Archive of SID

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۶۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵

صفحات ۱۸۷-۱۷۳

اثر حفاظتی افزودن اسانس دارچین (*Cinnamomum verum*) به جیره غذایی در کاهش سمیت آفلاتوکسین B1 در بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سیران خانی[۱]، کوروش سروی مغانلو[۲*]، احمد ایمانی[۲]، ناصر آق[۳]، مزدک رازی[۴]

۱. کارشناس ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. دانشیار پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴. استادیار گروه بافت شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۴/۲۱

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر حفاظتی اسانس دارچین در کاهش سمیت آفلاتوکسین B1 جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان با تاکید بر شاخص‌های خونی، بیوشیمی سرم و آسیب شناسی بافت کبد انجام پذیرفت. بدین منظور ماهیان در ۶ تیمار آزمایشی متشکل از ۳ سطح آفلاتوکسین (ppb ۰، ۲۵ و ۵۰) و دو سطح اسانس (۰ و ۱ درصد) هر کدام به سه تکرار تقسیم گردیدند. آزمایش به مدت ۶۰ روز ادامه داشت. در انتهای آزمایش جهت بررسی شاخص‌های مذکور نمونه‌برداری به صورت تصادفی انجام شد. درصد هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین تحت تأثیر مثبت وجود اسانس دارچین در جیره غذایی قرار گرفتند ($P<۰/۰۵$). همچنین وجود سم آفلاتوکسین در جیره غذایی باعث افزایش تعداد گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین خون گردید ($P<۰/۰۵$). میزان فعالیت آنزیم‌های ALP و ALT نیز در حضور سم آفلاتوکسین افزایش یافت ($P<۰/۰۵$)، البته افزودن اسانس دارچین فعالیت ALP سرم ماهیان قرار گرفته در معرض آفلاتوکسین را کاهش داد. همچنین اثر اصلی عامل‌های سطح آفلاتوکسین و اسانس جیره غذایی بر میزان شاخص‌های پروتئین کل و گلبولین معنی‌دار بود، در حالیکه غلظت آلبومین و لیزوزیم سرم خون تحت تأثیر اثر متقابل سطح آفلاتوکسین و اسانس قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). همچنین با افزایش سطح سم، میزان شاخص کبدی به طور معنی داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). در بررسی‌های بافت شناسی نیز علایمی همچون اتساع عروق خونی، تخریب سیتوپلاسم، تجمع خون، نفوذ سلول‌های ایمنی و نکروز در گروه‌های حاوی سم آفلاتوکسین مشاهده گردید، که متناسب با سطح سم در جیره غذایی بود. نتیجه آنکه، افزودن یک درصد اسانس دارچین به جیره غذایی سبب کاهش تغییرات نامطلوب بافتی و همچنین بهبود شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی سرم ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی آلوده با آفلاتوکسین بویژه در گروه ppb ۲۵ آفلاتوکسین گردید.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین B1، اسانس دارچین، شاخص‌های خون شناسی، بیوشیمی سرم، بافت شناسی کبد، قزل‌آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

* نویسنده مسئول مکاتبه تلفن: ۰۴۴۳۲۷۷۰۴۸۹ Email: k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

آفلاتوکسین‌ها (Aflatoxins) مهمترین سموم قارچی سرطان‌زا هستند که توسط گونه‌های مختلف *Aspergillus* و برخی گونه‌های جنس *Penicillum* تولید می‌شوند. از میان انواع مختلف آفلاتوکسین، آفلاتوکسین B1 (AFB1) سمی‌ترین، فراوان‌ترین و قوی‌ترین ترکیب سرطانزای طبیعی تلقی می‌شود (Williams *et al.*, 2004) و در حال حاضر یکی از مهم‌ترین مایکوتوکسین‌های تحت نظارت سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) می‌باشد (Celik and Sur, 2003). آفلاتوکسین در دام و طیور موجب کاهش سرعت رشد و بازدهی پایین حیوان می‌شود Gallo (*et al.*, 2010)، که خود سبب افزایش هزینه‌های تولید می‌گردد. سمیت آفلاتوکسین در گونه‌های مختلف آبزیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان، گربه ماهی روگاهی، تیلاپیای نیل، گوپی و میگوی ببری سیاه بررسی و اثرات بیوشیمیایی، خون شناختی، ایمنی و آسیب شناختی آفلاتوکسین‌ها به خوبی توسط محققین مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است (Chavez-Sanchez *et al.*, 1994). برای مثال ماهی تیلاپیای نیل غالبا با مقادیر ppm ۱/۵ از آفلاتوکسین B1 تحت تاثیر قرارگرفته است و جزو ماهیان مقاوم به سموم قارچی تلقی می‌شود (Zychowski *et al.*, 2013). میزان سمیت آفلاتوکسین در آبزیان به غلظت سم در غذا و همچنین مدت زمان رویارویی با آن بستگی دارد (Bauer *et al.*, 1969). سم آفلاتوکسین در طولانی مدت موجب کم خونی و لکوپنیا می‌گردد (Hussein *et al.*, 2000). همچنین آفلاتوکسین B1 تغییر تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هماتوکریت، مقدار هموگلوبین و گلبول‌های سفید خون و بیوشیمی سرم می‌شود (Mohapatra *et al.*, 2011). مقادیر پایین آفلاتوکسین B1 برای مدت طولانی در گربه ماهی روگاهی باعث آسیب‌های بافتی (کبد و کلیه) شد (Jantratail and Lovell, 1990). مواجهه با آفلاتوکسین موجب تغییرات محسوسی مانند رنگ باختگی کبد، کبد چرب، هیپرپلازی، تغییرات مجاری صفراوی و بروز تومورهای کبدی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است (Hooft *et al.*, 2011).

