

کار آبی جاذب ترکیبی مکمل شده با جیره غذایی در کاهش سمیت آفلاتوکسین ب ۱ و بهبود ایمنی ماهی قزل آلا (Oncorhynchus mykiss) رنگین کمان

• 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: ۱۳۹۵-۰۱-۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۳-۲۳

Email: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir



چکیده

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف سم آفلاتوکسین ب ۱ و کارایی نوعی جاذب ترکیبی بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم خون و بافت کبد ماهی قزل آلا رنگین کمان انجام پذیرفت. به این منظور تعداد ۴۱۴ قطعه بچه ماهی قزل آلا رنگین کمان ($9/67 \pm 1/20$ گرم) در قالب ۶ تیمار با جیره‌های حاوی ۳ سطح آفلاتوکسین (۲۵، 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 ($P > 0/05$). بیشترین و کمترین میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز به ترتیب در تیمار حاوی ۵ درصد جاذب - ۲۵ ppb سم آفلاتوکسین ب ۱ و تیمار فاقد آفلاتوکسین و جاذب مشاهده شد ($P \leq 0/05$), ولی فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینو ترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز سرم تحت تأثیر جاذب (۵ درصد) کاهش یافت ($P \leq 0/05$). همچنین اثر متقابل آفلاتوکسین و جاذب بر میزان شاخص‌های پروتئین کل و گلوبولین معنی دار بود، در حالیکه غلظت آلبومین سرم فقط تحت تأثیر جاذب قرار گرفت ($P \leq 0/05$). علاوه بر این با افزایش غلظت سم، شاخص کبدی کاهش یافت ($P \leq 0/05$). اتساع عروق خونی، تخریب سیتوپلاسم، تجمع خون، نفوذ سلول‌های ایمنی در کبد ماهیان تغذیه شده با آفلاتوکسین مشاهده شد که در تیمار ۵۰ ppb 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 آسیب‌شناختی اثر حفاظتی نداشت.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین ب ۱، بنتونیت، پری‌بیوتیک، قزل آلا رنگین کمان

- 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 ± 1.20 g) 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-reeived 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

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 آلاهی 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 آبزبان خطر بروز بیماری، در اثر مصرف پودر ماهی آلوده به آفلاتوکسین و بویژه به دلیل افزایش استفاده از مواد غذایی با منشأ گیاهی از جمله کنجاله پنبه دانه، بادام زمینی، ذرت، سویا و سبوس برنج برای فرمولاسیون خوراک آبزبان وجود دارد (۲۳).

مقدمه

تشکیل مایکوتوکسین‌ها در مواد غذایی مشکل جهانی است، به طوری که سالانه 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 نهایتاً انسان تلقی می‌شوند (۱۶). بر اساس پژوهش‌های انجام شده اسپرژیلوس (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 (AFB1) 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 و ساز کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها) گردند و یا در تداخل با اسیدهای نوکلئیک، موجب کاهش تولید پروتئین در سلول‌ها و سرانجام کاهش سرعت رشد

جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین موجب کاهش بروز تومور کبدی در ماهی قزل آلابی رنگین شده است (۲۸). علاوه بر این، استفاده از نوعی بنتونیت (Montmorillonite) در کاهش آثار سمی فلز سنگین سرب در جیره‌های آزمایشی ماهی تیلاپپای نیل (*Oreochromis niloticus*)، نشانگر کارایی کانی‌های رسی در کاهش سمیت ترکیبات ناخواسته در جیره‌های غذایی آبیان 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 قزل آلابی رنگین کمان 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 آبیان مؤثر باشد (۱۴، ۱۸). دیواره سلولی مخمر یکی از متداولترین پری-بیوتیک‌های مورد استفاده در جیره‌های آبیان به شمار می‌رود که ترکیبات مؤثر آن بتاگلوکان و مانان اولیگوساکارید می‌باشند. اثر این ترکیبات در تقویت سیستم ایمنی انواع آبیان 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 آبیان بکاهد، مشخص نیست. البته در کشورهای 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 قزل آلابی 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)، کانی‌های (رسی و دیواره سلولی مخمر به صورت همزمان

