

معرفی دوکفه‌ای (*Corbicula fluminea*) به عنوان جاذب زیستی آلاینده نانوذرات اکسید روی در دوره کوتاه مدت

فاطمه بهاروند^{۱*}، فاطمه پرویزی^۲، امیر قادرمزی^۳، زهرا عرب^۴، سید علی اکبر هدایتی^۵،
محمد شریف رنجبر^۶

چکیده

در این مطالعه میزان جذب مستقیم نانوذرات اکسید روی توسط دوکفه‌ای *Corbicula fluminea* در دوره کوتاه مدت ۴۸ ساعته بررسی گردید. تعداد مورد نیاز دوکفه‌ای *Corbicula fluminea* با دامنه طولی ۹/۵±۰/۹ از محیط طبیعی استحصال گردید. نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال داده شدند و برای رفع استرس به مدت ۱۰ در آکواریم قرار گرفتند. نانوذرات با استفاده از دستگاه التراسونیک با ۴۰۰ دور در دقیقه پخش گردید. جهت یک فاز شدن آب مخازن دوکفه‌ای با محلول نانو ذره از دستگاه هموژنایزر با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه استفاده شد و تیمارها با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۲۵ ppm مواجهه داده شدند و گروه کنترل فاقد نانوذره در نظر گرفته شد. انباشت نانو ذرات در توده بافتی دوکفه‌ای با دستگاه ICP و نحوه توزیع نانوذرات در مخازن دوکفه‌ای با تست DLS سنجیده شد. نتایج مربوط به ICP نشان داد بیشترین میزان انباشت نانوذرات در بدن دوکفه‌ای در کمترین غلظت مواجهه ($P < 0.05$) مشاهده شد. و کمترین میزان جذب در بالاترین غلظت مواجهه به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. نتایج تست DLS نشان داد که ذرات از لحاظ اندازه بین ۱۰۰-۱۰ نانومتر بوده اند که مؤید عدم ترسیب و هموژن بودن نانوذرات در کف مخازن حاوی دوکفه‌ای بوده است. بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه می‌توان گفت میزان جذب در دوکفه‌ای به عنوان شاخص بسیار مناسبی جهت پایش اثرات نانو ذرات اکسیدروی در محیط‌های آبی پیشنهاد می‌شود.

کلید واژه: *Corbicula fluminea*، جذب زیستی، نانو ذرات اکسید روی.

۱. کارشناس ارشد مهندسی محیط زیست، واحد دماوند، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسؤل: fbahar.fatemeh@gmail.com)
۲. دانش‌آموخته مهندسی منابع طبیعی (شیلات گرایش تکثیر و پرورش آبزیان) دانشگاه هرمزگان، هرمزگان، ایران
۳. دانش‌آموخته مهندسی منابع طبیعی (شیلات گرایش اکولوژی آبزیان) دانشگاه گرگان، گرگان، ایران
۴. دانشجوی مهندسی منابع طبیعی (شیلات گرایش اکولوژی آبزیان) دانشگاه گرگان، گرگان
۵. هیأت علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۶. هیأت علمی دانشگاه علوم و فنون دریایی هرمزگان، هرمزگان، ایران

۱- مقدمه

با توجه به استفاده رو به گسترش از نانومواد و متعاقباً مخاطرات بالقوه محیط‌زیستی و سلامت انسانی، نیاز به بهبود اطلاعات در رابطه با مخاطرات ناشی از حضور این مواد در محیط‌های آبی و به طور خاص درک ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، پروسه‌های جذب زیستی و سمیت آنها در موجودات زنده وجود دارد (فرحبخش و همکاران، ۱۳۸۵). از آنجایی که صنعت تولید نانوذرات و استفاده از آنها روز به روز در حال توسعه می‌باشد، نگرانی در رابطه با اثرات محیط‌زیستی این مواد سبب گردیده تا محققان تحقیقات گسترده‌ای در زمینه خطرات بالقوه نانومواد بر محیط‌زیست و موجودات زنده انجام دهند (خیام نکویی و همکاران، ۱۳۸۹). نانو توکسیکولوژی به عنوان یک زیرشاخه از نانو تکنولوژی به مطالعه برهم-کنش نانومواد با موجودات زنده می‌پردازد (Moor, 2006).