همچنین یکی دیگر از نشانه‌های قابل مشاهده سمیت آفلاتوکسین در جانوران کاهش عملکرد سیستم ایمنی می‌باشد (Celik *et al.*, 2000; Santacroce *et al.*, 2008). برای مثال در مطالعه El-Boshy و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد که سم آفلاتوکسین B1 باعث کاهش میزان فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهی تیلاپیای نیل می شود، در حالیکه استفاده از ۱-۳-بتاگلوکان منجر به افزایش میزان فعالیت لیزوزیم این ماهیان شد.

در دهه‌های اخیر موفقیت‌های زیادی در استفاده از گیاهان دارویی در صنعت آبزی پروری حاصل شده است (Hahm *et al.*, 2001). ترکیبات گیاهی با اهداف مختلفی مانند تحریک سیستم ایمنی ماهی و سایر آبزیان پرورشی (Lee *et al.*, 2003; Tsoumas *et al.*, 1998)، ایفای نقش به عنوان پربیوتیک، درمان بیماری‌های عفونی، آرام بخشی و بیهوشی ماهی (Hahm *et al.*, 2001) و ترمیم زخم‌های سطحی در روش حمام درمانی با محرک‌های ایمنی گیاهی (Kazemipour *et al.*, 2005) استفاده می‌شوند. یکی از گیاهان دارویی شناخته شده در طب سنتی ایران و همچنین در مطالعات بالینی انسانی و دامی، گیاه دارچین می‌باشد. در کنار استفاده از روش‌های پیشگیرانه متداول در آلودگی‌های غذایی به مایکوتوکسین‌ها، جهت کاهش اثرات و جلوگیری از سرطان‌زایی این سموم در حیوانات پرورشی، مصرف ویتامین‌ها و آنتی اکسیدان‌ها نیز توصیه شده است (Autrup *et al.*, 1993). خاصیت آنتی اکسیدانی دارچین به علت وجود ترکیباتی نظیر اوژنول، کاریونیلن، سینئول و سینام‌آلدئید می‌باشد. اوژنول دارای ویژگی محافظت کنندگی در برابر عوامل بیماری‌زا می‌باشد. سینام‌آلدئید و همچنین اوژنول دارای خواص ضد میکروبی و ضد قارچی نیز می‌باشند. ترکیب سینام‌آلدئید در دارچین سبب تحریک سیستم ایمنی شده و به این سیستم در حمله به عوامل عفونی یاری می‌رساند (Mushlova *et al.*, 2009). Roozi و همکاران (۲۰۱۳) طی مطالعه‌ای اثر پودر دارچین را روی شاخص های خون شناختی ماهی گرین ترور مطالعه کردند. نتایج نشان داد که هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز تحت تاثیر پودر دارچین قرار نگرفت، ولی تعداد گلبولهای سفید در

www.SID.ir

Archive of SID

تیمار تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱ درصد دارچین به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. Ahmad و همکاران (۲۰۱۱) نیز پودر دارچین را به عنوان ماده محرک رشد و سیستم ایمنی در ماهی تیلاپیا به کار بردند و افزایش معنی‌دار تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت را گزارش نمودند.

با توجه به افزایش مصرف مواد اولیه گیاهی در جیره های غذایی آبزیان، احتمال افزایش آلودگی جیره های غذایی آبزیان با سموم قارچی از جمله آفلاتوکسین وجود دارد. به همین دلیل مطالعه حاضر با هدف بررسی قابلیت اسانس دارچین در تقویت سیستم ایمنی و تعدیل سمیت سطوح مختلف آفلاتوکسین B1 در جیره غذایی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Oncorhynchus mykiss) طرح ریزی و اجرا گردید.

۲. مواد و روشها

۱.۲. تهیه آفلاتوکسین B1

جهت تولید سم آفلاتوکسین B1، ابتدا سویه R5 قارچ *Aspergillus flavus* از آزمایشگاه قارچ شناسی گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران تهیه و در محیط دکستروز آگار (PDA) کشت داده شد. سپس سوسپانسیون اسپور قارچ با استفاده از محلول tween 80 و با غلظت ۱×۱۰۵ آماده گردید. در ادامه یک میلی لیتر از سوسپانسیون حاصل به ۵۰ گرم از جیره غذایی تجاری (کارخانه فرادانه شهرکرد، FFT2) با ۲۰٪ رطوبت اضافه و مخلوط بدست آمده به مدت ده روز در شرایط استریل، دمای ۲۷ $^{\circ}C$ و تاریکی نگهداری شد. در پایان دوره کشت، جهت از بین بردن قارچها غذای تجاری تخمیر شده اتوکلاو گردید. سرانجام پس از خشک کردن، پودر حاوی سم آفلاتوکسین B1 برای تهیه جیره های غذایی آماده شد (Çelik *et al.*, 2000). میزان سم آفلاتوکسین B1 موجود در پودر حاصل با استفاده از ستونهای اختصاصی (immunoaffinity columns) و به کمک (HPLC FLD Waters alliance 2695) HPLC سنجیده شد (Stroka *et al.*, 2001). استاندارد سم مذکور از شرکت (USA) Arcos Organics Ltd خریداری و محلول متانولی با غلظت‌های µg/ml ۲۵، ۱۰ و ۵ از آن تهیه و تا زمان استفاده در دمای ۲۰°C- نگهداری شد. اسانس دارچین نیز به روش تقطیر آبی تهیه و ترکیبات موثره آن (جدول ۱) با استفاده از (Thermoquest-Finnigan Trace GC-MS, San Jose, CA) GC-FID و GC–MS تعیین گردید (Farzaneh *et al.*, 2015).

