Research Article

**Nova Biologica Reperta** 11(3): 61-69 (2024)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI:

مقاله پژوهشی

**یافته‌های نوین در علوم زیستی**

جلد ۱۱، شماره ۳، صفحات ۶۱ الی ۶۹ (۱۴۰۳)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

# مطالعه تاثیر توام نانو ذره اکسید آهن (Fe2O3)و گیاه یونجه بر پارامترهای رشد و آسیب شناسی لوله گوارش، کبد و کلیه ماهی کوی(Cyprinus carpio)

**محمدرضا پورمحمد[۱]، جینا خیاط زاده[۲*]، وحید حنفی[۳]، مهرداد ایرانشاهی[۴]**

[۱] کارشناسی ارشد، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکدهٔ پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران، [۲] دانشیار ،گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران،[۳] کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران،[۴]استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

**مسئول مکاتبات:** جینا خیاط زاده j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

**چکیده.** نانوذرات اکسید آهن جزو پرکاربرد ترین نانوذرات در دنیا است. هدف این پژوهش بررسی تاثیر توام نانو ذره اکسید آهن (Fe2O3) و گیاه یونجه بر پارامترهای رشد و آسیب شناسی لوله گوارش، کبد و کلیه ماهی کوی(Cyprinus carpio) بود.

در این پژوهش تجربی، تعداد ۶۰ عدد لارو ماهی کوی به طور تصادفی به ۶ گروه شامل گروه شاهد و ۵ گروه تجربی تقسیم شدند. اثر تغذیه لارو ماهی کوی با بیومار توأم با یونجه ۱۰ درصد، ۲۰ درصد و قرارگرفتن به مدت ۱۴ روز درمعرض نانوذرات اکسید آهن با غلظت ۱۰۰ mg/l در ۵ گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد تحت بررسی قرار گرفت. داده های جمع آوری شده توسط نرم افزار های آماری Excel و SPSS 20 مورد تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: بیشترین افزایش در میانگین سرعت رشد اختصاصی، افزایش وزن و افزایش طول مربوط به گروه تیمار با Alfa20 و کمترین مقدار هم مربوط به گروه تیمار با Fe2O3 بود. همچنین کمترین اختلالات آسیب شناسی کبد، کلیه، معده و روده ماهی ها مربوط گروه تیمار با Alfa20 و بیشترین اختلالات آسیب شناسی هم مربوط به گروه تیمار با Fe2O3 بود.

به نظر می رسد ، بیومار غذایی چنانچه با یونجه در غلظت های مناسب همراه شود، در ازدیاد بهره وری شیلاتی پیشنهاد مناسبی باشد.

**واژه‌های کلیدی:** ماهی کوی، یونجه، هیستولوژی، نانوذرات اکسید آهن

# Investigating the effects of combined application of iron oxide nanoparticles (Fe2O3) and alfalfa on growth parameters and pathology of digestive tube, liver and kidney of Koi fish (Cyprinus Carpio)

**Mohammadreza Pourmohammad [1], Jina Khayatzadeh [2*], Vahid Hanafi [3], Mehrdad Iranshahi [4]**

[1] MS ، Department of Parasitology and Mycology, School of Allied Medical Sciences, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran, [2] Associate Professor ،Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran, [3] MS ،Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran, [4] professor ،Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Corresponding author: Jina Khayatzadeh, j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

**Abstract.** Iron oxide nanoparticles are among the most widely used in the world. The aim of this research was to investigate the combined effect of Fe2O3 and alfalfa plant on growth parameters and pathology of digestive tract, liver and kidney of koi fish (Cyprinus carpio).

In this experimental research, the number of 60 koi fish larvae were randomly divided into 6 groups. The effect of feeding koi fish larvae with biomar combined with 10% and 20% alfalfa and being exposed to Fe2O3 with a concentration of 100 mg/l for 14 days. The collected data were analyzed by Excel and SPSS 20 statistical software.

The Alfa20 treatment group exhibited the most significant enhancements in average specific growth rate, weight gain, and length increase. Conversely, the Fe2O3 treatment group demonstrated the least favorable outcomes in these metrics. Additionally, the incidence of pathological disorders affecting the liver, kidney, stomach, and intestines was lowest in the Alfa20 group, while the highest prevalence of such disorders was observed in the Fe2O3 group.

It seems that food biomar, if it is combined with alfalfa in appropriate concentrations, while reducing the toxic effect of iron nanoparticles; it is a good suggestion for increasing fishery productivity.

**Key words.** Koi fish, alfalfa, histology, iron oxide nanoparticles

Received 15.06.2024/ Revised 24.09.2024/ Accepted 01.12.2024/ Published 21.12.2024

دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۶/ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۷/۰۳/ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۱/ انتشار: ۱۴۰۳/۱۰/۱



[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]

[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]

[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]

## مقدمه

هدف اصلی آبزی پروری را می توان تولید ماهی در کوتاهترین زمان با کمترین هزینه تلقی کرد، که جز با افزایش حداکثری سرعت و بازده رشد به صورت همزمان تحقق نمی‌پذیرد و لازمه آن پرهیز از مواجهه حیوان با تنش های محیطی است (De Rezende et al., 2021). تکثیر و پرورش ماهیان زینتی نیز به دلیل اهمیت اقتصادی بالای آن توسعه چشمگیری داشته است. یکی از پر طرفدارترین ماهیان آکواریومی در سطح جهان ماهی کوی می باشد و در کشور ما نیز مهم ترین و پر فروش ترین ماهی آکواریومی محسوب می شود (Andrian et al., 2024).

