

(OPEN ACCESS)

Investigating the effects of combined application of iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3) and red cabbage extract on the growth parameters and histochemical changes of the digestive tract, liver and muscle of the serum fish (*Heros Severus*)

**Mohammadreza Pourmohammad¹, Jina Khayatzaadeh^{*2}, Azita Jianpour³,
Fatemeh Farash Bamoharram⁴, Hamed Manouchehri⁵**

1. MS of Parasitology and Mycology, School of Allied Medical Sciences, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran. E-mail: pourmohammad-m@medilam.ac.ir
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Biology, Ma.C., Islamic Azad University, Mashhad, Iran. E-mail: j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir
3. MS of Biology, Ma.C., Islamic Azad University, Mashhad, Iran. E-mail: jianpoura992@mshdiau.ac.ir
4. Professor, Dept. of Chemistry, Ma.C., Islamic Azad University, Mashhad, Iran. E-mail: f.bamoharram@mshdiau.ac.ir
5. Assistant Prof., Dept. of Fisheries, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran. E-mail: h.manouchehri@baboliau.ac.ir

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 12.29.2024

Revised: 01.03.2025

Accepted: 01.22.2025

Keywords:

Growth,
Heros severus,
Histochemical,
Iron oxide nanoparticles,
Red cabbage

ABSTRACT

Background and Objectives: The Severum cichlid (*Heros severus*) is one of the beautiful species of freshwater aquarium fish, which is the focus of many breeders in Iran. The use of nanotechnology in various industries is increasing exponentially. To investigate the possibility of directly using these substances in aquaculture, the aim of this study was to investigate the combined effect of iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3) and red cabbage extract on the growth parameters and histochemical changes of the digestive tract, liver, and muscle of *Heros severus* fish.

Materials and Methods: In this experimental study, the impact of administering *Heros severus* fish larvae a diet supplemented with Biomar and 200 mg/kg of red cabbage extract, along with exposure to iron oxide nanoparticles at a concentration of 200 mg/kg over a period of 45 days, was examined across five treatment groups in relation to a control group. On the 15th, 20th, 25th, 35th, and 45th days of exposure, samples were collected. Analyses were conducted on the growth indices and histochemical characteristics of the digestive tract, liver, and muscle. The collected data were analyzed using Excel and SPSS 20 statistical software.

Results: The groups treated with cabbage and iron nanoparticles had better growth characteristics than the other groups. Furthermore, the groups that received food containing cabbage showed a better growth condition than the group that only received iron nanoparticles. This effect is likely caused by the antioxidant properties of cabbage, along with the presence of vitamins A, B, C, anthocyanins, and other components found within it.

Conclusion: It appears that the Biomar diet, when combined with red cabbage and iron oxide nanoparticles at appropriate concentrations, is a good suggestion for increasing fishery productivity.

Cite this article: Pourmohammad, Mohammadreza, Khayatzaheh, Jina, Jianpour, Azita, Farash Bamoharram, Fatemeh, Manouchehri, Hamed. 2025. Investigating the effects of combined application of iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3) and red cabbage extract on the growth parameters and histochemical changes of the digestive tract, liver and muscle of the serum fish (*Heros Severus*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (3), 233-250.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2025.23128.1921

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

مطالعه تأثیر توأم نانو ذره اکسید آهن (Fe_2O_3) و عصاره کلم قرمز بر پارامترهای رشد و تغییرات هیستوشیمیایی لوله گوارش، کبد و عضله ماهی سوروم (*Heros Severus*)

محمدرضا پورمحمد^۱، جینا خیاطزاده^{۲*}، آریتا ژیان‌پور^۳، فاطمه فراش بامحرم^۴، حامد منوچهری^۵

۱. کارشناسی ارشد انگل‌شناسی و فارچ‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. pourmohammad-m@medilam.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران. رایانامه: j.khayatzadeh@mshdiau.ac.ir
۳. کارشناسی ارشد زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران. رایانامه: jianpoura992@mshdiau.ac.ir
۴. استاد گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران. رایانامه: f.bamoharram@mshdiau.ac.ir
۵. استادیار گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. رایانامه: h.manouchehri@baboliau.ac.ir

چکیده	اطلاعات مقاله
نوع مقاله: سابقه و هدف: ماهی سوروم (<i>Heros severus</i>) یکی از زیباترین گونه‌های ماهی‌های آکواریومی آب شیرین است که مورد توجه بسیاری از پرورش‌دهندگان در ایران قرار دارد. استفاده از تکنولوژی نانو در صنایع مختلف به‌طور فزاینده‌ای در حال افزایش است. برای بررسی امکان استفاده از این مواد در آبی‌پروری به‌صورت مستقیم، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر توأم نانوذره اکسید آهن (Fe_2O_3) و عصاره کلم قرمز بر پارامترهای رشد و تغییرات هیستوشیمیایی لوله گوارش، کبد و عضله ماهی سوروم بود.	تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۰۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۰۳
مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، اثر تغذیه لارو ماهی سوروم با بیومار توأم با ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره کلم قرمز و قرار گرفتن به‌مدت ۴۵ روز در معرض نانوذرات اکسید آهن با غلظت‌های ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در ۵ گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد تحت بررسی قرار گرفت. در روزهای ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ پس از مواجهه، نمونه‌برداری انجام شد، شاخص‌های رشد و مشاهدات هیستوشیمیایی لوله گوارش، کبد و عضله مورد مقایسه قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری‌شده توسط نرم‌افزارهای آماری Excel و SPSS 20 مورد تحلیل قرار گرفتند.	واژه‌های کلیدی: رشد، کلم قرمز، ماهی سوروم، نانوذرات اکسید آهن، هیستوشیمیایی
یافته‌ها: گروه‌های تیمار شده با کلم و نانوذرات آهن خصوصیات رشد بهتری را نسبت به سایر گروه‌ها داشتند. هم‌چنین گروه‌هایی که غذای حاوی کلم را دریافت کرده‌اند، وضعیت رشد	

بهتری نسبت به گروه دریافت‌کننده نانوذرات آهن داشته‌اند که این اثر ممکن است ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانی کلم، ویتامین‌های A، B، C، آنتوسیانین‌ها و غیره موجود در آن باشد.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد، بیومار غذایی چنان‌چه با کلم قرمز و نانوذره اکسید آهن در غلظت‌های مناسب همراه شود، در ازدیاد بهره‌وری شیلاتی پیشنهاد مناسبی باشد.

استناد: پورمحمد، محمدرضا، خیاطزاده، جینا، ژیان‌پور، آریتا، فراش بامحرم، فاطمه، منوچهری، حامد (۱۴۰۴). مطالعه تأثیر توأم نانو ذره اکسید آهن (Fe_2O_3) و عصاره کلم قرمز بر پارامترهای رشد و تغییرات هیستوشیمیایی لوله گوارش، کبد و عضله ماهی سوروم (*Heros Severus*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۳)، ۲۵۰-۲۳۳.

