننده می‌تواند اثرات نامطلوبی بر محیط‌زیست و موجود پرورشی داشته باشد (Johari et al., 2016). به‌عنوان مثال، مالاشیت‌گرین، ترکیب مؤثری در کنترل عفونت‌های قارچی در ماهیان و تخم آنها تلقی می‌گردد، با این حال، آن را ترکیبی سرطان‌زا، جهش‌زا و عامل ناهنجاری‌های جنینی می‌دانند (Pottinger, 1999). فرمالین، ترکیب ضدقارچ ثبت شده دیگری است ولی در کنترل عفونت‌های قارچی در ماهیان چندان مؤثر نیست (Bruno and Wood, 1999). کاربرد سایر عوامل قارچ‌کش نظیر ازون، پراکسید هیدروژن، کلراید سدیم، یدوفور و مس نیز پیشنهاد شده است (Rach et al., 1998; Forneris et al., 2003). به‌طوری‌که از زمان ممنوعیت استفاده از مالاشیت‌گرین در مبارزه علیه ساپروولگنیا، روش و اقدام با تأثیر زیاد در کنترل و مبارزه با این آلودگی در آبی‌پروری ارائه نشده است (Anokhina et al., 2023). بنابراین، لزوم بررسی راهبردهای نوین کنترل اینگونه عفونت‌ها احساس می‌گردد. از سال‌ها پیش نقره فلزی و یون نقره، به‌خاطر فعالیت ضدقارچی و ضدباکتریایی قوی، مورد توجه بوده‌اند (Frei et al., 2023). طی دهه گذشته، مواد ضد باکتری و ضد قارچ متنوع از ترکیبات نقره توسعه یافته‌اند و برخی از آنها به‌صورت تجاری استفاده می‌گردند (Kawahara et al., 2000; Shahverdi et al., 2007; Wang et al., 2007). در بین فلزات ضد میکروبی مختلف، نقره علیه طیف وسیع‌تری از میکروارگانیسم‌ها عمل می‌کند و از ایمنی بالاتری نیز برخوردار است (Cho et al., 2005; Mohan et al., 2007). یکی از ترکیبات جدید ضد میکروبی نقره، نانو ذرات نقره اند که در پژوهش‌های مختلف خاصیت مؤثر آن علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها و قارچ‌ها شناخته شده است (Singh et al., 2009; Murr, 2008; Sanupi et al., 2008). در تمامی این مطالعات نشان داده شده که کاهش اندازه نقره فلزی به ابعاد نانو (۱ تا ۱۰۰ نانومتر) باعث افزایش تأثیر ضد میکروبی این ذرات می‌شود. دلیل این موضوع افزایش چند برابری سطح تماس نانوذرات با دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها، نسبت به ابعاد بزرگتر نقره فلزی است (Kim, Li et al., 2023). و همکاران (۲۰۰۹) مکانیزم ضدقارچی نانوذرات نقره را اختلال در غشای سلول و ممانعت در فرآیند معمول جوانه‌زدن از طریق از بین بردن یکپارچگی غشا عنوان نمودند. یکی از ویژگی‌های خاص نانو مواد و از جمله نانو ذرات نقره، قابلیت مخلوط شدن آسان آنها با سایر مواد و نیز پوشش‌دهی مؤثر روی سطوح مختلف است. این خاصیت نانو ذرات نقره آنها را به گزینه‌ای مناسب برای تصفیه آب از طریق پوشش‌دهی روی بسترهای مختلف و استفاده در سیستم‌های فیلتراسیون آب تبدیل کرده است (Smith, 2008; Lv et al., 2009; Phong et al., 2009). در صورتی که پوشش‌دهی نانو ذرات روی سطوح مناسب و با روشی صحیح صورت پذیرد، رهایش آنها از سطوح مذکور تدریجی و در نتیجه خاصیت ضد میکروبی آنها طولانی‌تر خواهد بود (Lv et al., 2009; Soloviev and Gedanken, 2011).

تحقیقات متعددی روی تولید فیلترهای حاوی نانوذرات نقره پوشش یافته روی بسترهای مختلف صورت گرفته است (Lv et al., 2009; Johari et al., 2016; Sarkheil et al., 2016; Torres-Flores et al., 2021). در این خصوص استفاده از ژئولیت و کربن فعال، ژئومیک و فوم پلی‌ارتان مطرح شده‌اند (Johari, 2012). مواد دارای ترکیبات نانوساختار، دیدگاه عملکردی مواد مورد استفاده در حوزه‌های مختلف را تغییر داده‌اند. ژئولیت و سیلیس به‌عنوان قالب یا محیطی برای سنتز نانوذرات استفاده شده‌اند و از این منظر به‌طور قابل توجهی رشد کرده‌اند و استفاده از آنها برای تولید نانومواد افزایش یافته و پایداری بیشتری برای آنها نیز فراهم شده است. ظرفیت تبادل یونی به این معنی است که این آلومینوسیلیکات‌ها برای سنتز و تثبیت مواد نانوساختار بسیار جذاب هستند (Torres-Flores et al., 2021). سیلیس از ساختار ایده‌آلی برای ترکیب ذرات ریزنقره و عمل پوشش دادن برخوردار است. مزیت دیگر آن بی‌حرکتی نانوذرات نقره در ساختار سیلیس و

محدود کردن رهایش آنها است. برای به حداقل رساندن رهایش نانوذرات در این بررسی از عامل جفت شونده آمینوسیلان (3-aminopropyltriethoxysilane [APTES]) به عنوان یک پل ارتباطی استفاده می گردد که در میان ترکیباتی با این ویژگی فاقد سمیت است. یک انتهای مولکول آمینوسیلان از طریق پیوند Si-O-Si به بستر و انتهای دیگر به نانوذرات نقره از دیگر پیوند N-Ag متصل می گردد (Lv et al., 2009). از سوی دیگر، با وجود تمام مزایای ذکر شده برای نانو ذرات نقره در بحث بهداشت و سلامت، خطری که استفاده از این نانوذرات ممکن است در پی داشته باشد، آلودگی ناشی از رهایش آنها از انواع محصولات ساخته شده و نیز آلودگی ناشی از کارخانه های ساخت این محصولات است. در رابطه با صنعت آبی پروری نیز، رهایش پساب محتوی نانوذرات نقره به منابع آبی، علاوه بر اینکه احتمالاً می تواند تأثیرات مستقیمی بر آبی پرورشی داشته باشد، می تواند باعث تجمع احتمالی در بدن آبزیان شده و از این طریق، به طور غیرمستقیم مصرف کنندگان آبزیان را در معرض خطر قرار دهد. در نتیجه در این مطالعه سعی بر آن است تا با توجه به اهمیت توسعه آبی پروری تاسماهیان دریچه خزر و محدودیت های موجود در زمینه تکثیر آنها، بحث استفاده از فیلترهای حاوی نانوذرات نقره که از پتانسیل مناسبی برای مبارزه با آفت عمده دوران انکوباسیون تخم این ماهیان ارزشمند؛ قارچ ها، برخوردار است و قبلاً نیز به صورت موفقیت آمیزی در خصوص ماهی قزل آلا و رنگین کمان (Johari et al., 2016)، ماهی آزاد دریای خزر (Hosseini, 2012)، ماهی زینتی گورخری (Zarrinmehr, 2014) و میگوی وانامی (Sarkheil et al., 2016) بکار گرفته شده است، مورد بررسی قرار گیرد. هدف تحقیق حاضر، ایجاد بستری با خاصیت ضدقارچی بالا و نرخ رهایش پایین نقره از طریق بکار بردن عامل جفت شونده آمینوسیلان (APTES) به عنوان یک پل ارتباطی بود. در این مطالعه، میزان تجمع نقره در لاروهای تولیدی، بازماندگی و وزن آنها تا مرحله جذب کیسه زرده مورد سنجش قرار گرفت (Kawahara et al., 2000; Shahverdi et al., 2007; Wang et al., 2007).

۲. روش شناسی پژوهش

۲-۱. فیلترهای محتوی نانوذرات نقره

۲-۱-۱. دستورالعمل آماده سازی زئولیت و سیلیس برای پوشش دادن با نقره

۲-۱-۱-۱. فعال کردن سطح بسترها

به ازای هر ۱۰۰ گرم بستر ۵۰ میلی لیتر HCl ۶ مولار برداشته و به مدت ۲۴ ساعت نمونه در میرد جوشانده شد، سپس حلال تخلیه و با آب چند مرتبه شستشو گردید و یک بار دیگر نیز با استن شسته شد و سپس در دمای ۶۰-۸۰ درجه سانتی گراد به مدت یک شبانه روز خشک گردید.

۲-۱-۱-۲. آمین دار کردن زئولیت و سیلیس

به ازای ۲۰ گرم نمونه مقدار ۵ میلی مول از ترکیب APTES به ۲۰ میلی لیتر تولوئن اضافه و در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت حرارت داده شد. بعد از انجام آزمایش، تولوئن قدیمی تخلیه و چند بار با تولوئن تازه شستشو و سپس در هوا خشک گردید (Qu et al., 2011).