جدول ۱. ترکیب اجزای سازنده اسانس دارچین (*Cinnamomum verum*)

ترکیب مؤثره	درصد
alpha-pinene	۱/۳
Camphene	۰/۹
Benzaldehyde	۱
beta-pinene	۰/۶
para-cymene	۰/۵
Limonene	۰/۹
1.8-cineole	۷/۵
gama-	۰/۳
alpha-	۰/۴
Linalool	۰/۹
terpin-4-ol	۳/۵
alpha-	۲/۸
trans-	۴/۲
cis-	۵۸/۴
Eugenol	۸/۳
trans-	۰/۳
cinnamyl	۷
caryophyllene	۰/۱
alpha-	۰/۲
مجموع	۹۹/۱

www.SID.ir

Archive of SID

۲.۲. تهیه ماهی و شرایط انجام آزمایش

تعداد ۴۱۴ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۱/۲۰± ۹/۶۷g از یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی تهیه و به سالن تکثیر و پرورش آبزیان منتقل شد. بچه ماهیان با محلول نمک ۳ درصد ضد عفونی و بطور تصادفی با تراکم ۲۳ قطعه در هر مخزن (۱۸مخزن۳۰۰ لیتری) میان تیمارها توزیع شدند. این مطالعه شامل۶ تیمار (هر تیمار دارای سه تکرار) بود که بصورت آزمایش عاملی ۲×۳ و در قالب یک طرح کاملا تصادفی طی ۶۰ روز انجام شد. با توجه به تیمارهای غذایی مورد نظر، مقادیر مختلف آفلاتوکسین به همراه اسانس دارچین به جیره غذایی تجاری اضافه شد (جدول ۲). آزمایش پس از طی دوره سازگاری ماهیان به شرایط آزمایشی (به مدت دو هفته)، شروع شد. در این مدت ماهیان با جیره غذایی تجاری در حد نیم درصد وزن بدن در روز تغذیه شدند (Boujard *et al.*, 2000). غذادهی ماهیان تیمارهای مختلف روزانه در سه وعده غذایی صبح، ظهر و عصر با توجه به دمای آب و وزن ماهیان انجام شد (Lovell, 2003).

جدول ۲. تیمارهای مختلف آزمایشی

تیمار	غذای مورد استفاده
۱	غذای تجاری + ppb ۰ سم آفلاتوکسین B_1 + ۰ درصد اسانس*
۲	غذای تجاری + ppb ۲۵ سم آفلاتوکسین B_1 + ۰ درصد اسانس
۳	غذای تجاری + ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین B_1 + ۰ درصد اسانس
۴	غذای تجاری + ppb ۰ سم آفلاتوکسین B_1 + ۱ درصد اسانس
۵	غذای تجاری + ppb ۲۵ سم آفلاتوکسین B_1 + ۱ درصد اسانس
۶	غذای تجاری + ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین B_1 + ۱ درصد اسانس

*(اسانس دارچین)

۳.۲. سنجش فراسنجه‌های خون شناسی

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. ماهیان پیش از خونگیری با پودر میخک بیهوش شدند. ۲۴ ساعت قبل از خونگیری، غذادهی آنها قطع گردید. تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، درصد هماتوکریت (Hct)، غلظت هموگلوبین (Hb) و تعداد گلبول های سفید (WBC) با روش های استاندارد تعیین شدند (Simmons, 1997).

۴.۲. سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون

به منظور سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی، بعد از خونگیری نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق منعقد و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردیدند. سرم هر نمونه به طور جداگانه در دمای $-80\ ^{\circ}C$ نگهداری شدند (Siwicki *et al.*, 1994). در نهایت فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون شامل آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، پروتئین کل (TP)، آلبومین (ALB) و گلبولین (GLB) طبق راهنمای شرکت سازنده کیت (پارس آزمون) سنجیده شدند. فعالیت لیزوزیم (Lys) نیز بر اساس روش Clerton و همکاران (۲۰۰۱) و Kim و Austin (۲۰۰۶) بر مبنای لیز باکتری گرم مثبت حساس به آنزیم لیزوزیم، *Micrococcus lysodeikticus*، با مشخصات (Sigma, M 3770, St. Louis (USA اندازه گیری شد.

۵.۲. شاخص کبدی[1] (HSI) و بافت شناسی کبد

شاخص کبدی به صورت درصدی از وزن بدن هر ماهی محاسبه شد. به منظور مطالعات بافت

[1] Hepatosomatic index

www.SID.ir

Archive of SID

شناسی، از بافت کبد بچه ماهیان تیمارهای مختلف نمونه برداری صورت گرفت (Ferraris *et al.*, 1987). نمونه های فوق ابتدا به مدت ۷۲ ساعت در محلول بوئن تثبیت و سپس به الکل اتانول ۷۰٪ منتقل و تا زمان انجام مطالعات بافت شناسی در این محلول نگهداری شدند. بعد از آبگیری و قالب گیری بافت‌ها، برش های ۵ میکرونی از بافت کبد تهیه و به روش H&E رنگ آمیزی شد و آسیب‌ها با میکروسکوپ نوری (Olympus, Germany) مورد بررسی قرار گرفت.

۶.۲. آنالیز آماری

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. جهت حصول مفروضات آنالیز واریانس در صورت لزوم 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 (Mean ± SE) گزارش گردیدند.