Doi: 10.22069/japu.2025.23128.1921



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

هدف اصلی آبروی را می توان تولید ماهی در کوتاه ترین زمان با کم ترین هزینه تلقی کرد که جز با افزایش حداکثری سرعت و بازده رشد به صورت هم زمان تحقق نپذیرفته و لازمه آن پرهیز از مواجهه حیوان با تنش های محیطی است (۱). تکثیر و پرورش ماهیان زینتی نیز به دلیل اهمیت اقتصادی بالای آن توسعه چشمگیری داشته است. یکی از پرفرودارترین ماهیان آکواریومی در سطح جهان ماهی سوروم می باشد و در کشور ما نیز جز پرفروش ترین ماهی آکواریومی محسوب می شود (۲).

ماهی سوروم (*Heros severus*) گونه ای از خانواده سیکلیده و بومی آمریکای جنوبی است. ماهی سوروم از نظر تغذیه ای همه چیزخوار بوده، ولی تمایل زیادی به خوردن گیاهان از خود نشان می دهد. این ماهی دارای رنگ سفید متمایل به زرد بوده و دارای خصوصیات رفتاری آرام و در بعضی مواقع مانند زمان تولیدمثل رفتاری خشن از خود نشان می دهند (۳). سوروم نسبت به شرایط محیطی حساس است و به همین جهت، حضور آن ها در یک محیط، کیفیت بالای شرایط زیستی را مشخص می کند. بنابراین این گونه، به عنوان نماینده بسیاری از ماهیان آکواریومی در پژوهش ها، توصیه می شود (۴).

نانو ذرات اکسید آهن دارای کاربردهای زیست پزشکی زیادی مانند بازسازی بافتی، ایمنی سنجی، رفع مسمومیت مایعات زیستی، گرما درمانی سلول های سرطانی و غیره می باشند (۵). نانوذرات اکسید آهن به عنوان عنصر ایجادکننده تضاد در (Magnetic Resonance Imaging) MRI استفاده می شوند. امروزه از نانوذرات اکسید آهن جهت نشانه گذاری سلول های بنیادی و ردیابی آن ها استفاده می شود. نانوذرات اکسید آهن به دلیل خواص فیزیکوشیمیایی که دارند به عنوان حامل های دارویی در

درمان سلول های سرطانی در محیط های زنده نیز استفاده های گسترده ای دارند (۶).

مواد معدنی بسته به نقش زیستی خود می توانند در گروه های مختلفی هم چون عناصر ضروری، غیرضروری و سمی طبقه بندی شوند. در این طبقه بندی، فلزاتی مثل آهن، روی و مس در گروه عناصر ضروری قرار می گیرند چرا که آن ها نقش مهمی در سیستم های زیستی ایفا می کنند (۷). البته عناصر ضروری زمانی که دریافت بیش از حدی داشته باشند، می توانند اثرات سمی ایجاد کنند (۸). صنعت شیلات و آبروی با استفاده از فناوری نانو و ابزارهای جدید هم چون تشخیص سریع بیماری ها افزایش توانایی ماهی در جذب مواد دارویی مانند هورمون ها، واکسن ها و مواد مغذی و... به سرعت در حال پیشرفت است این مسأله در بخش های مرتبط با کشاورزی، تغذیه انسان و آبروی استفاده می شود. در حال حاضر ایده های متعددی در جهت استفاده از این فناوری در مدیریت بهداشت ماهی، تصفیه آب در آبروی پروری، اصلاح نژاد، فن آوری در صید و پس از صید دارد (۹).

سبزیجات براسیکا متعلق به خانواده Cruciferous و مشتمل بر جنس های متفاوتی از کلم (سبز، قرمز، ...)، گل کلم، کلم بروکلی و کلم پیچ می باشند. مطالعات مختلف نشان داده اند که این سبزیجات خواص آنتی اکسیدان و ضد سرطانی دارند (۱۰). این دسته از سبزیجات حاوی تیوگلوکوزیدهای آلیفاتیک، ایندول و آلکیل بوده که به گلوکوزینولات (GLS) معروف هستند. سبزیجات براسیکا دارای گروه بزرگی از گلوکوزینولات ها می باشند. پژوهش ها نشان داده اند که فعالیت آنتی اکسیدان گلوکوزینولات ها بالا می باشد. هم چنین مطالعات درون تنی و برون تنی نشان داده اند که ایندول و آلیفاتیک GLS خواص ضد سرطانی دارند (۱۱). پیگمان قرمز کلم مربوط به حضور

آنتوسیانین می‌باشد. بیش از ۱۵ آنتوسیانین متفاوت در کلم قرمز در وزنی معادل ۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم از کلم قرمز وجود دارند (۱۲).

اجزاء اصلی کلم قرمز شامل ایزوسیانات (گلوکوزینولات)، ویتامین‌های A، B، C و آنتوسیانین‌ها می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که آنتوسیانین‌ها نسبت به فلاونوئیدها آنتی‌اکسیدانت‌های قوی‌تری هستند (۱۳). هم‌چنین مطالعات نشان داده‌اند که کلم قرمز دارای خواص آنتی‌اکسیدان، کاهش‌دهنده تری‌گلیسرید خون، ضد سرطان و کاهش‌دهنده کلسترول خون می‌باشد (۱۴). کلم قرمز هم‌چنین از استرس‌های اکسیداتیو القایی در کبد و مغز حیوانات که در معرض پاراکوات و ان - متیل - د - آسپاراتات قرار گرفته‌اند، جلوگیری می‌کند (۱۵). کلم قرمز حاوی ترکیباتی است که رشد سلول‌های سرطان پستان دارای استروژن گیرنده مثبت و هم استروژن گیرنده منفی را مهار می‌کند (۱۶).

آلودگی محیط زیست، به عنوان یکی از مباحث بسیار مهم در زندگی بشر می‌باشد با توجه به استفاده گسترده از نانو تکنولوژی و نانوذرات در زندگی امروزه و خطرات ناشی از استفاده گسترده بشر از این تکنولوژی، آلودگی‌های ناشی از نانوذرات امروزه به‌عنوان مسأله‌ای جدید و خطرناک مطرح شده‌اند. در واقع این مورد به‌علت ماندگاری در محیط و زنجیره غذایی مسمومیت‌هایی را ایجاد می‌کند رادیکال‌های آزاد به غشای سلول آسیب می‌رسانند و با افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و شاخص‌های استرس اکسیداتیو منجر به التهاب بافت و مرگ سلول‌ها می‌شوند. در مطالعه کوهی‌نژاد و همکاران، تیمار حیوانات با نانوذرات آهن همراه با اسانس آویشن شیرازی نشان‌دهنده توانایی محافظتی این ترکیب طبیعی در برابر آسیب‌های ناشی از تزریق نانوذرات آهن بر روی متابولیسم گزنوبیوتیک‌ها بود (۱۷). حیدرنژاد و همکاران

در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند که تأثیر نانوذرات نقره ۳۰ نانومتری بر BALB/c سبب ایجاد تغییراتی در کبد شامل اتساع در ورید مرکزی، پرخونی، تورم و افزایش سلول‌های کوپفر و ارتشاح سلول‌های التهابی در مسیر وابسته به زمان شد (۱۸). در مطالعه دیگری نیز، سیلی‌مارین با قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالا اثر محافظتی کبدی قابل توجهی، با کاهش معنی‌داری در آنزیم‌های کبدی، در مقابل آسیب کبدی ناشی از دوز بالای نانوذره آهن از خود نشان داده است (۱۹).