ماهی کوی نمونه ای از کپورماهیان است. زیستگاه اصلی این ماهی، ژاپن و در بعضی کشورها پرورش ماهی کوی به حرفه ای پردرآمد تبدیل شده است. ماهی کوی میتواند در دمای ۳۰-۱ درجه سانتیگراد بهراحتی زندگی کند اما بهترین دما برای نگهداری آن درآکواریوم بین ۲۶/۸ تا ۲۹/۳ درجه سانتیگراد است(Hossain et al., 2021).

فناوری نانو، شناخت و کنترل مواد در ابعاد بین یک تا صد نانومتر است و کاربردهای مختلفی در صنایع مانند الکترونیک، مغناطیس، اپتوالکتریک، داروسازی، محصولات بهداشتی، تولید انرژی و زیست محیطی پیدا کرده اند. این فلزات که به روش های مختلفی به محیط زیست راه یافته اند، از مسیرهای گوناگونی به محیط های آبی منتقل میشوند و میتوانند بر رشد و نمو آبزیان تاثیر بگذارند، لذا اهمیت مطالعه نانوذرات مورد توجه قرار گرفته است (Dube & Okuthe., 2023).

نانو ذرات اکسیدآهن دارای کاربردهای زیست پزشکی زیادی از قبیل بازسازی بافتی، ایمنی سنجی، رفع مسمومیت مایعات زیستی، گرما درمانی سلول های سرطانی و... میباشند (Mcnamara & Tofall., 2023). نانوذرات اکسیدآهن بعنوان عنصر ایجاد کننده کنتراست در MRI (Magnetic Resonance Imaging) استفاده می شوند. امروزه از نانوذرات اکسیدآهن جهت نشانه گذاری سلول های بنیادی و ردیابی آن ها استفاده می‌شود (Asl, 2017). نانوذرات اکسید آهن بدلیل خواص فیزیکوشیمیایی که دارند بعنوان حامل های دارویی در درمان سلول های سرطانی در محیط های زنده نیز استفاده‌های گسترده ای دارند (Rizvi & Saleh., 2023).

مواد معدنی بسته به نقش زیستی خود می توانند در گروه های مختلفی همچون عناصر ضروری، غیرضروری و سمی طبقه بندی شوند (Van & Giller., 2017). در این طبقه بندی، فلزاتی مثل آهن، روی و مس در گروه عناصر ضروری قرار میگیرند چرا که آن ها نقش مهمی در سیستم های زیستی ایفا می کنند (Hu et al., 2017). البته عناصر ضروری زمانی که دریافت بیش از حدی داشته باشند، میتوانند اثرات سمی ایجاد کنند (Zoroddu et al., 2019). اکثر نانو ذرات در گونه های جانوری موجب ایجاد استرس اکسیداتیو و تغییرات تولید مثلی می گردند و با کاهش طول عمر و تاثیر بر آنزیم های بدن، اثر سرطان زایی دارند. بنابراین، ارزیابی اثر این نانوذرات بر سلامت انسان ها و محیط زیست و اکوسیستم ضروری به نظر میرسد. مسمومیت حاد نانوذرات بستگی به اندازه، سن و وضعیت گونه های تحت آزمایش دارد (Kumar et al., 2020).

یونجه گیاهی گلدار از تیره باقلائیان (Fabaceae) است که در مناطق زیادی ازجمله در خاورمیانه می روید. یونجه غذایی ارزان برای حیوانات است که سرشار از مواد معدنی، ویتامین ها (گروه B ، C، D، E و K)، پروتئین و اسیدهای آمینه است. یونجه به مثابه منبعی پروتئینی در تغذیه بعضی از ماهی ها به کار رفته است ویتامین ها و پلی فنل های موجود در یونجه، اثر آنتی اکسیدانی دارند(Aly et al., 2019).

با توجه به اثر تقویتی گیاه یونجه بر میزان رشد و نمو ماهی کوی، نقش محافظتی آن در برابر اثرات سمی نانوذرات آهن و نظر به اینکه تاکنون مطالعه ای در مورد تاثیر توام نانوذرات آهن و گیاه یونجه بر پارامترهای رشد و هیستولوژیک ماهی کوی مشاهده نشده است، هدف از این مطالعه بررسی تاثیر توام نانوذرات آهن و گیاه یونجه بر پارامترهای رشد و هیستولوژی لوله گوارش، کبد و کلیه ماهی کوی بود. این مطالعه در نیمه اول سال ۱۴۰۱ در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد.

## روش

این مطالعه یک پژوهش تجربی بود که در سال ۱۴۰۱ انجام شد. لارو ماهی کوی از مرکز پرورش ماهیان آکواریومی در حومه شهر مشهد تهیه شد و درون پاکت های نایلونی حاوی آب و اکسیژن به آکواریوم های تهیه شده منتقل گردید. به مدت یک هفته به ماهی ها زمان داده شد تا با شرایط آکواریوم تطابق یابند. در شروع آزمایش، به مدت ۲۴ ساعت به لاروها غذایی داده نشد. در روز اول آزمایش قد آن ها با کولیس اندازه گیری و سپس با ترازوی حساس دیجیتالی وزن آنها ثبت شد.

فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب آکواریوم

آکواریوم های مورد استفاده در ابعاد ۴۰× ۴۰× ۴۰ سانتی متر مکعب با شیشه ای به ضخامت ۴ میلی متر ساخته شدند و پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم به حجم ۳۰ لیتر آبگیری شدند. دمای آب آکواریوم ها توسط بخاری برقی درون آکواریومی در محدوده بین ۲۶ تا ۲۹ درجه سانتیگراد تنظیم شده بود.



[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]
[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]

اکسیژن حل شده در آب ۶.۵ میلی گرم بر لیتر و pH مورد نیاز ۶.۹ تا ۷.۲ بود (Lin et al., 2012).

تهیه نانوذرات اکسید آهن

نانوذرات اکسید آهن Fe2O3 از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (پارس سنتر) خریداری گردید. این نانوذرات محصول شرکت US NANO آمریکا بودند. نانوذرات اکسید آهن جهت تعیین مورفولوژی و سایز ذرات، توسط دستگاه های تحلیل پراش اشعه X (XRD) مورد بررسی قرارگرفت. سپس به مقدار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر با غذای بیومار و نیز با مخلوطی از بیومار و پودر یونجه در آکواریوم ها مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه پودر یونجه

گیاه یونجه ( Medicago sativa) تهیه و بر اساس هرباریوم دانشکده داروسازی مشهد تعیین گونه گردید. شماره کد هرباریوم مورد نظر ۱۰۹۹۸ است. اندام های هوایی گیاه یونجه در هوای آزاد و در مقابل تابش خورشید و سپس در آون ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت تا کاملا خشک شود. پس از اطمینان از خشک شدن، اندام های هوایی آسیاب شدند.

تهیه غذای ماهی

غذای پایه ماهی (بیومار فرانسوی) از سازمان شیلات وابسته به جهاد کشاورزی مشهد تهیه و در دانشکده داروسازی مشهد آسیاب شد. پودر یونجه را با پودر بیومار با نسبت های ۱۰ به ۹۰ درصد و ۲۰ به ۸۰ درصد مخلوط کرده و به آن آب اضافه گردید تا یک مخلوط خمیری حاصل شود و خمیر حاصل را از دستگاه گرانولاتور آلمانی مدل Erweka AR 400 عبور داده تا گرانول های بلغور یونجه همراه با غذای ماهی تهیه شود و سپس به مدت ۲۴ ساعت در آون ۴۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا خشک شود. پس از خشک شدن، گرانول ها به ظرف های درب دار پلاستیکی منتقل شده و در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. قبل از تغذیه ماهی، غذا از فریزر خارج شد تا باز شود. کلیه مراحل تهیه پودر یونجه و پودر بیومار و تهیه بلغور یونجه در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد (Zhu et al., 2012).

گروه بندی و تغذیه نمونه ها

لاروهای ماهی به صورت تصادفی در ۶ آکواریوم توزیع شدند. با احتساب احتمال مرگ و میر هر گروه دارای ۱۰ لارو ماهی بود. گروه اول (Control): لاروهای ماهی با غذای پایه و بدون هیچ گونه افزودنی تغذیه شدند. گروه دوم (Alfa10): لاروهای ماهی با بلغوری متشکل از ۹۰ درصد غذای پایه و ۱۰ درصد برگ یونجه تغذیه شدند. گروه سوم (Alfa20): لاروهای ماهی با بلغوری متشکل از ۸۰ درصد غذای پایه و ۲۰ درصد برگ یونجه تغذیه شدند. گروه چهارم(Fe2O3): لاروهای ماهی با غذای پایه و بدون هیچ گونه افزودنی و غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات آهن تغذیه شدند. گروه پنجم (Alfa10Fe): لاروهای ماهی با ترکیبی از ۹۰ درصد غذای پایه و ۱۰ درصد برگ یونجه همراه با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر از نانوذرات آهن تغذیه شدند. گروه ششم (Alfa20Fe): لاروهای ماهی با ترکیبی از ۸۰ درصد غذای پایه و ۲۰ درصد برگ یونجه همراه با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر از نانوذرات آهن تغذیه شدند. مقدار غذادهی، ۵ درصد میانگین وزن بدن لاروها بود. در طول دوره آزمایش، هر روز دو نوبت صبح و عصر با دست غذادهی انجام شد (Yanar et al., 2008).

بررسی محاسبات بیومتری

محاسبه سرعت رشد اختصاصی SGR))

محاسبه سرعت رشد اختصاصی ۱۰۰ = × (وزن اولیه - وزن ثانویه) ÷ دوره پرورش به روز

ضریب تبدیل غذایی(FCR)

ضریب تبدیل غذایی = خوراک مصرفی ÷ افزایش وزن

درصد بقاء percent (Survival)

درصد بقاء ۱۰۰ = × (تعداد نهایی ماهی ÷ تعداد اولیه ماهی)

درصد افزایش وزن(increase in weight)

درصد افزایش وزن = (وزن اولیه - وزن ثانویه) ÷ وزن اولیه

افزایش طول(LG)

میانگین طول اولیه - میانگین طول ثانویه = افزایش طول

آسیب شناسی بافت های لوله گوارش، کبد و کلیه

در مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات نانوذرات آهن و گیاه یونجه بر هیستولوژی لوله گوارش، کبد و کلیه ماهی کوی ، نمونه برداری در روز چهاردهم انجام شد. برای این منظور در هر دوره پس از بیهوشی، ماهیان از سطح شکمی تشریح شدند و بافت های لوله گوارش، کبد و کلیه بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرارگرفتند. بعد از کامل شدن تثبیت، بافت ها از محلول فرمالین خارج و مقاطع بافتی تهیه و پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین، این برش ها توسط دو متخصص پاتولوژی با میکروسکوپ نوری بررسی شدند.