۲-۱-۱-۳. نشاندن نقره روی زئولیت و سیلیس آمین دار شده

یک میلی مول از نیترات نقره در ۲۵ سی سی آب حل شده (در بطری تاریک) و سپس نمونه آماده شده به آن اضافه گردید. سپس به مدت حداقل ۲ ساعت با هم مخلوط شده و پس از صاف کردن چند مرتبه با آب شستشو داده شد. همچنین ۴ میلی مول از NaBH_4 در ۵ سی سی آب حل شده و در مدت ۵ ثانیه به صورت یکنواخت به بالنی که در آن نمونه آمین دار و ۳۰ سی سی آب وجود داشت اضافه گردید (Lee et al., 2007). سپس به مدت یک روز مخلوط، صاف گردید و پس از چندبار شستشو در آب مقطر در دمای حدود ۵۰ درجه سانتی گراد خشک گردید.

۲-۲. روش های سنجش نانومواد

جهت بررسی نحوه پوشش دهی و تعیین درصد و ویژگی های نانوذرات پوشش داده شده روی بسترهای مختلف زئولیت و سیلیس، خصوصیات این مواد توسط روش های مختلف به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۲-۱. میکروسکوپ الکترونی پیمایشگر (SEM)

برای اندازه گیری نانوذرات نقره پوشش داده شده روی بسترهای سیلیس و زئولیت از تصاویر میکروسکوپ الکترونی پیمایشگر استفاده گردید.

بدین منظور ابتدا دانه‌های سیلیس و زئولیت محتوی نانوذرات نقره و فاقد این نانوذرات روی پایه‌های مخصوص چسبانده شد و توسط دستگاه Sputter coater ساخت شرکت Kyky مدل SBC12 با طلا پوشش داده شدند. سپس نمونه‌های آماده شده در دستگاه SEM ساخت شرکت Kyky مدل EM3200 قرار داده شد و تصویربرداری از نمونه‌ها انجام گردید. در تصاویر با بزرگنمایی ۱۰ هزار برابر، قطر ذرات موجود به وسیله نرم افزار Digimizer ver.4.1.1.0 اندازه‌گیری شد و جدول فراوانی آن توسط نرم افزار Minitab 16 رسم گردید.

۲-۲-۲. طیف‌سنج مادون قرمز (FT-IR)

طیف سنج مادون قرمز یکی از روش‌های متداول است که برای شناسایی گروه‌های عاملی مواد مورد استفاده قرار می‌گیرد، نمونه‌ها پس از پودر شدن در هاون به آزمایشگاه انتقال داده شد و به وسیله دستگاه (FTIR, Shimadzu 8400s) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

۲-۳. استفاده از فیلترهای محتوی نانوذرات نقره به منظور کنترل عفونت ناشی از قارچ ساپروولکنیا در مراحل انکوباسیون تخم تاسماهی ایرانی

۲-۳-۱. گونه مورد مطالعه، نحوه تکثیر مصنوعی مولدین و شرایط نگهداری تخم‌ها در انکوباتور

مولدین تاسماهی ایرانی بکار رفته در مطالعه حاضر از ساحل جنوبی دریای خزر و به طور خاص از صیدگاه‌های محدوده بهشهر (استان مازندران) صید شد و به مرکز شهید رجایی منتقل شدند. پرورش و نگهداری مولدین در حوضچه‌های بتنی حاوی آب با دمای $18 \pm 1/5$ سانتی‌گراد و pH ۷/۶ تا ۷/۹ صورت گرفت. جهت القاء رسیدگی جنسی از تزریق عضلانی هورمون سنتتیک گنادوتروپینی ($LHRH-A_2$) به میزان ۵ تا ۱۰ $\mu\text{g/kg}$ میکروگرم بر کیلوگرم بهره گرفته شد (Aramli et al., 2014). استحصال تخم و اسپرم از مولدین رسیده و لقاح به روش Amini و همکاران (۲۰۱۲) صورت گرفت. تخم‌های لقاح‌یافته بعد از رفع چسبندگی و جذب آب به سینی‌های انکوباتور منتقل شدند.

۲-۳-۲. آماده‌سازی مکان انجام آزمایش

این بخش از مطالعه در کارگاه تکثیر و پرورش تاسماهیان مرکز تکثیر، پرورش و بازسازی ذخایر آبزیان شهید رجایی (ساری، مازندران) انجام پذیرفت و از انکوباتورهای یوشچنکو موجود در سوله تکثیر جهت سپری نمودن دوره انکوباسیون استفاده گردید. برای آماده‌سازی مکان مورد نظر، ابتدا سبدها و کلیه سطوح انکوباتورهای مورد استفاده با آب نمک ضدعفونی و شستشو شدند.

۲-۳-۲-۱. نحوه ساخت و استقرار فیلترها در سیستم انکوباسیون تاسماهی ایرانی

مشخصات فیلترهای مورد استفاده در تحقیق حاضر در جدول ۱ به طور خلاصه ارائه شده است.

جدول ۱- مشخصات فیلترهای مورد استفاده در تحقیق

تیمارها	مشخصات	
	دوز نانو ذرات نقره (درصد)	استفاده از APTES
۱	۰	-
۲	۰/۲	-
۳	۰/۵	-
۴	۱	-
۵	۰/۲	+
۶	۰/۵	+
۷	۱	+

نوع بستر مورد استفاده در تمامی فیلترها، زئولیت و سیلیس می‌باشد.

به منظور کاربرد بسترهای پوشش‌یافته با نانونقره در سیستم انکوباسیون از پوسته‌های استوانه‌ای پلی‌وینیل کلراید استفاده گردید که دارای یک ورودی و خروجی هستند (ابعاد پوسته استوانه‌ای: ۴۸ (ارتفاع) $\times$ ۶ (قطر) سانتی‌متر). در فیلترها قطعه‌ای ابر به صورت لوله‌ای در بالای فیلتر قرار گرفت، سپس از بسترهای پوشش‌یافته با نانوذرات نقره (زئولیت و سیلیس حاوی درصدی وزنی مختلف نانونقره) استفاده گردید و

^۱ Luteinizing Hormone-Releasing Hormone-A₂

در انتها از ژئولیت به عنوان جاذب بهره گرفته شد. هر یک از بسترها به میزان ۱۰۰ گرم در توری‌های نخی با چشمه ۱ میلی‌متری ریخته شدند. نصب فیلترها در مسیر ورودی آب انکوباتورها در کارگاه تکثیر صورت گرفت. آب مورد استفاده سوله تکثیر مخلوطی از آب رودخانه و چاه مرکز بود. پمپاژ آب در مجموعه انکوباسیون با دبی حدود ۹ لیتر در دقیقه به صورت flow-through صورت گرفت. آب از یک طرف فیلتر وارد و از طرف دیگر آن خارج شد، بدین ترتیب نیروی لازم جهت حرکت اهرم‌های انکوباتور یوشچنکو فراهم شد و از این‌رو سیستم طراحی شده تفاوتی با روال رایج در سالن‌های انکوباسیون تاسماهیان نداشت. در هر انکوباتور مورد استفاده که توسط یک فیلتر تغذیه می‌شد، تعداد ۷۵۰ تخم در سه تکرار ۲۵۰ تایی قرار داده شد. طی ۱۲ ساعت ابتدایی پس از لقاح، تخم‌هایی که لقاح نیافتند، جمع‌آوری و در محاسبات بازماندگی مراحل انکوباسیون لحاظ نگردیدند. با بررسی و مشاهده دقیق سینی‌های انکوباتورها به‌طور روزانه، تخم‌های قارچ زده جمع‌آوری و تعداد آنها ثبت گردید. درصد بازماندگی تا مرحله تفریخ و تا مرحله جذب کیسه زرده محاسبه گردید (Alinezhad et al., 2020). میزان ناهنجاری‌های ظاهری و بدشکلی‌هایی از قبیل پیچ‌خوردگی ستون فقرات، ناهنجاری در سر، چشم و غیره نیز تا پایان مرحله جذب کیسه زرده بررسی گردید. وزن نهایی لاروهای باقیمانده نیز بعد از جذب کیسه زرده مورد سنجش قرار گرفت.

۲-۲-۳-۲. نحوه آلوده‌سازی تخم‌ها در انکوباسیون با قارچ ساپروولگنیا

در طی دوره انکوباسیون، به‌منظور آلوده‌سازی آب انکوباتورها، از تخم‌های آلوده به قارچ ساپروولگنیا استفاده گردید. برای تولید تخم‌های قارچ زده، ابتدا ۵ میلی‌لیتر از حجم غلیظ قارچ خالص‌سازی شده، با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل رقیق گردید (به‌طوری‌که در هر میلی‌لیتر از آب ارلن، ۱۰^۳ زئوسپور قارچ تلقیح گردد)؛ سپس از حجم رقیق شده برای آلوده‌سازی ۴۵ عدد تخم سالم تاسماهی در ارلن مایرهای ۱۵۰ میلی‌لیتری استفاده گردید. پس از ۲ روز انکوباسیون در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد، سطح تخم‌ها با رشته‌های قارچ پوشیده شد (Johari, 2012). از روز دوم پس از لقاح تا زمان تفریخ تخم‌ها (مجموعاً به‌مدت ۳ روز متوالی)، ۱۵ عدد تخم قارچ‌زده به هر سینی انکوباتور اضافه گردید (۴۵ تخم در هر انکوباتور).