با صنعتی شدن نانو تکنولوژی، در معرض قرارگیری عموم با نانو ذرات در آینده نزدیک غیرقابل اجتناب می‌باشد، بنابراین بررسی اثرات دزهای مختلف این نانو ذرات و اثرات آن‌ها بر سلامتی دارای اهمیت است. بنابراین، می‌توان از موجودات به کمک آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان کلم قرمز تا حدود زیادی محافظت کرد. در این راستا، این مطالعه تا جایی که ما بررسی کردیم برای اولین بار، تأثیر محافظتی عصاره کلم قرمز در جلوگیری از آسیب ناشی از نانو ذرات اکسید آهن را به کمک شاخص‌های رشد و هیستولوژی لوله گوارش، کبد و عضله مورد مطالعه قرار داده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک پژوهش تجربی بود که در سال ۱۴۰۲ انجام شد. کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی آزاد مشهد با شناسه IR.IAU.MSHD.REC.1401.100 این مطالعه را تأیید کرد. لارو ماهی سوروم از مرکز پرورش ماهیان آکواریومی 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.

فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب آکواریوم: آکواریوم‌های مورد استفاده در ابعاد $40 \times 40 \times 40$ سانتی‌متر مکعب با شیشه‌ای به ضخامت ۴ میلی‌متر ساخته شدند و پس از ضد عفونی با هیپوکلرید سدیم به حجم ۳۰ لیتر آبگیری شدند. دمای آب آکواریوم‌ها توسط بخاری برقی درون آکواریومی در محدوده بین ۲۶ تا ۲۹ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. اکسیژن حل شده در آب $6/5$ میلی‌گرم بر لیتر و pH مورد نیاز $6/9$ تا $7/2$ بود (۲۰).

تهیه نانوذرات اکسید آهن: نانوذرات اکسید آهن Fe_2O_3 از شرکت پیشگامان نانو مواد ایرانیان (پارس سنتر) خریداری گردید. این نانوذرات محصول شرکت US NANO آمریکا بودند. تعیین شکل و مورفولوژی و سایز دقیق نانوذرات با استفاده از تست‌های TEM و SEM توسط شرکت دی‌پترونیک انجام شد. سپس نانوذرات اکسید آهن با غلظت ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (یعنی هنگام استفاده از یک کیلوگرم بیومار مقدار ۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم نانوذرات اکسید آهن را با آن مخلوط می‌کنیم) با غذای بیومار و نیز با مخلوطی از بیومار و پودر کلم قرمز در آکواریوم‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه پودر کلم قرمز: کلم قرمز (red cabbage) از مراکز میوه و تره‌بار شهر مشهد تهیه و بر اساس هرباریوم دانشکده داروسازی مشهد تعیین گونه گردید. شماره کد هرباریوم موردنظر ۱۰۹۹۸ است. ابتدا کلم‌ها کاملاً شسته شده، سپس به قطعات کوچک تقسیم شدند. کلم‌های خرد شده روی سینی‌های آون پوشیده شده با فویل‌های آلومینیومی قرار داده شده و به مدت ۲ روز در دمای 5 ± 35 درجه سانتی‌گراد

خشک شدند. کلم‌های خشک‌شده در آسیاب چکشی آسیاب شدند.

تهیه غذای ماهی: غذای پایه ماهی (بیومار فرانسوی) از سازمان شیلات وابسته به جهاد کشاورزی تهیه و در دانشکده داروسازی مشهد آسیاب شد. ۷۰ گرم پودر بیومار با $0/14$ گرم پودر کلم قرمز با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم 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 گرانول‌های بلغور یونجه همراه با غذای ماهی تهیه شود و سپس به مدت ۲۴ ساعت در آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا خشک شود. پس از خشک شدن، گرانول‌ها به ظرف‌های درب‌دار پلاستیکی منتقل شده و در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. قبل از تغذیه ماهی، غذا از فریزر خارج شد تا باز شود. همه مراحل تهیه پودر کلم قرمز و پودر بیومار و تهیه بلغور کلم قرمز در دانشکده داروسازی انجام شد (۲۱).

گروه‌بندی و تغذیه نمونه‌ها: 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 هیچ‌گونه افزودنی تغذیه شدند. گروه دوم (cabbage200): لاروهای ماهی با بلغوری متشکل از ۷۰ گرم غذای پایه و $0/14$ گرم کلم قرمز تغذیه شدند. گروه سوم (Fe_2O_350): لاروهای ماهی با بلغوری متشکل از ۷۰ گرم غذای پایه و $0/03$ گرم نانو اکسید آهن تغذیه شدند. گروه چهارم (Fe_2O_3200): لاروهای ماهی با بلغوری متشکل از ۷۰ گرم غذای پایه و $0/14$ گرم نانو اکسید آهن تغذیه شدند. گروه پنجم ($cab200Fe50$): لاروهای ماهی با ترکیبی از ۷۰ گرم غذای پایه و $0/14$ گرم

کلم قرمز همراه با ۰/۰۰۳ گرم از نانوذرات آهن تغذیه شدند. گروه ششم (cab200Fe200): لاروهای ماهی با ترکیبی از ۷۰ گرم غذای پایه و ۰/۰۱۴ گرم کلم قرمز همراه با ۰/۰۱۴ گرم از نانوذرات آهن تغذیه شدند. مقدار غذادهی، ۱۰ درصد میانگین وزن بدن لاروها بود. در طول دوره آزمایش، هر روز دو نوبت صبح و عصر با دست غذادهی انجام شد (۲۲).

بررسی محاسبات بیومتری

محاسبه نرخ رشد روزانه (DGR)

$$\text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه} = \text{محاسبه نرخ رشد روزانه} \\ \text{دوره پرورش به روز}$$

ضریب تبدیل غذایی (FCR)

$$\text{خوراک مصرفی} \\ \text{افزایش وزن} = \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

درصد افزایش وزن (increase in weight)

$$\text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه} \\ \text{وزن اولیه} = \text{درصد افزایش وزن}$$

وزن اکتسابی (WG)

$$\text{میانگین وزن اولیه} - \text{میانگین وزن ثانویه} = \text{وزن اکتسابی}$$

شاخص وضعیت (CF)

$$\text{وزن} \\ \text{طول کل} = \text{شاخص وضعیت}$$

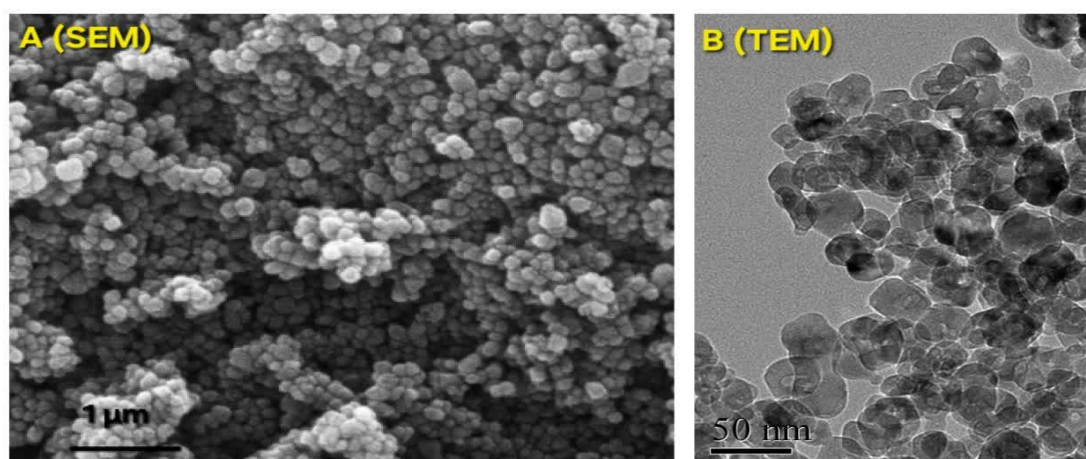
هیستوشیمیایی بافت‌های لوله گوارش، کبد و عضله: در مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات نانوذرات