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 مصرف کننده 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 آجودان عامل رشد و تحریک کننده 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 AFB₁ توسط بنتونیت سدیم می‌باشد و استفاده از آن در

جدول ۱- تیمارهای مختلف آزمایشی

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

* (ترکیب بنتونیت و دیواره سلولی مخمر)

تیمار تعداد ۶ ماهی (هر تکرار ۲ قطعه ماهی) به طور تصادفی انتخاب و عمل خونگیری با استفاده از سرنگ‌های آغشته به هیپارین صورت گرفت. تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، درصد هماتوکریت (Hct)، غلظت هموگلوبین (Hb) و تعداد گلبول‌های 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 سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون شامل فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپاراتات 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، *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, M) 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

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 ب ۱ 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، FFTY) با افزودن آب مقطر و ایجاد رطوبت ۲۰ درصد به عنوان محیط کشت اولیه قارچ *Aspergillus flavus* جهت تولید سم آفلاتوکسین ب ۱ استفاده شد. مخلوط حاصل به مدت ده روز در شرایط استریل و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس میزان آفلاتوکسین ب ۱ ترکیب حاصل به روش Immune-affinity و به کمک HPLC FLD (Waters alliance) ۲۶۹۵ تعیین گردید (۲۷) و از آن به عنوان منبع آفلاتوکسین ب ۱ جهت ساخت جیره‌های آزمایشی استفاده شد (۷). در این آزمایش ۴۱۴ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی $9/67 \pm 1/20$ گرم بطور تصادفی در میان تیمارها توزیع شدند. این مطالعه شامل ۶ تیمار بود که بصورت آزمایش عاملی 3×2 و در قالب یک طرح کاملاً 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

جدول ۲- آنالیز واریانس اثر سطوح مختلف آفلاتوکسین و جاذب جیره غذایی بر فراسنجه‌های مختلف ماهیان

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

HSI: شاخص کبدی (درصد)، ALP: آلکالین فسفاتاز (U/l)، AST: آسپاراتات 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 ($\mu\text{g/ml}$).

میزان آلبومین نیز به ترتیب در تیمار های حاوی و فاقد جاذب (به ترتیب $9/58 \pm 0/8$ و $8/02 \pm 0/9$) مشاهده شد ($P \leq 0/05$).

اثر متقابل جاذب-آفلاتوکسین بر میزان فعالیت لیزوزیم سرم ماهیان تیمارهای مختلف معنی دار بود (جدول ۲، $P \leq 0/05$)، 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 ppm سم آفلاتوکسین ب ۱ و ۰ درصد جاذب بود (جدول ۵).

تنها اثر سطوح مختلف آفلاتوکسین جیره غذایی بر شاخص کبدی معنی دار بود (جدول ۲، $P \leq 0/05$)، به طوری که بیشترین و کمترین میزان شاخص کبدی به ترتیب در تیمار فاقد سم آفلاتوکسین ب ۱ و تیمار حاوی ۵۰ ppm سم آفلاتوکسین ب ۱ مشاهده شد (جدول ۶). اتساع خفیف عروق، تخریب سیتوپلاسم، تجمع خون، نفوذ سلول های ایمنی در گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲۵ ppm آفلاتوکسین قابل مشاهده بود. همچنین شدت این ضایعات بافتی در گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۵۰ ppm 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

در تیمارهای آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج آنالیز واریانس مربوط به تعداد گلبول های قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول های سفید خون به دلیل عدم وجود اختلاف معنی دار میان تیمارهای مختلف، ارائه نشده است ($P > 0/05$).