۲-۳-۲-۳. نمونه‌برداری

جهت سنجش میزان نقره رهایش یافته از فیلترها در طی دوره انکوباسیون، ۱۲، ۴۸ و ۹۶ ساعت بعد از لقاح، نمونه‌برداری از آب انکوباتورها با استفاده از ظروف شیشه‌ای تیره‌رنگ ۶۰ میلی‌لیتری صورت گرفت. نمونه‌ها بلافاصله با استفاده از اسید نیتریک خالص فیکس شدند، بدین‌صورت که با اضافه کردن اسید نیتریک، pH نمونه‌ها به کمتر از ۲ رسانده شد (جهت کاهش رسوب و جذب نقره روی سطح دیواره ظروف نگهداری). نمونه‌ها بعد از فیکس شدن به آزمایشگاه انتقال یافتند و میزان نقره توسط دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی مجهز به کوره گرافیتی سنجش گردیدند. جهت سنجش تجمع احتمالی ترکیبات نقره در بدن لاروها، در پایان دوره انکوباسیون از تیمار بهینه و تیمار فیلتر ۰/۵ درصد، نمونه‌برداری صورت گرفت. از دستگاه طیف‌سنج نشری نوری با پلاسمای جفت شده القایی (ICP-OES) برای سنجش میزان تجمع استفاده شد (Varian 720-ES ICP-OES, Agilent Technologies).

۲-۴. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت مقایسه داده‌های کارایی فیلترها و تجمع زیستی نقره، ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk و همگنی واریانس‌ها به‌وسیله آزمون Leven بررسی گردید. پس از برقراری شروط فوق، با آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) وجود تفاوت معنی‌دار در داده‌های به‌دست آمده در سطح احتمال ۵ درصد بررسی گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey استفاده شد.

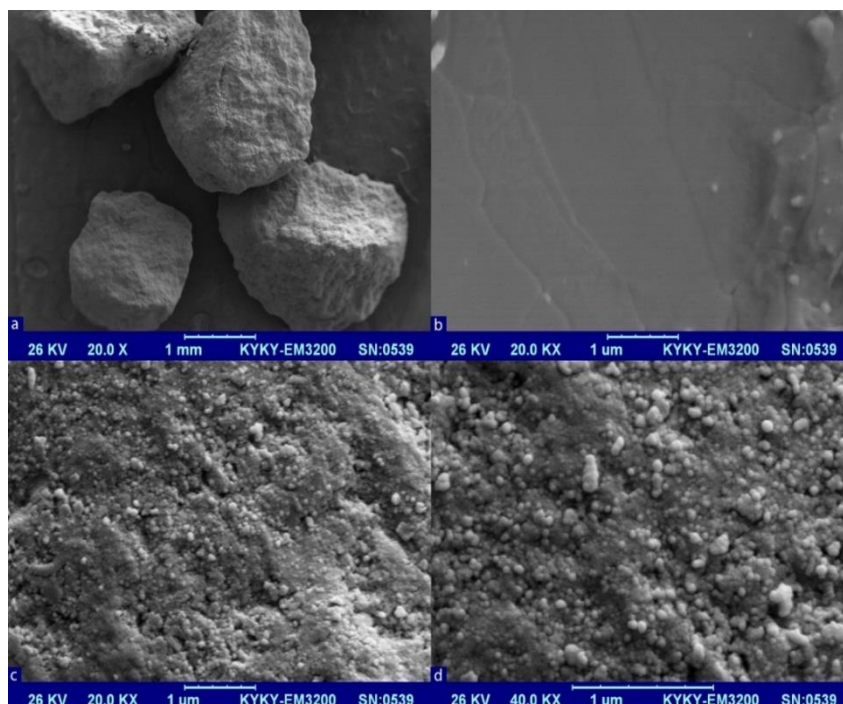
۳. یافته‌های پژوهش

۳-۱. ویژگی‌های بسترهای پوشش یافته با نانوذرات نقره

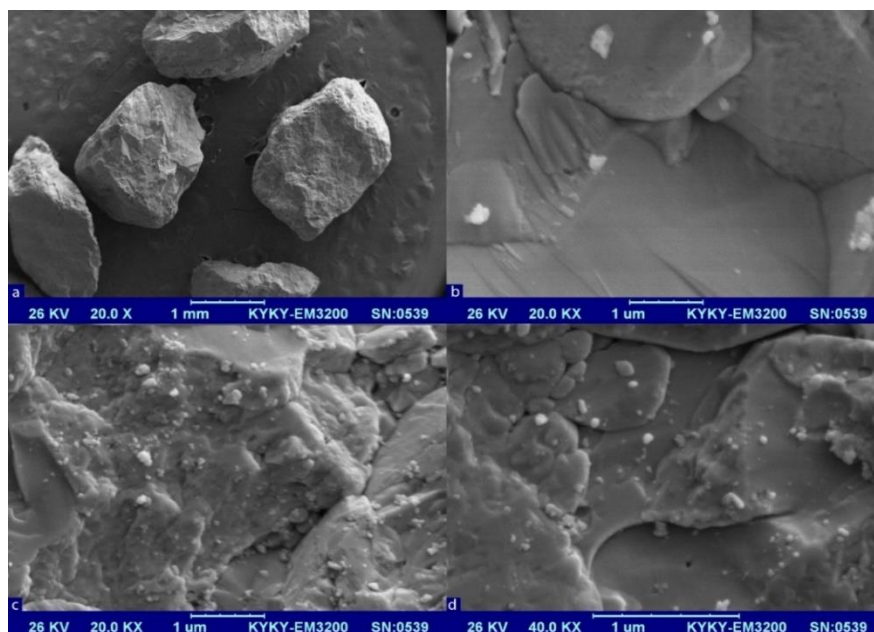
بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی پیمایشی (شکل‌های ۱ و ۲) مشخص شد که نانوذرات نقره پوشش یافته روی بسترهای ژئولیت و سیلیس دارای شکل کروی‌اند. بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین قطر ذره اندازه‌گیری شده در تصاویر برای بستر ژئولیت به‌ترتیب ۱۲۷/۷۱ و ۲۲/۹۷ نانومتر و برای بستر سیلیس نیز به‌ترتیب ۱۳۹/۲ و ۲۲/۲ نانومتر محاسبه گردید. همچنین تنها ۱/۳۵ درصد از ذرات نقره برای ژئولیت و ۳/۳۲ درصد برای سیلیس بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر بودند. ۷۶/۱ درصد از نانوذرات نقره پوشش یافته روی ژئولیت بین ۳۰ تا ۶۰ نانومتر و ۶۰/۲۹ درصد از

^۱ Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry

ذرات نقره پوشش یافته روی سیلیس بین ۴۰ تا ۷۰ نانومتر قطر داشتند.

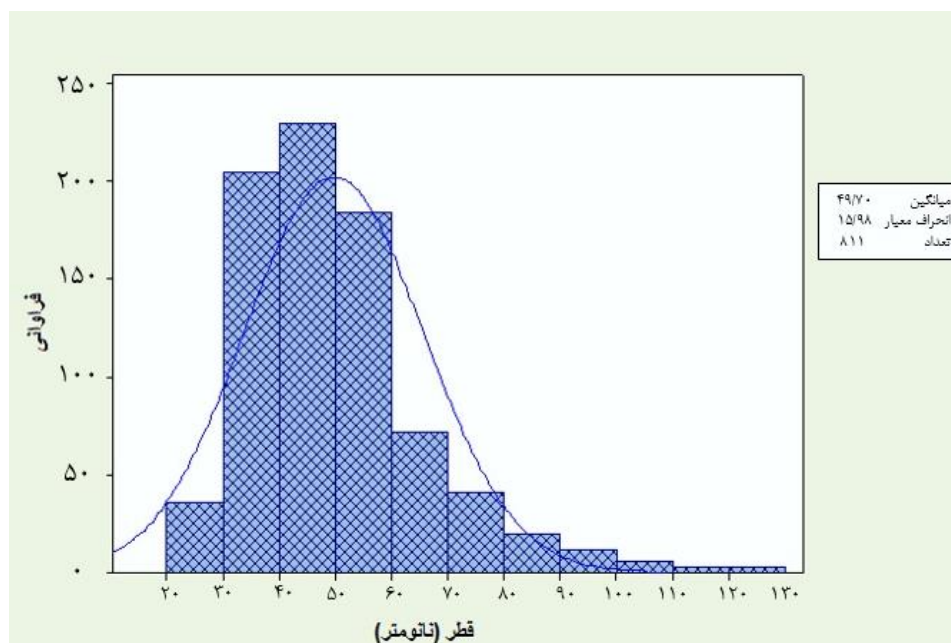


شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی پیمایشگر زئولیت (a) زئولیت معمولی با بزرگنمایی ۲۰ برابر، (b) زئولیت شاهد با بزرگنمایی ۲۰۰۰۰ برابر، (c) زئولیت پوشش داده شده با نانوذرات نقره با بزرگنمایی ۲۰۰۰۰ برابر، (d) زئولیت پوشش داده شده با نانوذرات نقره با بزرگنمایی ۴۰۰۰۰ برابر.