آهن و کلم قرمز بر هیستولوژی لوله گوارش، کبد و عضله ماهی سوروم، نمونه‌برداری در روز چهل و پنجم انجام شد. برای این منظور در هر دوره پس از بیهوشی، ماهیان از سطح شکمی تشریح شدند و بافت‌های لوله گوارش، کبد و عضله برداشته شد و بلافاصله در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند. بعد از کامل شدن تثبیت، بافت‌ها از محلول فرمالین خارج و مقاطع بافتی تهیه شد. برای شناسایی گلیکوزآمینوگلیکان اسیدی از روش رنگ‌آمیزی آلیسین بلو و برای شناسایی موکو پلی‌ساکارید، گلیکوپروتئین و پروتئوگلیکان از روش رنگ‌آمیزی پریودیک اسید در سلول‌های موکوسی استفاده شد. بررسی تجمع نانوذرات اکسید آهن در بافت عضله و کبد از روش رنگ‌آمیزی گوموری استفاده شد. پس از رنگ‌آمیزی، این برش‌ها توسط دو متخصص پاتولوژی با میکروسکوپ نوری بررسی شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های جمع‌آوری‌شده توسط نرم‌افزارهای آماری Excel و SPSS 20 مورد تحلیل قرار گرفتند. روش‌های آماری مورد استفاده در این پژوهش عبارت بودند از آزمون تی استیودنت (T student)، آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون توکی (Tukey Test). هم‌چنین از میانگین، خطای معیار و نمودارهای ستونی جهت توصیف اطلاعات استفاده شد. سطح معناداری آماری ۵ درصد در نظر گرفته شد.

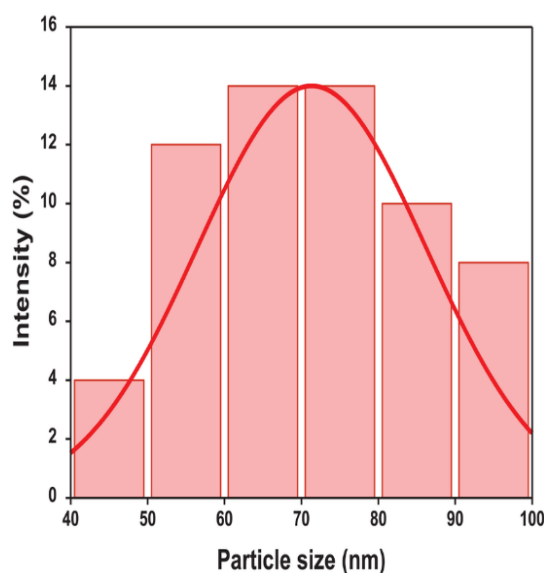
نتایج

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر توأم نانوذرات آهن و کلم قرمز بر پارامترهای رشد و هیستوشیمیایی لوله گوارش، کبد و عضله ماهی سوروم بود.



شکل ۱- شناسایی نانوذرات آهن با میکروسکوپ‌های الکترونی الف: روبشی (SEM) و ب: عبوری (TEM).

Figure 1. Identification of iron nanoparticles by electron microscopes.
a: Scanning Electron Microscope (SEM) and b: Transmission Electron Microscope (TEM).

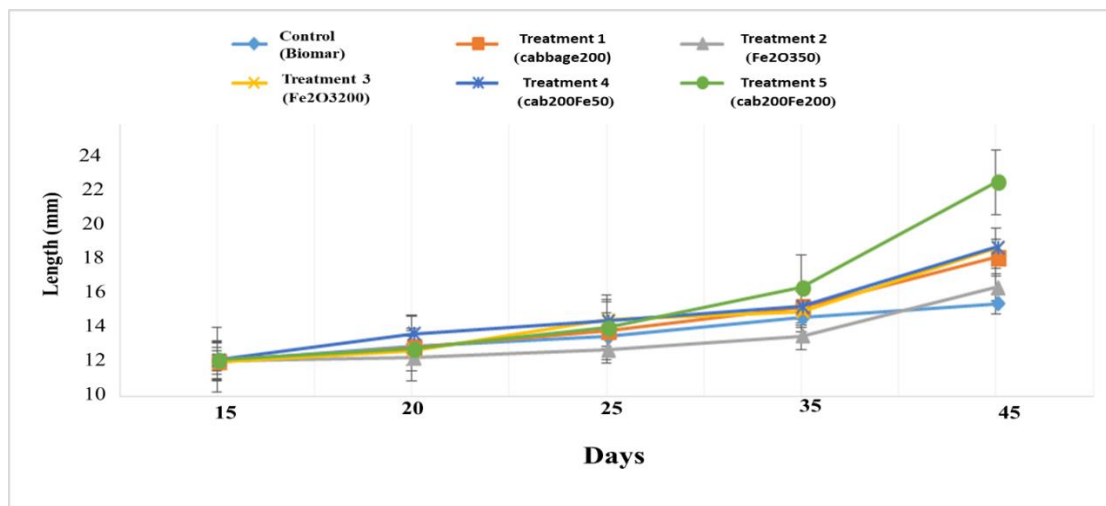


شکل ۲- میانگین سائز نانوذرات اکسید آهن.

Figure 2. Mean Size of Iron Oxide Nanoparticles.

انجام شده، در شکل ۱ قسمت ب نشان داده شده است. اندازه میانگین نانوذرات آهن ۷۰ نانومتر بود (شکل ۲).