۳. نتایج

۱.۳. پارامترهای خونی

نتایج مربوط به آنالیز واریانس پارامترهای خونی گروه‌های آزمایشی در انتهای دوره پرورش در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که از لحاظ تعداد گلبول‌های سفید خون اختلاف معنی داری میان تیمارهای مختلف وجود نداشت ($P>0/05$). همچنین اثر متقابل اسانس و آفلاتوکسین بر درصد هماتوکریت و اثر اصلی اسانس و آفلاتوکسین بر تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین معنی دار بود ($P\leq0/05$). وجود اسانس موجب بهبود درصد هماتوکریت در گروه‌های مختلف آزمایشی گردید ($P\leq0/05$، جدول ۴). همچنین وجود سم آفلاتوکسین در جیره غذایی باعث افزایش تعداد گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین خون شد ($P\leq0/05$، جدول ۵). علاوه بر این افزودن اسانس دارچین باعث افزایش تعداد گلبول های قرمز و غلظت هموگلوبین خون گردید (به ترتیب ۱/۰۱±۰/۰۵ cell/ml×106، g/dl ۳/۲۷±۰/۱۴ برای جیره حاوی اسانس و ۰/۷۴±۰/۰۴ cell/ml×106، g/dl ۲/۴۵±۰/۱۲ برای جیره فاقد اسانس، $P\leq0/05$).

جدول ۳. نتایج آنالیز واریانس شاخص کبدی و پارامترهای خونی گروه‌های مختلف آزمایشی در انتهای دوره پرورش

عامل	HSI	RBC	Hct	Hb	WBC
	مقدار *P*	مقدار *P*	مقدار *P*	مقدار *P*	مقدار *P*
اسانس	۰/۰۱۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۸۸۵
آفلاتوکسین	۰/۰۱۱	۰/۰۰۷	۰/۰۵۷	۰/۰۰۵	۰/۱۳۳
اسانس × آفلاتوکسین	۰/۳۶۸	۰/۲۹۷	۰/۰۲۶	۰/۲۴۱	۰/۱۴۸

HSI: شاخص کبدی (درصد)، RBC: گلبول‌های قرمز خون ($cell/ml\times10^6$)، Hct: هماتوکریت (درصد)، Hb: غلظت هموگلوبین (g/dl)، WBC: گلبولهای سفید خون ($cell/ml\times10^3$)

جدول ۴. درصد هماتوکریت تیمارهای مختلف پرورشی در انتهای دوره پرورش (میانگین ± اشتباه معیار)

تیمار	درصد هماتوکریت
۱	۲۴/۱۲±۲/۲۰^{c*}
۲	۲۹/۰۵±۲/۷۸^{bc}
۳	۲۳/۷۳±۲/۵۱^{c}
۴	۳۰/۰۸±۲/۹۲^{bc}
۵	۳۴/۶۷±۲/۸۷^{c}
۶	۴۲/۱۷±۱/۵۲^{a}

*حروف متفاوت نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان گروه‌ها می باشد ($P<0/05$)

www.SID.ir

Archive of SID

۲.۳. شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون

نتایج مربوط به آنالیز واریانس شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون گروه‌های مختلف آزمایشی در انتهای دوره پرورش در جدول ۶ ارائه شده است. فعالیت ALP سرم تحت تاثیر اثر متقابل اسانس*آفلاتوکسین قرار گرفت، به طوری که بیشترین و کمترین میزان فعالیت ALP به ترتیب در تیمار حاوی ۱ درصد اسانسppb ۲۵ سم آفلاتوکسین B1 و تیمار فاقد اسانس و سم آفلاتوکسین B1 (گروه شاهد)، مشاهده شد (P≤۰/۰۵، جدول ۷). فعالیت ALT نیز فقط تحت تاثیر آفلاتوکسین قرار گرفت و بیشترین فعالیت ALT در تیمار حاوی ۲۵ppb آفلاتوکسین B1 بود (P≤۰/۰۵، جدول ۸). سطوح مختلف اسانس و آفلاتوکسین جیره غذایی تأثیری بر میزان فعالیت آنزیم AST سرم نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۵. تعداد گلبول های قرمز و میزان هموگلوبین خون ماهیان آزمایشی در انتهای دوره پرورش (میانگین ± اشتباه معیار)

تیمار	گلبول‌های قرمز خون (cell/ml×106)	غلظت هموگلوبین (g/dl)
فاقد آفلاتوکسین	۰/۷۵±۰/۰۴ b*	۲/۴۹±۰/۱۴ b*
۲۵ ppb آفلاتوکسین	۰/۹۵±۰/۰۵a	۳/۰۴±۰/۱۷a
۵۰ppb آفلاتوکسین	۰/۹۴±۰/۰۸a	۳/۰۹±۰/۲۴a

*حروف متفاوت در هر ستون نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان گروه‌ها می باشد (P≤۰/۰۵)

جدول ۶. نتایج آنالیز واریانس پارامترهای مورد مطالعه در گروه‌های مختلف در انتهای دوره پرورش

عامل	ALP	AST	ALT	TP	ALB	GLB	Lys
	مقدار *P*	مقدار *P*	مقدار *P*	مقدار *P*	مقدار *P*	مقدار *P*	مقدار *P*
اسانس	۰/۴۲	۰/۰۷۴	۰/۹۱۹	۰/۰۰۳	۰/۳۱۹	۰/۰۰۷	۰/۸۲
آفلاتوکسین	۰/۱۹	۰/۵۳۶	۰/۰۰۱	۰/۰۳۴	۰/۰۰۴	۰/۰۱۵	۰/۰۱
اسانس × آفلاتوکسین	۰/۰۰۰	۰/۰۶۱	۰/۴۷۷	۰/۳۰۵	۰/۰۴۸	۰/۲۰۶	۰/۰۰۰

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: گلبولین (g/l)، Lys: لیزوزیم (µg/ml).