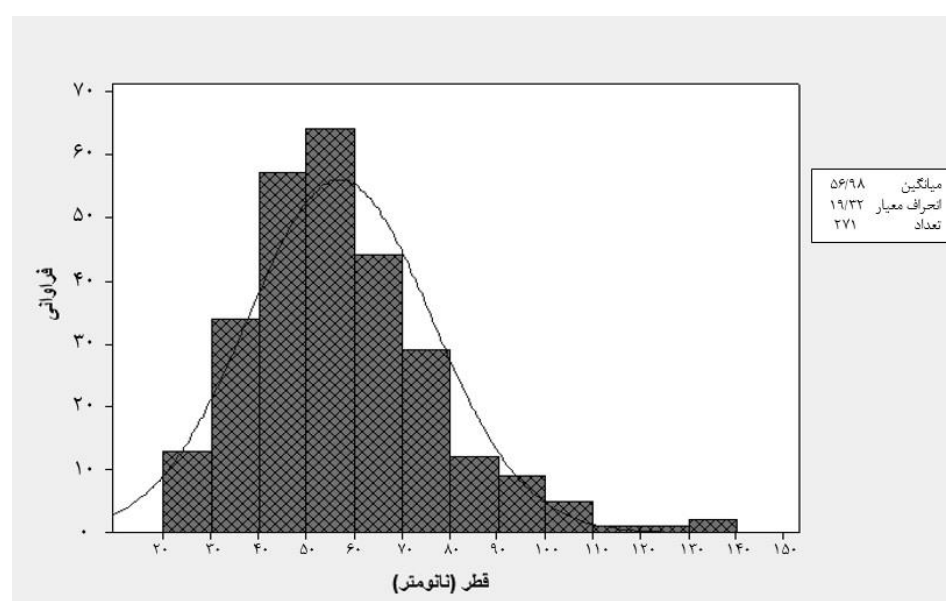


شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی پیمایشگر سیلیس (a) سیلیس معمولی با بزرگنمایی ۲۰ برابر، (b) سیلیس شاهد با بزرگنمایی ۲۰۰۰۰ برابر، (c) سیلیس پوشش داده شده با نانوذرات نقره با بزرگنمایی ۲۰۰۰۰ برابر، (d) سیلیس پوشش داده شده با نانوذرات نقره با بزرگنمایی ۴۰۰۰۰ برابر.

همچنین نانوذرات نقره پوشش یافته روی زئولیت دارای میانگین قطر و انحراف معیار قطر به ترتیب ۴۹/۷۲ و ۱۵/۹۷ نانومتر و روی سیلیس به ترتیب ۵۶/۹۷ و ۱۹/۳۲ نانومتر بودند (شکل های ۳ و ۴).

