

Effect of silver (AgNPs) and silica nanoparticles (SiO₂NPs) on growth indices and photosynthetic pigments in the microalgae, *Nannochloropsis oculata*

Jami M.J.^{1*}; Johari S.A.¹, Behzadi Tayemeh M.²; Abaie H.¹; Salehdoost A.³

*Jami.mhammadjavad@yahoo.com

1-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, Sanandaj, Kurdistan, Iran

2-Department of Research and Development, Sodour Ahrar Shargh Company, Tehran, Iran

3-Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences and Technologies, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

Received: January 2025

Accepted: June 2025

Published: September 2025



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introduction

The advancement of industries and the production of various nanomaterials with different properties, as well as their widespread application in various fields, have led to the unintended introduction of these emerging compounds into aquatic ecosystems. The entry of nanomaterials into aquatic ecosystems has caused negative effects on aquatic organisms, and this issue has become one of the major concerns today (Shi *et al.*, 2020). Silver nanoparticles, due to their antimicrobial properties, have widespread applications in medical antimicrobial products, water purification, and food packaging (Pulit-Prociak and Banach, 2016). Based on conducted studies, silver nanoparticles have varying degrees of toxicity for living organisms in aquatic ecosystems, often being classified as highly toxic substances (Kahru and Dubourguier, 2010; Ivask *et al.*, 2014; Johari, 2014; Sohn *et al.*, 2015; Domingo *et al.*, 2019). Silica nanoparticles also have various industry applications (Murugadoss *et al.*, 2017). Phytoplankton plays an important role at the first trophic level and is a potential indicator of water quality. Because of their small size and high surface-to-volume ratio, they can be significantly affected by pollutants and transfer them to the next level of the food chain (Kelly *et al.*, 2003; Ji *et al.*, 2011; Quigg *et al.*, 2013). The phytoplankton *Nannochloropsis oculata* is unicellular, small, and non-motile, and it is used as live food for various aquatic organisms in aquaculture (Fulks and Main, 1991; Lubzens *et al.*, 1995). Scientists believe that due to the minimal dimensions of nanomaterials, there is a possibility of their entry, accumulation, and transfer in organisms and food chains of terrestrial and aquatic ecosystems. To accurately understand the effects of these emerging materials on the environment, they should be tested at environmental concentrations as much as possible (Bathi *et al.*, 2022). Therefore, the present study aimed to investigate the toxic effects of different concentrations, close to environmental concentrations, of silver nanoparticles and silica dioxide

nanoparticles, as two highly used nanomaterials, on the phytoplankton *Nannochloropsis oculata* by examining several growth parameters of this organism and measuring the levels of photosynthetic pigments including chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and total carotenoids.

Methodology

In this study, for the cultivation of *N. oculata* phytoplankton cells, the Walne culture medium was used, and for lighting, LED lamps were employed with 24-hour illumination. Toxicity tests were conducted based on the OECD standard guideline number 201 and for 72 hours (OECD, 2011). To investigate the toxic effects of different concentrations of the nanomaterials under study, phytoplankton cells were exposed in triplicate to 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.075, and 0.1 milligrams per liter of silver nanoparticles or 75, 100, 150, and 200 milligrams per liter of silica dioxide nanoparticles, along with a control group. Sampling of phytoplankton cells in the treated groups and the control group was conducted every 24 hours. In each sampling to determine the biomass of the cells, 100 microliters of the sample were taken each time, and the cell count was performed using a hemocytometer (Neubauer). To measure the photosynthetic pigments, including chlorophylls a and b and carotenoids, 2 milliliters of the samples from different treatments were first centrifuged, and the precipitated cells were stored at -80 degrees Celsius. Next, to extract the pigments, 1.5 milliliters of 96% ethanol were added to the samples. Then, the samples were centrifuged, and their absorbance was measured using a spectrophotometer (SPECORD 210, AnalytikJena, Germany). For data analysis, version 26 of SPSS software and one-way ANOVA were used, and the comparison of means was conducted with 95% confidence using Duncan's statistical test.

Results

The results of the present study showed that the density of *N. oculata* cells in the control group increased more than 29 times by the end of the 72-hour experimental period, rising from approximately 52 cells per milliliter to over 1500 cells per milliliter. In the groups containing silver nanoparticles at concentrations of 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.075, and 0.1 milligrams per liter, the cell density increased approximately 22, 17, 15, 10, 0, and 0 times, respectively, after 72 hours. Also, at concentrations of 75, 100, 150, and 200 mg/L of silica dioxide nanoparticles, cell density increased by 23, 18, 17, and 16 times, respectively, after 72 hours. Based on the results, with the increase in the concentration of silver nanoparticles, the growth rate showed a decreasing trend, such that in the groups containing concentrations of 0.075 and 0.1 mg per liter of silver nanoparticles, the number of cells decreased from 54 to 0, and the average percentage of growth inhibition in these two groups reached 100 percent. On the other hand, in silica dioxide nanoparticles treatments, the gradual decrease was observed, and the growth inhibition percentage at the highest concentration of silica dioxide nanoparticles, namely 200 mg/L, reached 36%. Figure 1 shows the changes in phytoplankton biomass, and Figure 2 shows the changes in the average specific growth rate and the average specific growth inhibition percentage 72 hours after exposure to different concentrations of silver nanoparticles. Figure 3 shows the changes in cell biomass, and Figure 4 shows the changes in the average specific growth rate and the average specific growth inhibition percentage 72 hours after exposure to different concentrations of silica dioxide. The IC₅₀ of silver nanoparticles and silica dioxide nanoparticles for the studied phytoplankton species were estimated to be 0.03 and 5630 mg/L, respectively. The results of measuring the photosynthetic pigments of the phytoplankton *N. oculata* after

72 hours of exposure to different concentrations of silver nanoparticles are shown in Figure 5. Accordingly, with the increase in the concentration of silver nanoparticles, the levels of chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoids decreased, and the lowest levels of photosynthetic pigments were observed in the groups with 0.075 and 0.1 mg per liter of silver nanoparticles. In other words, under the influence of different concentrations of silver nanoparticles, this reduction was significant and reached zero after 72 hours in the groups containing 0.075 and 0.1 mg per liter. Also, as seen in Figure 6, in the groups that were exposed to silica dioxide nanoparticles, the amount of photosynthetic pigments decreased with the increase in the concentration of this nanomaterial.

Discussion and conclusion

The results showed that the exposure of the phytoplankton *Nannochloropsis oculata* to different concentrations of silver nanoparticles, even at low concentrations, caused toxicity in the phytoplankton and inhibited cell division and biomass increase. The growth rate of phytoplankton in the groups exposed to silver nanoparticles decreased, indicating that the toxicity of silver nanoparticles is dependent on concentration and exposure duration. The mechanism of action of silver nanoparticles on aquatic microorganisms in aquatic ecosystems depends on the solubility of the nanoparticles and the release of silver ions from them into the environment. This mechanism can disrupt the cell division process of phytoplankton, resulting in reduced biomass density and increased growth inhibition percentage during the exposure period (Navarro *et al.*, 2008; Oukarroum *et al.*, 2013; Becaro *et al.*, 2015; González *et al.*, 2015). The study of the effects of silver nanoparticles on photosynthetic pigments showed that the levels of photosynthetic pigments decreased. The results of the study by Li *et al.* in 2015 on the effects of silver nanoparticles and silver ions on *Euglena gracilis* indicated that both of these substances, depending on the concentration, disrupt the photosynthesis mechanism and also cause changes in cell morphology. The results showed that the growth and biomass increase of phytoplankton cells exposed to different concentrations of silica dioxide nanoparticles were concentration-dependent, and with increasing concentration up to 200 mg per liter and over time, it caused an increase in the percentage of inhibition of specific growth rate. These changes indicate that the increase in the concentration of silica dioxide nanoparticles can act as a limiting factor, leading to a reduction in the growth rate of this phytoplankton. Overall, the toxicity effect of silica nanoparticles on different phytoplankton varies due to the type and shape of their cell walls and the size of their cell pores, which act as a defensive barrier against the entry of nanoparticles (Book and Backhaus, 2022). Based on the results of this study, both of these nanomaterials have toxic effects on the examined phytoplankton. Considering the higher percentage of inhibition of specific growth rate in the groups exposed to silver nanoparticles compared to the groups exposed to silica dioxide nanoparticles, it can be concluded that silver nanoparticles, at least in the short term, show greater toxicity than silica dioxide nanoparticles in *N. oculata*.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

Acknowledgment

This work is based upon research funded by Iran National Science foundation under project No 9031836.

