نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۱۴ بهار ۱۳۹۶
DOI: 10.22034/vj.2017.107810

# کارآیی جاذب ترکیبی مکمل شده با جیره غذایی در کاهش سمیت آفلاتوکسین ب۱ و بهبود ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)*

• **سیران خانی**
کارشناس ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ، ایران
• **کوروش سروی مغانلو (نویسنده مسئول)**
استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ، ایران
• **احمد ایمانی**
استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ، ایران
• **ناصر آق**
دانشیار پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه ، ایران
• **مزدک رازی**
استادیار گروه بافت شناسی مقایسه‌ای،
دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ، ایران
تاریخ دریافت: ۱۷-۰۱-۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۲۳-۰۳-۱۳۹۵
Email: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

**چکیده**

**مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف سم آفلاتوکسین ب۱ و کارایی نوعی جاذب ترکیبی بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم خون و بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام پذیرفت. به این منظور تعداد ۴۱۴ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (۱/۲۰±۹/۶۷ گرم) در قالب ۶ تیمار با جیره‌های حاوی ۳ سطح آفلاتوکسین (ppb ۰، ۲۵ و ۵۰) و دو سطح جاذب (صفر و ۵ درصد) به مدت ۶۰ روز پرورش داده شدند. در پایان آزمایش از نظر شاخص‌های خونی، اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیشترین و کمترین میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز به ترتیب در تیمار حاوی ۵ درصد جاذب - ppb ۲۵ سم آفلاتوکسین ب۱ و تیمار فاقد آفلاتوکسین و جاذب مشاهده شد (P≤۰/۰۵)، ولی فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز سرم تحت تأثیر جاذب (۵ درصد) کاهش یافت (P ≤۰/۰۵). همچنین اثر متقابل آفلاتوکسین و جاذب بر میزان شاخص‌های پروتئین کل و گلوبولین معنی‌دار بود، در حالیکه غلظت آلبومین سرم فقط تحت تأثیر جاذب قرار گرفت (P≤۰/۰۵). علاوه بر این با افزایش غلظت سم، شاخص کبدی کاهش یافت (P≤۰/۰۵). اتساع عروق خونی، تخریب سیتوپلاسم، تجمع خون، نفوذ سلول‌های ایمنی در کبد ماهیان تغذیه شده با آفلاتوکسین مشاهده شد که در تیمار ppb ۵۰ شدت این آسیب‌ها افزایش یافت. در کل نتایج این آزمایش نشان داد آفلاتوکسین سبب تخریب بافت کبد و افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی شد و جاذب مورد استفاده علیرغم بهبود شاخص‌های ایمنی، در برابر تغییرات آسیب شناختی اثر حفاظتی نداشت.**

**کلمات کلیدی:** آفلاتوکسین ب۱، بنتونیت، پری‌بیوتیک، قزل‌آلای رنگین‌کمان

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 114 pp: 173-182

Capability of dietary supplementation of composite toxin binder in reducing aflatoxin B1 toxicity and Its immunomodulation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings

*By: Khani. S., MSc Graduate of Fisheries Science, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, I.R. of Iran. Sarvi Moghanlou, K., (Corresponding author), Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, I.R. of Iran. Imani, A., Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, I.R. of Iran. Agh, N., Associate Professor, Urmia Lake Research Institute, Urmia University, I.R. of Iran. Razi, M., Assistant Professor, Department of Comparative Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, I.R. of Iran.*

Email: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

Received: 2016-04-05 Accepted: 2016-06-12

In the present study, the effects of aflatoxin B1 (AFB1) and a compound binder on blood cell count, biochemical indices of serum and liver histology of rainbow trout was investigated. In this regard, total number of 414 trout fingerlings (9.67±1.20g) were randomly allocated into six different treatments comprising various dietary inclusion levels of AFB1 (0, 25 and 50 ppb) and binder (0 and 5%) for 60 days. At the end of experiment, blood indices did not differ amongst treatments. The highest and lowest levels of ALP activities were observed in treatments fed diets containing 5% binder-25 ppb AFB1 and the group without any dietary aflatoxin and binder inclusions, respectively (P<0.05). Activities of AST and ALT were only affected by the binder to the extent that its presence led to lower enzymes activity (P<0.05). Interaction of AFB1 and binder significantly affected total protein and globulin content (P<0.05). The albumin content was only affected by the binder (P<0.05). According to the results AFB1 reduced HSI (P<0.05). Blood vessels dilation, cytoplasmic degeneration, blood congestion and hepatic immune cells infiltration were observed in fish fed aflatoxin-contaminated diets which were severe in 50 ppb AFB1-recieved groups. In conclusion, The AFB1 resulted in liver tissue damage and despite improving the immune indices; binder did not show remarkable hepato-protective effects.

Key words: Aflatoxin B1, Bentonite, Prebiotic, Rainbow trout

## مقدمه

تشکیل مایکوتوکسین‌ها در مواد غذایی مشکل جهانی است، به طوری که سالیانه یک چهارم محصولات تولید شده تحت تأثیر سموم قارچی قرار می‌گیرند. این ترکیبات از یک‌سو زیان‌های اقتصادی قابل توجهی را به بار آورده و از سوی دیگر تهدیدی برای سلامتی محصولات دامی و نهایتا انسان تلقی می‌شوند (۱۶). بر اساس پژوهش‌های انجام شده آسپرژیلوس (یکی از جنس‌های قارچی مولد آفلاتوکسین) با ۵۷ درصد فراوانی از بیشترین میزان شیوع در جیره‌های غذایی برخوردار است (۲). از میان آفلاتوکسین‌های شناسایی شده، آفلاتوکسین ب۱ (AFB۱) سمی‌ترین، فراوان‌ترین و قوی‌ترین ترکیب سرطانزای طبیعی تحت نظارت سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) محسوب می‌شود (۲۳).

