یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۷، شماره ۲، صفحات ۱۵۳ الی ۱۶۰ (۱۳۹۹)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

Nova Biologica Reperta 7(2): 153-160 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.7.2.153

بررسی تاثیر توام نانوذره اکسید مس و گیاه یونجه بر پارامترهای رشد ماهی کوی

حسن دلدار، جینا خیاط‌زاده و مریم طهرانی‌پور

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

مسئول مکاتبات: جینا خیاط‌زاده، J.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

چکیده. امروزه، ورود نانوذرات به آب‌های آزاد باعث بروز آثار سمی در آبزیان شده است. نانوذرات اکسید مس یکی از نانوذرات پرکاربرد است، راه‌یابی این نانوذرات به محیط‌های آبی جزء مشکلات جدید زیست‌محیطی به‌شمار می‌رود که بررسی اثر آن بر موجودات آب‌زی ضروری به نظر می‌رسد. از طرفی گیاه یونجه به دلیل حضور ترکیبات پروتئینی، ویتامین C و فلاونوئیدها اثر ترمیمی و آنتی‌اکسیدانی دارد. در این مطالعه اثر تغذیه لارو ماهی کوی با بیومار توأم با یونجه ۱۰ درصد و ۲۰ درصد و قرارگرفتن به مدت ۱۴ روز درمعرض نانوذرات اکسید مس با غلظت ۲۰۰ mg/l در ۵ گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد تحت بررسی قرار گرفت. میانگین طول اولیه ۰/۰۱ ± ۳۰/۴ mm و میانگین وزن اولیه لاروها ۰/۰۵ g ± ۰/۳۱ و حدود سنی ۲۰dph بود. سرعت رشد اختصاصی، درصد افزایش وزن، افزایش طول، بقا و ضریب تبدیل غذایی برای گروه‌های مختلف محاسبه شد. نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار رشد ماهی‌های تیمارشده با یونجه ۱۰درصد و ۲۰ درصد در غذای بیومار در مقایسه با گروه کنترل است. به علاوه، گروه دریافت‌کننده نانوذرات مس نسبت به گروه شاهد رشد کم‌تری داشته است. گروه‌هایی که نانوذرات مس و غذای حاوی یونجه را دریافت کرده‌اند وضعیت رشد بهتری نسبت به گروه دریافت‌کننده نانوذرات مس داشته‌اند که این اثر احتمالا می‌تواند ناشی از اثر آنتی‌اکسیدانی یونجه و اثر افزاینده رشد این گیاه باشد.

واژه های کلیدی. بهبود رشد، جیره غذایی، محرک‌های رشد، مدل آزمایشگاهی، نانوذرات

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*)

Hasan Deldar, Jina Khayatzadeh & Maryam Tehranipour

Department of Biology, Faculty of Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Correspondent author: Jina Khayatzadeh, J.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir

Abstract. Nowadays, the entrance of nanoparticles into high seas has led to toxic effects on aquatic organisms. Copper oxide nanoparticles is among the most widely used nanoparticles. The presence of these nanoparticles in the aquatic environments cause new environmental problems, which indicate the necessity of the examination of the effects of these nanoparticles on the aquatic organisms. The alfalfa plant has antioxidantive and regenerative effects due to its rich content of proteins, vitamin C and flavonoids. In this study, 6 (5 experimental and a control) groups were designed. Koi fish larvae were fed with biomar combined with various percentages of hay (0%, 10% and 20%) and were exposed to copper oxide nanoparticles with two concentrations (0 mg and 200 mg) for 14 days. The average initial length of larvae was 30.4 ± 0.01 mm, their average initial weight was 0.31 ± 0.05 and their age was around 20 dph. The specific growth rate, weight gain, length gain, survival rate and feed conversion ratio were calculated for each group. The results showed a significant higher growth rate in the groupstreated with 10% and 20% of alfalfa, as compared with the control group. In addition, the Cu NPs-treated group with 0% alfalfa rations showed the lowest rate of growth, as compared with the control group. Groups which were exposed to copper nanoparticles while receiving alfalfa-containing rations had growth indices better than the group exposed to copper nanoparticles and fed with 0% alfalfa ration, which indicated the antioxidant properties and growth-promoting effects of alfalfa.

Keywords. improved growth, diet, growth stimulants, laboratory model, nanoparticles

Received 15.08.2016/ Revised 21.04.2018/ Accepted 24.04.2018/ Published 01.07.2020

دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۲۵/ اصلاح: ۱۳۹۷/۰۲/۰۱/ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۴/ انتشار: ۱۳۹۹/۰۴/۱۱

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-04-18]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.1.5]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.153]

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-04-18]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.1.5]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.153]

مقدمه

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 زیست‌محیطی پیدا کرده‌اند (Nowack & Bucheli, 2007). این فلزات که به روش‌های مختلفی به محیط زیست راه یافته‌اند، از مسیرهای گوناگونی به محیط‌های آبی منتقل می‌شوند و می‌توانند بر رشد و نمو آبزیان تاثیر بگذارند، لذا اهمیت مطالعه نانوذرات مورد توجه قرار گرفته است (Beheshti, 2012).