در دهه‌های اخیر گروه‌های مختلف موجودات زنده به طور گسترده جهت بررسی وقوع آلودگی‌های شیمیایی در محیط‌های طبیعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. دوکفه‌ای‌ها یکی از گروه‌های بسیار مهم در این رابطه به شمار می‌روند. این موجودات گروهی از نرم‌تنان می‌باشند که مطلوبیت بالایی جهت استفاده به عنوان بیواندیکاتورهای آلودگی در محیط‌های آبی دارند (Martins et al, 2007). این گروه از نرم‌تنان به دلیل آن که از فراوانی بالایی در محیط‌های آبی شیرین، مصبی و دریایی برخوردارند، به عنوان یک موجود مدل مناسب در مطالعه اثرات بالقوه نانوذرات بر موجودات آبی مطرح شده‌اند (Wang et al., 2008) اولین بار پیشنهادی را مطرح نمود مبنی بر این که بی‌مهرگان تغذیه‌کننده از مواد معلق در آب، به خصوص نرم‌تنان دوکفه‌ای به عنوان گروه هدف منحصر به فرد برای مطالعات سم‌شناسی نانوذرات در نظر گرفته شوند؛ زیرا این موجودات با توجه به این که در تماس مستقیم با بخش‌های آلوده شده زیستگاه‌های آبی (رسوبات و آب) قرار دارند و می‌توانند سطوح بالایی از فلزات را در بافت‌های خود ذخیره سازند، شواهد مناسبی در رابطه با وقوع آلودگی‌های محیطی با مقیاس زمانی از طریق بررسی پاسخ‌های سلولی و فیزیولوژیکی فراهم می‌سازند (Andujar et al., 2014). موردی از تجمع زیستی است که در آن غلظت ماده شیمیایی در موجود زنده در اثر جذب از طریق مواد تغذیه افزایش می‌یابد و تغلیظ زیستی آن بخش از فرآیند جذب آلاینده را شامل می‌شود که آلاینده از محیط پیرامونی به صورت مستقیم از آب یا رسوبات جذب میشوند و به صورت انتقال آلاینده از فاز آبی به درون پیکر یک موجود قابل تعریف است و زمانی که نرخ جذب از نرخ دفع بالاتر باشد، رخ می‌دهد. نقش هر یک از مسیرهای جذب وابسته به رفتار تغذیه‌ای، چرخه‌ی زندگی، سایز بدن موجود و طول دوره مواجهه است (Gerhard, 1993). جذب فلزات سنگین در صدف *Anodonta cygnea* در تالاب انزلی مورد بررسی قرار گرفته است (بابایی سیاهگل، ۱۳۸۳). دوکفه‌ای‌ها دارای فرآیندهای توسعه یافته‌ای جهت درونی‌سازی سلولی ذرات با اندازه نانو و میکرو (به ترتیب اندوسیتوز و فاگوسیتوز) دارند که در عملکرد

و وظایف فیزیولوژیکی آنها نظیر هضم درون سلولی و ایمنی سلولی اهمیت فراوانی دارند (Golovanova, 2005). دوکفه‌ای‌ها قادر به تجمع زیستی فلزات ضروری و غیرضروری تا سطوح بالایی در بافتهای خود هستند در موجودات فیلترفیدر عمدتاً جذب فلزات از طریق آب صورت می‌گیرد (Barata; et al., 2002). در مطالعه حاضر، میزان انباشت و جذب زیستی نانوذرات اکسیدروی دوکفه‌ای *Corbicula fluminea* در نتیجه مواجهه با سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش

۲-۱- جمع‌آوری نمونه‌های دوکفه‌ای

تعداد موردنیاز از دوکفه‌ای *Corbicula fluminea* با دامنه طولی 0.9 ± 0.5 cm و وزن $6 \pm$ g در مهر ماه ۱۳۹۴ از مصب رودخانه تجن در شهرستان ساری در استان مازندران جمع‌آوری شده (36°48'46''N, 53°6'57''E) و به آزمایشگاه آبی‌پروری گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شد. دوکفه‌ای‌ها به منظور سازگاری و رفع استرس ناشی از حمل و نقل به مدت ۱۰ روز در مخازن فایبرگلاس ۶۰ لیتری نگهداری شدند.