مقاله علمی - پژوهشی:

اثر نانو ذرات نقره (AgNPs) و دی اکسید سیلیس (SiO₂NPs) بر سنجه‌های رشد و رنگدانه‌های فتوسنتزی ریز جلبک *Nannochloropsis oculata*

محمد جواد جامی^{*}، سید علی جوهری^۱، محمد بهزادی طایمه^۲، حسام‌الدین عبایی^۱، آزاده صالح دوست^۳

* Jami.mhammadjavad@yahoo.com

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

۲- واحد تحقیق و توسعه شرکت صدور احرار شرق، تهران، ایران

۳- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

تاریخ چاپ: شهریور ۱۴۰۴

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۳

چکیده

به منظور بررسی تأثیر نانو ذرات نقره و نانو ذرات دی اکسید سیلیس بر *Nannochloropsis oculata*، این ریزجلبک به مدت ۷۲ ساعت طبق استاندارد شماره ۲۰۱ سازمان توسعه و همکاری اقتصادی در معرض غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۱۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵۰، ۰/۰۷۵ و ۰/۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات نقره و غلظت‌های ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نانو ذرات دی اکسید سیلیس قرار گرفتند و در نهایت شاخص‌های متوسط نرخ رشد ویژه، درصد بازدارندگی متوسط نرخ رشد ویژه و میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در هر غلظت محاسبه گردید. همچنین مقادیر غلظت‌های بازدارنده (ICs)، از جمله غلظت‌های بازدارنده میانی (IC₅₀)، بر اساس درصد بازدارندگی متوسط رشد به وسیله نرم افزار پروبیت محاسبه گردید. نانو ذرات نقره در کمترین غلظت مورد بررسی سبب کاهش رشد و کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در فیتوپلانکتون مورد مطالعه گردیدند و با افزایش غلظت آنها به ۰/۰۷۵ و ۰/۱۰۰ میلی گرم در لیتر، سبب توقف کامل رشد گردیدند. غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی اکسید سیلیس سبب کاهش نرخ رشد و تراکم زی توده گردیدند، اما سبب توقف کامل رشد نگردیدند. تأثیر سمیت نانو ذرات نقره و نانو ذرات دی اکسید سیلیس بر رنگدانه‌های فتوسنتزی در فیتوپلانکتون به غلظت نانو ذرات و مدت زمان رویارویی وابستگی نشان داد به طوری که با افزایش غلظت و مدت زمان رویارویی، میزان کلروفیل a و b و کلروفیل کل و کارتنوئیدها کاهش معنی داری نشان دادند. نانو ذرات نقره و نانو ذرات دی اکسید سیلیس در تمام غلظت‌های مورد استفاده سبب ایجاد سمیت، افزایش درصد بازدارندگی متوسط رشد و کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی گردیدند.

لغات کلیدی: نانوفناوری، نانوسم‌شناسی آبزیان، ریزجلبک، سمیت حاد، *Nannochloropsis*

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

پیشرفت صنایع و استفاده و تولید انواع نانو مواد با ویژگی‌ها و اثرات متفاوت و کاربرد گسترده آنها در زمینه‌های مختلف مانند نساجی، الکترونیک، داروسازی، آرایشی و بهداشتی منجر به ورود ناخواسته این ترکیبات نوظهور به بوم‌سازگان‌های آبی شده است. مطالعات نشان داده که ورود نانو مواد به بوم‌سازگان‌های آبی موجب اثرات منفی بر جانداران آبی در زنجیره غذایی شده که این مسئله به یکی از نگرانی‌های مهم تبدیل شده است (Shi et al., 2020). اثرات سمی نانو مواد به چندین عامل اصلی مانند ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنها (اندازه، غلظت و شیمی سطح) و شرایط محیطی (pH و قدرت یونی)، بستگی دارد (Lapresta-Fernández et al., 2012). همچنین پایداری کلوئیدها و سوسپانسیون‌های نانو مواد می‌تواند سرنوشت و اثرات آنها را تغییر دهد (Fazelian et al., 2020). نانو ذرات نقره، دسته‌ای از نانو مواد با اندازه یک تا صد نانومتر هستند که با دارا بودن نسبت سطح به حجم بالا و ویژگی‌های ضد میکروبی، کاربرد گسترده‌ای در محصولات ضد میکروبی مراقبت از زخم، دستگاه‌های پزشکی ضد میکروبی، منسوجات ضد میکروبی، تصفیه آب، جوهرها و فیلم‌های رسانا، بسته‌بندی مواد غذایی و شیشه‌های هوشمند دارند (Pulit-Prociak and Banach, 2016). بر اساس مطالعات انجام شده، نانو ذرات نقره در ۴۳۵ محصول مهم مصرفی (۲۴٪ از کل محصولات نانویی بررسی شده) یافت شده‌اند (Vance et al., 2015) و میزان تولید آنها در سال ۲۰۱۴ بین حداقل ۱۳۵ تا حداکثر ۴۲۰ تن در سال برآورد شده است (Pulit-Prociak and Banach, 2016). مطالعات نشان داده‌اند که نانو ذرات نقره برای موجودات زنده در بوم‌سازگان‌های آبی از جمله فیتوپلانکتون‌ها، گیاهان آبی، سخت‌پوستان و ماهیان دارای درجات مختلفی از سمیت هستند و غالباً به عنوان مواد بسیار سمی طبقه‌بندی می‌شوند (Kahru and Dubourguier, 2010; Asghari et al., 2012; Ivask et al., 2014; Johari, 2014; Sohn et al., 2015; Domingo et al., 2019) و می‌توانند سبب آسیب به دیواره و ترکیبات سلولی، اختلال

در فعالیت سلول یا تولید رادیکال‌های آزاد گردند (Su et al., 2009).

نانو ذرات سیلیس نیز با داشتن ویژگی‌های منحصربه‌فرد، کاربردهای متنوعی در صنایع دارند (Murugadoss et al., 2017). این نانو مواد به دلیل دارا بودن شبکه‌ای با منافذ بسیار منظم و باریک مورد توجه دانشمندان پزشکی قرار گرفته است (Castillo et al., 2019; Kankala et al., 2020). همچنین در دندان‌پزشکی، انتقال و رهایش کنترل شده داروها، ردیابی و تصویربرداری در صنعت پزشکی، صنایع لاستیک‌سازی، کاشی‌سازی، صنایع غذایی و لوازم آرایشی کاربرد دارند (Michel et al., 2013; Tang and Cheng, 2013; Go et al., 2017). نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس سبب تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با پاسخ‌های ایمنی و التهابی، فعالیت‌های سلولی و تاثیر بر رشد جنین ماهی دانیو گورخری و تغییر در ساختار و شکل دیواره سلولی فیتوپلانکتون *Chlorella kessleri* گردیده‌اند (Fujiwara et al., 2008; Hu et al., 2016).

در بوم‌سازگان‌های آبی، فیتوپلانکتون‌ها به عنوان سطح اول تغذیه‌ای در بسیاری از شبکه‌های غذایی محسوب می‌گردند و می‌توانند به عنوان شاخص بالقوه کیفیت آب عمل کنند. این زی‌شناوران گیاهی، به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم زیاد، می‌توانند به‌شدت تحت تأثیر آلاینده‌ها قرار گیرند و آنها را به سطح بعدی زنجیره غذایی منتقل کنند (Kelly et al., 2003; Ji et al., 2011; Quigg et al., 2013). فیتوپلانکتون *Nannochloropsis oculata* اغلب در محیط‌های دریایی زندگی می‌کند. با این حال، در محیط‌های آب شیرین و لب‌شور نیز یافت می‌شود (Fawley and Fawley, 2007). این فیتوپلانکتون تک‌سلولی، کوچک و غیر متحرک است و در کارگاه‌های تکثیر و پرورش آبزیان نیز به عنوان غذای زنده برای تغذیه انواعی از آبزیان کاربرد دارد (Fulks and Main, 1991; Lubzens et al., 1995).