نتایج حاصل از تست SEM در شکل ۱ قسمت الف ارائه شده است که بیانگر این می‌باشد که شکل ظاهری نانوذرات کروی می‌باشد. شناسایی نانوذرات آهن که با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

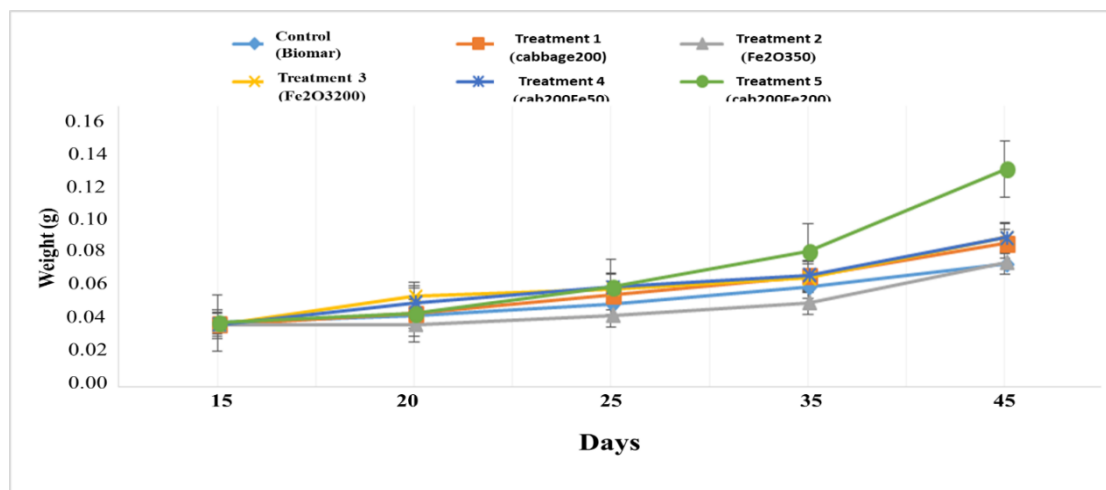


شکل ۳- اثر تغذیه‌ای بر طول ماهی سوروم در طی دوره آزمایش.

Figure 3. Effect of Dietary Treatment on the Length of *Heros severus* Fish During the Experimental Period.

نسبت به شاهد از بیش‌ترین قد در بین تیمارها برخوردار بود. در روز ۴۵ تیمارهای ۱ (cab200)، ۴ (cab200Fe50)، ۳ (Fe₂O₃200) و ۵ (cab200Fe200) به ترتیب با درصدهای افزایش طول ۱۶ درصد، ۱۹ درصد، ۱۹ درصد، ۴۲ درصد نسبت به شاهد از بیش‌ترین افزایش قد در برخوردار بودند (شکل ۳).

اندازه طول ماهی‌ها نشان داد که در روزهای ۱۰ و ۱۵ هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد مطالعه و شاهد در افزایش قد مشاهده نشد ولی در روزهای ۲۰ و ۲۵ آزمایش تیمار ۳ (Fe₂O₃200) با ۶ درصد افزایش معنادار نسبت به شاهد از بیش‌ترین قد در بین تیمارها برخوردار بود. در روز ۳۵، تیمار ۵ (cab200Fe200) با ۱۱ درصد افزایش معنادار



شکل ۴- اثر تغذیه‌ای بر وزن ماهی سوروم در طی دوره آزمایش.

Figure 4. Effect of Dietary Treatment on the Weight of *Heros severus* Fish During the Experimental Period.

اندازه وزن ماهی‌ها نشان داد که در روزهای ۱۰ و ۱۵ هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد مطالعه و شاهد در افزایش وزن مشاهده نشد ولی در روز ۲۰ تیمار ۳ (Fe_2O_3200) با ۲۰ درصد افزایش معنادار نسبت به شاهد از بیش‌ترین وزن در بین تیمارها برخوردار بود. در روزهای ۲۵ و ۳۵، تیمارهای ۱ (cabbage200)، ۳ (Fe_2O_3200)، ۴ (cab200Fe50) و ۵ (cab200Fe200) به ترتیب با درصدهای افزایش وزن ۲۰ درصد، ۲۰ درصد، ۲۰ درصد و ۵۰ درصد نسبت به شاهد از بیش‌ترین وزن در برخوردار بودند (شکل ۴).

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد در ماهی سوروم در طی دوره آزمایش.

Table 1. Comparison of Mean Growth Indices in *Heros severus* Fish During the Experimental Period.

تیمار ۵ Treatment 5 (cab200Fe200)	تیمار ۴ Treatment 4 (cab200Fe50)	تیمار ۳ Treatment 3 (Fe_2O_3200)	تیمار ۲ Treatment 2 (Fe_2O_350)	تیمار ۱ Treatment 1 (cabbage200)	شاهد (بیومار) Control (Biomar)	گروه‌ها Groups پارامترها Parameters
0.11 ^b	0.07 ^a	0.06 ^a	0.07 ^a	0.06 ^a	0.04 ^a	وزن اکتسابی Weight Gain (g)
0.003 ^a	0.002 ^a	0.001 ^a	0.001 ^a	0.001 ^a	0.001 ^a	نرخ رشد روزانه Daily Growth Rate (g/day)
0.05 ^a	0.03 ^a	0.04 ^a	0.02 ^a	0.04 ^a	0.02 ^a	درصد افزایش وزن Percentage Weight Gain (%)
0.16 ^e	0.25 ^c	0.46 ^d	0.24 ^c	0.64 ^b	1.09 ^a	ضریب تبدیل غذایی Feed Conversion Ratio (FCR)
3.24 ^c	2.25 ^b	2.24 ^b	1.87 ^a	2.15 ^b	1.79 ^a	شاخص وضعیت Condition Factor

تیمارهایی که دارای حروف مشترک هستند، از لحاظ آماری دارای اختلاف معنادار نیستند. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح خطای ۵ درصد است

Treatments sharing common letters do not have a statistically significant difference. Different letters indicate a statistically significant difference at a 5% error level ($P < 0.05$)

افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی هیچ اختلاف معناداری بین تیمارهای مورد مطالعه و شاهد مشاهده نشد (جدول ۱).

بیش‌ترین افزایش در میانگین وزن اکتسابی، نرخ رشد روزانه و شاخص وضعیت مربوط به تیمار ۵ (cab200Fe200) و کم‌ترین مقدار هم مربوط به گروه شاهد بود. همچنین بین شاخص‌های درصد

جدول ۲- بررسی شدت رنگ‌پذیری با روش‌های هیستوشیمیایی در روزهای مختلف در گروه‌های مورد مطالعه.

Table 2. Investigation of Staining Intensity by Histochemical Methods on Different Days in the Studied Groups.

رنگ‌آمیزی گوموری Gomori's Staining		رنگ‌آمیزی پریودیک اسید Periodic Acid Schiff (PAS) Staining		رنگ‌آمیزی آلیسین بلو Alcian Blue Staining		گروه‌های مورد مطالعه Studied Groups	زمان بررسی Time of Examination
کبد Liver	عضله Muscle	سلول‌های موکوسی روده Intestinal Mucous Cells	سلول‌های موکوسی معده Gastric Mucous Cells	سلول‌های موکوسی روده Intestinal Mucous Cells	سلول‌های موکوسی معده Gastric Mucous Cells		
-	-	+	-	+	-	شاهد (بیومار) Control (Biomar)	روز ۱۵ Day 15
-	-	+	-	+	-	تیمار ۱ Treatment 1 (cabbage200)	
-	-	+	-	+	-	تیمار ۲ Treatment 2 (Fe ₂ O ₃ 50)	
-	-	+	-	+	-	تیمار ۳ Treatment 3 (Fe ₂ O ₃ 200)	
-	-	+	-	+	-	تیمار ۴ Treatment 4 (cab200Fe50)	
-	-	+	-	+	-	تیمار ۵ Treatment 5 (cab200Fe200)	
-	-	+	-	+	-	شاهد (بیومار) Control (Biomar)	روز ۲۰ Day 20
-	-	+	+	+	+	تیمار ۱ Treatment 1 (cabbage200)	
-	-	+	-	+	-	تیمار ۲ Treatment 2 (Fe ₂ O ₃ 50)	
-	-	+	+	+	+	تیمار ۳ Treatment 3 (Fe ₂ O ₃ 200)	
-	-	++	+	+	+	تیمار ۴ Treatment 4 (cab200Fe50)	
-	-	++	+	+	+	تیمار ۵ Treatment 5 (cab200Fe200)	
-	-	+	+	+	+	شاهد (بیومار) Control (Biomar)	روز ۲۵ Day 25
-	-	+	+	+	+	تیمار ۱ Treatment 1 (cabbage200)	
+	-	++	+	++	+	تیمار ۲ Treatment 2 (Fe ₂ O ₃ 50)	
+	-	++	+	++	+	تیمار ۳ Treatment 3 (Fe ₂ O ₃ 200)	
+	-	++	++	++	++	تیمار ۴ Treatment 4 (cab200Fe50)	
+	-	++	++	++	++	تیمار ۵ Treatment 5 (cab200Fe200)	