۲-۲- مواجهه دوکفه‌ای با نانوذرات اکسید روی

جهت تهیه محلول نانوذره روی از محصولات نانوذره تجاری شرکت نانو پیشگامان ایرانیان استفاده گردید. به منظور مواجهه دوکفه‌ای‌ها با نانوذرات بر اساس سطوح LC₅₀ نانو ذرات اکسید روی گزارش شده در مطالعات پیشین (fabrega et al., 2011)، غلظت غلظت‌های ۲/۵؛ ۵/۲۵ و ۲۵ ppm در نظر گرفته شد. نانوذرات در ابتدا با استفاده از دستگاه اولتراسوند با تعداد ۴۰۰ دور در دقیقه در حجم مشخص آب مقطر به مدت ۲۰ دقیقه پخش گردید تا به صورت همگن درآید. به دلیل اینکه نانوذرات پس از ۲۴ ساعت در توده آبی ترسیب پیدا می‌کنند، جهت اختلاط محلول نانوذره و یک فاز شدن با آب مخازن و کف‌هایها از دستگاه هموژنایزر با تعداد ۴۰۰۰ دور در دقیقه استفاده گردید. همچنین جهت دست یابی به نحوه پخش شدن نانوذرات در محیط آبی، نمونه آب با دستگاه تست Dynamiclight scattering یا DLS شد پس از اتمام دوره تطابق دوکفه‌ای‌ها با شرایط آزمایشگاهی، مواجهه دوکفه‌ای‌ها با غلظت انتخابی از نانو ذرات در طول مدت ۴۸ ساعت انجام گرفت. مواجهه دوکفه‌ای‌ها با نانو ذرات در مخازن شیشه‌ای حاوی سه لیتر آب صورت گرفت. پس از اتمام دوره مواجهه دوکفه‌ای‌ها با نانوذرات، نمونه‌های بافتی از بدن موجود استحصال گردید.

۲-۳- تعیین سطوح تجمع زیستی

مقدار ۲۰CC از توده‌ی آبی درون مخازن برداشت شده و با کاغذ صافی واتمن صاف می‌گردد. ظروف حامل نمونه‌های آب باید قبل از وارد کردن نمونه‌ی آب به آنها، ۱۲ ساعت حاوی محلول HCl ($\text{pH} < 2$) باشند. به منظور تثبیت نمونه‌های آب جهت آنالیز نانوذرات آهن، از HNO_3 با $\text{pH} < 2$ به عنوان تثبیت کننده استفاده می‌کنیم و ظروف حاوی این نمونه را تا زمان آنالیز آنها با دستگاه ICP در دمای کمتر از ۴ درجه سانتی‌گراد و در محیط تاریک نگهداری می‌کنیم (Marcovecchio, 2007). همچنین برای به دست آوردن وزن خشک دوکفه‌ای‌ها در دستگاه آن با دمای ۷۵ درجه به مدت ۴۸ نگهداری می‌شود تا کاملاً خشک شوند سپس توده خشک بافتی در نیتریک اسید ۷۵٪ برای مدت ۲۴ ساعت هضم شده و سپس، به مدت ۳۰ دقیقه جهت تبخیر نیتریک اسید حرارت داده می‌شود. توده خشک به دست آمده را مجدداً در نیتریک اسید ۵۰٪ به حالت تعلیق درآورده و در دمای ۴ درجه سانتی-گراد تا زمان اندازه‌گیری مقدار فلز نگهداری می‌شود (Dimitriadis & Raftopoulou, 2011).

۳- آنالیزهای آماری

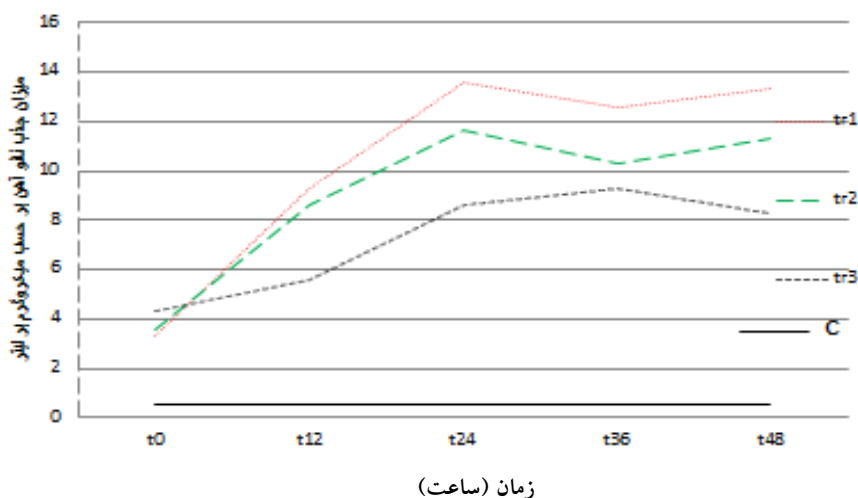
در این مطالعه جهت آنالیز پروبیت نرم افزار SPSS ورژن ۲۱ استفاده گردید، داده‌های برگرفته از شاهد و موجودات در معرض نانوذرات اکسید آهن توسط آنالیز واریانس (ANOVA) نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۹ مورد مقایسه قرار گرفتند. تفاوت معنی‌داری در آن، ($P < 0.05$) بود، سپس مقادیر میانگین با آزمون LSD مقایسه شد.