فعالیت ALP سرم تحت تأثیر اثر متقابل جاذب-آفلاتوکسین قرار گرفت، در حالیکه فعالیت AST و ALT تنها تحت تأثیر جاذب موجود در جیره های آزمایشی بود (جدول ۲). بیشترین و کمترین میزان فعالیت ALP به ترتیب در تیمار حاوی ۵ درصد جاذب - ۲۵ ppm سم آفلاتوکسین ب ۱ و تیمار فاقد جاذب و سم آفلاتوکسین ب ۱ (گروه شاهد) مشاهده شد ($P \leq 0/05$ ، جدول ۳). در حالی که با افزودن جاذب به جیره غذایی، فعالیت AST و ALT بطور معنی داری کاهش یافت ($P \leq 0/05$ ، جدول ۴).

اثر جاذب و آفلاتوکسین و همچنین اثر متقابل آن ها بر میزان پروتئین کل و گلوبولین معنی دار بود، در حالیکه آلبومین تنها تحت تأثیر جاذب قرار داشت (جدول ۲، $P \leq 0/05$). بیشترین و کمترین میزان پروتئین کل و گلوبولین سرم به ترتیب مربوط به تیمارهای حاوی صفر ppm سم آفلاتوکسین ب ۱ و ۵ درصد جاذب و تیمار حاوی ۵۰ ppm سم آفلاتوکسین ب ۱ و ۵ درصد جاذب بود ($P \leq 0/05$ ، جدول ۵). بیشترین و کمترین

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	$596/2^c * (128/5)$
۲۵-۰	$1447/8^{ab} (192/7)$
۵۰-۰	$1444/2^{ab} (202/8)$
۰-۵	$1671/4^a (140/2)$
۲۵-۵	$1857/3^a (134/8)$
۵۰-۵	$853/5^{bc} (83/1)$

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد ($P < 0/05$)

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

تیمار	فعالیت آسپارات آمینو ترانسفراز (U/l)	فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز (U/l)
۵ درصد جاذب	$61/4^a * (7/1)$	$40/2^a (6/03)$
۰ درصد جاذب	$31/2^b (5/2)$	$14/7^b (2/8)$

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد ($P < 0/05$)

یافت. در مطالعات قبلی نیز نتایج مشابهی مشاهده شده است. به عنوان مثال نکرور شدید در کبد، بافتهای خونساز و پانکراس، افزایش سلولهای التهابی و ادم در سلولهای کبدی گربه ماهیان مواجه شده با میکوتوکسین گزارش شده است (۲۳). ماگنولی و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر آفلاتوکسین ب ۱ را به همراه مونتسین و بنتونیت بر بافت کبد جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که در تیمارهای حاوی آفلاتوکسین ب ۱ آسیب بافتی به صورت واکوئله شدن 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 سبب کاهش آسیب‌های بافت کبد شده بود، اما در مطالعه حاضر بنتونیت نتوانست در کاهش آثار سمی آفلاتوکسین مؤثر واقع گردد، چرا که تغییرات بافتی و همچنین کاهش HSI ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین (در حضور یا عدم حضور جاذب) نشان دهنده تخریب بافت کبد ماهیان است (۳۰). البته خاطر نشان می‌شود که ماهی قزل آلا در زمره گونه‌های بسیار حساس به سم آفلاتوکسین شناخته شده و ممکن است مقادیر اندکی از سم مورد نظر توسط جاذب (به ویژه بنتونیت) قابل جذب و دفع نباشد و در نتیجه

ب ۱ به شمار می‌رود. این شاخص، وضعیت سلامتی حیوان و همچنین میزان ذخایر انرژی آن را نشان می‌دهد و ماهی در شرایط نامناسب محیطی معمولاً از کبد کوچکتری (با انرژی ذخیره شده کمتر در کبد) برخوردار است (۸). در تحقیق حاضر بیشترین میزان شاخص کبدی در تیمار فاقد آفلاتوکسین و کمترین آن در تیمار حاوی ۵۰ ppb مشاهده شد. این نکته توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. سپهداری و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه ایی اثر سطوح مختلف سم آفلاتوکسین ب ۱ را روی رشد و بقا و تغییرات شاخص کبدی فیل ماهی بررسی نمودند و بیشترین میزان شاخص کبدی را در تیمار فاقد سم آفلاتوکسین ب ۱ گزارش کردند (۲۵). در مطالعه زیکووسکی و همکاران (۲۰۱۳b) نیز کمترین میزان شاخص کبدی در تیلاپیای نیل تغذیه شده با خوراک آلوده به آفلاتوکسین ب ۱، مشاهده شد (۳۰)، که با نتایج تحقیق حاضر هم سو می‌باشد. در بافت کبد گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲۵ ppb سم آفلاتوکسین ب ۱ اتساع خفیف عروق خونی، تخریب سیتوپلاسم، تجمع خون و نفوذ سلول‌های ایمنی قابل مشاهده بود و میزان این تغییرات بافتی در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۵۰ ppb سم آفلاتوکسین، به طور قابل توجهی افزایش