تجزیه و تحلیل داده ها

داده‌های جمع آوری شده توسط نرم افزارهای آماری Excel و SPSS 20 مورد تحلیل قرار گرفتند. روش‌های آماری مورد



[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]
[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]

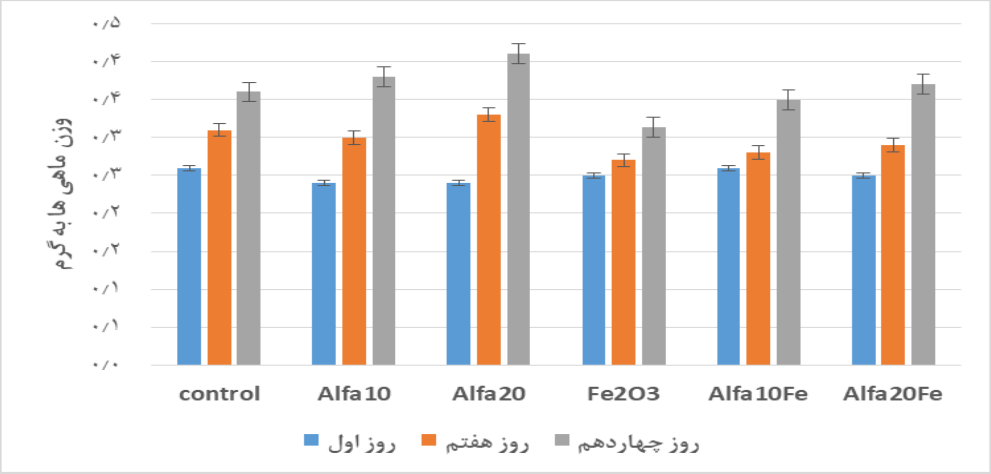
استفاده در این پـژوهش عبارتنـد از آزمـون تـی اسـتیودنت (T student)، آنالیز واریانس یک طرفـه (One-Way ANOVA) و آزمون توکی (Tukey Test). همچنین از میانگین، خطای معیار و نمودارهای ستونی جهت تو.صیف اطلاعات استفاده شد. سـطح معناداری آماری ٪۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

این تحقیق با هدف بررسی تاثیر توام نانوذرات آهـن و گیـاه یونجه بر پارامترهای رشد و هیسـتولوژی لولـه گـوارش، کبـد و کلیه ماهی کوی صورت گرفت.

**شکل ۱ــ** اثرات کاربرد ترکیبی نانوذرات اکسید آهن (Fe2O3) و تیمار یونجه بر وزن ماهی در روزهای اول، هفتم و چهاردهم.

**Figure. 1**. effects of combined application of iron oxide nanoparticles (Fe2O3) and alfalfa treatment on Weight of fish at the first, seventh and fourteenth days.