۴- نتایج

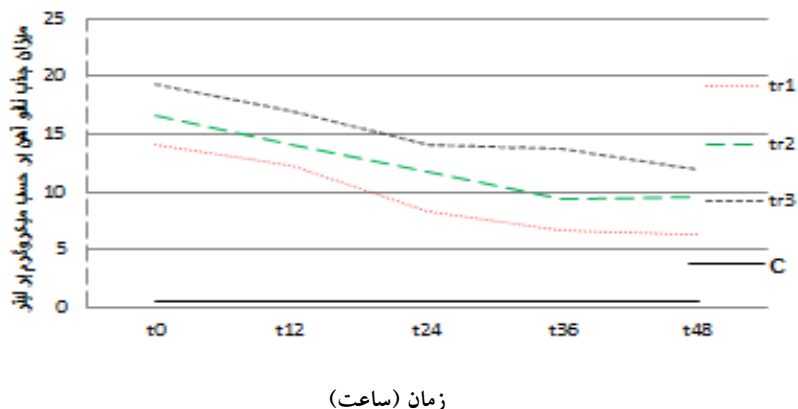
در تیمارهای اول تا سوم جذب نانوذرات توسط دوکفه ای اتفاق افتاده است به طوری که با گذشت زمان این میزان جذب افزایش یافته که بیشترین آن برابر با $14/78 \pm 0/56$ میکروگرم بر لیتر که در کمترین غلظت مواجهه از نانوذرات $0/25$ ppm مشاهده شد. این در صورتی بوده که کمترین میزان جذب برابر با $9/41 \pm 0/30$ میکروگرم بر لیتر در بالاترین غلظت مواجهه نانوذرات، 25 ppm مشاهده شد. به طور کلی میزان جذب نانوذرات در غلظت‌های که به صورت $0/25$ ppm نانو آهن بوده به صورت معنی‌داری ($p < 0.05$) بیشتر از سایر غلظت‌ها مشاهده شد و در ($p < 0.05$) کمتر از سایر غلظت‌ها بوده است. به طور کلی روند میزان جذب به صورت افزایشی بوده است که بالاترین میزان جذب در تیمار اول در زمان ۲۴ ساعتی رخ داده بود.

در مجموع بررسی نتایج این تحقیق حاکی از توانایی دوکفه‌ای در جذب نانو روی داشته، به طوری که در ابتدای آزمایش در هر سه تیمار با سه غلظت متفاوت آلاینده نانوذرات روی، دوکفه ای دارای

قدرت فیلترکنندگی تقریباً یکسانی بوده اما به مرور زمان از توان فیلترکردن دوکفه‌ای کاهش یافته به طوری که این کاهش در ارتباط با غلظت نانوذرات بوده است چرا که کاهش میزان فیلترکردن (جذب) در تیمارهای که غلظت بالایی داشته نسبت به تیمارهای که از غلظت کمتری از نانوذرات برخوردار بوده کاهش چشمگیری داشته، اما در تیمارهایی که میزان غلظت نانوذرات پایین بوده (تیمار اول و دوم) میزان جذب نانوذرات بادوکفه‌ای روند افزایشی داشته به گونه‌ای که این روند افزایش در تیمار اول که کمترین غلظت را داشته در بالاترین سطح بوده است. همچنین نتایج تست DLS مؤید این امر بوده است که نحوه پخش شدن ذرات نانو در مخازن حاوی دوکفه‌ای هموزن بوده در نتیجه مواجهه دوکفه‌ای‌ها با نانوذرات در مخازن یکسان بوده است.