آفلاتوکسین‌ها می‌توانند موجب اختلال در چرخه تولید انرژی (سوخت وساز کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها) گردند و یا در تداخل با اسیدهای نوکلئیک، موجب کاهش تولید پروتئین در سلول‌ها و سرانجام کاهش سرعت رشد و بازدهی حیوان شوند. از سوی دیگر سرکوب سیستم ایمنی (خونی و سلولی)، تغییر فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی سرم، نکروز حاد، سیروز و تومورهای کبدی و در نهایت مرگ جانوران از جمله گونه‌های مختلف ماهیان شامل ماهی روهو (*Labeo rohita*)، گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) و قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ناشی از مصرف جیره‌های غذایی آلوده به آفلاتوکسین گزارش شده است (۱۵، ۱۶، ۱۹، ۲۳). شناسایی نقش این ترکیبات در بروز بیماری در غیاب سایر عوامل مربوط به وقوع بیماری، امر مشکلی است. با این حال عملکرد کمتر از حد مطلوب در صورت عدم وجود عفونت‌های مشخص، عامل محیطی یا کمبود تغذیه‌ای، حاکی از احتمال بروز مسمومیت‌های قارچی است. در مورد آبزیان خطر بروز بیماری، در اثر مصرف پودر ماهی آلوده به آفلاتوکسین و بویژه به دلیل افزایش استفاده از مواد غذایی با منشا گیاهی از جمله کنجاله پنبه دانه، بادام زمینی، ذرت، سویا و سبوس برنج برای فرمولاسیون خوراک آبزیان وجود دارد (۲۳).

در حال حاضر پیشگیری و خنثی نمودن این سموم در خوراک از مسائل مهم پیش روی صنعت تولید غذا است که از میان روش‌های مختلف مورد استفاده، افزودن ترکیباتی معروف به جاذب به جیره‌های غذایی را می‌توان نام برد (۱۶). استفاده از فیلوسیلیکات‌هایی (Phyllosilicates) نظیر آلومینوسیلیکات‌های آبدار سدیم کلسیم Hydrated sodium calcium aluminosilicates (HSCAS)، خاک رس، بنتونیت، زئولیت و کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم پیچیده (سلولز، پلی ساکارید دیواره سلولی مخمر و پپتیدوگلیکان) جهت کاهش آثار سمی آن‌ها و همچنین کاهش احتمال خطر انتقال این متابولیت‌ها به مصرف‌کننده نهایی (انسان) مورد پژوهش قرار گرفته است (۲،۲۱). آلومینوسیلیکات‌ها حاوی یون‌های قلیایی و قلیایی خاکی قابل تعویض هستند. این مواد با دارا بودن سطوح تماس واجد بار الکتریکی با بخش بتا-کربونیل ساختار آفلاتوکسین موجب تشکیل کمپلکس شده و سرانجام موجب کاهش جذب روده‌ای این ترکیبات و در نتیجه افزایش دفع آن‌ها از طریق مدفوع می‌شوند (۱۶). همچنین مخمر آبجو عامل رشد و تحریک کننده‌ی سیستم ایمنی بوده و از قابلیت مناسبی برای کاهش آثار سمی آفلاتوکسین برخوردار است (۲). امروزه مواد آلی که پایه مخمری دارند (نظیر گلوکومانان حاصل از دیواره سلولی مخمر) با نام‌های تجاری مختلف به بازار عرضه شده و توانسته‌اند اثرات قابل ملاحظه‌ای در جذب مایکوتوکسین‌ها و همچنین تحریک سیستم ایمنی میزبان برجای بگذارند (۲،۱۶). بخش β-D-گلوکان دیواره سلولی مخمر با ایجاد پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی موجب تشکیل کمپلکس گلوکان-مایکوتوکسین در دستگاه گوارش گردیده و از این طریق مانع جذب روده‌ای آن می‌شود (۱۶)

استفاده از سیلیکات آلومینیوم به عنوان جاذب در جیره غذایی آلوده به ۵۰۰ ppb آفلاتوکسین موجب بهبود رشد، درصد بقاء، میزان افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و ضریب کارایی پروتئین میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) شده است (۳). بررسی‌ها حاکی از قابلیت بالای جذب کنندگی AFB۱ توسط بنتونیت سدیم می‌باشد و استفاده از آن در جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین موجب کاهش بروز تومور کبدی در ماهی قزل آلای رنگین شده است (۲۸). علاوه بر این، استفاده از نوعی بنتونیت (Montmorillonite) در کاهش آثار سمی فلز سنگین سرب در جیره‌های آزمایشی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*)، نشانگر کارایی کانی‌های رسی در کاهش سمیت ترکیبات ناخواسته در جیره‌های غذای آبزیان است (۶). مطالعه الیس و همکاران (۲۰۰۰) نشان داده است که بنتونیت می‌تواند بطور مؤثری موجب افزایش دفع و در نتیجه کاهش جذب آفلاتوکسین موجود در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان گردد (۱۰). از سوی دیگر، چنین به نظر می‌رسد که افزودن ترکیبات تقویت کننده سیستم ایمنی مانند پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها می‌تواند در کاهش آثار منفی آفلاتوکسین جیره‌های غذایی بر سیستم ایمنی آبزیان مؤثر باشد (۱۴، ۱۸). دیواره سلولی مخمر یکی از متداولترین پری-بیوتیک‌های مورد استفاده در جیره‌غذایی آبزیان به شمار می‌رود که ترکیبات مؤثر آن بتاگلوکان و مانان اولیگوساکارید می‌باشند. اثر این ترکیبات در تقویت سیستم ایمنی انواع آبزیان گزارش شده است (۱۲). مانان، اولیگوساکارید موجود در دیواره سلولی مخمر، با اتصال به سلول‌های پوششی دیواره داخلی روده از تحریک غیر سودمند سیستم ایمنی حیوان کاسته و به این طریق موجب مصونیت حیوان در برابر بیماری‌ها می‌گردد. اینکه آیا این ترکیب بتواند از آثار سوء سم در موجودات مختلف از جمله آبزیان بکاهد، مشخص نیست. البته در کشورهایی نظیر ایالات متحده از این ترکیب به عنوان نوعی ماده ضد آفلاتوکسین یاد می‌شود (۱۵). در منابع علمی اطلاعاتی در زمینه استفاده همزمان بنتونیت به عنوان جاذب مایکوتوکسین‌ها و دیواره سلولی مخمر به عنوان پری‌بیوتیک محرک سیستم ایمنی و جاذب آفلاتوکسین جهت کاهش یا مدیریت آثار سوء حضور آفلاتوکسین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دست نیست. همچنین در ترکیب انواع جاذب‌های تجاری موجود در کشور (Mycosorb، Polysorb، Mycofix plus، Toxiban، Novasil، Myco-Ad، Formaycine Gold Px و Milbond TX)، کانی(های) رسی و دیواره سلولی مخمر به صورت همزمان