با توجه به تولید و استفاده روزافزون از نانو مواد، بررسی خطرات احتمالی ناشی از رهایش آنها بر سلامتی موجودات کلیدی زنجیره غذایی (فیتوپلانکتون‌ها، ژئوپلانکتون‌ها و ماهی‌ها) در بوم‌سازگان‌های آبی ضروری است و اهمیت انجام

سیلیس سبب کاهش رشد گردیدند. مطالعه Shariati و Ayatallahzadeh Shirazi (۲۰۱۹) نشان داد که افزایش غلظت نانو ذرات دی اکسید سیلیس سبب کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش درصد بازدارندگی رشد فیتوپلانکتون *Dunaliella salina* می‌گردد.

دانشمندان بر این باورند که با توجه به ابعاد بسیار کوچک نانو مواد، امکان ورود، تجمع و انتقال آنها در جانداران و زنجیره‌های غذایی بوم‌سازگان‌های خشکی و آبی وجود دارد و برای درک دقیق اثرات این مواد نوظهور بر محیط‌زیست، باید تا حد امکان در غلظت‌های محیطی مورد سنجش قرار گیرند (Bathi et al., 2022). غلظت نانو مواد در آب رودخانه‌ها و پساب‌ها به شدت متغیر است. برای مثال، سنجش میزان نانو ذرات نقره در محیط‌های آبی از غلظت زیر حد تشخیص در آب رودخانه Des Prairies (کانادا) تا غلظت بالای ۲۰ میلی گرم در لیتر در آب فاضلاب در مالزی، سنجیده شده است (Proulx et al., 2016, Syafiuddin et al., 2018). بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیرات سمی غلظت‌های متفاوت و نزدیک به غلظت‌های محیطی نانو ذرات نقره و نانو ذرات دی اکسید سیلیس، به عنوان دو نانو ماده بسیار پرکاربرد، بر فیتوپلانکتون *Nannochloropsis oculata* از طریق مطالعه تعدادی از سنجه‌های رشد این جاندار و اندازه‌گیری میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کل کارتنوئیدها بود.

مواد و روش‌ها

نانو مواد

نانو ذرات نقره مورد استفاده در این مطالعه، با نام تجاری نانوسید ال-۲۰۰۰ از شرکت نانو نصب پارس (تهران، ایران) خریداری شد. همچنین نانو ذرات دی اکسید سیلیس، به واسطه شرکت نانوثانی (مشهد، ایران) و از مجموعه شرکت‌های US Research Nanomaterials (هیوستون، آمریکا) خریداری گردید. با توجه به این که ویژگی‌های استوک کاملاً یکسان از هر دوی این نانو ذرات، در مطالعه Behzadi Tayemeh و همکاران (۲۰۲۳) با جزئیات گزارش گردیده است.

مطالعات سم‌شناسی نانو مواد را برجسته‌تر می‌کند (Gilroy et al., 2014; Johari, 2014; Domingo et al., 2019; Behzadi Tayemeh et al., 2020). در همین زمینه، مطالعات فراوانی در زمینه بوم‌سم‌شناسی نانو ذرات نقره صورت گرفته است و برای مثال بر اساس نتایج Oukarroum و همکاران (۲۰۱۲) نانو ذرات نقره باعث کاهش شدید محتوای کلروفیل و زنده‌مانی سلول‌ها و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و پراکسیداسیون چربی‌ها در یک گونه فیتوپلانکتون آب شیرین (*Chlorella vulgaris*) و یک گونه فیتوپلانکتون آب شور (*Dunaliella tertiolecta*) گردیدند. Johari و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر نانو ذرات نقره را بر رشد فیتوپلانکتون *N. oculata* در غلظت‌های مختلف بررسی کردند و نشان دادند که نانو ذرات نقره در پایین‌ترین غلظت مورد بررسی نیز سبب ایجاد سمیت و کاهش رشد فیتوپلانکتون می‌گردند (Johari et al., 2016). همچنین در مطالعه Fazelian و همکاران (۲۰۲۰) غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره سبب کاهش رشد، تغییر در ریخت‌شناسی و کاهش کلروفیل a و ترکیبات فنولی و افزایش کارتنوئیدها در فیتوپلانکتون *N. oculata* گردید. کاهش رشد و کارایی فتوسنتز، تغییر در میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و اختلال در ترکیب اسیدهای چرب غیر اشباع فیتوپلانکتون‌ها بر اثر رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره، در مطالعات مختلف سایر پژوهشگران نیز نشان داده شده است (Baptista et al., 2015; Hazeem et al., 2019; Behzadi Tayemeh et al., 2020).

در مطالعه Hassanpour و همکاران (۲۰۲۴) بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی اکسید سیلیس را بر فیتوپلانکتون *Spirulina platensis* نشان داد که افزایش غلظت سبب کاهش رشد و کاهش میزان رنگدانه‌ها می‌گردد. Manzo و همکاران (۲۰۱۵) نیز تأثیر سمیت نانو ذرات تیتانیوم و نانو ذرات دی اکسید سیلیس را بر فیتوپلانکتون *Dunaliella tertiolecta* بررسی کردند و نشان دادند که نانو ذرات SiO_2 سمیت کمتری نسبت به نانو ذرات TiO_2 دارند، اما با افزایش غلظت و مدت زمان رویارویی به ۲۰۰ میلی گرم در لیتر، نانو ذرات دی اکسید

آزمون‌های سم‌شناسی

در این پژوهش برای کشت سلول‌های فیتوپلانکتون *N. oculata* از محیط کشت Walne استفاده گردید. برای تامین نور، از لامپ‌های ال‌ای‌دی و به صورت روشنایی ۲۴ ساعته استفاده گردید. آزمون‌های سم‌شناسی بر اساس رهنمود استاندارد شماره ۲۰۱ سازمان توسعه و همکاری اقتصادی و به مدت ۷۲ ساعت انجام شدند (OECD, 2011). تمام کشت‌ها در ارلن‌های ۱ لیتری انجام شد. برای تلقیح هر لیتر محیط کشت رویارویی، از ۵ میلی‌لیتر استوک خالص فیتوپلانکتون *N. oculata* استفاده گردید به‌طوری‌که در شروع آزمایش‌ها، میانگین تراکم اولیه سلول‌های ریز جلبک ۵۴-۵۰ عدد در هر میلی‌لیتر در نوسان بود. به منظور بررسی آثار سمی نانو ذرات نقره و نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس، طبق مطالعات صورت گرفته، غلظت‌های متفاوت و نزدیک به غلظت‌های محیطی در نظر گرفته شد و سلول‌های فیتوپلانکتونی در سه تکرار در معرض ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۰۷۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره و ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس به همراه گروه کنترل که فاقد هر گونه آلاینده بود، قرار گرفتند. نمونه‌برداری از سلول‌های فیتوپلانکتونی در گروه‌های رویارویی داده شده و گروه کنترل هر ۲۴ ساعت یک‌بار انجام شد. در هر نمونه‌برداری برای تعیین بیومس سلول‌ها از هر ارلن ۳ بار و هر بار ۱۰۰ میکرولیتر نمونه برداشته شد و شمارش سلول‌ها با استفاده از لام هموسایتومتر (نوبار) انجام گرفت. در مرحله بعد متوسط نرخ رشد ویژه از زمان t_i تا t_{i+j} با استفاده از رابطه ۱ به‌دست آمد که در آن t_i زمان شروع دوره رویارویی، t_j زمان پایان دوره رویارویی، X_i بیومس فیتوپلانکتون در زمان t_i و X_j بیومس فیتوپلانکتون در زمان t_j است. همچنین درصد بازدارندگی متوسط رشد ویژه (%Ir) با استفاده از رابطه ۲ به‌دست آمد که در آن μ_c مقدار متوسط نرخ رشد ویژه در گروه شاهد و μ_t مقدار متوسط نرخ رشد ویژه در هر یک از

گروه‌های تحت تیمار بعد از ساعت ۷۲ است (Behzadi Tayemeh et al., 2020):

$$\mu_i - j = \frac{(\ln X_j - \ln X_i)}{t_j - t_i} \quad (\text{رابطه ۲})$$

$$\% Ir = \frac{(\mu_c - \mu_t)}{\mu_c} \times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

مقادیر غلظت‌های بازدارنده (ICs)، شامل غلظت‌های بازدارنده میانی (IC₅₀) براساس مقادیر درصدی بازدارندگی متوسط رشد ویژه مربوط به غلظت‌های مختلف و با استفاده از نرم افزار EPA Probit Analysis (منتشره از سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا) محاسبه گردید.