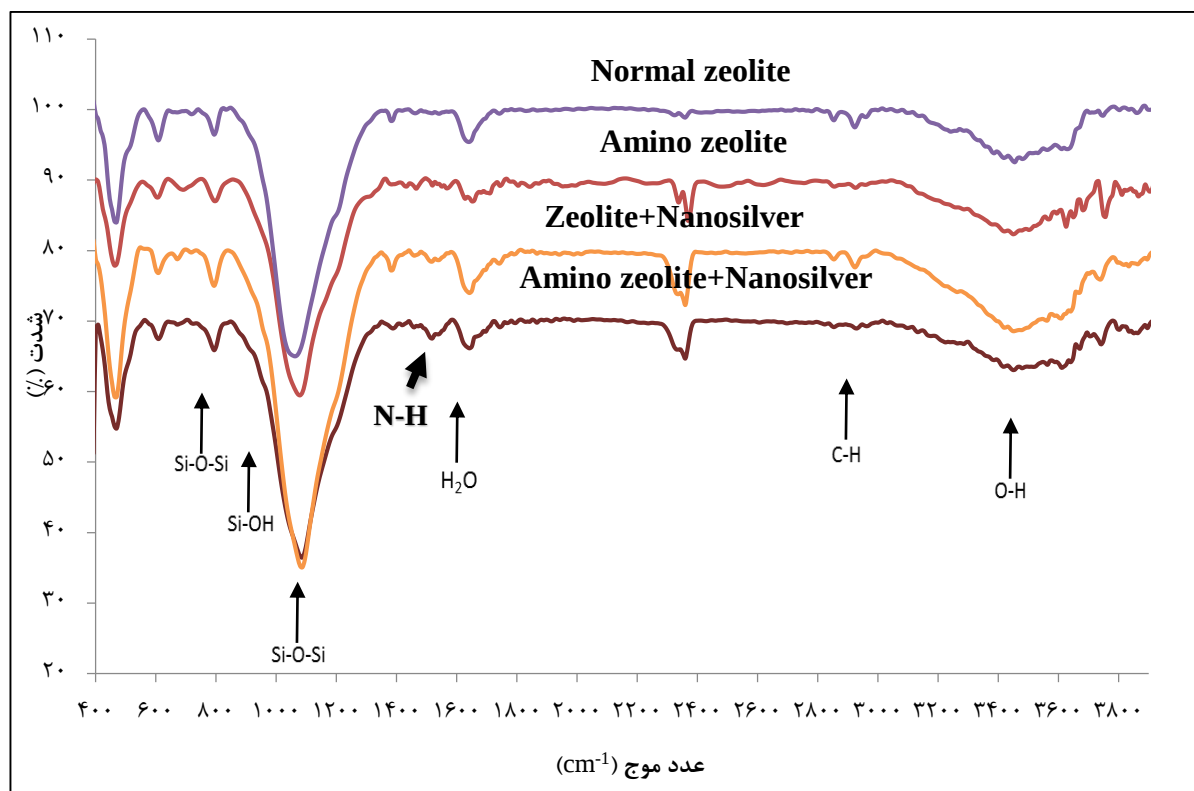


شکل ۳- توزیع فراوانی اندازه ذرات نقره پوشش یافته روی سطح زئولیت

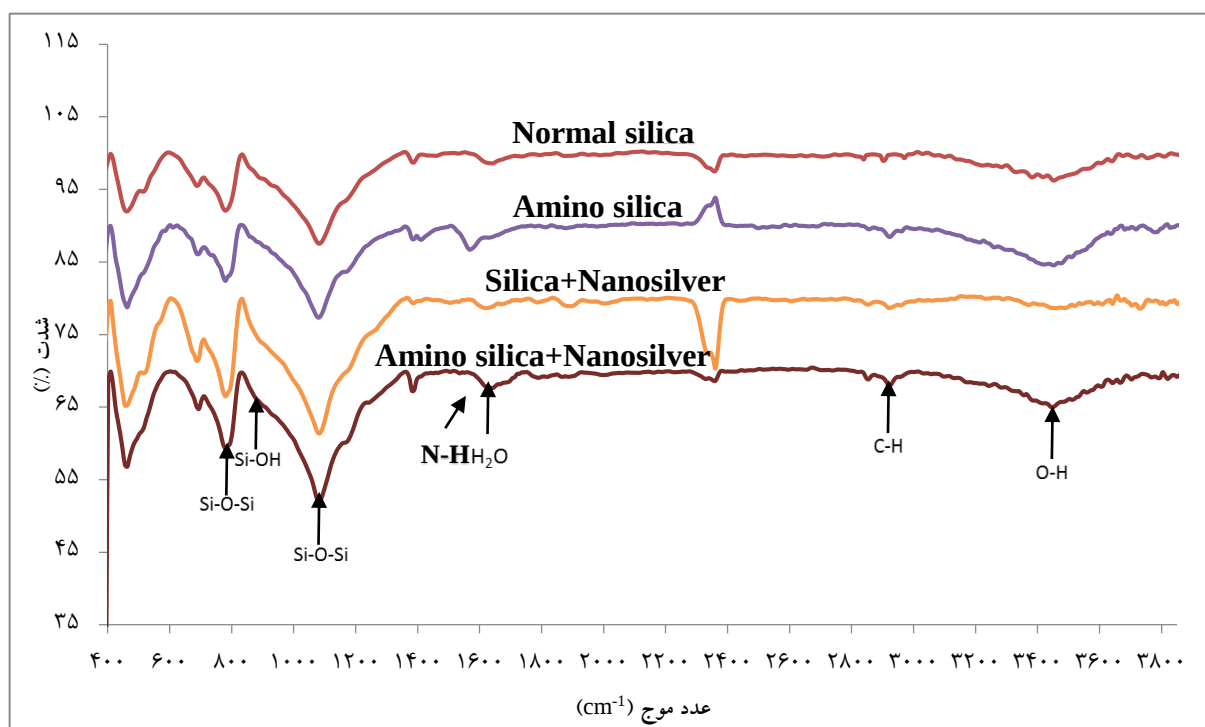


شکل ۴- توزیع فراوانی اندازه ذرات نقره پوشش یافته روی سطح سیلیس

آنالیز FTIR نشان دهنده گروه‌های عاملی و تأییدکننده روند آمین دار کردن بسترها ست. طیف حاضر در نمودارهای ۱ و ۲ برای بسترهای زئولیت و سیلیس پیک‌هایی را در طول موج ۸۰۰، ۹۵۰، ۱۱۰۰، ۱۶۳۰ و 3430 cm^{-1} نشان می‌دهند. پهنای باند در عدد موج 3430 cm^{-1} مربوط به ارتعاش‌های مختلف O-H است. این پیوند روی سطح گروه سیلانول قرار دارد (Pereira et al., 2011). پیوندی که در محل 1630 cm^{-1} وجود دارد اختصاص به مولکول H_2O دارد. این‌ها مولکول‌هایی هستند که در داخل حفرات قرار گرفته‌اند و به بستر سیلیس متصل اند. باندهای شدیدی که در محدوده ۸۰۰ و 1100 cm^{-1} دیده می‌شوند، به ترتیب مربوط به پیوند کشیده و خمیده Si-O-Si است.



نمودار ۱- طیف FTIR نمونه‌های گروه شاهد (ژئولیت معمولی)، ژئولیت عامل‌دار شده، ژئولیت پوشش یافته با نانوذرات نقره بدون عامل آمینی، ژئولیت عامل‌دار شده و پوشش یافته با نانوذرات نقره.



نمودار ۲- طیف FTIR نمونه‌های گروه شاهد (سیلیس معمولی)، سیلیس عامل‌دار شده، سیلیس پوشش یافته با نانوذرات نقره بدون عامل آمینی، سیلیس عامل‌دار شده و پوشش یافته با نانوذرات نقره.

باندی که در محدوده 950 cm^{-1} وجود دارد مربوط به ارتعاش Si-OH است. کاهش شدت این باند بعد از عامل‌دار شدن نشان‌دهنده فشرده شدن گروه سیلان از پل سیلوکسان است. باندی که در 2973 cm^{-1} و 1389 cm^{-1} مشخص است مربوط به ارتعاشات کشیده و خمیده پیوند C-H در رادیکال‌های ۳-آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان است. در طیف 1541 cm^{-1} – 1595 cm^{-1} پیک مربوط به N-H آمینوپروپیل مشخص است (Pereira et al., 2011).

۲-۳. بررسی کارایی فیلترهای محتوی نانوقره در سیستم انکوباسیون تاسماهی ایرانی

طی دوره انکوباسیون تخم‌ها، ویژگی‌های کیفی آب در دامنه مطلوب برای ماهی تاسماهی ایرانی بود، میانگین دما، اکسیژن محلول و pH در این مدت به ترتیب $18/7 \pm 0/8$ ، $9/15 \pm 0/9$ و $8/05 \pm 0/1$ اندازه‌گیری شد؛ برخی ویژگی‌های شیمیایی آب در جدول ۱ ارائه گردیده است. در این دوره، تقریباً از روز سوم بعد از لقاح، عفونت قارچی در تمامی تیمارها به استثناء فیلترهای محتوی ۱ درصد نانوذرات نقره مشاهده گردید. کلونی‌های قارچ به صورت توده‌های پنبه مانند به رنگ سفید در سطح تخم‌ها قابل مشاهده بود که سبب چسبیدن تخم‌های سالم مجاور به یکدیگر و نهایتاً مرگ آنها نیز شد. در ۴۸ ساعت ابتدایی انکوباسیون که منطبق بر رشدونمو جنینی تا پیش از مرحله شروع نورولاسیون بود، علی‌رغم شروع آلوده‌سازی آب انکوباتورها، عفونت قارچی در هیچ یک از تیمارهای مورد بررسی مشاهده نشد.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های شیمیایی آب کارگاه تکثیر مرکز شهید رجایی

شاخص شیمیایی	سختی کل	کلسیم	منیزیم	سدیم	کلراید	ماده آلی کل
مقدار (میلی گرم بر لیتر)	۱۷۰	۶۴/۷	۱۹/۴	۳۴/۳	۷۵/۱	۱۲/۵۶

نمودارهای ۳ و ۴ نشان می‌دهند که در تیمار فیلترهای ۱ در صد عامل‌دار، در صدهای تفریخ و بازماندگی لاروها تا مرحله جذب کیسه زرده، به طور معنی‌داری نسبت به تیمار فیلتر شاهد، افزایش نشان دادند ($P < 0/05$).

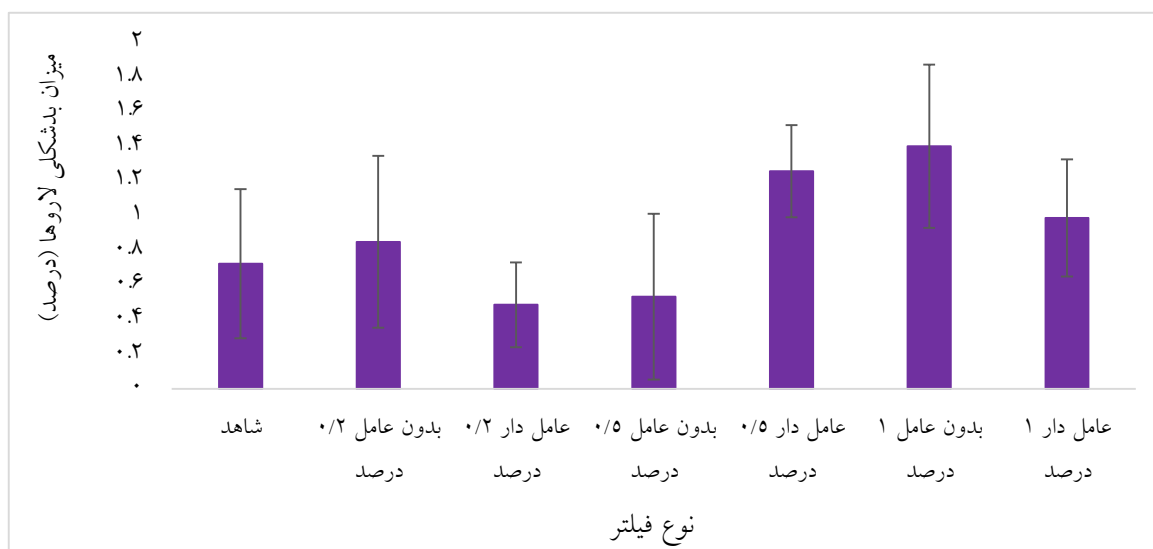
نمودار ۵ نیز نشان می‌دهد که در بین تیمارهای مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری در میزان بدشکلی لاروهای تفریخ شده وجود ندارد ($P > 0/05$). اندازه‌گیری وزن نهایی لاروها در پایان دوره مطالعه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمار فیلتر شاهد و تیمار ۱ درصد عامل دار وجود ندارد (نمودار ۶، $P > 0/05$).



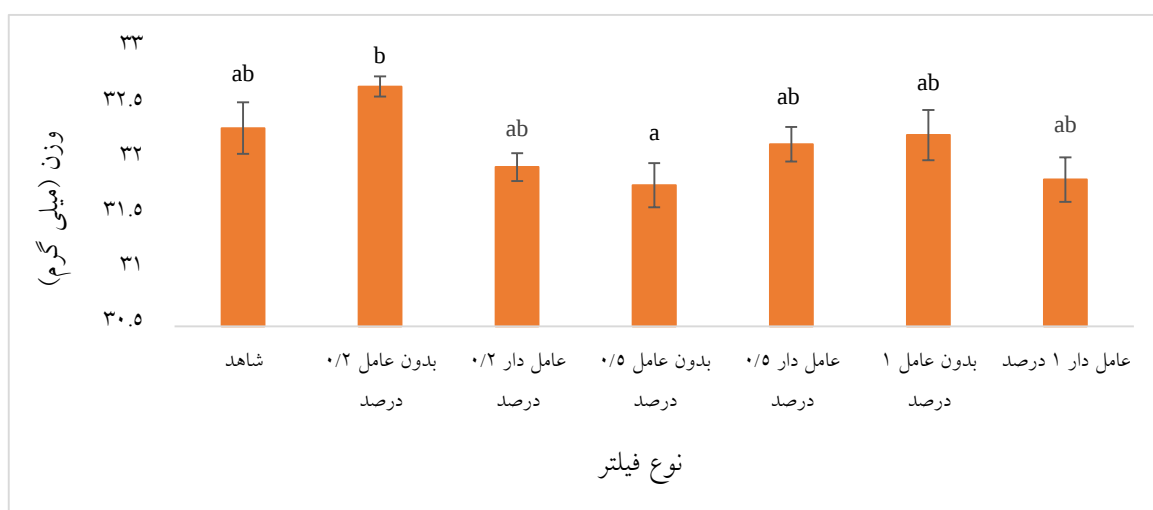
نمودار ۳- میزان تفریخ جنین‌ها در فیلترهای مختلف