مس یک عنصر مهم برای حیات ارگانیسم‌ها و یک کوفاکتور برای آنزیم‌های مختلف نظیر سیتوکروم اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، سرولوپاسمین و مونواکسیژناز است. مس در واکنش‌های متابولیسم سلولی یک نقش مرکزی دارد. نانوذرات مس می‌توانند در واکنش‌های شیمیایی به عنوان کاتالیست به‌کار روند (Isani et al., 2013). اکسید مس به دو صورت CuO و Cu_2O فلزی نیمه هادی است که در زمینه فتوکاتالیست‌ها، تبدیل انرژی خورشید، پوشش‌های ضدزنگ و فتوالکترود در پیل‌های الکترو شیمیایی به‌کار گرفته می‌شود (Kline et al., 2008). تولید و مصرف فزاینده نانوذرات اکسید مس به افزایش بیم در معرض قرارگرفتن مردم و محیط زیست با این مواد منجر می‌شود. بنابراین، ارزیابی اثر این نانوذرات بر سلامت انسان‌ها و محیط زیست و اکوسیستم ضروری به‌نظر می‌رسد. مسمومیت حاد نانوذرات بستگی به اندازه، سن و وضعیت گونه‌های تحت آزمایش دارد. اثر بافت‌شناسی نانوذرات مس در ابعاد ۲۷ تا ۸۷ نانومتر روی اندام‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب ایجاد آسیب‌هایی در آبشش و کلیه شد (Shaw et al., 2012). مس از جمله فلزاتی است که در مقادیر کم برای گیاهان و جانوران عالی مورد نیاز است. این فلز به مقدار کم برای سخت‌پوستان ضروری بوده و در ساخت سلول‌های خونی نقش مهم دارد (Abad-Rosales et al., 2010). به‌طور مثال در میگو رنگ‌دانه حمل اکسیژن یا هموسیانین، حاوی مس است. با این‌حال مقدار زیاد این فلز در محیط زیست آبزیان می‌تواند اثرات سمی بر روی آن‌ها گذاشته، تنظیمات فیزیولوژیکی و متابولیکی را در آن‌ها تغییر دهد و باعث کاهش رشد گردد (Chen et al., 2013). اثر تخریبی نانومس در انسان به‌خصوص آسیب‌های وارده به DNA در رده‌های سلولی بررسی شده‌است (Karlsson et al., 2008).

ماهی کوی نمونه‌ای از کپورماهیان است. زیستگاه اصلی این ماهی، ژاپن و در بعضی کشورها پرورش ماهی کوی به حرفه‌ای 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 (Lin et al., 2012). یونجه گیاهی گل‌دار از تیره باقلائیان (Fabaceae) است که در مناطق زیادی ازجمله در خاورمیانه می‌روید. یونجه غذایی ارزان برای حیوانات است که سرشار از مواد معدنی، ویتامین‌ها (گروه B، C، D، E و K)، پروتئین و اسیدهای آمینه است. یونجه به مثابه منبعی پروتئینی در تغذیه بعضی از ماهی‌ها به‌کار رفته است (Olvera-Novoa et al., 1990). ویتامین‌ها و پلی فنل‌های موجود در یونجه، اثر آنتی‌اکسیدانی دارند (Chatzifotis et al., 2006).

با توجه به جستجوهای انجام شده، به‌نظر می‌رسد تاکنون پژوهشی در مورد اثر تقویتی یونجه بر میزان رشد و نمو ماهی کوی و نیز میزان اثر محافظتی یونجه در برابر اثر سمی نانوذرات مس، انجام نشده است. لذا به دلیل پتانسیل بالقوه یونجه در محافظت از اثر اکسیداتیو نانوذرات (به دلیل وجود ویتامین C و فلاونوئیدها در یونجه)، در این پژوهش تاثیر مصرف ترکیب غذایی حاوی مقادیر معینی از یونجه و نانوذرات اکسید مس بر پارامترهای رشد را تحت بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

تهیه و نگهداری لارو ماهی

لارو ماهی کوی از مرکز پرورش ماهیان آکواریومی در خین عرب واقع در حومه مشهد تهیه شد و درون پاکت‌های نایلونی حاوی آب و اکسیژن به آکواریوم‌های موجود در آزمایشگاه دانشکده منتقل گردید. به مدت یک هفته به ماهی‌ها زمان داده شد تا با شرایط آزمایشگاه تطابق یابند. در شروع آزمایش، به مدت ۲۴ ساعت به لاروها غذایی داده نشد. در روز اول آزمایش قد آن‌ها با کولیس اندازه‌گیری و سپس با ترازوی حساس دیجیتالی وزن آن‌ها ثبت شد (Lin et al., 2012).

فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب آکواریوم

آکواریوم‌های مورد استفاده در ابعاد cm^3 ۴۰ ×۴۰× ۴۰ با شیشه ۴mm ساخته شدند و پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم به حجم ۳۰ لیتر آبگیری شدند. دمای آب آکواریوم‌ها توسط بخاری برقی درون آکواریومی در محدوده بین ۲۹-۲۶ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. اکسیژن حل شده در آب ۶/۵ mg/l و pH مورد نیاز ۶/۹ تا ۷/۲ بوده است (Lin et al., 2012).

تهیه نانوذرات اکسید مس

نانوذرات اکسید مس CuO محصول شرکت US NANO آمریکا از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان (پارس سنتر) خریداری شد. نانوذرات اکسید مس جهت تعیین مورفولوژی و اندازه ذرات، توسط دستگاه‌های تحلیل پراش اشعه X (XRD)

تحت بررسی قرار گرفت. سپس به مقدار ۲۰۰ mg/l با غذای بیومار و نیز با مخلوطی از بیومار و پودر یونجه در آکواریوم‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه پودر یونجه

گیاه یونجه (*Medicago sativa*) از روستای بجد در ۸ کیلومتری شرق بیرجند تهیه و بر اساس هرباریوم دانشکده داروسازی مشهد تعیین گونه شد. شماره کد هرباریوم مورد نظر ۱۰۹۹۸ است. اندام‌های هوایی گیاه یونجه را در هوای آزاد و در مقابل تابش خورشید و سپس در آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک شد. 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. سپس پودر یونجه را با پودر بیومار با نسبت‌های ۱۰ به ۹۰ درصد و ۲۰ به ۸۰ درصد مخلوط کرده و به آن آب اضافه کرده تا یک مخلوط خمیری حاصل شود و خمیر حاصل را از دستگاه گرانولاتور آلمانی مدل Erweka AR 400 عبور داده تا گرانول‌های بلغور یونجه با غذای ماهی تهیه شود و سپس به مدت ۲۴ ساعت در آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا خشک گردد. پس از خشک شدن، آن را به ظرف‌های دربدار پلاستیکی منتقل کرده و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. قبل از تغذیه ماهی، غذا از فریزر خارج شد تا باز شود (Zhu et al., 2012).

گروه‌بندی و تغذیه نمونه‌ها

لاروهای ماهی به صورت تصادفی در ۶ آکواریوم قرار داده شد. با احتساب احتمال مرگ و میر هر گروه دارای ۱۲ لارو ماهی بود. گروه اول (Control): لاروهای ماهی با غذای پایه و بدون هیچ‌گونه 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 (CuO): لاروهای ماهی با غذای پایه و بدون هیچ‌گونه افزودنی و غلظت ۲۰۰mg/l از نانوذرات اکسید مس تغذیه شدند. گروه پنجم (Alfa10Cu): لاروهای ماهی با ترکیبی از ۹۰ درصد غذای پایه و ۱۰ درصد بلغور یونجه همراه با غلظت ۲۰۰ mg/l از نانوذرات اکسید مس تغذیه شدند. گروه ششم (Alfa20Cu) لاروهای ماهی با ترکیبی از ۸۰ درصد غذای پایه و ۲۰ درصد برگ یونجه همراه با غلظت ۲۰۰ mg/l از نانوذرات اکسید مس تغذیه شدند. مقدار غذادهی ۵ درصد میانگین وزن بدن 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) (Lin et al., 2012).

$$SGR = 100 \times (\text{Ln Final weight} - \text{Ln Initial weight}) \div \text{total duration of experiment}$$

ضریب تبدیل غذایی (FCR) (Lin et al., 2012).

$$FCR = \text{feed given (dry weight)} \div \text{weight gain (wet gain)}$$

درصد بقا (Lin et al., 2012).

$$\text{Survival (\%)} = (\text{final number of koi} \div \text{initial number of koi}) \times 100$$

افزایش وزن (Lin et al., 2012).

$$\text{Increase in weight} = [(\text{final wet weight} - \text{initial wet weight})/\text{initial wet weight}]$$

افزایش طول (LG) (Ronyai et al., 1990).

$$LG = TLf - TLi$$

LG = افزایش طول; طول نهایی= TLf ; طول اولیه = TLi

تجزیه و تحلیل داده‌ها

بررسی‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون ANOVA one-way پس از مقایسه mean ± SD برای تعیین سطح معنی‌داری (P< ۰/۰۵) رشد در گروه‌ها استفاده شد. برای رسم شکل‌ها نیز از نرم افزار Excel 2007 استفاده گردید.