ادامه جدول ۲-

Continue Table 2.

رنگ آمیزی گوموری Gomori's Staining		رنگ آمیزی پریودیک اسید Periodic Acid Schiff (PAS) Staining		رنگ آمیزی آلیسین بلو Alcian Blue Staining		گروه های مورد مطالعه Studied Groups	زمان بررسی Time of Examination
کبد Liver	عضله Muscle	سلول های موکوسی روده Intestinal Mucous Cells	سلول های موکوسی معده Gastric Mucous Cells	سلول های موکوسی روده Intestinal Mucous Cells	سلول های موکوسی معده Gastric Mucous Cells		
-	-	++	+	++	+	شاهد (بیومار) Control (Biomar)	روز ۳۵ Day 35
-	-	++	++	++	++	تیمار ۱ Treatment 1 (cabbage200)	
+	-	++	++	++	++	تیمار ۲ Treatment 2 (Fe ₂ O ₃ 50)	
+	-	++	++	++	++	تیمار ۳ Treatment 3 (Fe ₂ O ₃ 200)	
+	-	+++	++	++	++	تیمار ۴ Treatment 4 (cab200Fe50)	
+	-	+++	+++	++	++	تیمار ۵ Treatment 5 (cab200Fe200)	روز ۴۵ Day 45
-	-	++	++	++	++	شاهد (بیومار) Control (Biomar)	
-	-	+++	+++	+++	+++	تیمار ۱ Treatment 1 (cabbage200)	
+	-	+++	+++	+++	+++	تیمار ۲ Treatment 2 (Fe ₂ O ₃ 50)	
+	+	+++	+++	+++	++	تیمار ۳ Treatment 3 (Fe ₂ O ₃ 200)	
+	-	+++	+++	+++	+++	تیمار ۴ Treatment 4 (cab200Fe50)	
+	+	+++	+++	+++	+++	تیمار ۵ Treatment 5 (cab200Fe200)	

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

(-) Absent, (+) Low/Weak response, (++) Moderate response, (+++) Strong/Intense response

معده و گابلت سلها در روده به رنگ آمیزی اختصاصی آلسین بلو و رنگ آمیزی پریودیک اسید واکنش مثبت شدید (وابسته به ازدیاد سن) را نشان دادند. در این پژوهش در طی هفته اول تجمع نانو اکسید آهن در بافت کبدی مشاهده نشد اما در روز ۲۰ بعد از گشایی ذرات خفیف و پراکنده ای از

به دنبال تغذیه ماهی با تیمارها، در بررسی های هیستوشیمیایی لوله گوارش از روز ۱۰ بعد از تخم گشایی تا روز ۴۵ به تدریج بر میزان چین های لایه مخاطی روده و تعداد گابلت سلها افزوده شد و لایه عضلانی معده رشد بیشتری را داشت و دارای سلول های موکوسی فراوان بود. سلول های موکوسی

نانواکسید آهن بدون تخریب بافتی در سلول‌های هپاتوسیت کبدی مشاهده شد. در روز ۳۵ بعد از تخم‌گذاری تجمع این ذرات به نسبت قبل افزایش را نشان داد هم‌چنین در برخی قسمت‌ها این تجمع با توروم سلول و ترکیدن آن (تخریب سلولی) همراه بود. نانوذرات اکسید آهن در سلول‌های عضلات فقط در روز ۴۵ در دو گروه تیمار ۳ و تیمار ۵ مشاهده شد که با اثرات تخریبی همراه نبود (جدول ۲).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، گروه‌های تیمار شده با کلم و نانوذرات آهن خصوصیات رشد بهتری را نسبت به سایر گروه‌ها داشته است. هم‌چنین گروه‌هایی که غذای حاوی کلم را دریافت کرده‌اند وضعیت رشد بهتری نسبت به گروه دریافت‌کننده نانوذرات آهن داشته‌اند که این اثر می‌تواند (ممکن است) ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی کلم به علت مواد آنتی اکسیدان موجود در آن و اثرات افزایشنده رشد این گیاه به سبب ایزوسیانات (گلوکوزینولات)، ویتامین‌های A، B، C و آنتوسیانین‌ها و غیره موجود در آن باشد.

مطالعه خدادادی و همکاران نشان داد چغندر لبویی و کلم قرمز، قابلیت خوبی برای افزوده شدن به رژیم غذایی ماهی گلدفیش، به‌ویژه به منظور افزایش رشد دارد و با توجه به میزان کم مقدار مؤثر آن در رژیم غذایی و عدم تداخل منفی با فاکتورهای رشد استفاده از آن می‌تواند مفید باشد (۲۳). داویس در پژوهشی بیان کرد که حضور ویتامین E در جیره غذایی ماهی گلدفیش باعث بهبود شاخص‌های وزن می‌گردد. اما کاهش این شاخص‌ها در تیمارهای حاوی بیش از ۰/۲ درصد کلم بروکلی می‌تواند به دلیل وجود بیش از حد موادی چون سلنیوم، اینوزیتول، α -تکوفرول و سایر عوامل ناشناخته رشد باشد (۲۴). هم‌چنین پژوهش‌های دیگر نشان می‌دهند

که بهبود شاخص‌های رشد و پاسخ‌های سیستم ایمنی در ماهی وابستگی مستقیمی به وجود مکمل‌هایی مانند ویتامین E، ویتامین A، ویتامین، فیبر، کولین کلراید و کلسیم پانتوتنات، روی، مس و آهن در جیره غذایی دارد (۲۵). در مطالعه عادل و همکاران مشخص شد که اضافه کردن عصاره به لیمو به جیره غذایی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث بهبود عملکرد رشد در ماهیان می‌گردد (۲۶). متین و همکاران با بررسی عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های کبدی در ماهی سوروم تغذیه شده با اسانس آویشن معمولی، نعنای وحشی و مریم گلی گزارش کردند که استفاده از این اسانس‌ها در جیره غذایی ماهی سوروم منجر به بهبود رشد شد و میزان آنزیم‌های کبدی می‌شود (۲۷). در مطالعه‌ای که توسط لین انجام شد نشان داده شد که تغذیه ماهی کپور علف‌خوار با یونجه اثرات افزایشنده رشد بهتری نسبت به گیاهان دیگر داشته است که این افزایش وزن با محتوای فسفر و پروتئین یونجه مرتبط می‌باشد (۲۸). به نظر می‌رسد نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش‌ها در مورد استفاده از گیاهان مختلف در آبزیان همسو می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد، گروه‌هایی که غذای حاوی کلم را دریافت کرده‌اند وضعیت رشد بهتری نسبت به گروه دریافت‌کننده نانوذرات آهن داشته‌اند که این اثر می‌تواند (ممکن است) ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی کلم و اثرات افزایشنده رشد این گیاه باشد.