سنجش رنگدانه‌ها

به منظور سنجش رنگدانه‌های فتوسنتزی، شامل کلروفیل‌های a و b و کارتنوئیدها، ابتدا ۲ میلی‌لیتر از نمونه‌های فیتوپلانکتون مربوط به تیمارهای مختلف به مدت ۵ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس مایع رویی خارج شده و سلول‌های ته‌نشین شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. در ادامه به منظور استخراج رنگدانه‌ها مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به نمونه‌ها اضافه گردید و به مدت ۲ دقیقه همگن شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند و جذب آن‌ها در طول موج‌های ۴۷۰، ۴۹۹ و ۶۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (SPECORD 210, AnalytikJena, Germany) خوانش شد و مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها به ترتیب از طریق رابطه‌های ۳، ۴، ۵ و ۶ محاسبه گردیدند (Dere et al., 1998; Silkina et al., 2015):

$$\text{Chlorophyll a } (\mu\text{g/ml}) = 12.7 \times A_{665} - 2.69 \times A_{649} \quad (\text{رابطه ۳})$$

$$\text{Chlorophyll b } (\mu\text{g/ml}) = 22.9 \times A_{649} - 4.68 \times A_{665} \quad (\text{رابطه ۴})$$

$$\text{Total Chlorophyll } (\mu\text{g/ml}) = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b} \quad (\text{رابطه ۵})$$

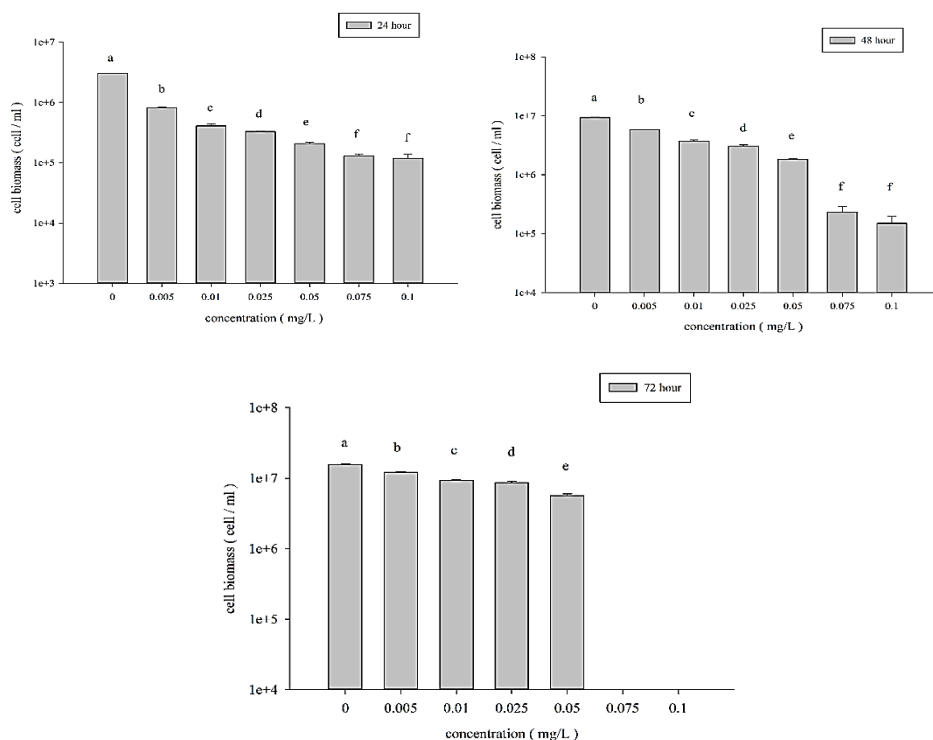
$$\text{Total Carotenoids } (\mu\text{g/ml}) = (1000 \times A_{470} - 2.05 \times \text{Chlorophyll a} - 114 \times \text{Chlorophyll b}) / 245 \quad (\text{رابطه ۶})$$

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

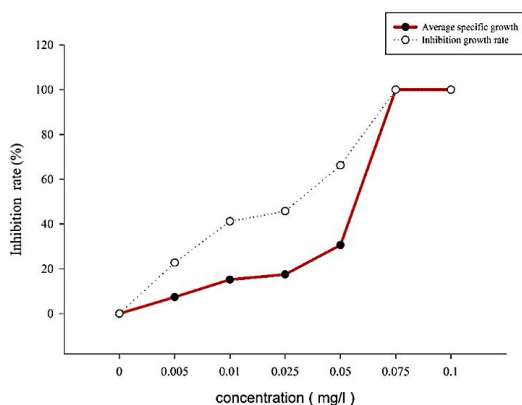
برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نسخه ۲۶ نرم‌افزار SPSS و آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و تست دانکن استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها با ۹۵ درصد اطمینان از طریق آزمون آماری دانکن صورت گرفت.

نتایج

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تراکم سلول‌های *N. oculata* در پایان دوره ۷۲ ساعته آزمایش در گروه کنترل بیش از ۲۹ برابر افزایش یافت و از حدود ۵۲ سلول در میلی‌لیتر، به بیش از ۱۵۰۰ سلول در میلی‌لیتر رسید. در گروه‌های حاوی غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره نیز، تراکم سلول‌ها پس از ۷۲ ساعت به ترتیب حدود ۱۰، ۱۵، ۱۷، ۲۲، ۷۵ و ۱۰۰ برابر افزایش یافت. همچنین در غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره نیز، تراکم سلول‌ها پس از ۷۲ ساعت به ترتیب حدود ۱۰، ۱۵، ۱۷، ۲۲، ۷۵ و ۱۰۰ برابر افزایش یافت. همچنین در غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانو ذرات نقره نیز، تراکم سلول‌ها پس از ۷۲ ساعت به ترتیب حدود ۱۰، ۱۵، ۱۷، ۲۲، ۷۵ و ۱۰۰ برابر افزایش یافت.



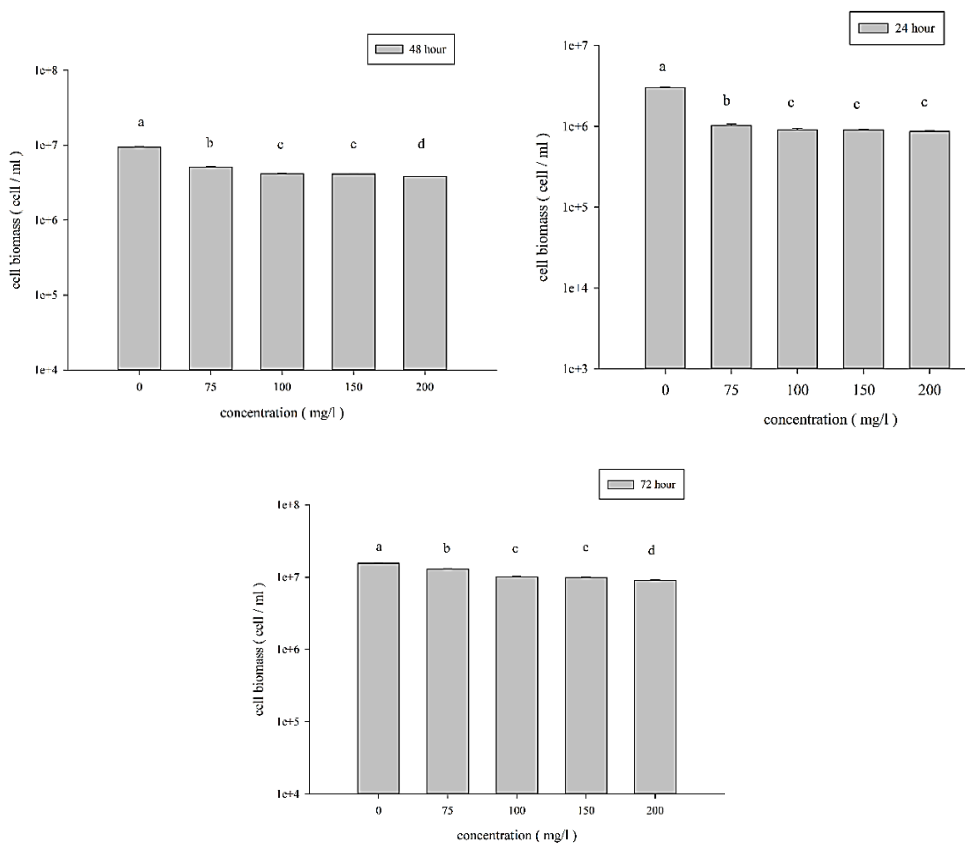
شکل ۱: تراکم سلول‌های ریز جلبک *Nanochloropsis oculata* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره
Figure 1: Quantitative microscopically analysis of the phytoplankton, *Nanochloropsis oculata* growth 72-hour exposure in different concentrations of silver nanoparticles (AgNPs)