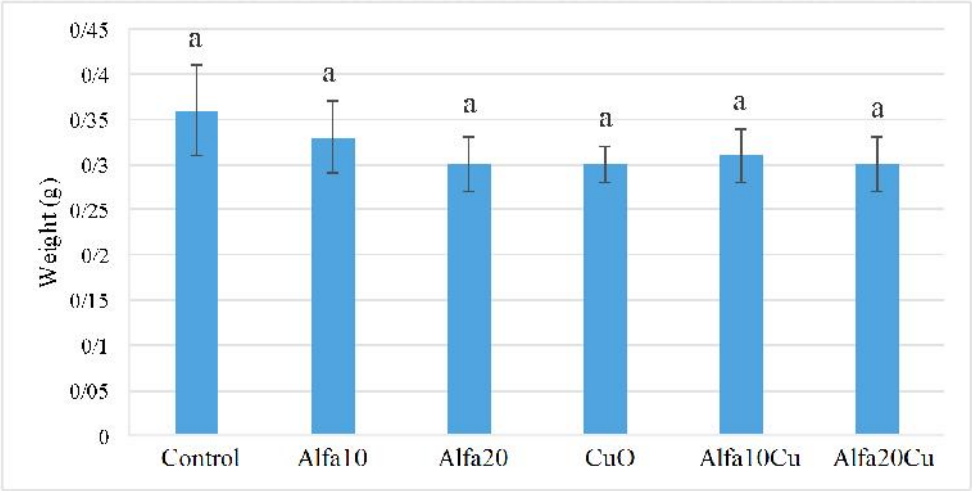
نتایج

نتایج وزن ماهی‌ها

در روز اول آزمایش تفاوت معنی‌داری در میانگین اولیه وزن بین هیچ‌کدام از گروه‌های آزمایش مشاهده نشد (شکل ۱).

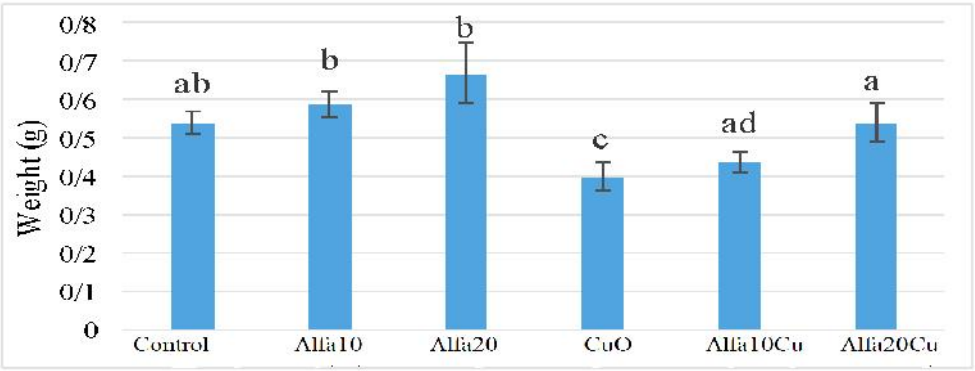
در روز چهاردهم (۳۴ dph)، بیشترین افزایش وزن مربوط به گروه تیمارAlfa20 (با میانگین g ۰/۱± ۰/۶۷) و کم‌ترین مقدار وزن بطور معنادار مربوط به گروه تیمار نانو CuO (با میانگین g ۰/۰۳ ±۰/۴۰) بود (p<0.05). تیمار توأم یونجه با مس به ازدیاد معنادار نسبت به گروه نانواکسید مس منجر شد اما نسبت به گروه‌های Alfa10 (با میانگین g ۰/۰۳ ± ۰/۵۹) و Alfa20 (با میانگین g ۰/۱ ± ۰/۶۷) کاهش معنادار و نسبت به گروه شاهد نیز کاهش غیر معنادار داشت (p<0.05) (شکل۲).

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-04-18]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.1.5]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.153]



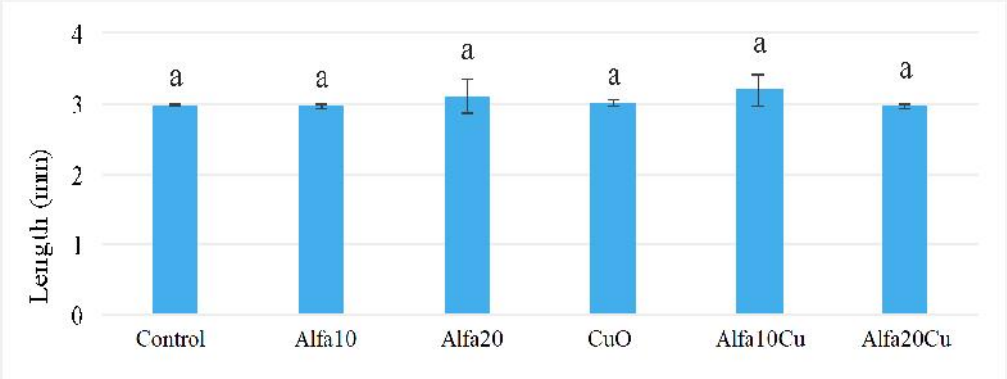
شکل ۱– نتایج وزن ماهی‌ها (g) در روز اول آزمایش (dph20) (SD±Mean). حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p<0.05$ است.