فلزات از جمله عناصر ضروری واکنش‌های بیولوژیک می‌باشند و به صورت هومواستاتیک تنظیم می‌شوند. غلظت‌های این عناصر در بافت‌های یکسان از گونه‌های متفاوت می‌تواند تغییرات زیادی داشته باشد. فلزات بر اساس مقدارشان در فرایندهای زیستی ایفای نقش می‌کنند. هم‌چنین زمانی که مقادیر فلزات ضروری افزایش یابد می‌تواند اثرات سمی داشته باشند (۲۹). خاوری و همکاران با بررسی اثرات

سطوح مختلف نانوذره آهن بر فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به این نتیجه دست یافتند که استفاده از نانوذره آهن در سطح ۳۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم غذای خشک، سبب افزایش عملکرد رشد و تغذیه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی می‌گردد (۳۰). ابراهیمی و همکاران بیان داشتند استفاده از نانوذره آهن به ترتیب باعث افزایش ۳۰ و ۲۴ درصدی رشد ماهی کپور و خاویاری و همچنین افزایش ۲۷-۳۳ درصد میزان اریتروسیت و ۱۳-۱۲ درصد هموگلوبین خون ماهیان می‌گردد (۳۱). ولی و همکاران طی مطالعه‌ای اثرات تغذیه‌ای نانو ذرات نقره و سلنیوم را بر شاخص‌های رشد ماهی سوروم بررسی کردند، نتایج آن‌ها نشان داد که ماهیان تغذیه شده با نانو ذرات به‌طور معنی‌داری شاخص‌های رشد بهتری نسبت به گروه شاهد داشتند (۳۲). مطالعه رشید و همکاران نشان داد مقادیر وزن نهایی، درصد وزن به دست آمده، فاکتور وضعیت و ضریب رشد ویژه در ماهیان کپور تغذیه شده با نانوذره روی با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر گرم غذا به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر گروه‌ها بود (۳۳). به‌نظر می‌رسد نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش‌ها در مورد استفاده از نانوذرات در تغذیه آبزیان همسو می‌باشد. طبق نتایج پژوهش حاضر استفاده توأم از نانوذرات اکسید آهن و کلم قرمز باعث افزایش شاخص‌های رشد در ماهیان سوروم می‌شود. این اثر می‌تواند ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانی کلم و اثرات افزایش‌دهنده رشد این گیاه باشد.

اثر شکل و سایر نانوذرات بر روی سمیت آن‌ها در مطالعات گذشته ثابت شده است. پال و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که نانوذرات مثلثی نقره اثرات قوی‌تری نسبت به نانوذرات کروی نقره بر سلول‌های

باکتری اشریشیاکلی داشتند (۳۴). از طرفی استوهر و همکاران نشان دادند که نانو سیم‌های نقره دارای اثرات به مراتب بالاتری نسبت به نانوذرات کروی نقره بر روی سلول‌های ریه هستند (۳۵). همچنین نانوذرات کروی طلا نیز اثرات سمی بالاتری نسبت به نانوذرات مکعبی طلا در شرایط داخل بدنی داشتند (۳۶). به‌نظر می‌رسد نتایج این پژوهش با نتایج سایر پژوهش‌ها در مورد شکل و سایز نانوذرات همسو باشد. طبق نتایج پژوهش حاضر نانوذرات کروی اکسید آهن در سایز ۷۰ نانومتر دارای سمیت بر روی ماهی سوروم بود. توجه این‌که چرا نانوذرات در اشکال مختلف سمیت متفاوتی دارند دشوار است و مطالعات زیادی روی مکانیسم‌های درگیر وجود ندارد ولی احتمالاً شکل نانوذرات می‌تواند در خصوصیات شیمیایی و واکنش‌پذیری آن‌ها و ورود آن‌ها به داخل سلول دخیل باشد. از طرفی شکل نانوذرات می‌تواند در نسبت سطح به حجم نانوذرات تأثیرگذار باشد که به‌طور غیرمستقیم خواص فیزیکی و شیمیایی آن‌ها را متأثر می‌سازد. مطالعات بیش‌تر و گسترده‌تری لازم می‌باشد تا همه آثار سمی نانوذرات آهن در اشکال مختلف مشخص گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان برای بهبود وضعیت رشد از کلم قرمز همراه نانوذرات آهن در ماهی سوروم استفاده کرد تا افزایش‌دهنده رشد آن‌ها بوده و مانع بروز سمیت در آن‌ها شود. براساس نتایج، بهترین اثر محافظتی و رشد ماهی با بلغوری متشکل ۷۰ گرم غذای پایه و ۰/۰۱۴ گرم کلم قرمز همراه با ۰/۰۱۴ گرم از نانوذرات آهن به‌دست آمده است.