نمودار ۴- میزان بازماندگی لاروها تا مرحله جذب کیسه زرده در فیلترهای مختلف



نمودار ۵- میزان بدشکلی لاروهای حاصل از فیلترهای مختلف



نمودار ۶- وزن لاروهای حاصل از فیلترهای مختلف پس از جذب کیسه زرده

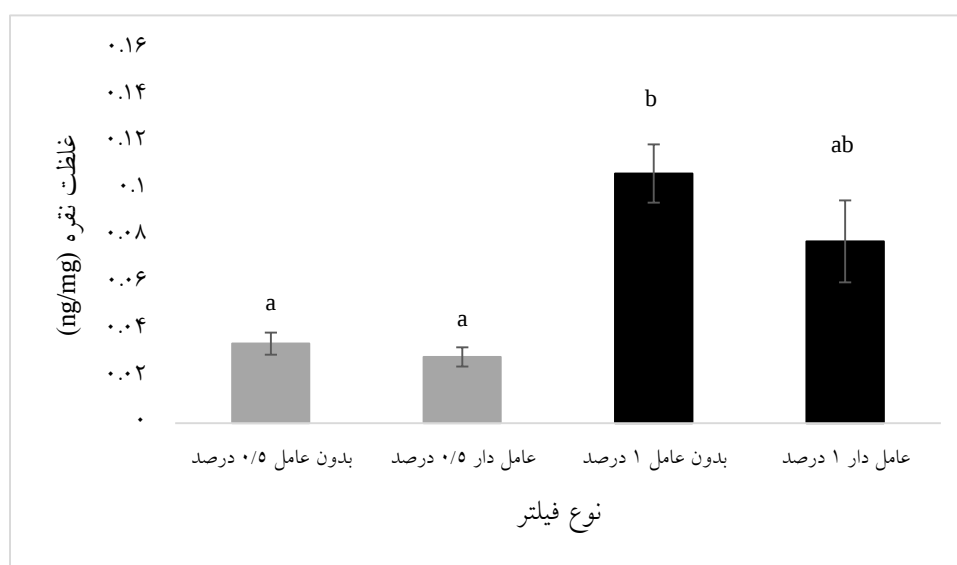
نتایج حاصل از سنجش میزان رهائش نقره از فیلترهای مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است. تجزیه آماری مقادیر اندازه‌گیری شده نقره در پایان ۱۲ ساعت ابتدایی شروع انکوباسیون نشان می‌دهد که میزان رهائش نقره در آب، در تیمارهای فیلترهای ۱ درصد بدون عامل و عامل‌دار به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر فیلترهای محتوی نانوذرات نقره بود ($P < 0.05$). این روند در زمان‌های بعدی نمونه‌برداری (۴۸ و ۹۶ ساعت) نیز تکرار شد با این تفاوت که میزان رهائش تنها در تیمار فیلتر ۱ درصد عامل‌دار به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$). این در حالی است که در بررسی نمونه‌های آب فیلتر شاهد، رهائش نقره ثبت نشد. بررسی میزان رهائش نقره از هر یک از فیلترها به‌طور جداگانه در طول این بازه زمانی بیانگر کاهش معنی‌دار آن بعد از گذشت ۴۸ ساعت بود ($P < 0.05$).

سنجش غلظت نقره در لاروهای حاصل از تیمار فیلترهای ۰/۵ و ۱ درصد وزنی نانوذرات نقره در پایان دوره مطالعه نشان داد که میزان تجمع نقره در فیلتر ۱ درصد بدون عامل (0.11 ± 0.01 نانوگرم بر میلی‌گرم) به‌طور معنی‌داری بالاتر از فیلترهای ۰/۵ درصد بود (عامل‌دار: 0.03 ± 0.004 و بدون عامل: 0.03 ± 0.005 نانوگرم بر میلی‌گرم) ($P < 0.05$). هرچند میزان نقره سنجش شده کم بود و منجر به ایجاد عوارض خارجی قابل مشاهده در لاروها نگردید (نمودار ۷).

جدول ۲- میانگین رهائش نقره در آب سیستم‌های انکوباسیون در ساعت‌های ۱۲، ۴۸ و ۹۶ پس از لقاح

فیلتر مورد استفاده	میانگین غلظت نقره (میکروگرم/لیتر)	ساعت ۱۲	ساعت ۴۸	ساعت ۹۶
شاهد				
۰/۲ درصد بدون عامل	$1.77 \pm 0.43^a, A$	$0.61 \pm 0.19^a, A$	$0.72 \pm 0.08^a, A$	
۰/۲ درصد عامل‌دار	$2.44 \pm 0.66^a, B$	$0.92 \pm 0.13^a, A$	$0.55 \pm 0.03^a, A$	
۰/۵ درصد بدون عامل	$3.05 \pm 0.54^a, B$	$0.96 \pm 0.09^a, A$	$0.89 \pm 0.25^a, A$	
۰/۵ درصد عامل‌دار	$5.32 \pm 0.81^a, B$	$1.02 \pm 0.16^a, A$	$0.84 \pm 0.07^a, A$	
۱ درصد بدون عامل	$16.21 \pm 1.13^b, B$	$2.13 \pm 0.97^a, A$	$1.56 \pm 0.25^a, A$	
۱ درصد عامل‌دار	$14.47 \pm 2.73^b, B$	$7.84 \pm 1.46^b, A$	$5.92 \pm 1.88^b, A$	

در هر سطر میانگین‌های دارای حروف بالانویس بزرگ متفاوت، با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$)؛ در هر ستون میانگین‌های دارای حروف بالانویس کوچک متفاوت، با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).



نمودار ۷- میزان نقره موجود در بدن لاروهای پرورش یافته در فیلترهای ۰/۵ و ۱ درصد وزنی نانوذرات نقره

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

این پژوهش با هدف کاربرد فیلترهای حاوی نانوذرات نقره جهت مبارزه با قارچ ساپروولگنیا طی دوران انکوباسیون جنین تاسماهی ایرانی *A. persicus* انجام گرفت. نتایج آزمون‌های تعیین ویژگی بسترهای ایجاد شده نشان داد که براساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی پیمایشی استخراج شده از این بسترها (شکل‌های ۱ و ۲)، به‌ترتیب حدود ۹۸/۶ درصد و ۹۶/۷ درصد ذرات نقره سنتز شده روی زئولیت و سیلیس در محدوده ۱ تا ۱۰۰ نانومتر قرار داشتند که مطابق تعاریف موجود فناوری در محدوده نانومواد بود. میانگین قطر اندازه ذرات نقره برای بستر زئولیت ۴۹/۷ و برای بستر سیلیس ۵۶/۹۸ نانومتر اندازه‌گیری گردید. این ذرات دارای شکل کروی بودند و به‌صورت یکنواخت روی بسترها سنتز شدند، که با نتایج Lv و همکاران (۲۰۰۹)، Johari و همکاران (۲۰۱۶)، Sarkheil و همکاران (۲۰۱۶) و Torres-Flores و همکاران (۲۰۲۱) نیز مطابقت داشت.

در نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز، باندی که در $2880-2973\text{ cm}^{-1}$ و $1389-1472\text{ cm}^{-1}$ مشخص است مربوط به ارتعاشات کشیده و خمیده پیوند C-H در رادیکال‌های ۳-آمینوپروپیل تری‌اتوکسی‌سیلان است. همچنین در طیف $1541-1595\text{ cm}^{-1}$ پیک مربوط به N-H آمینوپروپیل مشخص است (Pereira et al., 2011). نمایش این پیوندها نشان‌دهنده اتصال موفقیت‌آمیز گروه آمینی روی بستر سیلیس و زئولیت است که یافته‌های Bae و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد.