**جدول ۱- تیمارهای مختلف آزمایشی**

| تیمار | غذای مورد استفاده |
|---|---|
| ۱ | غذای تجاری (گروه شاهد) |
| ۲ | غذای تجاری ۲۵ ppb- سم آفلاتوکسین ب۱ |
| ۳ | غذای تجاری ۵۰ ppb- سم آفلاتوکسین ب۱ |
| ۴ | غذای تجاری - ۵ درصد جاذب* |
| ۵ | غذای تجاری - ۲۵ ppb سم آفلاتوکسین ب۱ - ۵ درصدجاذب |
| ۶ | غذای تجاری - ۵۰ ppb سم آفلاتوکسین ب۱ - ۵ درصدجاذب |

***(ترکیب بنتونیت و دیواره سلولی مخمر)**

در ترکیب این محصولات وجود ندارند (۱۶). بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی قابلیت استفاده همزمان بنتونیت و دیواره سلولی مخمر جهت کاهش سمیت سطوح مختلف آفلاتوکسین ب۱ موجود در جیره غذایی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با تاکید بر عملکرد سیستم ایمنی، شاخص‌های خونی، بیوشیمی سرم و بافت‌شناسی کبد طرح‌ریزی شد.

## مواد و روش‌ها

جیره غذایی تجاری (کارخانه فرادانه شهرکرد، FFT۲) با افزودن آب مقطر و ایجاد رطوبت ۲۰ درصد به عنوان محیط کشت اولیه قارچ *Aspergillus flavus* جهت تولید سم آفلاتوکسین ب۱ استفاده شد. مخلوط حاصل به مدت ده روز در شرایط استریل و در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سپس میزان آفلاتوکسین ب۱ ترکیب حاصل به روش Immune-affinity و به کمک HPLC FLD (Waters alliance) ۲۶۹۵ تعیین گردید (۲۷) و از آن به عنوان منبع آفلاتوکسین ب۱ جهت ساخت جیره‌های آزمایشی استفاده شد (۷). در این آزمایش ۴۱۴ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی ۱/۲۰±۹/۶۷ گرم بطور تصادفی در میان تیمارها توزیع شدند. این مطالعه شامل ۶ تیمار بود که بصورت آزمایش عاملی ۲×۳ و در قالب یک طرح کاملا تصادفی طی ۶۰ روز به اجرا در آمد (جدول ۱). همچنین با توجه به تیمارهای غذایی مورد نظر، مقادیر مختلف آفلاتوکسین به همراه سطوح متفاوتی از جاذب سم (شامل ۷۰ درصد بنتونیت و ۳۰ درصد دیواره مخمر) به جیره غذایی تجاری پودر شده افزوده گردید و با اضافه کردن مقدار مناسبی آب مقطر خمیر یکنواختی تهیه شد. خمیر حاصل به کمک یک چرخ گوشت صنعتی به صورت رشته‌هایی با قطر ۲ میلی‌متر درآمده و پس از خشک کردن در معرض جریان هوا، در کیسه‌های پلاستیکی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند. غذادهی ماهیان تیمارهای مختلف روزانه در سه وعده غذایی صبح، ظهر و عصر و با توجه دمای آب و وزن ماهیان انجام شد.

جهت بررسی فراسنجه‌های خون شناسی، در انتهای آزمایش از هر تیمار تعداد ۶ ماهی (هر تکرار ۲ قطعه ماهی) به طور تصادفی انتخاب و عمل خونگیری با استفاده از سرنگ‌های آغشته به هپارین صورت گرفت. تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، درصد هماتوکریت (Hct)، غلظت هموگلوبین (Hb) و تعداد گلبول های سفید (WBC) تعیین گردید و همچنین به منظور سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی، بعد از خون‌گیری نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق منعقد و نمونه‌های سرم بعد از سانتریفیوژ در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در نهایت فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون شامل فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، پروتئین کل (TP)، آلبومین (ALB) و گلوبولین (GLB) طبق راهنمای شرکت سازنده کیت (پارس آزمون) سنجیده شدند. فعالیت لیزوزیم (Lys) نیز بر مبنای لیز باکتری گرم مثبت حساس به آنزیم لیزوزیم، (Sigma, M)، *Micrococcus lysodeikticus* ۳۷۷۰, St. Louis, USA اندازه‌گیری شد (۲۶).

شاخص کبدی به صورت درصدی از وزن بدن هر ماهی محاسبه شد. به منظور مطالعات بافت‌شناسی، از بافت کبد بچه ماهیان تیمارهای مختلف نمونه‌برداری صورت گرفت (۴). نمونه‌های فوق ابتدا در محلول بوئن تثبیت و بعد از آب‌گیری و قالب‌گیری بافت‌ها، برش‌های ۵ میکرونی از بافت کبد تهیه و به روش H&E رنگ‌آمیزی شد و آسیب‌ها با میکروسکوپ نوری (Olympus, Germany) مورد بررسی قرار گرفت.

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار آماری Minitab نسخه ۱۶ استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه صورت پذیرفت. نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب با استفاده از آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف و بارتلت بررسی شد. در صورت لزوم برای همگن نمودن واریانس گروه‌های آزمایشی از تبدیل باکس-کاکس استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار بودن اختلاف‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و نتایج به صورت میانگین (اشتباه معیار) گزارش گردیدند.

## نتایج

نتایج آنالیز واریانس مربوط به فراسنجه‌های مختلف سنجش شده

**جدول ۲- آنالیز واریانس اثر سطوح مختلف آفلاتوکسین و جاذب جیره غذایی بر فراسنجه های مختلف ماهیان**

| عامل | HSI | ALP | AST | ALT | TP | ALB | GLB | Lys |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | P-value | P-value | P-value | P-value | P-value | P-value | P-value | P-value |
| جاذب | ۰/۹۳۹ | ۰/۰۳۷ | ۰/۰۱۳ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۴۲ | ۰/۰۱۷ | ۰/۰۰۰ |
| آفلاتوکسین | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۵۶ | ۰/۲۰۳ | ۰/۰۰۰ | ۰/۶۱۵ | ۰/۰۰۰ | ۰/۱۷۲ |
| جاذب- آفلاتوکسین | ۰/۶۰۵ | ۰/۰۰۰ | ۰/۶۰۴ | ۰/۳۰۰ | ۰/۰۰۰ | ۰/۱۷۲ | ۰/۰۰۰ | ۰/۰۳۷ |

HSI: **شاخص کبدی (درصد)**، ALP: **آلکالین فسفاتاز** (U/l)، AST: **آسپارتات آمینو ترانسفراز** (U/l)، ALT: **آلانین آمینو ترانسفراز** (U/l)، TP: **پروتئین کل** (g/l)، ALB: **آلبومین** (g/l)، GLB: **گلوبولین** (g/l)، Lys: **لیزوزیم** (µg/ml).