غلظت آلبومین و لیزوزیم سرم خون تحت تأثیر اثر متقابل سطح آفلاتوکسین*اسانس قرار گرفت (جدول ۶، P≤۰/۰۵). بیشترین میزان آلبومین سرم در تیمار حاوی ۱ درصد اسانس و فاقد آفلاتوکسین و کمترین میزان آن نیز در جیره‌های غذایی حاوی ۲۵ppb و ۵۰ppb آفلاتوکسین B1 مشاهده شد (P≤۰/۰۵، جدول ۹). بیشترین میزان لیزوزیم سرم خون مربوط به تیمار حاوی ۲۵ppb آفلاتوکسین B1 و فاقد اسانس بود (P≤۰/۰۵، جدول ۹). تنها اثرات اصلی عامل‌های اسانس و سم آفلاتوکسین بر میزان گلبولین و پروتئین کل سرم معنی‌دار بود (جدول ۶، P≤۰/۰۵). میزان پروتئین کل در تیمارهای حاوی و فاقد اسانس به ترتیب ۴۹/۱۹±۳/۹۵ g/l و ۳۴/۵۴±۲/۸۸ تعیین گردید و میزان گلبولین سرم خون نیز در تیمارهای حاوی و فاقد اسانس به ترتیب ۴۱/۷۹±۴/۱۳ g/l و ۲۶/۵±۲/۶ بود (P≤۰/۰۵). همچنین وجود ۲۵ ppb سم آفلاتوکسین در جیره غذایی باعث افزایش معنی دار پروتئین کل و گلبولین سرم خون گردید، که مشابه روند مشاهده شده برای میزان فعالیت لیزوزیم و مقدار آلبومین تیمارهای دریافت کننده سم آفلاتوکسین بود (P≤۰/۰۵، جدول ۱۰).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷. فعالیت آلکالین فسفاتاز سرم ماهیان تیمارهای مختلف پرورشی در انتهای دوره (میانگین ± اشتباه معیار)

تیمار	فعالیت آلکالین فسفاتاز (U/l)
۱	۵۹۶/۲±۵۳/۵۵c*
۲	۱۴۴۷/۸۸±۸۰/۰۷a
۳	۱۴۴۴/۲۱±۸۴/۵۱a
۴	۱۳۴۶/۱۱±۶۹/۱۴ab
۵	۶۷۴/۳۲±۶۸/۹۲bc
۶	۱۱۲۳/۷۱±۷۰/۰۵abc

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد (P≤۰/۰۵)

جدول ۸. فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز سرم ماهیان تیمارها در انتهای دوره پرورش (میانگین ± اشتباه معیار)

تیمار	آلانین آمینو ترانسفراز (U/l)
فاقد آفلاتوکسین	۱۴/۱۴±۳/۲۵b*
۲۵ppb آفلاتوکسین	۴۷/۰۲±۷/۶۳a
۵۰ppb آفلاتوکسین	۳۳/۶۴±۴/۹۲a

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد (P≤۰/۰۵)

۳.۳. نتایج بافت شناسی کبد

نتایج مربوط به آنالیز واریانس شاخص‌کبدی گروه‌های مختلف آزمایشی در انتهای دوره پرورش در جدول ۳ ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده اثر آفلاتوکسین و اسانس دارچین بر شاخص کبدی معنی دار بود به طوری که بیشترین و کمترین میزان شاخص کبدی به ترتیب مربوط به تیمار فاقد سم آفلاتوکسین B1 و تیمار حاوی ۵۰ppb سم آفلاتوکسین B1 بود (P≤۰/۰۵، جدول ۱۱). همچنین با افزودن اسانس دارچین، میزان شاخص کبدی به شکل معنی‌داری افزایش یافت (به ترتیب ۱/۶۱±۰/۰۷ و ۱/۴۱±۰/۰۵ درصد از وزن کل بدن برای جیره‌های دارای اسانس و فاقد اسانس، P≤۰/۰۵).

جدول ۹. میزان آلبومین و فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهیان گروه‌های مختلف آزمایشی در انتهای دوره پرورش (میانگین ± اشتباه معیار)

تیمار	میزان آلبومین (g/l)	فعالیت لیزوزیم (µg/ml)
۱	۸/۵۸±۰/۲۶ab	۵/۰۷±۱/۳۲ab*
۲	۸/۸۷±۰/۴۵ab	۱۳/۱۹±۲/۲۷a
۳	۶/۶۳±۰/۲۷ab	۱/۸۶±۰/۳۲b
۴	۹/۸۵±۰/۱۳a	۲/۲۹±۰/۲۴b
۵	۶/۱۰±۰/۳۳b	۵/۳۰±۲/۱۲ab
۶	۶/۲۰±۰/۳۸b	۱۲/۲۹±۱/۳۳a

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد (P≤۰/۰۵)

جدول ۱۰. میزان گلبولین و پروتئین کل سرم خون ماهیان گروه‌های مختلف آزمایشی در انتهای دوره پرورش (میانگین ± اشتباه معیار)

تیمار	گلبولین (g/l)	پروتئین کل (g/l)
فاقد آفلاتوکسین	۲۵/۳۶±۴/۰b	۳۴/۵۷±۴/۰۸b
۲۵ ppb آفلاتوکسین	۴۲/۲±۴/۷۳a*	۴۹/۷۰±۴/۸۶a*
۵۰ppb آفلاتوکسین	۳۴/۸۹±۴/۴۵ab	۴۱/۳۲±۴/۴۰ab