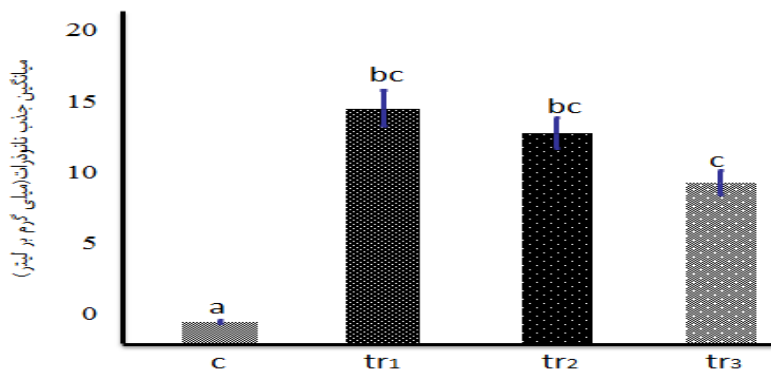


شکل ۱: میزان جذب نانوذرات (تجمع نانوذرات) اکسید روی در مواجهه با جاذب زیستی (دوکفه‌ای‌ها)



شکل ۲: میزان نانوذرات جذب نشده در آب توسط دوکفه‌ای

با توجه به شکل ۲ دوکفه‌ای توانایی جذب نانوذرات اکسید روی را داشته به طوری که در هر سه تیمار فرآیند جذب اتفاق افتاده اما بیشترین میزان جذب در ابتدا در تیمار اول بعد تیمار دوم و نهایتاً تیمار سوم رخ داده است این در صورتی است که میزان غلظت نانوذرات در تیمار اول و با شدت کمتر در تیمار دوم کاهش چشمگیری داشته و تیمار سوم نسبت به دو تیمار به علت دارا بودن غلظت بالاتر کاهش کمتری داشت

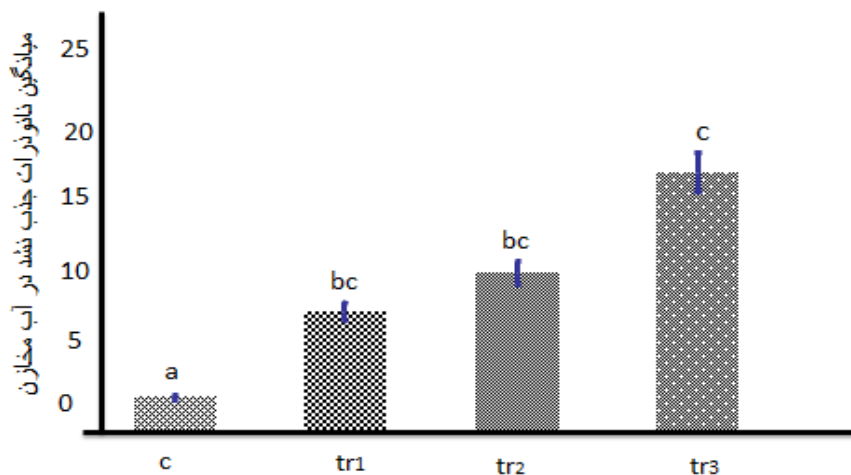


شکل ۳: میانگین جذب نانوذرات اکسید روی توسط دوکفه‌ای در دوره جذب ۴۸ ساعته

میانگین جذب نانوذرات اکسید آهن توسط دوکفه‌ای در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشخص است در تیمار شاهد بدون حضور آلاینده (نانو ذرات اکسید آهن) میزان غلظت نانوذرات ثابت و در حد صفر میکروگرم بوده است. در تیمارهای سوم تا اول جذب نانوذرات توسط دوکفه‌ای اتفاق افتاده است، به طوری که بیشترین میزان جذب در تیمار اول و کمترین میزان جذب در تیمار سوم رخ داده است.

جدول ۱: میانگین جذب نانوذرات اکسیدروی توسط دوکفه‌ای در دوره جذب ۴۸ ساعته

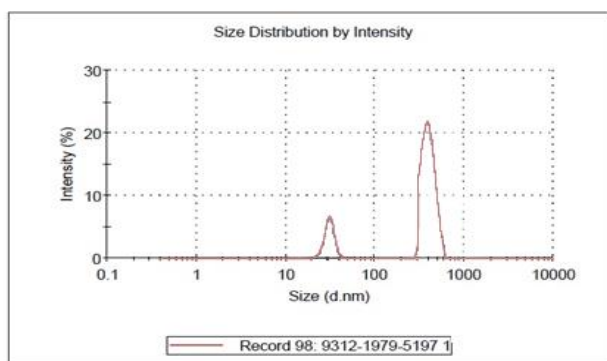
میانگین جذب نانوذرات (mean±SD)	شاهد	تیمار اول-۴۸ ساعت	تیمار دوم-۴۸ ساعت	تیمار سوم-۴۸ ساعت
	۰	۰/۷۸±۰/۵۶	۱۱/۸۳±۰/۵۸	۹/۴۱±۰/۳۰