Fig. 1. Body weight of fish (g) at the 1st day (20dph) of the study. Different letters indicate a significant difference at the probability level of $p<0.05$.



شکل ۲ – نتایج وزن ماهی‌ها (g) در روز چهاردهم آزمایش (۳۴dph) (SD±Mean). حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p<0.05$ است.

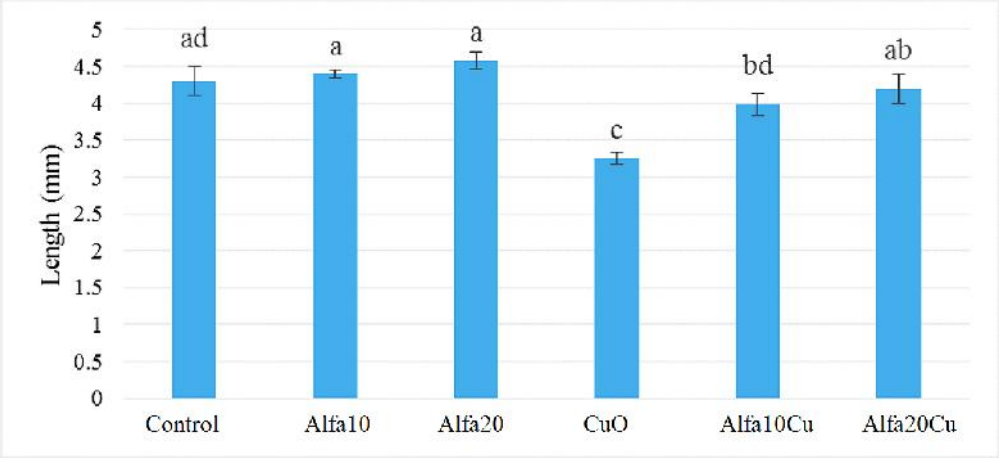
Fig. 2. Body weight of fish (g) at the 14th day (34dph) of the study. Different letters indicate a significant difference at the probability level of $p<0.05$.



شکل ۳– نتایج طول ماهی‌ها (mm) در روز اول آزمایش (۳۴dph) (SD±Mean). حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p<0.05$ است.

Fig. 3. Body length of fish (mm) at the 1st day (20dph) of the study. Different letters indicate a significant difference at the probability level of $p<0.05$.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-04-18]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.1.5]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.153]



شکل ۴- نتایج طول ماهی‌ها (mm) در روز چهاردهم آزمایش (۳۴dph) (SD±Mean). حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $p<0.05$ است.

Fig. 4. Body length of fish (mm) at the 14th day (34dph) of the study. Different letters indicate a significant difference at the probability level of $p<0.05$.

جدول ۱- نتایج سرعت رشد اختصاصی (SGR) ، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، بقا، درصد افزایش وزن و افزایش طول ماهی‌ها در روز چهاردهم.

Table 5. Specific Growth Rate (SGR), Feed Conversion Ratio (FCR), survival rate (%), Weight Gain (WG %) and Length Gain (LG) at the day 14.

	گروه اول (کنترل)	گروه دوم Alfa10	گروه سوم Alfa20	گروه چهارم CuO	گروه پنجم Alfa10 Cu	گروه ششم Alfa20 Cu
درصد افزایش وزن	۵۰	۹۶	۱۲۳/۳۳	۳۳/۳	۴۱/۹	۸۰
افزایش طول (mm)	۱۳/۱	۱۴/۳	۱۴/۷	۲/۴	۹/۷	۱۳/۳
سرعت رشد اختصاصی (SGR)	۲/۸۹	۴/۸۲	۱۱/۴۵	۲/۰۵	۲/۵	۴/۱۸
ضریب تبدیل غذایی(FCR)	۱/۸۱	۱/۲۲	۱/۱۱	۲/۲۶	۲	۱/۶۱
میزان بقا	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

نتایج طول ماهی‌ها

در روز شروع تیمار (۲۰dph)، تفاوت معنی‌داری بین میانگین طول هیچ‌کدام از گروه‌ها مشاهده نشد (شکل ۳).