شکل ۲: درصد بازدارندگی رشد در ریز جلبک *Nanochloropsis oculata* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره

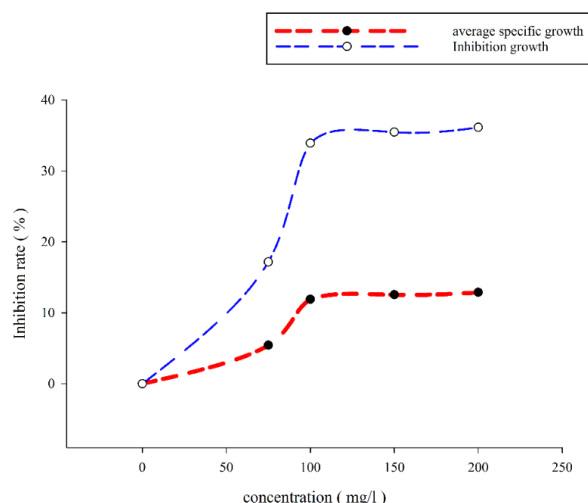
Figure 2: Inhibition growth rate of the phytoplankton *Nanochloropsis oculata* 72-hour exposure in different concentrations of silver nanoparticles (AgNPs)

در شکل ۳، نمودار تغییرات بیومس سلول‌ها و در شکل ۴، متوسط رشد ویژه را ۷۲ ساعت پس از رویارویی با غلظت‌های مختلف دی‌اکسید سیلیس نشان داده شده است.



شکل ۳: تراکم سلول‌های ریز جلبک *Nanochloropsis oculata* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات سیلیس

Figure 3: Quantitative microscopically analysis of the phytoplankton, *Nanochloropsis oculata* growth 72-hour exposure in different concentrations of Nano silicon oxide (SiO₂NPs)



شکل ۴: درصد بازدارندگی رشد در ریز جلبک *Nanochloropsis oculata* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات سیلیس
Figure 4: Inhibition growth rate of the phytoplankton *Nanochloropsis oculata* 72-hour exposure in different concentrations of Nano silicon oxide (SiO₂NPs).

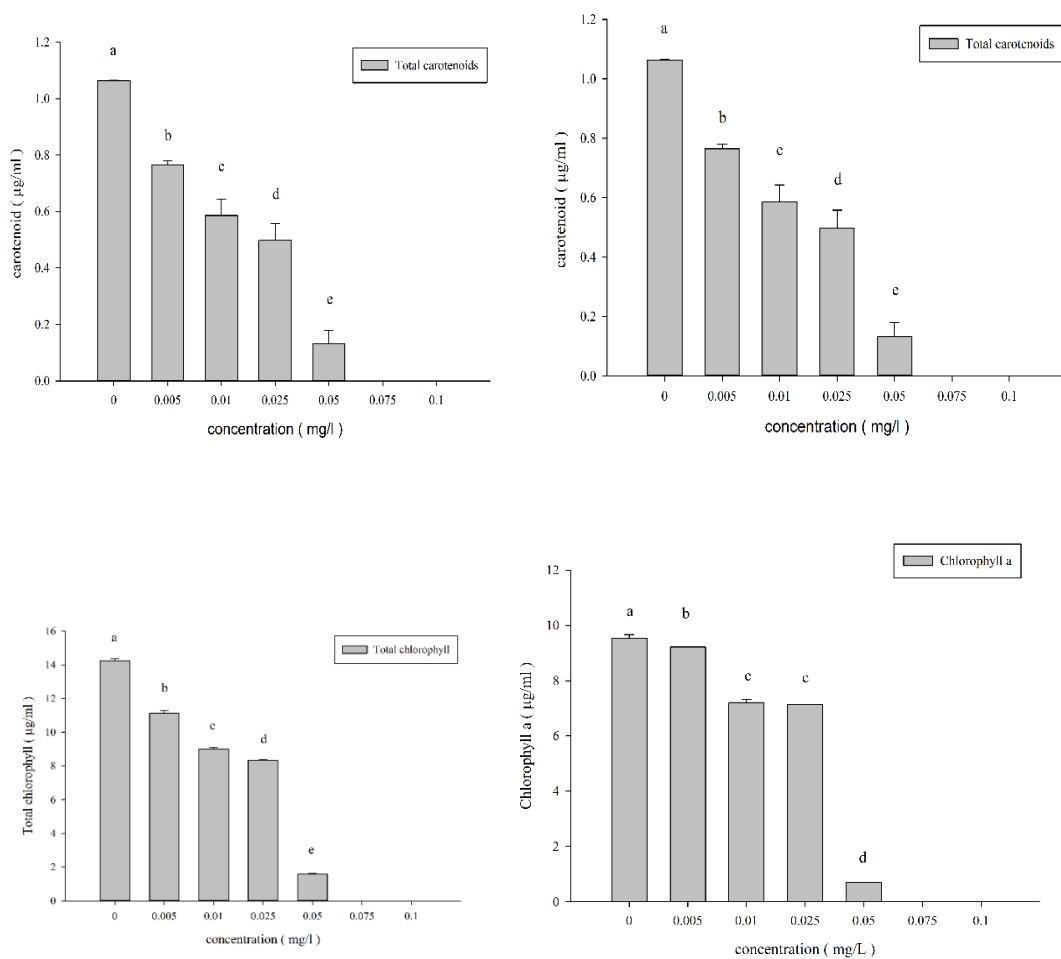
نتایج سنجش رنگدانه‌های فتوسنتزی فیتوپلانکتون *N. oculata* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره در شکل ۵ نشان داده شده است. بر این اساس، با افزایش غلظت نانو ذرات نقره، میزان کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل و کارتنوئیدها کاهش یافت و کمترین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در گروه‌های ۰/۰۷۵ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر نانو ذرات نقره مشاهده گردید. با توجه به شکل ۶، در گروه‌هایی که با نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس رویارویی داده شده بودند، با افزایش غلظت این نانو ماده، میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی کاهش یافت.

در جدول ۱ غلظت‌های بازدارنده متوسط رشد ویژه نانو مواد مورد بررسی ارائه شده است. بر این اساس، IC₅₀ نانو ذرات نقره و نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس برای گونه فیتوپلانکتونی مورد بررسی به ترتیب ۰/۰۳ و ۵۶۳۰ میلی گرم در لیتر برآورد گردید.

جدول ۱: غلظت‌های بازدارنده نانو ذرات نقره و نانو ذرات سیلیس در ریز جلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا بعد از ۷۲ ساعت رویارویی