*حروف متفاوت در هر ستون، نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان تیمارها می باشد (P≤۰/۰۵)

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به نتایج بدست آمده (شکل ۱ و جدول ۱۲)، در گروه حاوی ppb ۲۵ آفلاتوکسین، اتساع عروق، تخریب سیتوپلاسم، تجمع خون، نفوذ سلول‌های ایمنی به صورت خفیف تا متوسط، مشاهده شد. در گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ppb۵۰ سم آفلاتوکسین نیز به طور قابل توجهی افزایش تخریب سیتوپلاسم، اتساع عروق، ادم، ناپدید شدن هسته و تجمع خون همراه با افزایش نفوذ سلول های ایمنی و نکروز شدید مشاهده گردید. در گروه یک درصد اسانس به همراه ppb ۲۵ آفلاتوکسین، به طور مشهودی تخریب سلولی و تجمع خون ناشی از وجود سم کاهش یافت. در گروه اسانس به همراه ppb۵۰ آفلاتوکسین تغییرات قابل توجهی در کاهش آسیب‌های بافتی دیده نشد، با این حال اسانس استفاده شده در برخی نقاط باعث کاهش تجمع خون گردید و در برخی نقاط دیگر به طور کامل از نفوذ سلول‌های ایمنی جلوگیری نمود. همچنین در مقادیر بالای سم، با وجود افزودن اسانس، نکروز سلول‌های کبدی همچنان قابل مشاهده بودند. افزایش آسیب‌های سلولی در اپیتلیوم مجرای صفراوی در هر دو گروه حاوی آفلاتوکسین چه به صورت تنها چه به صورت ترکیب با اسانس مشاهده شد، البته افزودن اسانس به جیره غذایی سبب کاهش اثرات ناشی از سم آفلاتوکسین شد.

جدول ۱۱. شاخص کبدی (درصد) تیمارهای مختلف آزمایشی در انتهای دوره پرورش (میانگین ± اشتباه معیار)

تیمار	شاخص کبدی (درصد)
فاقد آفلاتوکسین	۱/۶۹±۰/۱۴a*
ppb۲۵آفلاتوکسین	۱/۴۶±۰/۰۵ab
ppb۵۰آفلاتوکسین	۱/۳۸±۰/۰۸b

*حروف متفاوت نشانه وجود تفاوت آماری معنی دار میان گروه‌ها می باشد (P≤۰/۰۵)

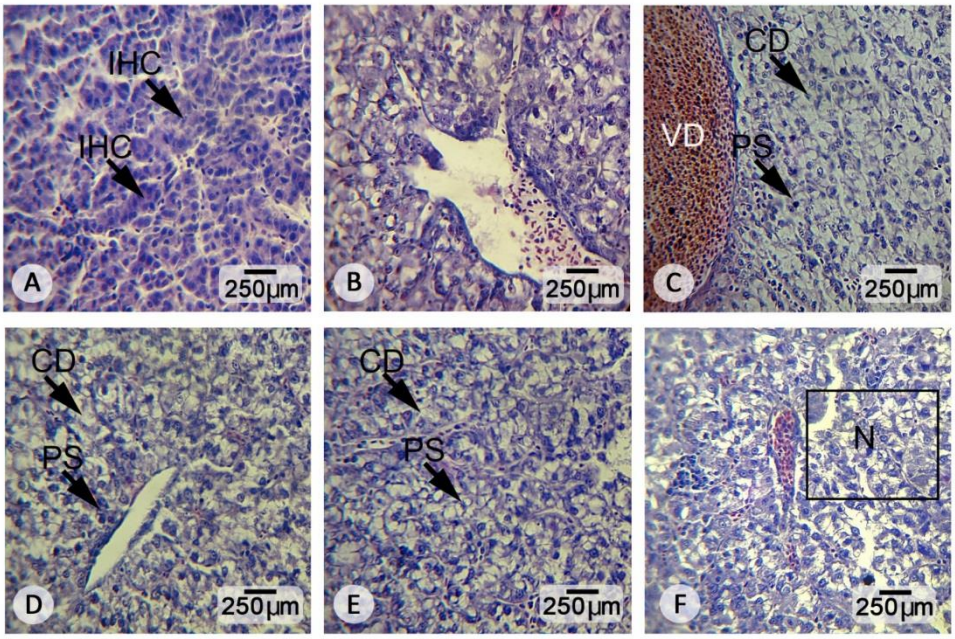
جدول ۱۲. آسیب شناسی بافت کبد گروه‌های مختلف آزمایشی در انتهای دوره پرورش

تیمار	تخریب سیتوپلاسم	اتساع عروق	تجمع خون	نفوذ سلولهای ایمنی	نکروز
۱	–	–	–	–	–
۲	++	++	+++	++	++
۳	++++	++++	+++	++++	++++
۴	+	+	+	–	–
۵	++	+++	++	+	–
۶	+++	++	++	+++	+++

+ خفیف، ++ خفیف تا متوسط، +++ متوسط، ++++ زیاد

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. برش عرضی کبد گروه‌های مختلف آزمایشی در انتهای دوره پرورش، رنگ آمیزی H&E (A: غذای تجاری + ppb ۰ سم آفلاتوکسین B_1 + ۰ درصد اسانس، B: غذای تجاری + ppb ۰ سم آفلاتوکسینB_1 + ۱ درصد اسانس، C: غذای تجاری + ppb ۲۵ سم آفلاتوکسین B_1 + ۰ درصد اسانس، D: غذای تجاری + ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین B_1 + ۰ درصد اسانس، E: غذای تجاری + ppb ۲۵ سم آفلاتوکسین B_1 + ۱ درصد اسانس و F: غذای تجاری + ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین B_1 + ۱ درصد اسانس). تخریب سیتوپلاسمی شدید به همراه تجمع قابل توجه خون و اتساع عروق در گروه‌های C و D قابل مشاهده است. استفاده همزمان اسانس دارچین با سم آفلاتوکسین B_1 موجب بهبود نسبی بافت ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف آفلاتوکسین B_1 گردید. CD: تخریب سیتوپلاسم، PS: پیکنوز، VD: اتساع عروق و N: نکروز.