در روز چهاردهم (۳۴dph)، گروه تیمار Alfa20 (با میانگین ۴/۵۸±۰/۱۱ mm) دارای بیشترین میانگین طول و گروه تیمار Cu با میانگین (۳/۲۵ ±۰/۰۸ mm) کمترین میانگین طول را داشتند. گروهای تیمار توأم یونجه با مس به ازدیاد معنادار نسبت به گروه نانواکسید مس و کاهش غیرمعنادار نسبت به گروه شاهد منجر شد ($p<0.05$). گروه تیمار Alfa10Cu با میانگین (mm ۳/۹۹±۰/۱۴) نسبت به گروه‌های تیمار Alfa10 و Alfa20 کاهش طول معنی‌داری داشت ($p<0.05$). درحالی‌که گروه تیمار Alfa20Cu (با میانگین ۴/۳۰ ±۰/۲۰g) نسبت به گروه‌های تیمار یونجه و شاهد کاهش معناداری نداشت (شکل ۴).

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین مقدار افزایش در میانگین وزن، طول بدن و سرعت رشد اختصاصی ماهی‌ها، در تیمار Alfa20 و پس از آن در تیمار Alfa10 وجود دارد و کم‌ترین مقدار مربوط به گروه CuO است.

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش حاکی است که در روز چهاردهم تیمار، گروه دریافت‌کننده یونجه ۱۰ درصد و ۲۰ درصد خصوصیات رشد بهتری را نسبت به سایر گروه‌ها داشته است. سرعت رشد اختصاصی، درصد افزایش وزن و افزایش طول به‌ترتیب در دریافت‌کننده یونجه۲۰ درصد بیشترین مقدار و پس از آن گروه دریافت‌کننده یونجه ۱۰ درصد، گروه دریافت‌کننده

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-04-18]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.1.5]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.153]

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-04-18]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.1.5]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.153]

۲۰ درصد یونجه و ۸۰ درصد غذای پایه و در معرض mg/L ۲۰۰ نانوذرات اکسید مس و کمترین مقدار در گروه دریافت‌کننده نانوذرات اکسید مس بود. درصد بقا پس از ۱۴ روز تیمار در همه گروه‌ها ۱۰۰ درصد بود. به این دلیل که نانواکسید مس در غلظت به‌کار رفته در این تحقیق و پژوهش برای ماهی استفاده شده کشنده نبود.

در مطالعه حاضر نشان داده شد تغذیه ماهی کپور علف‌خوار با یونجه اثر افزاینده رشد بهتری نسبت به گیاهان دیگر داشته است که این افزایش وزن با محتوای فسفر و پروتئین یونجه مرتبط است (Olvera-Novoa et al., 1990). همچنین نشان داده شد که افزودن ۱۵ درصد یونجه، مقدار مناسبی است که باعث رشد قابل‌قبول ماهی و استفاده غذایی می‌شود. افزودن درصد یونجه، اثر معکوسی بر رشد ماهی‌ها در مقایسه با گروه کنترل داشته است. در این مطالعه نشان داده شد که یونجه می‌تواند به عنوان جایگزین کاروتنوئیدهای طبیعی به‌جای آپواستر سنتزی در رژیم غذایی ماهی گلدفیش به کار رود (Yanar et al., 2008). در مطالعه جدیدی که بر روی ماهی کپور انجام گرفت ثابت شد که افزودن کنسانتره پروتئین-گزانتوفیل از یونجه به رژیم غذایی ماهی کپور، باعث افزایش بیشتر طول بدن و وزن ماهی و SGR (سرعت رشد اختصاصی) می‌شود (Rechulicz et al., 2014). در این پژوهش هم‌راستا با مطالعات فوق، افزودن یونجه به غذای پایه ماهی باعث بهبود خصوصیات رشد ماهی شده است که بهترین اثر رشد با ۲۰ درصد یونجه مشاهده شد.

از طرفی در گروه دریافت‌کننده نانوذرات اکسید مس کاهش رشد مشاهده شد که احتمالاً می‌تواند ناشی از اثر توکسیک نانوذرات اکسید مس باشد. پژوهش‌های مختلفی در سال‌های اخیر حکایت از سمیت نانوذرات مس دارد و معمولا مکانیسم سمیت نانوذرات مس، از طریق آسیب اکسیداتیو بوده است.

مکانیسم اصلی عملکرد نانوذرات هنوز شناخته نشده است. اما مطالعات مختلف پیشنهاد می‌کنند که آن‌ها قادرند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید کنند و بنابراین روی غلظت کلسیم درون سلول، فعال‌کردن فاکتورهای رونویسی و ایجاد تغییر در سایتوکنین‌ها می‌توانند نقش داشته باشند. ROS از روش‌های مختلفی نظیر آسیب‌رساندن به DNA، تداخل با مسیرهای سیگنالینگ سلولی، تغییرات در روند رونویسی ژن‌ها، می‌توانند به سلول‌ها آسیب وارد کنند (Cristian et al., 2008). مطالعات متعدد نشان داده است که نانوذرات خیلی کوچک قادرند به میتوکندری وارد شده و آسیب‌های فیزیکی را ایجاد نمایند که منجر به استرس اکسیداتیو می‌گردد (Singh et al., 2009).