در تیمارهای آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج آنالیز واریانس مربوط به تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول‌های سفید خون به دلیل عدم وجود اختلاف معنی دار میان تیمارهای مختلف، ارائه نشده است (P>۰/۰۵).

فعالیت ALP سرم تحت تأثیر اثر متقابل جاذب-آفلاتوکسین قرار گرفت، در حالیکه فعالیت AST و ALT تنها تحت تأثیر جاذب موجود در جیره‌های آزمایشی بود (جدول ۲). بیشترین و کمترین میزان فعالیت ALP به ترتیب در تیمار حاوی ۵ درصد جاذب- ۲۵ ppb سم آفلاتوکسین ب۱ و تیمار فاقد جاذب و سم آفلاتوکسین ب۱ (گروه شاهد) مشاهده شد (P≤۰/۰۵، جدول ۳). در حالی‌که با افزودن جاذب به جیره غذایی، فعالیت AST و ALT بطور معنی‌داری کاهش یافت (P≤۰/۰۵ جدول ۴).

اثر جاذب و آفلاتوکسین و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر میزان پروتئین کل و گلوبولین معنی‌دار بود، در حالیکه آلبومین تنها تحت تأثیر جاذب قرار داشت (جدول ۲، P≤۰/۰۵). بیشترین و کمترین میزان پروتئین کل و گلوبولین سرم به ترتیب مربوط به تیمارهای حاوی صفر ppb سم آفلاتوکسین ب۱ و ۵ درصد جاذب و تیمار حاوی ۵۰ ppb سم آفلاتوکسین ب۱ و ۵ درصد جاذب بود (P≤۰/۰۵، جدول ۵). بیشترین و کمترین میزان آلبومین نیز به ترتیب در تیمار های حاوی و فاقد جاذب (به ترتیب ۹/۵۸±۰/۸ و ۸/۰۲±۰/۹) مشاهده شد (P≤۰/۰۵).

اثر متقابل جاذب-آفلاتوکسین بر میزان فعالیت لیزوزیم سرم ماهیان تیمارهای مختلف معنی‌دار بود (جدول ۲، P≤۰/۰۵)، به نحوی که بیشترین و کمترین میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون به ترتیب مربوط به تیمار فاقد آفلاتوکسین و دارای ۵ درصد جاذب و تیمار ۵۰ ppb سم آفلاتوکسین ب۱ و ۰ درصد جاذب بود (جدول ۵).

تنها اثر سطوح مختلف آفلاتوکسین جیره غذایی بر شاخص کبدی معنی دار بود (جدول ۲، P≤۰/۰۵)؛ به طوری که بیشترین و کمترین میزان شاخص کبدی به ترتیب در تیمار فاقد سم آفلاتوکسین ب۱ و تیمار حاوی ۵۰ ppb سم آفلاتوکسین ب۱ مشاهده شد (جدول ۶). اتساع خفیف عروق، تخریب سیتوپلاسم، تجمع خون، نفوذ سلول‌های ایمنی در گروه تغذیه شده با جیره‌غذایی حاوی ۲۵ ppb آفلاتوکسین قابل مشاهده بود. همچنین شدت این ضایعات بافتی در گروه تغذیه شده با جیره‌غذایی حاوی ۵۰ppb سم آفلاتوکسین بیشتر بود. استفاده از جاذب اثر مثبتی روی بافت کبد ماهیان دریافت کننده آفلاتوکسین نداشت (جدول ۷ و شکل ۱).

## بحث

کاهش شاخص کبدی از علائم بالینی مسمومیت مزمن با آفلاتوکسین

**جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف آفلاتوکسین و جاذب جیره غذایی بر میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز سرم ماهیان**

| تیمار ( جاذب – آفلاتوکسین) | فعالیت آلکالین فسفاتاز (U/l) |
|---|---|
| ۰-۰ | ۵۹۶/۲ c *(۱۲۸/۵) |
| ۲۵-۰ | ۱۴۴۷/۸ ab(۱۹۲/۷) |
| ۵۰-۰ | ۱۴۴۴/۲ ab (۲۰۲/۸) |
| ۰-۵ | ۱۶۷۱/۴ a (۱۴۰/۲) |
| ۲۵-۵ | ۱۸۵۷/۳ a (۱۳۴/۸) |
| ۵۰-۵ | ۸۵۳/۵ bc (۸۳/۱) |

***حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد (P<۰/۵۰)**

**جدول ۴- تأثیر جاذب جیره غذایی بر میزان فعالیت آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز خون ماهیان**

| تیمار | فعالیت آسپارتات آمینو ترانسفراز (U/l) | فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز (U/l) |
|---|---|---|
| ۵ درصد جاذب | ۶۱/۴ a*(۷/۱) | ۴۰/۲ a(۶/۰۳) |
| ۰ درصد جاذب | ۳۱/۲ b(۵/۲) | ۱۴/۷ b(۲/۸) |

***حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد (P<۰/۵۰)**

ب۱ به شـــمار می‌رود. این شاخص، وضعیت ســـلامتی حیوان و همچنین میزان ذخایر انرژی آن را نشان می‌دهد و ماهی در شرایط نامناسب محیطی معمـــولا از کبد کوچکتری (با انرژی ذخیره شـــده کمتر در کبد) برخوردار اســـت (۸). در تحقیق حاضر بیشترین میزان شاخص کبدی در تیمار فاقد آفلاتوکســـین و کمترین آن در تیمار حاوی ۵۰ppb مشاهده شد. این نکته توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. سپهداری و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه ایی اثر ســـطوح مختلف سم آفلاتوکسین ب۱ را روی رشد و بقا و تغییرات شـــاخص کبدی فیل ماهی بررســـی نمودند و بیشـــترین میزان شـــاخص کبدی را در تیمار فاقد سم آفلاتوکسین ب۱ گزارش کردند (۲۵). در مطالعه زیکووســـکی و همکاران (۲۰۱۳b) نیز کمترین میزان شـــاخص کبدی در تیلاپیای نیل تغذیه شـــده با خوراک آلوده به آفلاتوکســـین ب۱، مشاهده شد (۳۰)، که با نتایج تحقیق حاضر هم سو می باشد. در بافت کبد گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاویppb ۲۵ سم آفلاتوکسین ب۱ اتساع خفیف عروق خونی، تخریب سیتوپلاســـم، تجمع خون و نفوذ ســـلول‌های ایمنی قابل مشـــاهده بود و میزان این تغییرات بافتی در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین، به طور قابل توجهی افزایش یافت. در مطالعات قبلی نیز نتایج مشـــابهی مشـــاهده شده است. به عنوان مثال نکروز شدید در کبد، بافتهای خونســـاز و پانکراس، افزایش سلولهای التهابی و ادم در سلولهای کبدی گربه ماهیان مواجه شده با مایکوتوکسین گزارش شده اســـت (۲۳). ماگنولی و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر آفلاتوکسین ب۱ را به همراه مونسین و بنتونیت بر بافت کبد جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که در تیمارهای حاوی آفلاتوکسین ب۱ آســـیب بافتی به صورت واکوئله شـــدن چربی، تخریب سیتوپلاسم و اتساع عروق قابل مشاهده بود (۱۷)، که با تحقیق حاضر هم خوانی دارد. با این حال، در تحقیق مذکور جاذب بنتونیت ســـبب کاهش آسیب‌های بافت کبد شـــده بود، اما در مطالعه حاضر بنتونیت نتوانست در کاهش آثار سمی آفلاتوکســـین مؤثر واقع گردد، چرا که تغییـــرات بافتی و همچنین کاهش HSI ماهیان تغذیه شـــده با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین (در حضور یا عدم حضور جاذب) نشان دهنده تخریب بافت کبد ماهیان است (۳۰). البته خاطر نشـــان می شـــود که ماهی قزل آلا در زمره گونه‌های بسیار حساس به ســـم آفلاتوکسین شناخته شده و ممکن است مقادیر اندکی از سم مورد نظر توســـط جاذب (به ویژه بنتونیت) قابل جذب و دفع نباشد و در نتیجه

**جدول ۵- تأثیر سطوح مختلف آفلاتوکسین و جاذب جیره غذایی بر میزان پروتئین کل، گلوبولین و فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهیان**

| تیمار (جاذب-آفلاتوکسین) | میزان پروتئین کل (g/l) | میزان گلوبولین (g/l) | فعالیت لیزوزیم (µg/ml) |
|---|---|---|---|
| ۰-۰ | ۳۰/۷ c* (۱/۵۹) | ۲۲/۱۳ cd(۱/۷۲) | ۵/۰۷ bc(۱/۳۰) |
| ۲۵-۰ | ۴۳/۸ bc (۷/۳۷) | ۳۴/۹۷ bc(۶/۵۰) | ۱۳/۱۹ abc(۲/۲۰) |
| ۵۰-۰ | ۲۹/۱۲ c (۱/۳۸) | ۲۲/۴۵ cd(۱/۴۳) | ۱/۸۶ c(۰/۳۰) |
| ۰ -۵ | ۷۰/۳۲ a(۲/۴۵) | ۶۰/۴۳ a(۲/۳۴) | ۲۱/۹۲ a(۴/۰۲) |
| ۲۵-۵ | ۵۸/۰۸ ab (۷/۷۰) | ۴۹/۲۵ ab(۷/۱۴) | ۱۶/۹۲ ab(۰/۴۰) |
| ۵۰-۵ | ۲۳/۹۰ c(۵/۳۲) | ۱۳/۸۵ d(۵/۰۹) | ۱۸/۳۰ a(۲/۵) |

***حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد (P<۰/۵۰)**

**جدول ۶- تأثیر سطوح مختلف آفلاتوکسین جیره غذایی بر شاخص کبدی ماهیان**

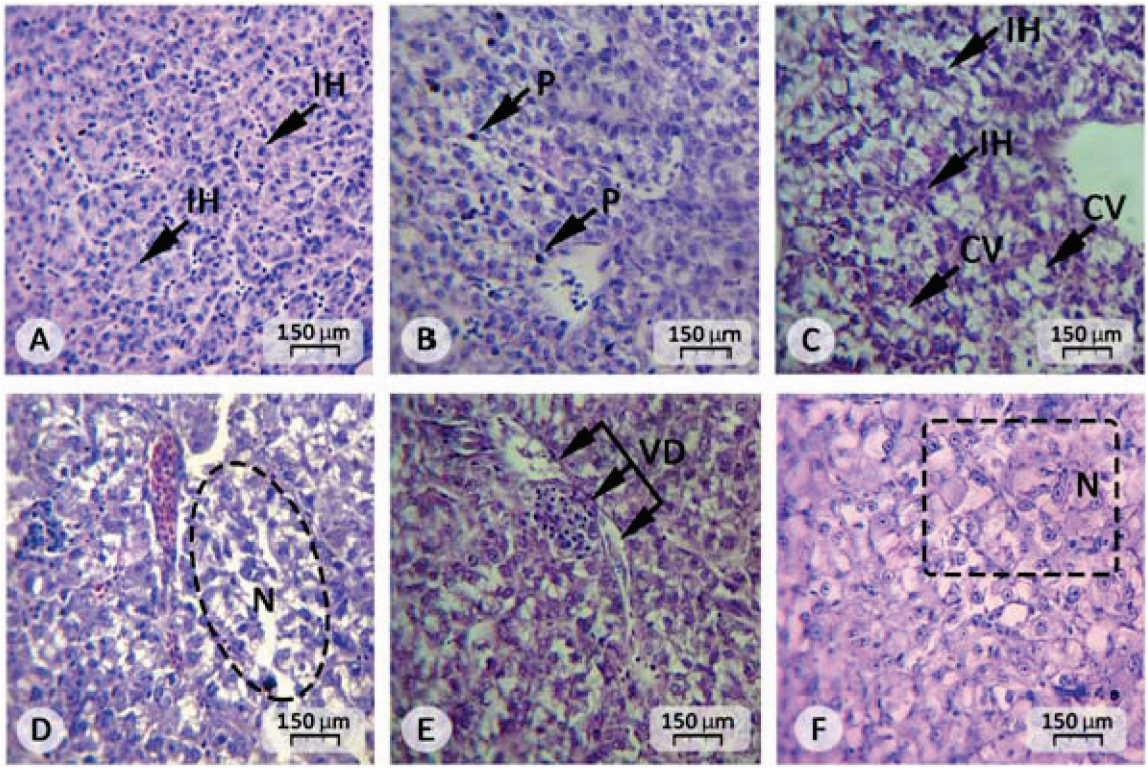
| تیمار | شاخص کبدی (درصد) |
|---|---|
| فاقد آفلاتوکسین | ۱/۵۶* a (۰/۰۷) |
| ۲۵ ppb آفلاتوکسین | ۱/۳۸ b(۰/۰۵) |
| ۵۰ ppb آفلاتوکسین | ۱/۴۱ b(۰/۰۶) |

***حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد (P<۰/۵۰)**

جدول ۷- تأثیر سطوح مختلف آفلاتوکسین و جاذب جیره غذایی بر بافت ماهیان

| تیمار (جاذب – آفلاتوکسین) | تخریب سیتوپلاسم | اتساع عروق | تجمع خون | نفوذ سلولهای ایمنی | نکروز |
|---|---|---|---|---|---|
| ۰-۰ | - | - | - | - | - |
| ۰-۲۵ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ |
| ۰-۵۰ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | ++++ |
| ۵-۰ | + | ++ | ++ | + | - |
| ۵-۲۵ | ++ | +++ | ++++ | +++ | +++ |
| ۵-۵۰ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

+ خفیف، ++ خفیف تا متوسط، +++ متوسط، ++++ شدید




شکل ۱- برش عرضی بافت کبد ماهیان تیمارهای مختلف. A: گروه کنترل، B: گروه حاوی ۵٪ جاذب، C: گروه حاوی ۲۵ ppb آفلاتوکسین، D: گروه حاوی ۵۰ ppb آفلاتوکسین، E: گروه حاوی ۲۵ ppb آفلاتوکسین و ۵٪ جاذب، F: گروه حاوی ۵۰ ppb آفلاتوکسین و ۵٪ جاذب. IH: سلول‌های کبدی سالم ، P: پیکنوز، N: نکروز، VD: اتساع عروق، CV: تخریب سیتوپلاسم (بزرگنمایی H&E, 400 ×).

از مسیر جذب روده‌ای وارد جریان خون ماهیان شده و طی مدت دو ماه تغذیه موجب تغییرات گزارش شده در مطالعه حاضر گردد، که خود نیازمند بررسی‌های بیشتری در پژوهش‌های آتی است. بطور مثال الیس و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که یک هفته پس از تغذیه قزل آلای رنگین کمان با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین (۲۰ ppb) حاوی بنتونیت، بقایای این سم در بافت های مختلف از جمله کبد و کل لاشه قابل مشاهده بوده است (۱۰).

آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) به عنوان نشانگرهایی جهت بررسی آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴). طبق نتایج به دست آمده سم آفلاتوکسین اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های AST و ALT سرم نداشت، در حالی که میزان فعالیت ALP سرم تحت تأثیر سم آفلاتوکسین به طور معنی‌داری افزایش یافت. با این وجود، هان و همکاران (۲۰۱۰)، تأثیر سم آفلاتوکسین ب۱ را بر فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز ماهی *Carassius auratus gibelio* بررسی و افزایش فعالیت این آنزیم را گزارش نمودند (۱۳). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند ناشی از آسیب‌های وارد شده به بافت‌های مختلف از جمله بافت کبد باشد، چرا که سم آفلاتوکسین موجب تخریب بافت کبد می‌گردد. ALP آنزیم موجود در سلول‌های پوششی مجاری صفراوی می‌باشد و با تورم و انسداد مجاری صفراوی سطح سرمی آن افزایش می‌یابد. همچنین در تیمارهای حاوی جاذب، کاهش میزان آنزیم‌های AST و ALT و افزایش آنزیم ALP مشاهده شد که می‌تواند نشان از تغییر نفوذپذیری غشا سلول‌های کبدی باشد (۷). نقش مثبت جاذب HSCAS در کاهش اثرات مخرب زیرالنون در موش (۱) و سایر حیوانات گزارش شده است، با این حال، سلیم و همکاران (۲۰۱۴)، تأثیر سه جاذب آفلاتوکسین شامل دیواره مخمر، HSCAS و گلوکومانان را به همراه ۲۰۰ ppb آفلاتوکسین ب۱، بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون بچه ماهیان تیلاپیای نیل مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها حاکی از افزایش فعالیت ALT، AST، ALP و گاما گلوتامیل ترانسفراز در گروه ۲۰۰ ppb آفلاتوکسین ب۱ بود، در حالیکه جاذب های آفلاتوکسین تأثیر معنی‌داری روی فعالیت آنزیم‌های خونی نداشتند (۲۴). اثر آفلاتوکسین در پارامترهای خون‌شناسی متغیر است و نتایج متفاوتی در حیوانات مختلف گزارش شده است (۵، ۲۵). فرناندز و همکاران (۲۰۰۹) طی بررسی تأثیر غذای آلوده به آفلاتوکسین ب۱ در بره‌های ماده، تفاوت معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید خون، گلبول های قرمز و هماتوکریت مشاهده نکردند (۱۱) که با نتایج تحقیق حاضر هم خوانی دارد.