شکل ۴: میانگین نانوذرات اکسید روی جذب نشده توسط دوکفه‌ای در دوره جذب ۴۸ ساعته

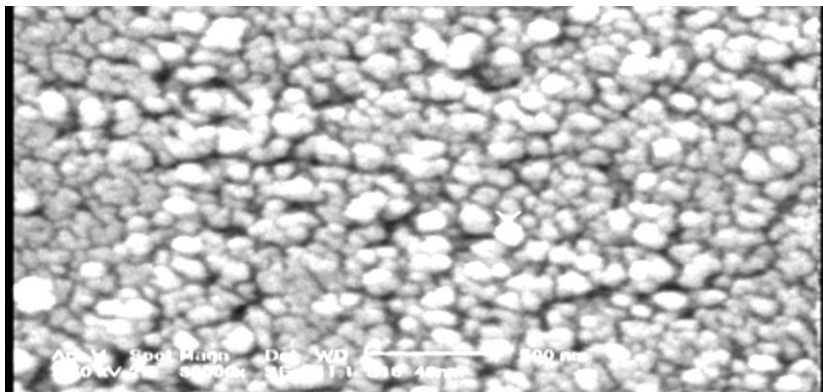
جدول ۲: میانگین نانوذرات اکسید روی جذب نشده توسط دوکفه‌ای در دوره جذب ۴۸ ساعته

میانگین نانوذرات جذب نشده (mean±SD)	شاهد	تیمار اول-۴۸ساعت	تیمار دوم-۴۸ساعت	تیمار سوم-۴۸ساعت
	۰	۷ / ۲۱±/۸۱	۹ / ۱۳±/۴۸	۱۳ / ۴۱±/۲۲۰



شکل ۵: اندازه نانوذرات پخش شده در مخازن حاوی دوکفه‌ای

شکل شماره ۵ اندازه ذرات محلول نانو اکسید روی را نشان می‌دهد. با توجه به شکل در پیک اول ۲۵٪ درصد حجمی از نانوذرات اکسید آهن در محلول کلوییدی دارای قطر ۵۰ نانومتر می‌باشند و در پیک دوم ۷۵٪ درصد حجمی از نانوذرات دارای قطری معادل ۷۵۰ نانومتر می‌باشد. به دلیل خاصیت مغناطیسی نانوذرات روی میزان پخش شدگی آن در مخازن حاوی دوکفه‌ای با هم‌وزنی بالا صورت پذیرفته است.



شکل ۶: تصویر میکروسکوپ الکترونی SEM نانوذرات اکسید روی

۵- بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد در تیمارهای اول تا سوم جذب نانوذرات توسط *Corbicula fluminea* اتفاق افتاده است به طوری که با گذشت زمان این میزان جذب افزایش یافته که بیشترین آن برابر با $14/78 \pm 0/56$ میکروگرم بر لیتر که در کمترین غلظت مواجهه از نانوذرات $0/25$ ppm مشاهده شد. این در صورتی است که کمترین میزان جذب برابر با $0/30 \pm 9/41$ میکروگرم بر لیتر در بالاترین غلظت مواجهه نانوذرات، 25 ppm مشاهده شد.

در تیمار شاهد بدون حضور آلاینده میزان غلظت نانوذرات ثابت و در حد صفر میلی‌گرم بر لیتر بود. به طور کلی میزان جذب نانوذرات در غلظت‌های که به صورت $0/25$ ppm نانو آهن بوده به صورت معنی‌داری ($p < 0.05$) بیشتر از سایر غلظت‌ها مشاهده شد و در ($p < 0.05$) کمتر از سایر غلظت‌ها بوده است. در تیمار دوم که دارای غلظت $2/5$ ppm از نانوذرات اکسید روی بود میزان جذب روند افزایش داشته که این میزان جذب در ارتباط مستقیم با نرخ فیلتراسیون می‌باشد که بیانگر این امر است که دوکفه‌ای در تیمارهای اول و دوم دارای بالاترین میزان جذب بوده است و می‌توان گفت که در این غلظت‌ها دوکفه‌ای بهترین کارایی را جهت جذب و حذف آلاینده داشته است و در تیمار سوم نیز جذب اتفاق افتاده اما میزان جذب نسبت به دو تیمار دیگر کمتر بوده است و مؤید این است که دوکفه‌ای بهترین کارایی را در غلظت‌های کمتر از $2/5$ ppm دارد. پیشرفت تکنولوژی در زمینه نانو باعث گسترش استفاده از این علم در صنایع مختلف، از جمله آبی‌پروری گردیده است (Bar-Ilan et al., 2009)، ولی تا به حال گزارشات اندکی از مطالعه سمیت نانو ذرات نقره در صنعت آبی‌پروری ارائه شده است (Griffitt et al., 2008).