در مطالعاتی دیگر مشخص شد که قرارگرفتن در معرض غلظت‌های بالای مس تنظیمات فیزیولوژیکی و متابولیکی را تغییر می‌دهد. همچنین کاهش رشد در مواجهه با غلظت‌های مختلف مس مشاهده شده است که این کاهش عملکرد رشد احتمالاً به‌دلیل افزایش سوخت و ساز بدن جهت سم‌زدایی و حفظ تعادل اتفاق می‌افتد (Abad-Rosales et al., 2010; Chen et al., 2013). در مطالعه دیگری بر روی گورخر ماهی‌های جوان، نانوذره اکسید مس با قطر nm ۱۰۰ و غلظت mg/l ۳۰، نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد نشان داد که دوز مصرفی نانوذره باعث کاهش رشد گروه تیمار نسبت به گروه شاهد شد، در حالی‌که آسیب هیستوپاتولوژیکی و بیوشیمیایی در سایر اندام‌ها و همچنین مرگ و میر مشاهده نشد (Griffitt et al., 2009).

در مطالعه‌ای بر روی کپور جوان، هیچ مرگ و میری در مواجهه با نانوذرات مس با قطر nm ۸۰ در غلظت‌های۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و۱۰۰۰ mg/l، در طول ۳۰ روزتیمار مشاهده نشد، اما رشد کپور به‌طور قابل توجهی مهار شده است (Zhao et al., 2011).

در مطالعه حاضر، گروه‌هایی که نانوذرات مس و غذای حاوی یونجه را دریافت کرده‌اند رشد بهتری نسبت به گروه دریافت کننده نانوذرات مس به دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی یونجه و اثر افزاینده رشد این گیاه داشته‌اند؛ این اثرات می‌تواند به ترکیبات فلاونوئیدی (Stochmal & Oleszek 2007; Kowalska et al., 2007)، ویتامین C فراوان (مؤثر در کلاژنزاسیون بافت همبند) و ویتامین A (مؤثر در رشد و نمو بافت پوششی، افزایش پیوندهای عرضی کلاژن) و نیز وجود عناصر معدنی مختلف از قبیل کلسیم، منیزیم، پتاسیم، آهن، فسفر، روی و سدیم نسبت داده شود که برای تقسیم سلولی، فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده DNA و پروتئین‌های دخیل در رشد و نمو و بازسازی بافت لازم هستند (Worthington & Breskin, 1983; Potgieter, 2005).

اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند بر روند کاهش اثرات توکسیک آلاینده‌ها مؤثر باشد. لذا به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه یونجه در تیمارهای یونجه توأم با نانواکسید مس (CuO) نرخ رشد بیشتری نسبت به گروه تیمار با نانواکسید مس مشاهده شد. نشان داده شده است که عصاره الکلی یونجه باعث ترمیم (بهبود التیام) غضروف در گوش خرگوش می‌شود که می‌تواند ناشی از وجود ویتامین C در این گیاه باشد (Rafiei & Khayatzadeh, 2014). اثر اکسیداتیو یونجه مربوط به مواد آنتی‌اکسیدان موجود در آن مانند ویتامین C و فلاونوئیدها است (Chatzifotis et al., 2006; Olvera-Novoa et al., 1990).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان برای جلوگیری از اثر سمی نانوذرات بر ماهی‌ها به‌ویژه 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 به‌دست آمده است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از زحمات خانم دکتر تعویقی و کارشناس آزمایشگاه تحقیقات تکوین جانوری و دکتر بالانژاد که در این پژوهش ما را یاری کردند، تشکر می‌گردد.

REFERRENCES

Abad-Rosales, S.M., Frías-Espericueta, M.G., Inzunza-Rojas, A., Osuna-López, A., PáezOsuna, F., Lozano-Olvera, R. & Voltolina, D. 2010. Histological effects of Cu^{2+} to white shrimp *Litopenaeus vannamei* (*Crustacea: Decapoda*) juveniles at low salinities. Rev. Biol. Mar. Oceanogr. 45: 99-105.

Beheshti, M. 2011. Comparative study of concentration of heavy metals (Cu, Fe, Zn, Mn) in muscle, liver and gill organ of fish (*Liza abu*) in the Karoon and Karkheh rivers in Khoozestan province." M.Sc. Thesis, Islamic Azad University, Science and Research, Ahwaz. (In Persian).