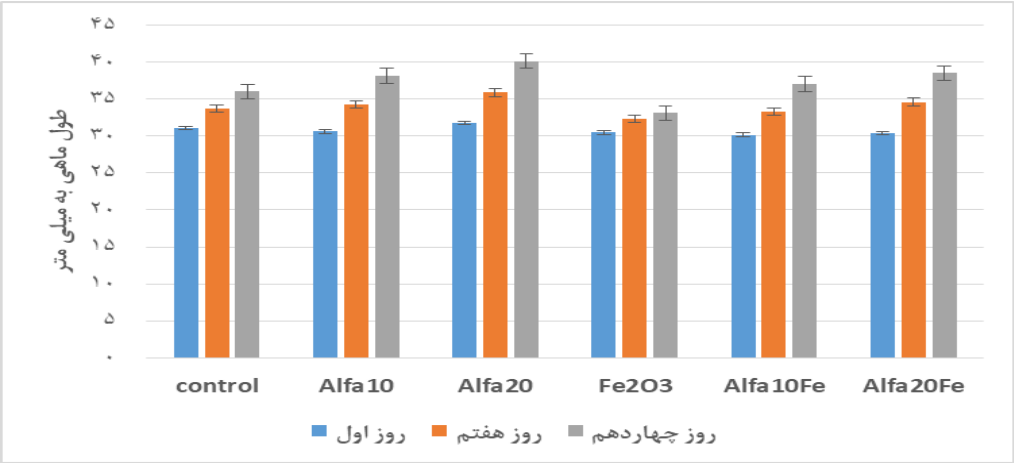



در روز اول آزمایش، تفاوت معنا داری در میانگین وزن اولیه بـین هیچ کـدام از گـروه هـای هـدف مشـاهده نشـد. در روز هفـتم، بیشترین افزایش وزن به طور معنادار مربوط به وزن گروه تیمار با Alfa20 و کمترین مقدار وزن به طـور معنـادار مربـوط بـه گروه تیمار با $Fe_2O_3$ بود. تیمار توأم یونجه بـا نـانوذرات اکسـید آهن به ازدیاد معنادار نسبت به گروه نانوذرات آهن منجر شد امـا نسبت بـه گـروه هـای Alfa10 و Alfa20 کـاهش معنـادار و نسبت بـه گـروه شـاهد نیـز کـاهش غیرمعنـادار داشـت. در روز چهاردهم ، بیشترین افزایش وزن به طور معنادار مربوط به وزن گروه تیمار با Alfa20 و کمترین مقدار وزن بـه طـور معنـادار مربوط به گـروه تیمـار بـا Fe2O3 بـود. تیمـار تـوأم یونجـه بـا نانوذرات اکسید آهن به ازدیاد معنادار نسبت بـه گـروه نـانوذرات آهن منجر شد اما نسـبت بـه گـروه هـای Alfa10 و Alfa20 کاهش معنادار و نسبت به گـروه شـاهد نیـز کـاهش غیرمعنـادار داشت.

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]
[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]

**شکل ۲ـ** اثرات کاربرد ترکیبی نانوذرات اکسید آهن (Fe2O3) و تیمار یونجه بر طول ماهی در روزهای اول، هفتم و چهاردهم.

**Figure**. 2. Effects of combined application of iron oxide nanoparticles (Fe2O3) and alfalfa treatment on length of fish at the first, seventh and fourteenth days.




در روز اول آزمایش تفاوت معناداری در میانگین اولیه طول بین هیچ کدام از گروه های آزمایش مشاهده نشد. در روز هفتم، بیشترین افزایش طول ماهی ها به طور معنادار مربوط به طول گروه تیمار با Alfa20 و کمترین مقدار طول ماهی ها به طور معنادار مربوط به گروه تیمار با $Fe_2O_3$ بود. تیمار توأم یونجه با نانوذرات اکسید آهن به ازدیاد معنادار نسبت به گروه نانوذرات آهن منجر شد اما نسبت به گروه های Alfa10 و Alfa20 کاهش معنادار و نسبت به گروه شاهد نیز کاهش غیرمعنادار داشت. در روز چهاردهم، بیشترین افزایش طول ماهی ها به طور معنادار مربوط به طول گروه تیمار با Alfa20 و کمترین مقدار طول ماهی ها به طور معنادار مربوط به گروه تیمار با $Fe_2O_3$ بود. تیمار توأم یونجه با نانوذرات اکسید آهن به ازدیاد معنادار نسبت به گروه نانوذرات آهن منجر شد اما نسبت به گروه های Alfa10 و Alfa20 کاهش معنادار و نسبت به گروه شاهد نیز کاهش غیرمعنادار داشت. بیشترین افزایش در میانگین سرعت رشد اختصاصی، افزایش وزن و افزایش طول مربوط به گروه تیمار با Alfa20 و کمترین مقدار هم مربوط به گروه تیمار با Fe2O3 بود. تیمار توأم یونجه با نانوذرات اکسید آهن به ازدیاد معنادار نسبت به گروه نانوذرات آهن منجر شد اما نسبت به گروه های Alfa10 و Alfa20 کاهش داشت.

**جدول ۱-** نتایج سرعت رشد اختصاصی (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، بقا، درصد افزایش وزن و افزایش طول ماهی ها در روز

**Table 1**. Specific Growth Rate (SGR), Feed Conversion Ratio (FCR), survival rate (%), Weight Gain (WG %) and Length Gain (LG) at the day 14.

| شاخص | control | Alfa10 | Alfa20 | Fe2O3 | Alfa10Fe | Alfa20Fe |
|---|---|---|---|---|---|---|
| اختصاصی( رشد سرعت (SGR | ۰.۳۲۲ | ۰.۴۴۸ | ۰.۵۱۸ | ۰.۲۲۸ | ۰.۲۹۴ | ۰.۳۹۲ |
| غذایی تبدیل ضریب | ۱.۹۷۴ | ۱.۳۵ | ۱.۱۹ | ۲.۸۹۸ | ۲.۰۶ | ۱.۵۷ |
| بقا میزان | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۸۳.۴ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| وزن افزایش درصد | ۳۸.۴۶ | ۵۸.۳۳ | ۶۹.۴۲ | ۲۵.۶ | ۳۴.۶۱ | ۳۶ |
| طول افزایش | ۴.۹۴ | ۸.۱۲ | ۸.۳۸ | ۲.۶۸ | ۶.۸۸ | ۷.۵۴ |



[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]
[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]

**جدول ۲ـ** نتایج آسیب شناسی کبد، کلیه، معده و روده ماهی های تیمار شده با یونجه و نانوذرات اکسید آهن در روز چهاردهم

**Table 2-** Pathology results of liver, kidney, stomach and intestine of fish treated with alfalfa and iron oxide nanoparticles on the 14th day