در مطالعه حاضر، نتایج به دست آمده نشان داد که با افزایش مدت زمان مواجهه با نانوذرات، میزان

فیلتراسیون در دوکفه‌ای کاهش یافته است که در نتیجه آن میزان جذب کاهش یافته است که با مطالعه (Abel, 1976). همسو بوده است. (Shi & Wang, 2004) نشان دادند که مواجهه با فلز سنگین مس کاهش معنی‌داری را در نرخ فیلتراسیون دوکفه‌ای‌ها به همراه دارد که این امر منجر به کاهش میزان جذب شده است که با مطالعه حاضر همسو است.

مطالعات (Cashike et al, 1987) بر روی روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* و کلادوسر *Daphniamagna* در معرض سطوح تحت کشنده متیل پارازیون برای تعیین اثرات آن بر نرخ فیلتراسیون و بلعیدن قرار گرفتند که کاهش چشمگیری در میزان جذب در هر دو ژنوپلانکتون مشاهده شد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. Hakanson و همکاران (۲۰۰۹) تجمع زیستی فلزات ضروری Zn, Co, Mn و را در اسکالوپ *Pectin maximus* در مواجهه با فلزات از طریق آب، غذا و رسوبات با استفاده از تکنیک radiotracer مورد بررسی قرار دادند که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. Hamerlad و همکاران (۱۹۹۰) گزارش دادند که مرگ و میر *Anodonta cygnea* در مواجهه با Cd برای مدت ۱۵ هفته پائین بوده که با مطالعه حاضر مغایر بوده است.

آذر باد (۱۳۸۹) جهت بررسی میزان جذب فلزات سنگین در کوتاه مدت و استرس‌های آنها بر میزان فعالیت‌های فیلتراسیونی اویستر *Saccostera cucullata* مقادیر جذب را مورد مطالعه قرار داد و نتایج او نشان دهنده کاهش نرخ جذب در پاسخ به حضور فلزات سنگین در محیط بود که نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر همخوانی داشته است (moezzi et al., 2013) گزارش کردند که مواجهه کوتاه مدت دوکفه‌ای *Anodonta cygnea* با ذرات فلزی کروم و مس باعث تجمع این ذرات فلزی در اندام‌های آبشش، هپاتوپانکراس و جبه شده است که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

در مجموع می‌توان بیان نمود که دوکفه‌ای *Corbicula fluminea* یک گونه مناسب جهت مطالعات پایش زیستی وقوع آلودگی‌های ناشی از ذرات فلزی و به طور خاص ذرات فلزی مورد بررسی در این مطالعه (نانوذره اکسید روی) می‌باشد.

سطح عوارض مورد بررسی (تجمع زیستی)، شاخص مناسبی برای پایش آلودگی‌ها و همچنین مطالعات مربوط به روابط اکوفیزیولوژیک این گونه و نیز موجودات مشابه با نانوذرات در محیط‌های آبی هستند. از طرف دیگر این گونه به عنوان یک گونه مناسب جهت حذف ذرات فلزی (نانو ذرات، فلزات سنگین و ...) در سیستم‌های تصفیه‌ی پساب‌ها یا محیط‌های آبی طبیعی آلوده شده پیشنهاد می‌گردد.

فهرست منابع

۱. آذرباد، ح. (۱۳۸۹). مطالعه صحرایی جذب فلزات سنگین توسط صدف *Saccostrea cucullata*. (مطالعه موردی: جنگل‌های مانگرو لاف). پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشگاه تهران.