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 می‌باشد ($P < 0/50$)

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

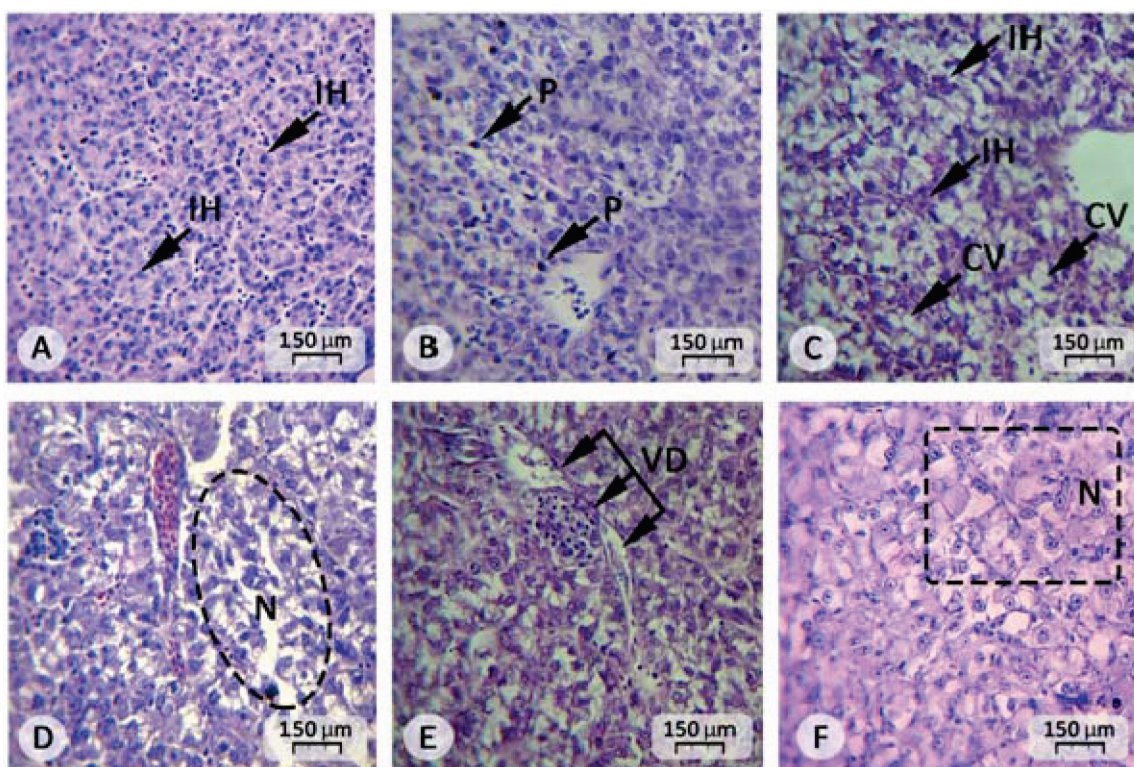
تیمار	شاخص کبدی (درصد)
فاقد آفلاتوکسین	۱/۵۶ ^{ab} * (۰/۰۷)
۲۵ آفلاتوکسین	۱/۳۸ ^b (۰/۰۵)
۵۰ آفلاتوکسین	۱/۴۱ ^b (۰/۰۶)

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می‌باشد ($P < 0/50$)

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

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

+ 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 آفاتوکسین، D: گروه حاوی ۵۰ ppb آفاتوکسین، E: گروه حاوی ۲۵ ppb آفاتوکسین و ۵٪ جاذب، F: گروه حاوی ۵۰ ppb آفاتوکسین و ۵٪ جاذب. IH: سلولهای کبدی سالم، P: پیکنوز، N: نکروز، VD: اتساع عروق، CV: تخریب سیتوپلاسم (بزرگنمایی \times H&E, 400).