۴. بحث و نتیجه گیری

از سال ۱۹۷۰ تاکنون صنعت آبزی پروری از رشد قابل توجهی برخوردار بوده است (Buentello *et al.*, 2015) و در این میان تغذیه و اطمینان از سلامت غذای مصرفی یکی از ارکان اصلی توسعه صنعت آبزی پروری تلقی می‌شود با این حال در خوراک تولیدی آبزیان وجود سموم، میکروب‌ها، قارچ‌ها و متابولیت‌های آن‌ها به ویژه آفلاتوکسین‌ها گزارش شده است که منجر به کاهش کیفیت جیره غذایی و همچنین هدر رفت سرمایه و به تبع آن افزایش هزینه‌های تولید می‌گردد (Azimi *et al.*, 2013). سموم قارچی از جمله ترکیباتب هستند که به طور ناخواسته وارد جیره‌های غذایی آبزیان گشته و موجب مشکلات زیادی برای آبزی و پرورش دهندگان می‌شوند.

سم آفلاتوکسین موجب افزایش تعداد گلبول قرمز و غلظت هموگلوبین خون گردید. Donmez و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که آفلاتوکسین سبب کاهش معنی‌دار میزان هموگلوبین، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید خون می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی ندارد. این عدم همخوانی شاید به دلیل تفاوت در وزن ماهیان، آبزی و خشکی زی بودن حیوانات و نیز سن و گونه ماهی باشد. Kececi و همکاران (۱۹۹۸) نیز گزارش کردند که به دلیل وجود آفلاتوکسین B1 در جیره‌های غذایی از میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون در جوجه‌های گوشتی کاسته شد. همچنین Oguz و همکاران (۲۰۰۰) مشاهده کردند که سطح هماتوکریت، هموگلوبین و گلبول‌های قرمز جوجه‌های گوشتی در حضور آفلاتوکسین کاهش یافت. عدم هم خوانی مطالعات مذکور با نتایج تحقیق حاضر در افزایش تعداد گلبول قرمز و میزان هموگلوبین می‌تواند به دلیل اثرات احتمالی آفلاتوکسین در ایجاد استرس کمبود اکسیژن در ماهیان تحت بررسی باشد. در این شرایط ماهی برای جبران کمبود اکسیژن دست به افزایش تولید گلبول‌های قرمز زده و در نتیجه میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون افزایش می‌یابد. بطور

www.SID.ir

Archive of SID

مثال Fernandez و همکاران (۲۰۰۰) مشاهده کردند که ppm ۲ آفلاتوکسین در جیره غذایی گوسفندان سبب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون گردید که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. آنها بیان داشتند که افزایش غلظت هموگلوبین بر قابلیت انتقال گازهای تنفسی در خون و بازده قلب موثر است. در همین راستا پژوهشی روی جنین ماهی گورخری نشان داد که رویارویی با غلظت‌های بالای مس (به عنوان یک سم محیطی) موجب افزایش میزان بیان ژن هموگلوبین گردید، که پژوهشگران دلیل آن را به افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نسبت دادند (Zhou *et al.*, 2016). افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن به دلیل وجود سم آفلاتوکسین در جیره غذایی آبزیان و سایر حیوانات توسط پژوهشگران گزارش شده است (Koohi *et al.*, 2011; Liu and Wang, 2016). همچنین غلظت سم، سن و نژاد حیوان می‌تواند اثر مایکوتوکسین‌ها را در جیره‌های غذایی متاثر سازد. علاوه بر این، اثر آفلاتوکسین بر فراسنجه‌های خون شناسی بسیار متغیر است (Van Vleet and Ferrans, 1992; Chowdhury *et al.*, 2005; Selim *et al.*, 2014).

استفاده از عواملی به عنوان پادزهر برای سموم به ویژه سم آفلاتوکسین، می‌تواند از لحاظ درمانی و اقتصادی مهم تلقی گردد (Oguz *et al.*, 2000). درصد هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین خون تحت تأثیر اسانس دارچین افزایش یافت. Ahmad و همکاران (۲۰۱۱) پودر دارچین را به عنوان ماده محرک رشد و سیستم ایمنی در ماهی تیلاپیا به کار بردند، آنها مشاهده کردند که افزودن پودر دارچین به جیره غذایی ماهی منجر به افزایش معنی‌دار هماتوکریت می‌گردد. Roozi و همکاران (۲۰۱۳) طی مطالعه‌ای اثر پودر دارچین را روی شاخص های خون شناختی ماهی گرین ترور مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که هماتوکریت تحت تاثیر پودر دارچین قرار گرفت. البته بر خلاف تحقیق حاضر، در پژوهشی Rezaei و همکاران (۲۰۱۲) اثرات عصاره گیاه مریم گلی را بر هماتوکریت خون گربه ماهی پنگوسی مورد بررسی نمودند و تفاوت معنی‌داری در میزان هماتوکریت خون تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نکردند.