افزایش مقادیر پروتئین، آلبومین و گلوبولین سرم با بهبود پاسخ ایمنی ذاتی در ماهیان مرتبط است و اندازه‌گیری آنها با وضعیت کلی تغذیه و یکپارچگی عملکرد سیستم خونی و کبدی در ارتباط است (۲۰، ۲۲). در تحقیق حاضر، وجود سم آفلاتوکسین در جیره غذایی باعث کاهش میزان پروتئین کل و گلوبولین گردید، در حالی که با افزودن جاذب به جیره غذایی سطوح پروتئین کل، گلوبولین و آلبومین افزایش یافت. کاهش میزان فعالیت سیستم ایمنی ممکن است به علت مهار سنتز DNA و پروتئین به وسیله سم آفلاتوکسین باشد، چرا که آفلاتوکسین با جلوگیری از انتقال اسید آمینه و ترجمه m-RNR می‌تواند منجر به کاهش تولیدات پادتن گردد، ولی جاذب‌ها می‌توانند شاخص‌های یاد شده را بهبود بخشیده و اثرات آسیب‌رسان آفلاتوکسین را در عملکرد شاخص‌های ایمنی کاهش دهد (۲۳). علاوه بر این وجود غلظت بالای آفلاتوکسین موجب کاهش فعالیت لیزوزیم سرم گردید، اما با افزودن جاذب سطح فعالیت لیزوزیم سرم بهبود یافت. نکته دیگر آنکه سطوح پایین سم آفلاتوکسین (۲۵ ppb در این مطالعه) از توانایی تحریک سیستم ایمنی برخوردار است. مطالعه زیکووسکی و همکاران (۲۰۱۳a,b) در ماهی *Sciaenops ocellatus* و *Oreochromis niloticus* نشان داد که پاسخ سیستم ایمنی به سطوح مختلف سم آفلاتوکسین ب۱ از حالت وابسته به غلظت خطی تبعیت نمی‌کند و بسته به گونه مورد مطالعه، برخی غلظت‌های سم (به ترتیب ۰/۱ و ۳ppm)، سطح فعالیت لیزوزیم و یا تریپسین سرم را نسبت به گروه شاهد افزایش می‌دهد (۲۹ و ۳۰). در مطالعه ال-بوشی و همکاران (۲۰۰۸) مشخص گردید که سم آفلاتوکسین ب۱ از میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهی نیل تیلاپیا کاست و استفاده از ۱-۳-بتاگلوکان منجر به افزایش میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون گردید (۹). چنین اثر تحریک کننده‌ی استفاده از جاذب حاضر که حاوی ترکیبات دیواره سلولی مخمر است، در تمامی گروه‌ها، بویژه در گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۵۰ ppb آفلاتوکسین و گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰ ppb آفلاتوکسین و ۵ درصد جاذب بخوبی قابل مشاهده است (افزایش ده برابری فعالیت لیزوزیم در گروه اخیر). این یافته نشان می‌دهد که استفاده از جاذب یاد شده قادر به خنثی سازی اثر سرکوب کنندگی آفلاتوکسین بر سیستم ایمنی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان می‌باشد. عقیده بر این است که آلودگی جیره غذایی حتی با مقادیر اندک آفلاتوکسین می‌تواند عامل مؤثری در افزایش قابل توجه حساسیت آبزی به عوامل بیماری‌زای عفونی باشد (۲۳).

دلایل متعددی نظیر غلظت جاذب مورد استفاده، شرایط آزمایش، گونه ماهی، مدت زمان مواجهه و همچنین مقدار سم موجود در جیره غذایی به همراه ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی مورد استفاده می‌تواند در ارتباط با عدم همسویی و همخوانی نتایج مطالعات مختلف بیان گردد (۱۶، ۲۲). علاوه بر این ممکن است شاخص‌های مختلف فیزیولوژیکی رفتارهای متفاوتی در برابر یک آلاینده معین از خود نشان دهند. هنوز اطلاعاتی در ارتباط با میزان اثر گذاری این عوامل و این‌که از چه ساز و کاری پیروی می‌کنند و یا در چه سطح و تلفیقی این اثرات قابل مشاهده است، گزارش نشده است. به طور قطع ، پرداختن به تک تک این عوامل و بررسی قطعیت اثرگذاری هر کدام از آن‌ها نیازمند مطالعات مداوم و بهم پیوسته‌ای است که درک آن می‌تواند موجب توانمند ساختن صنعت تولید غذای آبزیان گردد. البته مطالعه حاضر در پی بررسی قابلیت جاذب یاد شده در شرایطی نزدیک به شرایط موجود در صنعت تولید غذای آبزیان کشور بوده است.

## نتیجه‌گیری

به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده از این آزمایش می‌توان چنین بیان نمود که اگر چه استفاده از جاذب ترکیبی شامل بنتونیت و دیواره سلولی مخمر باعث بهبود شاخص‌های ایمنی شد، ولی تأثیری در بهبود آسیب‌های کبدی نداشت. البته باید توجه داشت که ماهی قزل آلا در زمره گونه‌های بسیار حساس به سم آفلاتوکسین قرار دارد و ممکن است مقادیر اندکی از سم مورد نظر توسط جاذب (بویژه بنتونیت) قابل جذب و دفع نباشد و در نتیجه از مسیر جذب روده‌ای وارد جریان خون ماهیان شده

و طـــی مدت دو ماه تغذیه موجب تغییرات گزارش شـــده در مطالعه حاضر گردد، که خود نیازمند بررسی‌های بیشتری در پژوهش‌های آتی است.

## تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان می باشـــد که با حمایت های مالی و معنوی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه صورت پذیرفته است.

## منابع مورد استفاده

1- Abbès, S., Z. Ouanes, J. ben Salah-Abbès, Z. Houas, R. Oueslati, H. Bacha and O. Othman. 2006. The protective effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate against haematological, biochemical and pathological changes induced by Zearalenone in mice. *Toxicon* 47(5): 567-574.

2- Alinezhad, S., A. Kamalzadeh, A.A. Motalebi, M. Nazeri, M. Razzaghi-Abyaneh, M. Shams-Ghahfarokhi, M. Tolouee, R. Tolouei and M. Yasemi. 2011. Mycobiota and aflatoxin B1 contamination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed with emphasis to Aspergillus section Flavi. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 10: 363-374.

3- Arunlertaree, C., L. Soonngam and R. Hutacharoen. 2007. Vermiculite and hydrated sodium calcium aluminosilicates as the agent of Aflatoxin B1 absorption for black tiger shrimp diets. *Environment and Natural Resources Journal* 5(1): 50-58.

4- Bhattacharya, H., Q. Xiao and L. Lun. 2008. Toxicity studies of nonylphenol on rosy barb (*Puntius conchonious*): A biochemical and histopathological evaluation. *Tissue and Cell* 40: 243-249.

5- Chowdhury, S.R., T.K. Smith, H.J. Boermans and B. Woodward. 2005. Effects of feed-borne Fusarium mycotoxins on hematology and immunology of turkeys. *Poultry Science* 84: 1698–1706.