Chatzifotis, S., Esteban, A. & Divanach, P. 2006. Fishmeal replacement by alfalfa protein concentrate in sharp snout sea bream *Diplodus puntazzo*. Fish. Sci. 72: 1313-1315.

Chen, Q.L., Lou, Z., Pan, Y.X., Zheng, J.L., Zhu, Q.L., Sun, L.D., Zhou, M.Q. & Hu, W. 2013. Diffrentional induction of enzymes and genes involved in lipid metabolism in liver and visceral adipose tissue of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* exposed to copper. Aquat. Toxicol. 136: 72-78.

Cristian, P., Von der Kammer, F., Baalousha, M. & Hofmann, T. 2008. Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. Ecotoxicology 17: 326-343.

Griffitt, R.J., Hyndman, K., Denslow, N.D. & Barber, D.S. 2009. Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles. Toxicol Sci. 107: 404-415.

Isani, G., Falcioni, M.L., Barucca, G., Sekar, D., Andereani, G. & Carpene, F. 2013. Comparative toxicity of CuSo4 in in rainbow trout. Ecotoxicol. Environ. Saf. 97: 40-46.

Karlsson, H.L, Cronholm, P., Gustafsson, J. & Moller, L. 2008. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: A comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. Chem. Res. Toxical. 21: 1726-1732.

Kline, S.J., Alvarez P.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy, R.D., Lyon, D.Y., Mahendra, S. & Mclaughlin, M.J. 2008. Nanomaterials aquatic system. Ecotoxicol. Environ. Saf. 41: 90-95.

Kowalska, I., Stochmal, A., Kapusta, I., Janda, B., Pizza C., Piacente, S. & Oleszek, W. 2007. Flavonoids from Barrel Medic (*Medicago truncatula*) aerial parts. J. Agri. Food Chem. 55: 2645-2652.

Lin, S., Mao, S., Guan, Y., 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.

Nowack B. & Bucheli, T. 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. Inviron. Pollu. 150: 5-22.

Olvera-Novoa, M.A., Campos, S.G., Sabido, M.G. & Martínez Palacios, C.A. 1990. The use of alfalfa leaf protein concentrates as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Aquaculture 90: 291-302.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-04-18]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.1.5]
[DOI: 10.52547/nbr.7.2.153]

Potgieter, S.J. 2005. Nutritional supplement extracted from alfalfa (*Medicago sativa*). PCT Int. Appl. WIPO Patent Application WO/2005/002357 (South Africa) Available at http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?wo =2005002357 (accessed 02 March 2010).

Rafiei, H. & Khayatzadeh, J. 2014. Cartilage glycosaminoglycans in wound healing of the pinna in rabbits by *Medicago sativa* extract. Adv. Med. Biomed. Res. 20: 1-11.

Ronyai, A., peteri, A. & Radics, F. 1990. Cross breeding of Starlet and Lena river sturgeon. Aquaculture. Hungrica (Szarwas) 6: 13-18.

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.). J. Fish. Aquat. Sci. 14: 697-703.

Singh, N., Manshian, B., Jenkins, G., Griffiths, S., Williams, P., Maffeis, T., Wright, C.H. & Doak, Sh. 2009. Nano genotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. Biomaterials. 30: 3891-3914.

Stochmal, A. & Oleszek W. 2007. Seasonal and structural changes of flavones in alfalfa (*Medicago sativa*) aerial parts. J. Food Agri. Env. 5:170-174.

Shaw, B.J., Al-Bairuty, G.A. & Handy R.D. 2012. Effect of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on raibbow trout (*Onchorhynchus mykis*): physiology and accumulation. Aqut Toxicol. 116: 90-101.

Worthington, RB. & Breskin MF. 1983. A pharmacists guide to controversial "nutrition products". Am. Pharm. 23: 30-42.

Yanar, M., Erçen, Z., Özlüer Hunt, A. &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.

Zhao, J., Wang, Z., Lio X., Xie, X., Zhang, K. & Xing B. 2011. Distribution of CuO in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) and their potential toxicity. J. Hazard Mater. 197: 304-310.

Zhu, X., Tian, S. &Cai, Z. 2012. Toxicity assessment of iron oxide nanoparticles in zebrafish (*Danio rerio*) early life stages. PloS One. 7: e46286.

*****

How to cite this article:

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 Biologica Reperta 7: 153-160. (In Persian).

دلدار، ح.، خیاط‌زاده، ج. و طهرانی‌پور، م. ۱۳۹۹. بررسی تأثیر توام نانوذره اکسید مس و گیاه یونجه بر پارامترهای رشد ماهی کوی. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۱۶۰-۱۵۳.

[Downloaded from system.khu.ac.ir on 2024-04-18]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.1.5]

[DOI: 10.52547/nbr.7.2.153]