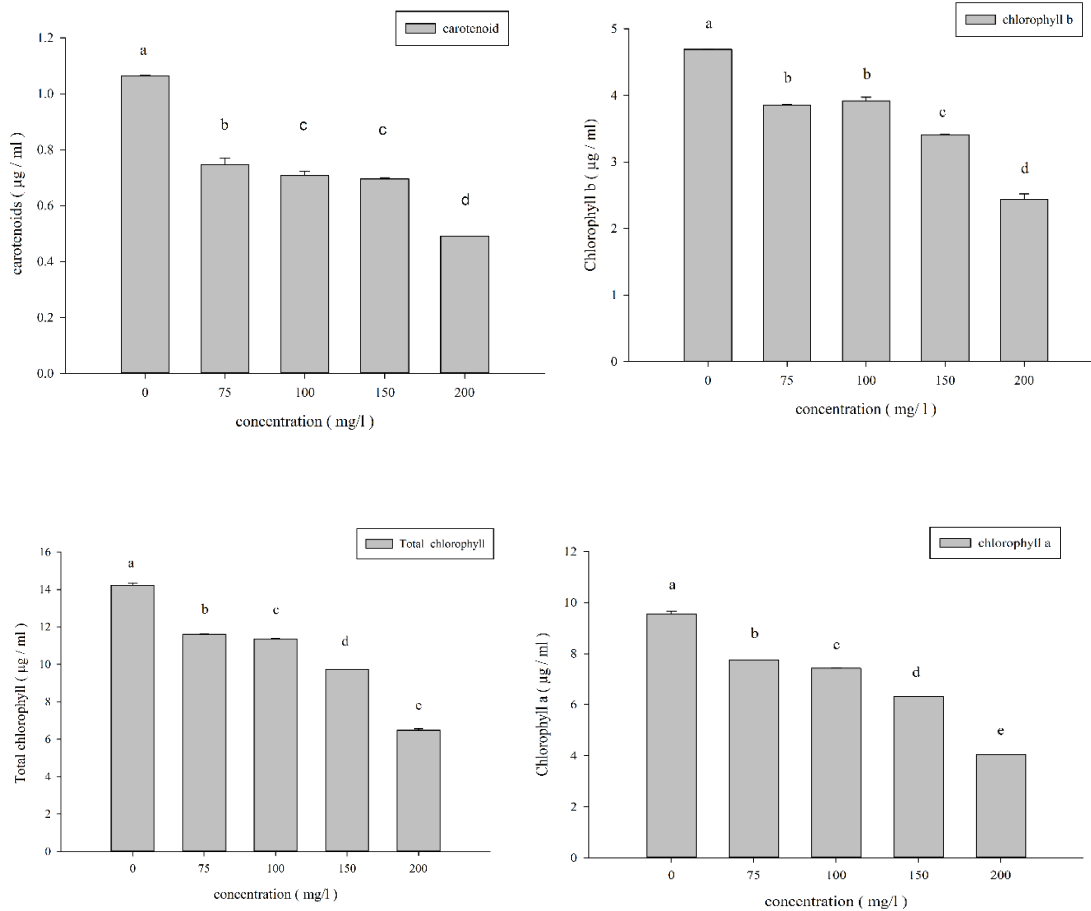
Table 1: Inhibitory concentration values of 72-hour silver nanoparticles and silica dioxide nanoparticles in the phytoplankton, *Nannochloropsis oculata*.

SiO ₂ NPs (mg/l)	AgNPs (mg/l)	Inhibitory concentration
4.6	0.0004	IC ₁
36.9	0.007	IC ₅
112	0.01	IC ₁₀
237	0.013	IC ₁₅
5630	0.034	IC ₅₀
11368	0.091	IC ₈₅
28284	0.114	IC ₉₀
858489	0.16	IC ₉₅
6888569	0.3	IC ₉₉



شکل ۵: میزان رنگدانه‌های (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها در ریزجلبک *Nanochloropsis oculata* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره

Figure 5: Concentration of pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and carotenoids) in *Nanochloropsis oculata* following 72-hour exposure in different concentrations of silver nanoparticles (AgNPs)



شکل ۶: میزان رنگدانه‌های (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها) ریز جلبک *Nanochloropsis oculata* پس از ۷۲ ساعت رویارویی با غلظت‌های مختلف نانو ذرات سیلیس

Figure 6: Concentration of pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and carotenoids) in *Nanochloropsis oculata* following 72-hour exposure in different concentrations of Nano silicon oxide (SiO₂NPs).

فیتوپلانکتون گردیده و مانع انجام تقسیم سلولی و افزایش تراکم بیومس گردیده است. با توجه به شکل ۱، با گذشت زمان (۲۴-۷۲ ساعت)، میزان رشد فیتوپلانکتون در گروه‌هایی که با نانو ذرات نقره رویارویی داده شدند، کاهش یافت که نشان می‌دهد که سمیت نانو ذرات نقره وابسته به غلظت و مدت زمان رویارویی است. براساس مطالعات صورت گرفته، قطر منافذ دیواره سلولی فیتوپلانکتون‌ها در محدوده ۲۰-۵ نانومتر است. همچنین مکانیسم اثر نانو ذرات نقره بر این زی‌شناوران ساکن در آبهای شور و شیرین به قابلیت انحلال نانو ذرات و رهایش

بحث

بر اساس استاندارد موجود در آزمون‌های سم‌شناسی حاد فیتوپلانکتون‌های تک‌سلولی، تراکم سلولی در گروه کنترل پس از مدت ۷۲ ساعت باید حداقل ۱۶ برابر افزایش یابد (OECD, 2011). بنابراین، افزایش ۲۹ برابری تراکم سلول‌ها در گروه کنترل مطالعه حاضر نشان می‌دهد که کشت فیتوپلانکتون‌ها در شرایط استاندارد انجام شده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه، رویارویی فیتوپلانکتون *N. oculata* با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره، حتی در غلظت پایین نیز سبب بروز سمیت در

یون نقره از آنها به محیط وابسته است. این مکانیسم می‌تواند سبب اختلال در روند تقسیم سلولی فیتوپلانکتون‌ها و در نتیجه کاهش تراکم بیومس و افزایش درصد بازدارندگی رشد طی مدت رویارویی گردد. نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر در این رابطه، با نتایج بسیاری از پژوهش‌های پیشین هم‌خوانی دارد (Navarro *et al.*, 2008; Oukarroum *et al.*, 2013; Becaro *et al.*, 2015; González *et al.*, 2015).

بررسی اثرات نانو ذرات نقره بر رنگدانه‌های فتوسنتزی فیتوپلانکتون مورد مطالعه نشان داد که میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی، شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها، با گذر از ساعت صفر تا ۷۲ و تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره کاهش می‌یابد و این میزان پس از ۷۲ ساعت در گروه‌های حاوی ۰/۷۵ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر، در هماهنگی کامل با افزایش بازدارندگی نرخ رشد ویژه و کاهش تراکم بیومس سلول‌ها به‌شدت کاسته شد و به صفر رسید. نتایج مطالعه Li و همکاران (۲۰۱۵) در مورد تاثیر نانو ذرات نقره و یون نقره بر فیتوپلانکتون بدون دیواره سلولی *Euglena gracilis* بیان داشت که هر دو این مواد با توجه به میزان غلظت، سبب اختلال در مکانیسم فتوسنتز و تغییر در مورفولوژی سلول‌ها می‌گردند. Hazeem و همکاران (۲۰۱۹) تاثیر نانو ذرات نقره بر فیتوپلانکتون *C. vulgaris* را به مدت ۹۶ ساعت بررسی کردند و دریافتند که این نانو ذرات سبب کاهش تراکم سلول‌های زنده، تغییر غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش تولید رادیکال‌ها فعال اکسیژن می‌گردند (Hazeem *et al.*, 2019). در مطالعه Pillai و همکاران (۲۰۱۴) یون‌های نقره و نانو ذرات نقره به‌ترتیب باعث آسیب به فتوسنتز و چرخه کلون شدند. همچنین در مطالعه Oukarroum و همکاران (۲۰۱۲) یون‌های نقره و نانو ذرات نقره سبب اختلال در واکنش‌های فتوشیمیایی فتوسنتز در فیتوپلانکتون‌های *C. vulgaris* و *D. tertiolecta* شدند. بر اساس نتایج Fazelian و همکاران (۲۰۲۰) فیتوپلانکتون *N. oculata* در برابر غلظت‌های بالاتر از ۱ میلی گرم در لیتر نانو ذرات نقره آسیب‌پذیر است و احتمالاً مکانیسم‌های دفاعی این فیتوپلانکتون در برابر استرس

اکسیداتیو القاء شده به‌وسیله نانو ذرات نقره به اندازه کافی مقاومت نداشته است. در مطالعه حاضر نیز احتمال می‌رود که سمیت حاصل از رویارویی فیتوپلانکتون مورد مطالعه با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره با آزادسازی یون‌های نقره (Ag^+) مرتبط باشد و سبب اختلال در روند چرخه کلون و فرایند فوتوشیمیایی فتوسنتز و کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌گردد.

نتایج این مطالعه نشان داد که رشد و افزایش بیومس سلول‌های فیتوپلانکتونی که با غلظت‌های مختلف نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس رویارویی داده شده‌اند، وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت تا ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و گذشت زمان، سبب افزایش درصد بازدارندگی نرخ رشد ویژه می‌گردد. این تغییرات نشان می‌دهد که افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس، می‌تواند به عنوان یک عامل محدودکننده، سبب کاهش نرخ رشد در این فیتوپلانکتون گردد. این یافته‌ها با نتایج مطالعه Shariati و Ayatallahzadeh Shirazi (۲۰۱۹) هم‌خوانی دارد که بیان داشتند، نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس می‌توانند با واکنش سطحی خود، سبب تخریب دیواره سلولی و کاهش جذب مواد مغذی در فیتوپلانکتون *D. salina* گردند. همچنین بررسی نتایج تصاویر میکروسکوپی در مطالعه مذکور، نشان داد که تماس نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس با سلول‌های فیتوپلانکتونی باعث کوچک شدن سلول‌ها و از دست رفتن تاژک‌ها گردید و با افزایش غلظت نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس به ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر، نرخ رشد سلول‌ها کاهش نشان داد. همچنین Van Hoecke و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که افزایش سطح و اندازه نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس، باعث افزایش واکنش سطحی آنها با دیواره سلول‌های فیتوپلانکتون *Pseudokirchneriella subcapitata* می‌گردد. یافته‌های مطالعه Manzo و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان داد که احتمالاً نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس با اندازه‌های کوچکتر، به داخل سلول‌های *D. tertiolecta* نفوذ می‌کنند و از جذب مواد مغذی جلوگیری می‌کنند و منجر به آسیب به دیواره سلولی می‌گردند. علاوه بر این، کاهش در میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی نیز مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد

- Nanobiotechnology*, 10, 1-11.
DOI:10.1186/1477-3155-10-14
- Baptista, M.S., Miller, R.J., Halewood, E.R., Hanna, S.K., Almeida, C.M.R., Vasconcelos, V.M., Keller, A.A. and Lenihan, H.S., 2015.** Impacts of silver nanoparticles on a natural estuarine plankton community. *Environmental Science and Technology*, 49, 12968-12974.
DOI:10.1021/acs.est.5b03285
- Bathi, J.R., Wright, L. and Khan, E., 2022.** Critical review of engineered nanoparticles: Environmental concentrations and toxicity. *Current Pollution Reports*, 8, 498-518.
<http://org/10.1007/s40726-022-00237-4>
- Becaro, A.A., Jonsson, C.M., Puti, F.C., Siqueira, M.C., Mattoso, L.H., Correa, D.S. and Ferreira, M.D., 2015.** Toxicity of pva-stabilized silver nanoparticles to algae and microcrustaceans. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 3, 22-29.
DOI:10.1016/j.enmm.2014.11.002
- Behzadi Tayemeh, M., Esmailbeigi, M., Shirdel, I., Salari Joo, H., Johari, S.A., Banan, A., Nourani, H., Mashhadi, H., Jami, M.J. and Tabarrok, M., 2020.** Perturbation of fatty acid composition, pigments, and growth indices of *Chlorella vulgaris* in response to silver ions and nanoparticles: A new holistic understanding of hidden ecotoxicological aspect of pollutants. *Chemosphere*, 238, 124576.
DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.124576
- که با افزایش غلظت نانو ذرات دی‌کسید سیلیس، میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی به طور قابل توجهی کاهش یافت که این می‌تواند به دلیل نفوذ این نانو ذرات به داخل سلول‌ها و اختلال در روند واکنش‌های فتوسنتزی اتفاق افتاده باشد. به طور کلی، اثر سمیت نانو ذرات سیلیس در فیتوپلانکتون‌های مختلف، به دلیل نوع و شکل دیواره سلولی و اندازه منافذ سلولی آنها که به عنوان یک سد دفاعی در مقابل ورود نانو ذرات نقش ایفاء می‌کنند، متفاوت است (Backhaus, 2022).
- بر طبق یافته‌های این مطالعه، تراکم سلول‌های *N. oculata* در گروه کنترل نسبت به گروه‌های رویارویی داده‌شده با دو نانو ذره نقره و دی‌کسید سیلیس بالاتر بود. بنابراین، هر دو این نانو مواد دارای اثرات سمی بر فیتوپلانکتون مورد بررسی هستند. درصد بازدارندگی نرخ رشد ویژه در گروه‌هایی که با نانو ذرات نقره رویارویی داده شده بودند، بالاتر از گروه‌هایی بود که با نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس رویارویی داده شده بودند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که نانو ذرات نقره، حداقل در کوتاه مدت، سمیت بیشتری بر شاخص‌های رشد، میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی نسبت به نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس در *N. oculata* نشان می‌دهند که میزان سمیت علاوه بر شاخص‌هایی مانند دما، شوری و pH، به غلظت و مدت زمان رویارویی نیز بستگی دارد و می‌تواند با توجه به شرایط هر بوم‌سازگان آبی، اثرات متفاوتی بر جای گذارد.
- ### تشکر و قدردانی
- این پژوهش تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته شده از طرح شماره ۹۹۰۳۱۸۳۶ انجام شده است.
- ### منابع
- Asghari, S., Johari, S.A., Lee, J.H., Kim, Y.S., Jeon, Y.B., Choi, H.J., Moon, M.C. and Yu, I.J., 2012.** Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. *Journal of*

- Behzadi Tayemeh, M., Abaei, H., Golokhvast, K., Salari Joo, H., Pikula, K., Johari, S.A., Mansouri, B., 2023.** Individual and binary exposure to nanoscales of silver, titanium dioxide, and silicon dioxide alters viability, growth, and reproductive system: Hidden indices to re-establish artemia as a toxicological model in saline waters, *Environmental Pollution*, 331, 121923.
- Book, F. and Backhaus, T., 2022.** Aquatic ecotoxicity of manufactured silica nanoparticles: A systematic review and meta-analysis. *Science of the Total Environment*, 806, 150893. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.150893
- Castillo, R.R., Lozano, D., González, B., Manzano, M., Izquierdo-Barba, I. and Vallet-Regí, M., 2019.** Advances in mesoporous silica nanoparticles for targeted stimuli-responsive drug delivery: An update. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 16, 415–439. DOI:10.1080/17425247.2019.1598375
- Dere, Ş., Güneş, T. and Sivaci, R., 1998.** Spectrophotometric determination of chlorophyll-a, b and totalcarotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22, 13–18. www.journals.tubitak.gov.tr/botany/vol22/iss1/3. DOI:10.1016/j.envpol.2023.121923
- Domingo, G., Bracale, M. and Vannini, C., 2019.** Phytotoxicity of silver nanoparticles to aquatic plants, algae, and microorganisms. Chapter 8 in: Nanomaterials in plants, algae and microorganisms. Editors: Tripathi, D.K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D.K., Dubey, N.K. Nanomaterials in plants, algae and microorganisms. Academic Press, pp. 143-168. DOI:10.1016/B978-0-12-811488-9.00008-1
- Fawley, K.P. and Fawley, M.W., 2007.** Observations on the diversity and ecology of freshwater *Nannochloropsis* (eustigmatophyceae), with descriptions of new taxa. *Protist* 158, 325–336. DOI:10.1016/j.protis.2007.03.003
- Fazelian, N., Movafeghi, A., Yousefzadi, M., Rahimzadeh, M. and Zarei, M., 2020.** Impact of silver nanoparticles on the growth, fatty acid profile, and antioxidative response of *Nannochloropsis oculata*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42, 1–14. DOI:10.1007/s11738-020-03101-4
- Fujiwara, K., Suematsu, H., Kiyomiya, E., Aoki, M., Sato, M. and Moritoki, N., 2008.** Size-dependent toxicity of silica nanoparticles to *Chlorella Kessleri*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 43, 1167–1173. DOI:10.1080/10934520802171675
- Fulks, W. and Main, K.L., 1991.** Rotifer and microalgae culture systems: proceedings of a us-asia workshop, Honolulu, Hawaii, January 28–31, 1991, Oceanic Institute. /view/noaa/36648/noaa_36648_DS1.pdf
- Gilroy, K.D., Neretina, S. and Sanders, R.W., 2014.** Behavior of gold nanoparticles in an experimental algal–zooplankton food chain. *Journal of Nanoparticle Research*, 16, 1–8. DOI:10.1007/s11051-014-2414-2
- Go, M.R., Bae, S.H., Kim, H.J., Yu, J. and Choi, S.J., 2017.** Interactions between food