| هدف اندام | اختلالات | گروه های هدف | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Alfa10 | Alfa20 | Fe2O3 | Alfa10Fe | Alfa20Fe |
| کبد | هموراژی | - | - | +++ | + | + |
| | ها هپاتوسیت تورم | - | - | ++ | + | + |
| | ها سل کوپفر ازدیاد | - | - | ++ | - | - |
| | شدن واکوئله | - | - | +++ | +++ | ++ |
| | سینوزوئیدها تخریب | - | - | ++ | + | + |
| | نانوذره رسوب | - | - | ++ | + | + |
| | شدن واکوئله | - | - | + | + | + |
| | نانوذره رسوب | - | - | + | + | + |
| کلیه | ساز خون بافت تروفی هایپر | ++ | ++ | - | - | + |
| | ها توبول پلازی هایپر | + | - | + | - | - |
| | ساز خون بافت آتروفی | - | - | + | + | - |
| | ها سل گابلت ازدیاد | ++ | + | ++ | ++ | + |
| | مخاط هایپرپلازی | - | - | ++ | + | - |
| معده | مخاط زیر هایپرپلازی | + | - | ++ | ++ | + |
| | پرز طول | ++ | ++ | + | ++ | ++ |
| | نانوذره رسوب | - | - | + | + | + |
| | ها سل گابلت ازدیاد | + | - | + | ++ | ++ |
| | مخاط هایپرپلازی | + | + | ++ | ++ | + |
| روده | مخاط زیر هایپرپلازی | - | - | + | + | + |
| | سلولی تورم | - | - | + | + | - |
| | پرز طول | ++ | ++ | + | ++ | ++ |
| | نانوذره رسوب | - | - | + | + | - |

(-) عدم وجود، (+) اختلال کم، (++) اختلال متوسط، (+++) اختلال شدید

طبق جدول ۲ کمترین اختلالات آسیب شناسی اندام ها مربوط گروه تیمار با Alfa20 و بیشترین اختلالات آسیب شناسی اندام ها مربوط به گروه تیمار با Fe2O3 بود. تیمار توأم یونجه با نانوذرات اکسید آهن به کاهش اختلالات آسیب شناسی نسبت به گروه نانوذرات آهن منجر شد اما نسبت به گروه های Alfa10و Alfa20 افزایش داشت.

## بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد ، گروه های تیمار شده با یونجه خصوصیات رشد بهتری را نسبت به سایر گروه ها داشته است. همچنین گروه هایی که نانوذرات آهن و غذای حاوی یونجه را دریافت کرده اند وضعیت رشد بهتری نسبت به گروه دریافت کننده نانوذرات آهن داشته اند. این اثر می تواند ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی یونجه و اثرات افزاینده رشد این گیاه باشد. اثرات اکسیداتیو گیاه یونجه توسط مواد آنتی اکسیدان موجود در آن مانند فلاونوئیدها و ویتامین C می‌تواند ایجاد شود.

در مطالعه ای نشان داده شد، که تغذیه ماهی کپور علف خوار با یونجه اثرات افزاینده رشد بهتری نسبت به گیاهان دیگر داشته است. این افزایش وزن با محتوای فسفر و پروتئین یونجه مرتبط می باشد (Muhammed et al., 2022). همچنین مطالعه Yadav و همکاران نشان داد که افزودن ۱۵ درصد یونجه، می تواند باعث رشد قابل قبول ماهی شود. همچنین در این مطالعه نشان داده شد که یونجه می تواند به عنوان جایگزین کاروتنوئیدهای طبیعی به جای آپواستر( نوعی رنگ زرد) سنتزی در رژیم غذایی ماهی گلدفیش به کار رود (Yadav et al., 2022). مطالعه Rechulicz و همکاران بر روی ماهی کپور نشان داد که افزودن فراورده‌ای به نامXanthophylls از گیاه یونجه به رژیم غذایی ماهی کپور، باعث افزایش بیشتر



[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]
[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]

طول بدن، وزن ماهی و سرعت رشد اختصاصی می شود (Rechulicz et al., 2014). مطالعه انجام شده در سال ۲۰۲۱ بر روی گورخر ماهی نشان داد که نانوذرات آهن پوشش داده شده با دکستران دارای سمیت عصبی می باشند. ماهی هایی که در معرض ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر نانوذرات آهن پوشش داده شده با دکستران به مدت ۲۴ ساعت دچار سمیت مغزی شدند که ناشی از مهار استیل کولین استراز و القاء آپوپتوز است(Saleem & Kannan.,2021). نتایج مطالعه حاضر نشان داد ، گروه های تیمار شده با یونجه خصوصیات رشد بهتری را نسبت به سایر گروه ها داشته است که این نتایج هم راستا با مطالعات فوق می‌باشد.

پژوهش انجام شده توسط d'Amora و همکاران نشان داد، که نانوذرات اکسیدآهن با غلظت های ۱۰۰ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر بعد از هفت روز به ترتیب باعث از بین رفتن بیش از ۷۵ درصد و ۴۵ درصد لارو گورخر ماهی می شوند. همچنین در غلظت های بالاتر از ۱۰ میلی گرم بر لیتر باعث تأخیر در تخم گشایی و سمیت می‌شود. در غلظت های بالای ۵۰ میلی گرم بر لیتر باعث ناهنجاری شدید لارو و جنین از جمله ادم محیطی، کمانی شدن (خمیدگی) بدن می شود D'Amora et al., 2022). اثرات آنتی اکسیدانی می‌تواند بر روند کاهش اثرات توکسیک آلاینده ها مؤثر باشد. لذا به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه یونجه در تیمارهای یونجه توأم با نانواکسید آهن نرخ رشد بیشتری نسبت به گروه تیمار با نانواکسید آهن مشاهده شد. نشان داده شده است که عصاره الکلی یونجه باعث ترمیم غضروف در گوش خرگوش میشود که میتواند ناشی از وجود ویتامین C در این گیاه باشد. بنظر می‌رسد اثر اکسیداتیو یونجه مربوط به مواد آنتی اکسیدان موجود در آن مانند ویتامین C و فلاونوئیدها است( Rafiei & Khayatzadeh., 2012 ). به نظر می رسد نتایج حاضر با مطالعات فوق هم راستا باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد ، گروه هایی که نانوذرات آهن و غذای حاوی یونجه را دریافت کرده اند وضعیت رشد بهتری نسبت به گروه دریافت کننده نانوذرات آهن داشته اند که این اثر ممکن است ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی یونجه می باشد .