6- Dai, W., H. Du, L. Fu, H. Liu and Z. Xu. 2010. Effect of montmorillonite on dietary lead (Pb) accumulation in tissues of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Applied Clay Science* 47(3): 193-195.

7- Deng, S.X., L.X. Tian, F.J. Liu, S.J. Jin, G.Y. Liang, H.J. Yang, Z.Y. Du and Y.J. Liu. 2010. Toxic effects and residue of aflatoxin B1 in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) during long-term dietary exposure. *Aquaculture* 307(3): 233-240.

8- Dong, G., S. Xie and X. Zhu. 2012. Responses of yellow catfish (*Peletobagrus fulvidraco* Richardson) exposed to dietary cyanobacteria and subsequent recovery. *Toxicon* 60: 1298-1306.

9- El-Boshy, M.E., A.M.M. El-Ashram and N.A.A. El-Ghany. 2008. Effect of dietary beta-1, 3 glucan on immunomodulation on diseased *Oreochromis niloticus* experimentally infected with aflatoxin B1. In: Proceedings of 8th international symposium on tilapia in aquaculture. Cairo, Egypt. pp.1109-1127.

10- Ellis, R.W., M. Clements, A. Tibbetts and R. Winfree. 2000. Reduction of the bioavailability of 20 µg/kg aflatoxin in trout feed containing clay. *Aquaculture* 183(1): 179-188.

11- Fernaindez, A., M. Hernaindez, M.T. Verde and M. Sanz. 2009. Effect of aflatoxin on performance, hematology, and clinical immunology in lambs. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 64: 53-58.

12- Guzman-Villanueva, L.T., F. Ascencio-Valle, M.E. Macis-Rodriguez and D. Tovar-Ramirez. 2014. Effects of dietary β-1,3/1,6-glucan on the antioxidant and digestive enzyme activities of Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) after exposure to lipopolysaccharides. *Fish physiology and biochemistry* 40(3): 827-837.

13- Han, D., S. Xie, X. Zhu, Y. Yang and Z. Guo. 2010. Growth and hepatopancreas performances of gibel carp fed diets containig low levels of aflatoxin B1. *Aquaculture Nutrition* 16: 335-342.

14- Kabak, B., E.F. Brandon, I. Var, M. Blokland and A.J. Sips. 2009. Effects of probiotic bacteria on the bioaccessibility of aflatoxin B1 and ochratoxin A using an in vitro digestion model under fed conditions. Journal of Environmental Science and Health, Part B 44(5): 472-480.

15- Kalantar Nistanaki, M. 2011. Medicinal Plant and Plant Products. Marz-e-Danesh Publication, Tehran.

16- Kalantar Nistanaki, M. and J. Salari, 2012. Mycotoxins in Livestock and Poultry Feed stuffs. Marz-e-Danesh Publication, Tehran.

17- Magnoli, A.P., M.P. Monge, R.D. Miazzo, L.R. Cavaglieri, C.E. Magnoli, C.I. Merkis, A.L. Cristofolini, A.M. Dalcero and S.M. Chiacchiera. 2011. Effect of low levels of aflatoxin B1 on performance, biochemical parameters and aflatoxin B1 in broiler liver tissues in the presence of monensin and sodium bentonite. *Poultry Scince* 90: 48-58.

18- McCormick, S.P. 2013. Microbial detoxification of mycotoxins. *Journal of chemical ecology* 39(7): 907-918.

19- Mohapatra, S., N.P. Sahu, A.K. Pal, A.K. Prusty, V. Kumar and S. Kumar. 2011. Haemato-immunology and histo-architectural changes in *Labeo rohita* fingerlings: Effect of dietary aflatoxin and mould inhibitor. *Fish physiology and biochemistry* 37: 177-186.

20- Oguz, H., T. Kececi, Y.O. Birdane, F.O. Onder, and V. Kurtoglu. 2000. Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Research in Veterinary Science* 69(1): 89–93.

21- Papaioannou, D., P.D. Katsoulos, N. Panousis and H. Karatzias. 2005. The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: a review. *Microporous and Mesoporous Materials* 84(1): 161-170.

22- Pirmohamed, M. and B.K. Park. 1996. Mechanisms of hyper-

transaminemia. In: Drug-Induced Hepatotoxicity. Springer Berlin Heidelberg, Berlin.

23- Santacroce, M.P. and C. Zizzadoro. 2008. Aflatoxins in aquatic species: metabolism, toxicity and perspectives. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 18: 99–130.

24- Selim, K.M., H. El-hofy and R.H. Khalil. 2014. The efficacy of three mycotoxin adsorbents to alleviate aflatoxin B1-induced toxicity in Oreochromis niloticus. *Aquaculture International* 22(2): 523-540.

25- Sepahdari, A., H.A. Ebrahimzade Mosavi, I. Sharifpour, A. Khosravi, A.A. Motallebi, M. Mohseni, S. Kakoolaki, H.R. Pourali and A. Hallajian. 2010. Effects of different dietary levels of AFB1 on survival rate and growth factors of Beluga (*Huso huso*). *Iranian Journal of Fisheries sciences* 9(1): 141-150.

26- Siwicki, A.K., D.P. Anderson and G.L. Rumsey. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 41: 125-139.

27- Stroka, J., E. Anklam, U. Joerissen and J. Gilbert. 2001. Determination of aflatoxin B1 in baby food (infant formula) by immunoaffinity column cleanup liquid chromatography with postcolumn bromination: collaborative study. *Journal of AOAC International* 84(4): 1116-1123.

28- Winfree, R.A. and A. Allred. 1992. Bentonite reduces measurable aflatoxin B1 in fish feed. *The Progressive Fish-culturist* 54(3): 157-162.

29- Zychowski, K.E., A.R. Hoffmann, H.J. Ly, C. Pohlenz, A. Buentello, A. Romoser, D.M. Gatlin and T.D. Phillips. 2013a. The effect of aflatoxin-B1 on red drum *(Sciaenops ocellatus)* and assessment of dietary supplementation of Novasil for the prevention of aflatoxicosis. *Toxins* 5(9): 1555-1573.

30- Zychowski, K.E., C. Pohlenz, T. Mays, A. Romoser, M. Hume, A. Buentello, D.M. Gatlin and T.D. Phillips. 2013b. The effect of NovaSil dietary supplementation on the growth and health performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed aflatoxin-B1 contaminated feed. *Aquaculture* 376: 117–123.