رهایش نقره از فیلترها یکی از عوامل مهم در فیلتراسیون آب است که نه تنها بر کارایی ضد میکروبی و مدت زمان قابل استفاده فیلترها تأثیر دارد بلکه بر کیفیت آب نیز موثر است. با توجه به اینکه نقره رهایش یافته در آب می‌تواند اثرات مخربی بر سلامتی انسان و سایر موجودات زنده داشته باشد، میزان رهایش آن باید زیر حد مجاز و کنترل گردد (Drake et al., 2005). آژانس حفاظت محیط‌زیست آمریکا (US EPA) و سازمان بهداشت جهانی (WHO) سطح مجاز آلودگی آب آشامیدنی با نقره را کمتر از ۰/۱ ppm وضع نموده‌اند. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه از سطح فوق‌تبعیت می‌کند؛ به‌طوری‌که میزان رهایش نقره در تیمار بهینه (۱ درصد وزنی-اسمی) و نیز سایر تیمارها بسیار کمتر از ۰/۱ میلی گرم در لیتر بود که با نتایج مطالعه Zarrinmehr (۲۰۱۴) و Quang (۲۰۱۳) مطابقت دارد. Johari و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که در تیمار بهینه (۰/۵ درصد وزنی-اسمی) میزان رهایش نقره کمتر از حد مجاز است، اما در تیمار ۱ درصد وزنی-اسمی که منجر به تلفات ۱۰۰ درصدی گردید این میزان بالاتر از حد مجاز بود. موفقیت فعالیت آبی‌پروری وابستگی مستقیم به تولید موفق تفریخگاه و عملکرد مناسب در شاخص‌هایی نظیر نرخ لقاح، تفریخ و بازماندگی دارد (Ashaf-Ud-Doulah et al., 2021). در پژوهش حاضر، فیلترهای محتوی ۱ درصد وزنی-اسمی نانوذرات نقره عامل‌دار شده توانستند علاوه بر کنترل کامل عفونت قارچی باعث افزایش کارایی تکثیر در گونه تاسماهی ایرانی، افزایش معنی‌دار درصد تفریخ و درصد بازماندگی لاروهای حاصل گردند. در ارتباط با رهایش نقره از بسترها، در نمونه‌برداری‌های بعد از ۴۸ و ۹۶ ساعت، میزان رهایش تنها در تیمار فیلتر ۱ درصد عامل‌دار به‌طور معنی‌داری بیشتر بود که دلیل آن را می‌توان عملکرد عامل جفت‌شونده آمینی و رهایش تدریجی نقره در طول زمان دانست. حال آنکه در تیمار بدون عامل، با رهایش یکباره و سریع‌تر یون نقره، این شاخص کاهش داشت. همچنین، بررسی میزان رهایش نقره از هر یک از فیلترها به‌طور جداگانه در طول این بازه زمانی بیانگر ثبات نسبی میزان رهایش نقره بعد از ۴۸ و ۹۶ ساعت بود که با نتایج Sarkheil و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت داشت. به‌طوری‌که نشان دادند روند نسبتاً ثابتی از رهایش نقره پس از روز اول در فیلترهای حاوی بسترهای سیلیس پوشش یافته با نانوذرات نقره، آمینوسیلان و مرکاپتوسیلان وجود داشته است.

شاخص حائز اهمیت بعدی در زمینه کارایی فیلترها، نتایج تجمع زیستی نقره در لاروهای حاصل از دوره انکوباسیون است؛ به‌طوری‌که افزایش میزان تجمع می‌تواند سبب بروز اختلال در سیستم دفاعی شود (Wu and Zhou, 2012). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که علی‌رغم افزایش معنی‌دار تجمع نقره در لاروهای پرورش یافته در تیمار ۱ درصد وزنی-اسمی بودن عامل در مقایسه با تیمارهای ۰/۵ درصد وزنی-اسمی، درصد بدشکلی یا میانگین وزنی لاروهای حاصل در این تیمار با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. Sarkheil و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان دادند که بسترهای پوشش یافته با نانوذرات نقره و عامل جفت‌شونده تأثیر معنی‌داری بر وزن میگوی وانامی در مقایسه با میگوهای تیمار شاهد ندارد. از طرف دیگر، میزان نقره در بدن آبریان بالاتر از حد مجاز بود، هرچند سطوح بالاتر آن در تاسماهیانی که در محیط طبیعی زیست می‌کنند، یافت شده است (Jarić et al., 2011). حد مجاز نقره از نظر بهداشت و تغذیه انسان، روزانه ۱/۸ تا ۸۰ میلی گرم تعیین شده است (Kowalska et al., 2020). همچنین، Banan و همکاران (۲۰۱۶)، غلظت کشنده میانی ۹۶ ساعته کلونید نانوذرات نقره در جنین‌های کیسه زرده‌دار تاسماهی ایرانی را ۰/۱۶۳ میلی گرم در لیتر محاسبه و گزارش نمودند که با در نظر گرفتن حداکثر میزان رهایش نقره روی داده

^۱ United States Environmental Protection Agency

^۲ World Health Organization

از فیلترها در پژوهش حاضر، عدم ایجاد تفاوت معنی‌دار در وقایع بدشکلی لاروهای حاصل و سطوح بسیار پایین و طبیعی آن از یک‌سو و بازماندگی بهتر لاروها در تیمارهای دارای فیلتر قابل توجه است.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کاربرد بسترهای پوشش یافته با نانوذرات نقره جهت کنترل عفونت قارچی ساپروولگنیا به خوبی عمل می‌کند و نرخ تفریح و میزان بازماندگی لاروهای حاصل در تیمارهای دارای فیلتر پوشش یافته با نانوذرات در مقایسه با تیمار شاهد بهبود یافت. از این‌رو، استفاده از بسترهای پوشش یافته با نانوذرات نقره به همراه عامل جفت شونده APTES، می‌تواند به عنوان عامل ضدقارچی کارآمدی در صنعت آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گیرد. هرچند، کاربردی شدن این فیلترها نیازمند بررسی بیشتر اثرات نامطلوب نانوذرات رهایش یافته از آنها در بازه زمانی طولانی‌تر و در ابعاد میکروسکوپی و ژنومیک است.

References

- Alinezhad, S., Abdollahpour, H., Jafari, N., Falahatkar, B., 2020. Effects of thyroxine immersion on Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) embryos and larvae: Variations in thyroid hormone levels during development. *Aquaculture* 519, 734745. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734745
- Aramli, M.S., Nazari, R.M., 2014. Motility and fertility of cryopreserved semen in Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, stored for 30–60 min after thawing. *Cryobiology* 69(3), 500-502. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2014.10.006
- Amini, K., Siraj, S.S., Mojazi Amiri, B., Mirhashemi Rostami, S.A., Sharr, A., Hossienzadeh, H., 2012. Evaluation of LHRH-a acute release implantation on final maturation and spawning in not-fully matured broodstocks of Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 11(3), 440-459. DORL: 20.1001.1.15622916.2012.11.3.1.1
- Anokhina, E.P., Tolkacheva, A.A., Pryakhina, N.A., Syromyatnikov, M.Y., Korneeva, O.S., 2023. Isolation and identification of *Saprolegnia* spp. from infected sturgeon caviar. *Acta Biologica Sibirica* 9, 13-21. DOI: 10.5281/zenodo.7679902
- Ashaf-Ud-Doula, M., Islam, S.M., Zahangir, M.M., Islam, M.S., Brown, C., Shahjahan, M., 2021. Increased water temperature interrupts embryonic and larval development of Indian major carp rohu *Labeo rohita*. *Aquaculture International* 29, 711-722. DOI: 10.1007/s10499-021-00649-x
- Bae E, Lee BC, Kim Y, Choi K, Yi J., 2013. Effect of agglomeration of silver nanoparticle on nanotoxicity depression. *Korean Journal of Chemical Engineering* 30(2), 364-368. DOI: 10.1007/s11814-012-0155-4
- Banan, A., Kalbassi, M.R., Bahmani, M. and Sadati, M.Y., 2011. Effects of colored light and tank color on growth indices and some physiological parameters of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology* 27(2), 565-570. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2011.01682.x
- Banan, A., Kalbassi Masjed Shahi, M.R., Bahmani, M., Yazdani Sadati, M.A., 2016. Toxicity assessment of silver nanoparticles in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and starry sturgeon (*Acipenser stellatus*) during early life stages. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 10139-10144. DOI: 10.1007/s11356-016-6239-7
- Bruno, D.W., Wood, B.P., 1999. *Saprolegnia* and other Oomycetes. In: Woo, P. T. K., Bruno, D.W. (editors), *Fish Diseases and Disorders. Viral, Bacterial and Fungal Infections*, Vol. 3. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, United Kingdom, 930 p.
- Cho, K.H., Park, J.E., Osaka, T., Park, S.G., 2005. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta* 51(5), 956-960. DOI: 10.1016/j.electacta.2005.04.071
- Ciulli, S., Volpe, E., Sirri, R., Tura, G., Errani, F., Zamperin, G., Toffan, A., Silvi, M., Renzi, A., Abbadi, M. and Biasini, L., 2020. Multifactorial causes of chronic mortality in juvenile sturgeon (*Huso huso*). *Animals* 10(10), 1866. DOI: 10.3390/ani10101866
- Drake, P.L., Hazelwood, K.J., 2005. Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. *The Annals of Occupational Hygiene* 49, 575-585. DOI: 10.1093/annhyg/mei019
- Food and Agriculture Organization (FAO), 2024. *FAO Yearbook of Fishery and Aquaculture Statistics 2021* (Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Department).