۲. بابایی سیاهگل، ه. (۱۳۸۳). بررسی جذب فلزات سنگین در صدف آنودونت (*Anodonta cygnea*) در تالاب بین‌المللی انزلی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تهران شمال.
۳. خیام نکویی، م.، بی آزار، ا.، صالحی جوزای، غ. (۱۳۸۹). فناوری نانو در علوم کشاورزی. ۲۴۱ صفحه.
۴. فرحبخش، ا.، نعیمی، ا.، موحدی، ع.، احرار، ا.، مظفری، م.، صحتی، ن. (۱۳۸۵). مقدمه ای بر نانو تکنولوژی. ۵۰۳ صفحه.
5. Abel, P.D. (1976). Effects of some pollutants on the filtration rate of *Mytilus*. Marine pollution bulletin, 7(1976) 228-231.
6. Andujar, P., Simon-Deckers, A., Galateau-Sallé, F., Fayard, B., Beaune, G., Clin, B., Lanone, S. (2014). Role of metal oxide nanoparticles in histopathological changes observed in the lung of welders. Particle and Fiber Toxicology, 11 (1), 1-13.
7. Barata, C., Markich, S.J., Baird, D.J., Soares, A.M.V.M. (2002). The relative importance of water and food as cadmium source to *Daphnia magna* Straus. Aquatic toxicology, 61(3-4):143-154
8. Bar-Ilan, O., Albrecht, R. M., Fako, V. E., and Furgeson, D. Y. (2009). Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish. Embryos Small, 5(16): 1897-1910.
9. Cashike, J.A., and Ward, J.V. (1995). Nitrate (NO₃-N) toxicity to aquatic life: a proposal of safe concentrations for two species of Nearctic freshwater invertebrates. Chemosphere. 31:3211-3216.
10. Fabrega, L., Luoma, S.N., Tyler, C.R., Galloway, T.S., Lead, J.R. (2011). Silver nanoparticles. Behavior and effects in the aquatic environment. Environment international, 37(2), 517-531
11. Farris, J. L., Van Hassel, J. H. (2007). Freshwater bivalve Ecotoxicology. CRC Press, Taylor and Francis group, p. 375.
12. Gerhard, A. (1993). Review of impact of heavy metals on stream invertebrates with special emphasis on acid conditions. Water, air, and soil pollution, 66 (3):289-314
13. Golovanova, I.L., Frolova, T.V. (2005). Influence of copper, zinc and cadmium upon carbohydase activities in aquatic invertebrates. Biologica Vnutrennih Vod., 4:73-83
14. Hakanson, L. (1984). Metals in fish and sediment from the river kolbacksan water system, Sweden. Archive for hydrobiology, 101:373-400
15. Hamelraad, J., Teerds, K.J., Herwig, H.J., Zandee, D.I. (1986). Cadmium kinetics in freshwater clams. II. A comparative study of cadmium uptake and cellular distribution in the Unionidae: *Anodonta cygnea*, *Anodonta anatine* and *Unio pictorum*. Archives of environmental Contamination and Toxicology, 15:9-21.
16. Martins J, Oliva TL, Vasconcelos V. (2007). Assays with *Daphnia magna* and

- Danio rerio as alert systems in aquatotoxicology. Environ Int 2007; 33(3): 414-25.
17. **Moore, M.N. (2006).** Nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment International, 32: 967–976.
 18. **Marcovecchio, J.E., Botté, S.E., Freije, R.H., (2007).** Heavy metals, major metals, trace elements. In: Nollet, L.M.L., Handbook of water analysis. CRC Press, Taylor & Frannsis Group, Boca Raton New York, pp. 275-312
 19. **MUSSE, Lp. (2004).** Mussel of the month. Retrieved from of the MUSSEL Project Web Site, the National Science Foundation. [http:// clade. acnatsci. org/ mussel/ m/ mom/ archive /2004/04-12.html](http://clade.acnatsci.org/mussel/m/mom/archive/2004/04-12.html).
 20. **Moezzi, F., Javanshir, A., Eagderi, S., Pourbagher, H., Sallaki, M. (2013).** Evaluation of bivalve clearance (CR) as a physiological indicator of heavy metal toxicity in freshwater mussel, *Anodonta cygnea* (Linea, 1876). Scientific journal of animal sciences. 2(4), 89-94.
 21. **Raftopoulou, E. K., Dimitriadis, V. K., (2011).** Comparative study of the accumulation and detoxification of Cu (essential metal) and Hg (nonessential metal) in the digestive gland and gills of mussels *Mytillus galloprovincialis*, using analytical and histochemocal techniques. Chemosphere. 83: 1155 – 1165.
 22. **Santos, A.R., Miguel, A.S., Tomaz, L., Malho, R., Maycock, C., Vaz Patto, M.C. (2010).** The impact of CdSe/ZnS quantum dots in cells of *Medicago sativa* in suspension culture, J. Nanobiotechnol. 8, 24-37
 23. **Shi, D., Wang, W.X. (2004).** Modification of trace metal accumulation in the green mussel *Perna viridis* by exposure to Ag, Cu and Zn. Environmental pollution. 132:265;277.