مکانیسم اصلی عملکرد نانوذرات هنوز شناخته نشده است، اما مطالعات مختلف پیشنهاد می کنند که آنها می توانند گونه های فعال اکسیژن (ROS) را تولید کنند. بنابراین بر روی غلظت کلسیم درون سلول، فعال کردن فاکتورهای رونویسی و ایجاد تغییر در سایتوکنین ها می توانند نقش داشته باشند. ROS از روش های مختلفی نظیر آسیب رساندن به DNA، تداخل با مسیرهای سیگنالینگ سلولی، تغییرات در روند رونویسی ژن ها، می توانند به سلول ها آسیب وارد کنند. مطالعات متعدد نشان داده است که نانوذرات قادرند به میتوکندری وارد شده و آسیب های فیزیکی را ایجاد نمایند که منجر به استرس اکسیداتیو می گردد (Deldar et al., 2020). یونجه حاوی ترکیبات فلاونوئیدی، ویتامین C فراوان (مؤثر در پلیمریزاسیون فیبرهای کلاژن بافت همبند) و ویتامین A (مؤثر در رشد و نمو بافت پوششی، افزایش پیوندهای عرضی کلاژن) می‌باشد. عناصر معدنی مختلف از قبیل کلسیم، منیزیم، پتاسیم، آهن، فسفر، روی و سدیم در یونجه وجود دارد که برای تقسیم سلولی، فعالیت آنزیم های سنتزکننده DNA و پروتئین های دخیل در رشد و نمو و بازسازی بافت لازم هستند، می باشد(Raeeszadeh et al., 2022). در مطالعه حاضر، گروه هایی که نانوذرات آهن و غذای حاوی یونجه را دریافت کرده اند رشد بهتری نسبت به گروه دریافت کننده نانوذرات آهن به دلیل اثر آنتی اکسیدانی یونجه و اثر افزاینده رشد این گیاه داشته اند.

## نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه میتوان برای جلوگیری از اثر سمی نانوذرات بر ماهی ها به ویژه لارو آنها، از یونجه به همراه غذای ماهی استفاده کرد تا افزاینده رشد آنها بوده و مانع بروز سمیت در آنها شود. براساس نتایج، بهترین اثر محافظتی و رشد ماهی با بلغوری متشکل از ۲۰ درصد یونجه و ۸۰ درصد غذای پایه ماهی به دست آمده است.

## سپاسگزاری

در راستای پیش برد این طرح لازم است از ریاست محترم باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان استان خراسان رضوی خانم دکتر فرحناز مولوی و کارشناسان دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تشکر و قدردانی گردد.

## تعارض منافع

این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1401.100 در کمیته اخلاق پژوهی دانشگاه علوم پزشکی آزاد مشهد به تصویب رسیده است و اصول اخلاقی تماماً در این مقاله رعایت شده است.



[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]
[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]

## REFERENCES

**Aly, S. H., Elissawy, A. M., Eldahshan, O. A., Elshanawany, M. A., Efferth, T., & Singab, A. N. B.** 2019. The pharmacology of the genus Sophora (Fabaceae): An updated review. Phytomedicine, 64, 153070, doi:10.1016/j.phymed.2019.153070.

**Andrian, K. N., Wihadmadyatami, H., Wijayanti, N., Karnati, S., & Haryanto, A.** 2024. A comprehensive review of current practices, challenges, and future perspectives in Koi fish (Cyprinus carpio var. koi) cultivation. Vet World. 17, 1846-1854, doi:10.14202/vetworld.2024.1846-1854.

**Asl, H. M.** 2017. Applications of nanoparticles in magnetic resonance imaging: a comprehensive review. AJP. 11, 7-13.

**d'Amora, M., Schmidt, T. J. N., Konstantinidou, S., Raffa, V., De Angelis, F., & Tantussi, F.** 2022. Effects of Metal Oxide Nanoparticles in Zebrafish. Oxid Med Cell Longev, 2022, 3313016, doi:10.1155/2022/3313016.

**Deldar, H., Khayatzadeh, J., & Tehranipour, M.** 2020. Investigating the effects of combined application of Copper Oxide nanoparticles (CuO) and alfalfa (Medicago sativa) plant on the growth parameters of Koi fish (Cyprinus carpio). Nova Biol Rep, 7, 153- 160, (In Persian), doi: 10.52547/nbr.7.2.153.

**de Rezende, R. A. E., Soares, M. P., Sampaio, F. G., Cardoso, I. L., Ishikawa, M. M., Dallago, B. S. L., & Duarte, M. C. T.** 2021. Phytobiotics blend as a dietary supplement for Nile tilapia health improvement. Fish Shellfish Immunol. 114, 293-300, doi:10.1016/j.fsi.2021.05.010.