- Forneris, G., Bellardi, S., Palmegiano, G.B., Saroglia, M., Sicuro, B., Gasco, L., Zoccarato, I., 2003. The use of ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence. *Aquaculture* 221, 157-166. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00518-5
- Frei, A., Verderosa, A.D., Elliott, A.G., Zuegg, J., Blaskovich, M.A., 2023. Metals to combat antimicrobial resistance. *Nature Reviews Chemistry* 7(3), 202-224. DOI: 10.1038/s41570-023-00463-4
- Ghiasi, M., Khosravi, A.R., Soltani, M., Binaii, M., Shokri, H., Tootian, Z., Rostamibashman, M., Ebrahimzademousavi, H., 2010. Characterization of Saprolegnia isolates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) eggs based on physiological and molecular data. *Journal de Mycologie Médicale* 20(1), 1-7. DOI: 10.1016/j.mycmed.2009.11.005
- Hosseini, S.Z., 2012. Effect of filter containing different levels of silver nanoparticles on reduction of egg fungal infections in semirecirculator incubation system of caspian trout (*Salmo trutta caspius*). Master of Science Thesis. Tarbiat Modares University. IRAN. (In Persian)
- Jarić, I. Višnjić-Jeftić, Ž. Cvijanović, G. Gačić, Z. Jovanović, L. Skorić, S., Lenhardt, M. 2011. Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube River in Serbia by ICP-OES. *Microchemical Journal* 98, 77-81. DOI: 10.1016/j.microc.2010.11.008
- Johari, S.A., 2012. Application of silver nanoparticles for reduction of fungal infections during egg incubation period and possible effects of their release on the alterations of some genomic and physiological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). PhD Dissertation. Tarbiat Modares University. IRAN. (In Persian)
- Johari, S.A., Kalbassi, M.R., Soltani, M., Yu, I.J., 2016. Application of nanosilver-coated zeolite as water filter media for fungal disinfection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. *Aquaculture International* 24, 23-38. DOI: 10.1007/s10499-015-9906-7
- Kawahara, K., Tsuruda, K., Morishita, M., Uchida, M., 2000. Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. *Dental Materials* 16(6), 452-455. DOI: 10.1016/S0109-5641(00)00050-6
- Kim, K.J., Sung, W.S., Suh, B.K., Moon, S.K., Choi, J.S., Kim, J.G., Lee, D.G., 2009. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. *Biometals* 22(2), 235-242. DOI: 10.1007/s10534-008-9159-2
- Kowalska, G., Pankiewicz, U. and Kowalski, R., 2020. Determination of the level of selected elements in canned meat and fish and risk assessment for consumer health. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2020(1), 2148794. DOI: 10.1155/2020/2148794
- Lee, K.J., Nallathamby, P.D., Browning, L.M., Osgood, C.J., Xu, X., 2007. *In vivo* imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of Zebrafish embryos. *ACS Nano* 1(2), 133-143. DOI: 10.1021/nn700048y
- Li, H., You, Q., Feng, X., Zheng, C., Zeng, X., Xu, H., 2023. Effective treatment of *Staphylococcus aureus* infection with silver nanoparticles and silver ions. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 80, 104165. DOI: 10.1016/j.jddst.2023.104165
- Lv, Y., Liu, H., Wang Z., Liu, S., Hao, L., Sang, Y., Liu, D., Wang, J., Boughton, R.I., 2009. Silver nanoparticle-decorated porous ceramic composite for water treatment. *Journal of Membrane Science* 331(1-2), 50-60. DOI: 10.1016/j.memsci.2009.01.007
- Mohan, Y.M., Lee, K., Premkumar, T., Geckeler, K.E., 2007. Hydrogel networks as nanoreactors: A novel approach to silver nanoparticles for antibacterial applications. *Polymer* 48(1), 158-164. DOI: 10.1016/j.polymer.2006.10.045
- Murr, L.E., 2009. Nanoparticulate materials in antiquity: The good, the bad and the ugly. *Materials Characterization* 60(4), 261-270. DOI: 10.1016/j.matchar.2008.03.012
- Pereira, C., Silva, J.F., Pereira, A.M., Araújo, J. P., Blanco, G., Pintado, J. M., Freire, C., 2011. Hybrid catalyst: from complex immobilization onto silica nanoparticles to catalytic application in the epoxidation of geraniol. *Catalysis Science and Technology* 1(5), 784-793. DOI: 10.1039/C1CY00090J
- Phong, N.T.P., Thanh, N.V.K., Phuong, P.H., 2009. Fabrication of antibacterial water filter by coating silver nanoparticles on flexible polyurethane foams. *Journal of Physics: Conference Series* 187, 012079. DOI: 10.1088/1742-6596/187/1/012079

- Pottinger, T.A., Day, J.G., 1999. A *Saprolegnia parasitica* challenge system for rainbow trout: assessment of Pyceze as an anti-fungal agent for both fish and ova. *Diseases of Aquatic Organisms* 36(2), 129-41. DOI: 10.3354/dao036129
- Qu, K., Xu, H., Zhao, C., Ren, J., Qu, X., 2011. Amine-linker length dependent electron transfer between porphyrins and covalent amino-modified single-walled carbon nanotubes. *RSC advances* 1(4), 632-639. DOI: 10.1039/C1RA00010A
- Quang, D.V., Sarawade, P.B., Hilonga, A., Kim, J.K., Chai, Y.G., Kim, S.H., Kim, H.T., 2011. Preparation of amino functionalized silica micro beads by dry method for supporting silver nanoparticles with antibacterial properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 389(1), 118-126. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2011.08.042
- Rach, J.J., Gaikowski, M.P., Howe, G.E., Schreier, T.M., 1998. Evaluation of the toxicity and efficacy of hydrogen peroxide treatments on eggs of warm- and cool water fishes. *Aquaculture* 165, 11-25. DOI: 10.1016/S0044-8486(98)00248-8
- Radosavljevic, V., Milicevic, V., Maksimović-Zorić, J., Veljović, L., Nesic, K., Pavlović M., Ljubojević-Pelić, D., Marković, Z., 2019. Sturgeon diseases in aquaculture. *Archivos de Medicina Veterinaria* 12(1), 5–20. DOI: 10.46784/e-avm.v12i1.34
- Sanpui, P., Murugadoss, A., Prasad, P.V.D., Ghosh, S.S., Chattopadhyay, A., 2008. The antibacterial properties of a novel chitosan–Ag-nanoparticle composite. *International Journal of Food Microbiology* 124(2), 142-146. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.004
- Sarkheil, M., Sourinejad, I., Mirbakhsh, M., Kordestani, D., Johari, S.A., 2016. Application of silver nanoparticles immobilized on TEPA-Den-SiO₂ as water filter media for bacterial disinfection in culture of Penaeid shrimp larvae. *Aquacultural Engineering* 74, 17-29. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2016.05.003
- Shahverdi, A.R., Fakhimi, A., Shahverdi, H.R., Minaian, S., 2007. Synthesis and effect of silver Nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 3(2), 168-171. DOI: 10.1016/j.nano.2007.02.001
- Singh, M., Singh, S., Prasad, S., Gambhir, I.S., 2008. Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 3(3), 115-122.
- Smith, C.J., Shaw, B.J., Handy, R.D., 2007. Toxicity of single walled carbon nanotubes on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology* 82(2), 94–109. DOI: 10.1016/j.aquatox.2007.02.003
- Soloviev, M., Gedanken, A., 2011. Coating a stainless steel plate with silver nanoparticles by the sonochemical method. *Ultrasonics Sonochemistry* 18(1), 356-362. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2010.06.015
- Torres-Flores, E.I., Flores-López, N.S., Martínez-Núñez, C.E., Tánori-Córdova, J.C., Flores-Acosta, M., Cortez-Valadez, M., 2021. Silver nanoparticles in natural zeolites incorporated into commercial coating: antibacterial study. *Applied Physics A* 127, 1-11. DOI: 10.1007/s00339-020-04227-5
- Wang, S., Hou, W., Wei, L., Jia, H., Liu, X., Xu, B., 2007. Antibacterial activity of nano SiO₂ antibacterial agent grafted on wool surface. *Surface and Coating Technology* 202(3), 460-465. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2007.06.012
- Wu, Y., and Zhou, Q., 2012. Dose-and time-related changes in aerobic metabolism, chorionic disruption, and oxidative stress in embryonic medaka (*Oryzias latipes*): Underlying mechanisms for silver nanoparticle developmental toxicity. *Aquatic Toxicology* 124, 238-246. DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.08.009
- Zarrinmehr, M.J., 2014. Application of Filters Containing Silver Nanoparticle in the Reduction of *Aeromonas hydrophila* Septicemia and Assesment of their Potential Releasing of Nanoparticles on the Survival and Physiological Changes of Zebrafish (*Danio rerio*). Master of Science Thesis. Tarbiat Modares University. IRAN. (In Persian)