اثرات آسیب‌رسان آفاتوکسین را در عملکرد شاخص‌های ایمنی کاهش دهد (۲۳). علاوه بر این وجود غلظت بالای آفاتوکسین موجب کاهش فعالیت لیزوزیم سرم گردید، اما با افزودن جاذب سطح فعالیت لیزوزیم سرم بهبود یافت. نکته دیگر آنکه سطوح پایین سم آفاتوکسین (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 آفاتوکسین ب ۱ از حالت وابسته به غلظت خطی تبعیت نمی‌کند و بسته به گونه مورد مطالعه، برخی غلظت‌های سم (به ترتیب ۰/۱ و ۳ ppm)، 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 آفاتوکسین ب ۱ از میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهی نیل تیلپیا کاست و استفاده از ۱-۳-بتاگلوکان منجر به افزایش میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون گردید (۹). چنین اثر تحریک‌کننده‌ی 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 آفاتوکسین و گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰ ppb آفاتوکسین 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 خنثی‌سازی اثر سرکوب‌کنندگی آفاتوکسین بر سیستم ایمنی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. عقیده بر این است که آلودگی جیره غذایی حتی با مقادیر اندک آفاتوکسین می‌تواند عامل مؤثری در افزایش قابل توجه حساسیت آبی 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 این که 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 اثر گذاری 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 قزل‌آلا در زمره گونه‌های بسیار حساس به سم آفاتوکسین 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

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 قزل‌آلای رنگین‌کمان با جیره غذایی آلوده به آفاتوکسین (۲۰ ppb) حاوی بنتونیت، بقایای این سم در بافت‌های مختلف از جمله کبد و کل لاشه قابل مشاهده بوده است (۱۰).

آسپاراتات 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 آفاتوکسین اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های ALT و AST سرم نداشت، در حالی که میزان فعالیت ALP سرم تحت تأثیر سم آفاتوکسین به طور معنی‌داری افزایش یافت. با این وجود، هان و همکاران (۲۰۱۰)، تأثیر سم آفاتوکسین ب ۱ را بر فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز 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 آفاتوکسین موجب تخریب بافت کبد می‌گردد. ALP آنزیم موجود در سلول‌های پوششی مجاری صفاوی می‌باشد و با تورم و انسداد مجاری صفاوی 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 آفاتوکسین شامل دیواره مخمر، HSCAS و گلوکومانان را به همراه ۲۰۰ ppb آفاتوکسین ب ۱، بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون بچه ماهیان تیلپایی نیل مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها حاکی از افزایش فعالیت ALT، AST، ALP و گاما گلوتامیل ترانسفراز در گروه ۲۰۰ ppb آفاتوکسین ب ۱ بود، در حالیکه جاذب‌های آفاتوکسین تأثیر معنی‌داری روی فعالیت آنزیم‌های خونی نداشتند (۲۴). اثر آفاتوکسین 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 آفاتوکسین ب ۱ در بره‌های ماده، تفاوت معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید خون، گلبول‌های 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 آفاتوکسین 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 آفاتوکسین باشد، چرا که آفاتوکسین 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

- 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- Fernandez, A., M. Hernandez, 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 containing 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 Live-stock 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 Science* 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-

و طی مدت دو ماه تغذیه موجب تغییرات گزارش شده 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 باشد که با حمایت‌های مالی و معنوی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه صورت پذیرفته است.

منابع مورد استفاده

- 1- Abbès, S., Z. Ouane, 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. *Toxicology* 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 conchonioides*): 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. *Toxicology* 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.

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.