**Dube, E., & Okuthe, G. E.** 2023. Engineered nanoparticles in aquatic systems: Toxicity and mechanism of toxicity in fish. Emerg Contam. 9, 100212, doi:10.1016/j.emcon.2023.100212.

**Hossain, S., & Heo, G. J.** 2021. Ornamental fish: a potential source of pathogenic and multidrug- resistant motile Aeromonas spp. Lett Appl Microbiol. 72, 2-12, doi:10.1111/lam.13373.

**Hu, R. Z., Chen, W. T., Xu, D. R., & Zhou, M. F.** 2017. Reviews and new metallogenic models of mineral deposits in South China: An introduction. J Asian Earth Sci. 137, 1-8, doi:10.1016/j.jseaes.2017.02.035.

**Kumar, H., Bhardwaj, K., Nepovimova, E., Kuča, K., Singh Dhanjal, D., Bhardwaj, S., & Kumar, D.** 2020. Antioxidant functionalized nanoparticles: A combat against oxidative stress. Nanomaterials. 10, 1334, doi: 10.3390/nano10071334.

**Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Luo, L., & Pan, Y.** 2012. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and Bacillus coagulans on the growth, innate immunity and resistance of koi (Cyprinus carpio koi). Aquaculture. 342, 36-41, doi:10.1016/j.aquaculture.2012.02.009.

**McNamara, K., & Tofail, S. A.** 2017. Nanoparticles in biomedical applications. Adv Phys X. 2, 54-88, doi:10.1080/23746149.2016.1254570.

**Muhammed, S. J., Al-Dubakel, A. Y., & Gowdet, A. I.** 2022. Effect of the Feeding on Artificial Diet or Alfalfa Plant on the Growth of Grass Carp Ctenopharyngodon idella (Val. 1844) Fingerlings Cultivated in the Earthen Ponds. Basrah J Agric Sci, 35, 50-60, doi:10.37077/25200860.2022.35.1.04.

**Raeeszadeh, M., Beheshtipour, J., Jamali, R., & Akbari, A.** 2022. The antioxidant properties of alfalfa (Medicago sativa L.) and its biochemical, antioxidant, anti- inflammatory, and pathological effects on nicotine- induced oxidative stress in the rat liver. Oxid Med Cell Longev. 2022, 2691577, doi:10.1155/2022/2691577

**Rafiei, H., & Khayatzadeh, J.** 2012. Cartilage glycosaminoglycans in wound healing of the pinna in rabbits by Medicago Sativa extract. J Adv Med Biomed Res. 20, 1-11.

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]
[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]

**Rechulicz, J., Ognik, K., & Grela, E. R.** 2014. The effect of adding protein-xanthophylls concentrate (PX) from lucerne (Medicago sativa) on growth parameters and redox profile in muscles of carp, Cyprinus carpio (L.). Turk J Fish Aquat Sci. 14, 697-703, doi: 10.4194/1303-2712-v14_3_12.

**Rizvi, S. A., & Saleh, A. M.** 2018. Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology. Saudi Pharm J, 26, 64-70, doi:10.1016/j.jsps.2017.10.012.

**Saleem, S., & Kannan, R. R.** 2021. Zebrafish: A Promising Real-Time Model System for Nanotechnology-Mediated Neurospecific Drug Delivery. Nano Research Society, 16, 135, doi: 10.1186/s11671-021-03592-1.

**Van Vliet, J. A., & Giller, K. E.** 2017. Mineral nutrition of cocoa: a review. Adv Agron. 141, 185-270, doi:10.1016/bs.agron.2016.10.017.

**Yadav, K. K., Sharma, B. K., Sharma, S. K., Yadav, M. K.** Upadhyay, B., & Ojha, M. L., 2022. Effect of alfalfa (Medicago sativa) leaf meal on the growth of Oreochromis mossambicus fingerlings. J Exp Zoology India. 25, 27-33, doi: 10.5555/20220193583.

**Yanar, M., Erçen, Z., Hunt, A. Ö., & Büyükçapar, H. M.** 2008. The use of alfalfa, Medicago sativa as a natural carotenoid source in diets of goldfish, Carassius auratus. Aquaculture, 284, 196-200, doi:10.1016/j.aquaculture.2008.07.050

**Zoroddu, M. A., Aaseth, J., Crisponi, G., Medici, S., Peana, M., & Nurchi, V. M.** 2019. The essential metals for humans: a brief overview. J Inorg Biochem. 195, 120-129, doi:10.1016/j.jinorgbio.2019.03.013.

*****

**How to cite this article:**

**Pourmohammad, M. Khayatzadeh, J. Hanafi, V. Iranshahi, M.** 2024. Investigating the effects of combined application of iron oxide nanoparticles (Fe2O3) and alfalfa on growth parameters and pathology of digestive tube, liver and kidney of Koi fish (Cyprinus Carpio). Nova Biologica Reperta 11: 61-69. (In Persian).

**پورمحمد، م. خیاط زاده، ج. حنفی، و. ایرانشاهی، م.** ۱۴۰۳. مطالعه تاثیر توام نانو ذره اکسید آهن (Fe2O3)و گیاه یونجه بر پارامترهای رشد و آسیب شناسی لوله گوارش، کبد و کلیه ماهی کوی(Cyprinus carpio). یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۱: ۶۱-۶۹.

[ Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1403.11.3.5.9 ]
[ DOI: 10.22034/NBR.11.3.61 ]