- additive silica nanoparticles and food matrices. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1013. DOI:10.3389/fmicb.2017.01013
- González, A.G., Mombo, S., Leflaive, J., Lamy, A., Pokrovsky, O.S. and Rols, J.L., 2015.** Silver nanoparticles impact phototrophic biofilm communities to a considerably higher degree than ionic silver. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 8412-24. DOI:10.1007/s11356-014-3978-1
- Hassanpour, H., Mahlouji Rad, M. and Asgarpanah, J., 2024.** Growth induction in *Spirulina platensis* under SiO₂ nanoparticles: function of antioxidant enzymes, phycobiliproteins, and secondary metabolites. *Journal of Plant Process and Function*, 12, 11-20. DOI:10.22034/12.58.11
- Hazeem, L.J., Kuku, G., Dewailly, E., Slomianny, C., Barras, A., Hamdi, A., Boukherroub, R., Culha, M. and Bououdina, M., 2019.** Toxicity effect of silver nanoparticles on photosynthetic pigment content, growth, ROS production and ultrastructural changes of microalgae *Chlorella vulgaris*. *Nanomaterials*, 9, 914. DOI:10.3390/nano9070914
- Hu, H., Li, Q., Jiang, L., Zou, Y., Duan, J. and Sun, Z., 2016.** Genome-wide transcriptional analysis of silica nanoparticle-induced toxicity in zebrafish embryos. *Toxicology Research*, 5, 609-620. DOI:10.1039/c5tx00383k
- Ivask, A., Kurvet, I., Kasemets, K., Blinova, I., Aruoja, V., Suppi, S., Vija, H., Kärkinen, A., Titma, T. and Heinlaan, M., 2014.** Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro. *PLOS One*, 9, e102108. DOI:10.1371/journal.pone.0102108
- Ji, J., Long, Z. and Lin, D., 2011.** Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella sp.* *Chemical Engineering Journal* 170, 525-530. DOI:10.1016/j.cej.2010.11.026
- Johari, S.A., 2014.** Toxicity effect of colloidal silver nanoparticles on fertilization capacity and reproduction success of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Nanomedicine Research*, 1(1), 00001. DOI:10.15406/jnmr.2014.01.00001
- Johari, S.A., Ghader-Sarbazi, Zh. and Sourinejad, A., 2016.** A study of the toxic effect of colloidal silver nanoparticles on the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. *Aquatic Ecology*, 6, 83-90. jae.hormozgan.ac.ir/article-1-304-en.html
- Kahru, A. and Dubourguier, H.C., 2010.** From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology*, 269, 105-119. DOI:10.1016/j.tox.2009.08.016
- Kankala, R.K., Lin, W.Z. and Lee, C.H., 2020.** Combating antibiotic resistance through the synergistic effects of mesoporous silica-based hierarchical nanocomposites. *Nanomaterials*, 10, 597. DOI:10.3390/nano10030597
- Kelly, K.I., Coronado, E., Zhao, I.I. and Schatz, G.C., 2003.** The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. *ACS*

- Publications*, 107(3), 668-677.
DOI:10.1021/jp02673
- Lapresta-Fernández, A., Fernández, A. and Blasco, J., 2012.** Nanoecotoxicity effects of engineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 32, 40-59. DOI:10.1016/j.trac.2011.09.007
- Lubzens, E., Gibson, O., Zmora, O. and Sukenik, A., 1995.** Potential advantages of frozen algae (*Nannochloropsis* sp.) for rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture. *Aquaculture*, 133, 295-309. DOI:10.1016/0044-8486(95)00010-Y
- Manzo, S., Buono, S., Rametta, G., Miglietta, M., Schiavo, S. and Di Francia, G., 2015.** The diverse toxic effect of SiO₂ and TiO₂ nanoparticles toward the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta*. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 15941-15951. DOI:10.1007/s11356-015-4790-2
- Michel, K., Scheel, J., Karsten, S., Stelter, N. and Wind, T., 2013.** Risk assessment of amorphous silicon dioxide nanoparticles in a glass cleaner formulation. *Nanotoxicology*, 7, 974-988. DOI:10.3109/17435390.2012.689881
- Murugadoss, S., Lison, D., Godderis, L., Van Den Brule, S., Mast, J., Brassinne, F., Sebaihi, N. and Hoet, P. H., 2017.** Toxicology of silica nanoparticles: An update. *Archives of Toxicology*, 91, 2967-3010. DOI:10.1007/s00204-017-1993-y
- Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N.B., Filser, J., Miao, A.J., Quigg, A., Santschi, P.H. and Sigg, L., 2008.** Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, 17, 372-386. DOI:10.1007/s10646-008-0214-0
- OECD, 2011.** Test No. 201: Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*, Section 2. OECD Publishing, Paris. 80,88 P. DOI:10.1787/9789264069923-en
- Oukarroum, A., Bras, S., Perreault, F. and Popovic, R., 2012.** Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78, 80-85. DOI:10.1016/j.ecoenv.2011.11.012
- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Pirastru, L. and Dewez, D., 2013.** Silver nanoparticle toxicity effect on growth and cellular viability of the aquatic plant *Lemna gibba*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32, 902-907. DOI:10.1002/etc.2131.
- Pillai, S., Behra, R., Nestler, H., Suter, M. J.F., Sigg, L. and Schirmer, K., 2014.** Linking toxicity and adaptive responses across the transcriptome, proteome, and phenotype of *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to silver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 3490-3495. DOI:10.1073/pnas.1319388111
- Proulx, K., Hadioui, M. and Wilkinson, K.J., 2016.** Separation, detection and characterization of nanomaterials in municipal wastewaters using hydrodynamic chromatography coupled to ICPMS and single particle ICPMS. *Analytical and*

- Bioanalytical Chemistry* 408, 51475155. DOI:10.1007/s00216-016-9451-x
- Pulit-Prociak, J. and Banach, M., 2016.** Silver nanoparticles – a material of the future. *Open Chemistry*, 14, 76-91. DOI: 10.1515/chem-2016-0005
- Quigg, A., Chin, W.C., Chen, C.S., Zhang, S., Jiang, Y., Miao, A.J., Schwehr, K.A., Xu, C. and Santschi, P. H., 2013.** Direct and indirect toxic effects of engineered nanoparticles on algae: Role of natural organic matter. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 1, 686-702. DOI:10.1021/sc400103x
- Shariati, F. and Ayatollahzadeh Shirazi, M., 2019.** Effect of SiO₂ nanoparticles on chlorophyll, carotenoid and growth of green micro-algae *Dunaliella salina*. *Nanomedicine Research Journal*, 4, 164-175. DOI:10.22034/NMRJ.2019.03.005
- Shi, Q., Wang, C.L., Zhang, H., Chen, C., Zhang, X. and Chang, X.L., 2020.** Trophic transfer and biomagnification of fullerene nanoparticles in an aquatic food chain. *Environmental Science: Nano*, 7, 1240-1251. DOI:10.1039/C9EN01277J
- Silkina, A., Flynn, K., Llewellyn, C. and Bayliss, C., 2015.** Standard operating procedures for analytical methods and data collection in support of pilot-scale cultivation of microalgae. Public Output Report WP1A3. 396 P.
- Sohn, E.K., Johari, S.A., Kim, T.G., Kim, J.K., Kim, E., Lee, J.H., Chung, Y.S. and Yu, I.J., 2015.** Aquatic toxicity comparison of silver nanoparticles and silver nanowires. *BioMed Research International*. 2015(1), 12. DOI:10.1155/2015/893049
- Su, H.L., Chou, C.C., Hung, D.J., Lin, S.H., Pao, I.C., Lin, J.H., Huang, F.L., Dong, R.X. and Lin, J.J., 2009.** The disruption of bacterial membrane integrity through ROS generation induced by nanohybrids of silver and clay. *Biomaterials*, 30, 5979-5987. DOI:10.1016/j.biomaterials.2009.07.030
- Syafiuddin, A., Salmiati, S., Hadibarata, T., Kueh, A.B.H., Salim, M.R. and Zaini, M.A.A., 2018.** Silver nanoparticles in the water environment in Malaysia: Inspection, characterization, removal, modeling, and future perspective. *Scientific Reports*, 8, 986. DOI:10.1038/s41598-018-19375-1
- Tang, L. and Cheng, J., 2013.** Nonporous silica nanoparticles for nanomedicine application. *Nano Today*, 8, 290-312. DOI:10.1016/j.nantod.2013.04.007
- Van Hoecke, K., De Schamphelaere, K.A., Van Der Meeren, P., Lucas, S. and Janssen, C.R., 2008.** Ecotoxicity of silica nanoparticles to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*: importance of surface area. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 27, 1948-1957. DOI:10.1897/07-634.1
- Vance, M.E., Kuiken, T., Vejerano, E.P., McGinnis, S.P., Hochella Jr, M.F., Rejeski, D. and Hull, M.S., 2015.** Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6, 1769-1780. DOI:10.3762/bjnano.6.181