منابع

1. Nahavandi, R., Tamadoni Jahromi, S., Sadeghi, A., Masoudi, I., Behzadi, S., Gozari, M., Aftabzadeh, M. H., & Moezzi, M. (2022). Application of biofloc and phytobiotics in aquaculture. *Ecology and Water Resources*, 5(2), 10-20.
2. Salavatian, S. M., Kachalaki, T., Gorbani, S., & Ramzani Mamodani, M. R. (2022). Introduction of Koi Fish culture and its economic value. *Journal of Ornamental Aquatics*, 9(3), 37-51.
3. Paixão, D. J. D. M. R., Brabo, M. F., Soares, L. M. O., Campelo, D. A. V., & Veras, G. C. (2019). Optimal feeding frequency for *Heros severus* (Heckel, 1840), an Amazon ornamental fish. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48, Article e20170055.
4. Tehrani, J. M., Dorche, E. E., Goli, S. A. H., & Akbary, P. (2014). Enrichment of *artemia* (leach) nauplii with canola oil: effect on *heros severus* (Heckel) larvae performance and environmental stress. *Advances in Microbiology*, 4(16), 1242.
5. McNamara, K., & Tofail, S. A. (2017). Nanoparticles in biomedical applications. *Advances in Physics: X*, 2(1), 54-88.
6. Rizvi, S. A., & Saleh, A. M. (2018). Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(1), 64-70.
7. 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. *Journal of Asian Earth Sciences*, 137, 1-8.
8. Zoroddu, M. A., Aaseth, J., Crisponi, G., Medici, S., Peana, M., & Nurchi, V. M. (2019). The essential metals for humans: a brief overview. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 195, 120-129.
9. Kumar, H., Bhardwaj, K., Nepovimova, E., Kuča, K., Singh Dhanjal, D., Bhardwaj, S., Masek, J., & Kumar, D. (2020). Antioxidant functionalized nanoparticles: A combat against oxidative stress. *Nanomaterials*, 10(7), 1334.
10. Favela-González, K. M., Hernández-Almanza, A. Y., & De la Fuente-Salcido, N. M. (2020). The value of bioactive compounds of cruciferous vegetables (*Brassica*) as antimicrobials and antioxidants: A review. *Journal of Food Biochemistry*, 44(10), Article e13414.
11. Renz, M., Andernach, L., Kaufmann, M., Rohn, S., & Hanschen, F. S. (2024). Degradation of glucosinolates and formation of isothiocyanates, nitriles, amines, and N, N'-dialk (en) yl thioureas during domestic boiling of red cabbage. *Food Chemistry*, 435, 137550.
12. Ghareaghajlou, N., Hallaj-Nezhadi, S., & Ghasempour, Z. (2021). Red cabbage anthocyanins: Stability, extraction, biological activities and applications in food systems. *Food Chemistry*, 365, 130482.
13. Pourmohammad, M., Jomeh, H., Khakzad, M., Khayatizadeh, J., & Mokhtari Amirmajidi, E. (2023). Human papillomavirus and *Helicobacter pylori* co-infection in gastric cancer patients. *Feyz Medical Sciences Journal*, 27(6), 679-687.
14. Drozdowska, M., Leszczyńska, T., Koronowicz, A., Piasna-Słupecka, E., & Dziadek, K. (2020). Comparative study of young shoots and the mature red headed cabbage as antioxidant food resources with antiproliferative effect on prostate cancer cells. *RSC Advances*, 10(70), 43021-43034.
15. Saluk, J., Bijak, M., Posmyk, M. M., & Zbikowska, H. M. (2015). Red cabbage anthocyanins as inhibitors of lipopolysaccharide-induced oxidative stress in blood platelets. *International Journal of Biological Macromolecules*, 80, 702-709.
16. Furdak, P., Pieńkowska, N., Bartosz, G., & Sadowska-Bartos, I. (2022). Extracts of common vegetables inhibit the growth of ovary cancer cells. *Foods*, 11(16), 2518.

17. Kohi Nejad, H., Rasooli, A., Hajhosseini, R., Vaziri, A., & Saghiri, M. (2018). Considering the *Zataria multiflora* essential oil effect on the xenobiotic metabolism in acute toxicity induced by iron nanoparticle. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*, 31(2), 200-212.
18. Heydarnejad, M. S., Rahnama, S., Mobini-Dehkordi, M., Yarmohammadi, P., & Aslnai, H. (2014). Silver nanoparticles accelerate skin wound healing in mice (*Mus musculus*) through suppression of innate immune system. *Nanomedicine Journal*, 1(2), 79-87.
19. Taher, G. N., & Ghareeb, O. A. (2022). Adverse effects of iron oxide nanoparticles on some biochemical markers and ameliorative effect of Silymarin. *Biochemical and Cellular Archives*, 22(1), 1829-1832.
20. Pourmohammad, M., Khayatzaadeh, J., Yousefi, N., Tehranipour, M., & Mahdavi Shahri, N. (2024). Symmetry measurement study of dermatoglyphic and minutiae patterns in the thumb of the right and left leg in Fars persons of special schools in Birjand. *Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences*, 66(6), 1532-1541.
21. Zhu, X., Tian, S., & Cai, Z. (2012). Toxicity assessment of iron oxide nanoparticles in zebrafish (*Danio rerio*) early life stages. *PLoS ONE*, 7(9), Article e46286.
22. Mazandarani, M., Darvishi, G., Zargar, A., & Zargari, A. (2021). The effects of chronic sub-lethal ammonia exposure on growth indices and histological analysis of gill and kidney in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Veterinary Research*, 76(4), 442-449.
23. Pourmohammad, M., Khayatzaadeh, J., Hanafi, V., & Iranshahi, M. (2024). Investigating the effects of combined application of iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3) 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]
24. Davis, M., Slaton, J., MacDonald, J., & Parry-Cruwys, D. (2023). Comparing simultaneous and sequential food presentation to increase consumption of novel target foods. *Behavior Analysis in Practice*, 16(4), 1124-1137.
25. Saheli, M., Islami, H. R., Mohseni, M., & Soltani, M. (2021). Effects of dietary vitamin E on growth performance, body composition, antioxidant capacity, and some immune responses in Caspian trout (*Salmo caspius*). *Aquaculture Reports*, 21, 100857.
26. Adeli, A., Shalomofer, M., & Akrami, R. (2019). The effect of *Aloysia citrodora* lemon plant extract on growth performance, carcass composition and some liver enzymes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific Quarterly Journal of Animal Physiology and Development*, 12(3), 27-36.
27. Metin, S., Yigit, N. O., Didinen, B. I., Koca, S. B., Ozmen, O., Aslankoc, R., & Kara, N. (2024). Effects of sage (*Salvia officinalis*) essential oil on growth, health and antioxidant capacity of common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Research Communications*, 48(2), 911-921.
28. Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Lin, X., & Luo, L. (2012). Dietary administration of chitooligosaccharides to enhance growth, innate immune response and disease resistance of *Trachinotus ovatus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 32(5), 909-913.
29. Jomova, K., Makova, M., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2022). Essential metals in health and disease. *Chemico-Biological Interactions*, 367, 110173.
30. Khavari, S., Vatandoust, S., Manouchehri, H., Changizi, R., & Ghobadi, S. (2024). The effect of different concentrations of selenium and iron nanoparticles on growth factors, and chemical composition in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture Development*, 18(3), 109-120.

31. Ebrahimi, P., Changizi, R., Ghobadi, S., Shohreh, P., & Vatandoust, S. (2020). Effect of nano-Fe as feed supplement on growth performance, survival rate, blood parameters and immune functions of the stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). *Russian Journal of Marine Biology*, 46, 493-500.
32. Vali, S., Mohammadi, G., Tavabe, K. R., Moghadas, F., & Naserabad, S. S. (2020). The effects of silver nanoparticles (Ag-NPs) sublethal concentrations on common carp (*Cyprinus carpio*): Bioaccumulation, hematology, serum biochemistry and immunology, antioxidant enzymes, and skin mucosal responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 194, 110353.
33. Rasheed, A., Iqbal, K. J., Safdar, A., Nasir, A., Jabeen, R., Tara, N., Ahmad, R. S., & Almarzoug, M. H. (2023). Toxicological effects of zinc oxide nanoparticles on hemato-biochemical profile of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of King Saud University-Science*, 35(7), 102835.
34. Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1712-1720.
35. Stoehr, L. C., Gonzalez, E., Stampfl, A., Casals, E., Duschl, A., Puentes, V., & Oostingh, G. J. (2011). Shape matters: effects of silver nanospheres and wires on human alveolar epithelial cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 8(1), 1-15.
36. Tarantola, M., Pietuch, A., Schneider, D., Rother, J., Sunnick, E., Rosman, C., Müller, M., & Janshoff, A. (2011). Toxicity of gold-nanoparticles: synergistic effects of shape and surface functionalization on micromotility of epithelial cells. *Nanotoxicology*, 5(2), 254-267.