میزان فعالیت آنزیم‌هایAST، ALT و ALP سرم به عنوان نشانگرهایی جهت بررسی آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در تحقیق حاضر، سم آفلاتوکسین باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های ALP و ALT گردید، در حالی که تأثیری بر میزان آنزیم AST نداشت. Denli و همکاران (۲۰۰۹)، تاثیر سم آفلاتوکسین B1 را بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی مورد بررسی و افزایش میزان فعالیت آنزیم ALP سرم خون را گزارش کردند. همچنین Boonyaratpalin و همکاران (۲۰۰۱) تاثیر غلظت‌های مختلف سم آفلاتوکسین را بر میگوی ببری سیاه مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها مشاهده نمودند که سطح ALP در مدت زمان چهار هفته تغییر معنی‌داری نداشت اما بعد از هشت هفته میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. Han و همکاران (۲۰۱۰)، تاثیر ppb ۲۸/۶ سم آفلاتوکسین B1 را در هفت گروه غذایی متفاوت بر میزان فعالیت آنزیم ALT سرم Gibel Carp مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم بعد از سه ماه در تیماری که بیشترین مقدار آفلاتوکسین را دریافت کرده بود به طور معنی‌دار افزایش یافت. دلیل افزایش فعالیت این آنزیم ها به آسیب‌های وارد شده به بافت‌های مختلف از جمله بافت کبد نسبت داده شده است، نکته‌ای که در بررسی بافت‌شناسی کبد ماهیان تیمارهای مختلف بخوبی قابل مشاهده است.

در تحقیق حاضر، مقادیر بالای سم آفلاتوکسین در جیره غذایی باعث کاهش میزان آلبومین گردید، که این کاهش، ممکن است به دلیل مهار رونویسی DNA و ساخت پروتئین باشد، چرا که آفلاتوکسین با جلوگیری از انتقال اسید آمینه و ترجمه m-RNA می‌تواند منجر به کاهش تولید پادتن‌ها گردد (Jindal *et al.*, 2005). در تحقیق حاضر بیشترین میزان گلبولین، پروتئین کل و لیزوزیم سرم خون در تیمار حاوی ppb۲۵ سم آفلاتوکسین B1 و صفر درصد اسانس مشاهده شد، ولی با افزایش غلظت سم به ppb۵۰، میزان آن کاهش یافت. در مطالعه El-Boshy و همکاران (۲۰۰۸) مشخص گردید که سم آفلاتوکسین B1، باعث کاهش میزان فعالیت لیزوزیم

www.SID.ir

Archive of SID

سرم خون ماهی تیلاپیای نیل گردید که با بخشی از نتایج تحقیق حاضر همخوانی ندارد. به نظر می رسد سطوح پایین سم آفلاتوکسین (۲۵ ppb در این مطالعه) از توانایی تحریک سیستم ایمنی برخوردار است. مطالعه Zychowski و همکاران (۲۰۱۳ a,b) در ماهی *Sciaenops ocellatus* و *Oreochromis niloticus* نشان داد که پاسخ سیستم ایمنی به سطوح مختلف سم آفلاتوکسین B1 از حالت خطی وابسته به غلظت تبعیت نمی‌کند و بسته به گونه مورد مطالعه، برخی غلظت‌های سم (به ترتیب ۰/۱ و ۳ ppm برای گونه‌های بالا)، سطح فعالیت لیزوزیم و یا تریپسین سرم را نسبت به گروه شاهد افزایش می‌دهند. همچنین وجود اسانس دارچین در جیره‌های غذایی موجب افزایش قابل توجه شاخص‌هایی نظیر میران پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین و همچنین لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۵۰ ppb آفلاتوکسین B1 گردید. به طور مشابهی تغذیه کپور معمولی با عصاره‌های *Olivera decumbens* و *Satureja khuzestanica* بعنوان محرک ایمنی موجب افزایش شاخص‌های سیستم ایمنی از جمله لیزوزیم سرمی ماهیان بدون واکسیناسیون گردید (Alishahi *et al.*, 2015). در پژوهش Acar و همکاران (۲۰۱۴) مشخص شد که اسانس پوست *Citrus siensis* موجب افزایش شاخص‌هایی نظیر لیزوزیم، گلبولین، هماتوکریت و هموگلوبین ماهی *Oreochromis mossambicus* گردید.

شاخص کبدی وضعیت سلامتی حیوان و همچنین میزان ذخایر انرژی آن را نشان می‌دهد و ماهی در شرایط نامناسب محیطی معمولا از کبد کوچکتری (با انرژی ذخیره شده کمتر در کبد) برخوردار است (Dong *et al.*, 2012). بر اساس نتایج پژوهش حاضر، بیشترین میزان شاخص کبدی در تیمار فاقد سم آفلاتوکسین B1 و کم ترین میزان آن در تیمار حاوی ۵۰ppb سم آفلاتوکسین B1 مشاهده گردید، نکته‌ای که توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. Zychowski و همکاران (۲۰۱۳b) اثر مکمل غذایی نواسیل بر عملکرد رشد و سلامت ماهی تیلاپیای نیل تغذیه شده با خوراک آلوده به آفلاتوکسین B1 را بررسی و گزارش کردند که شاخص کبدی به طور معنی‌داری در گروه تغذیه شده با آفلاتوکسین B1 کاهش یافت. Sepahdari و همکاران (۲۰۱۰) نیز در پژوهشی اثر سطوح مختلف سم آفلاتوکسین B1 را روی میزان بقا و رشد و تغییرات شاخص کبدی فیل ماهی بررسی نمودند و بیشترین میزان شاخص کبدی را در تیمار فاقد سم آفلاتوکسین B1 گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر هم سو می باشد. از آن‌جا که کبد اولین اندام متأثر از آفلاتوکسین قلمداد می‌شود، به نظر می رسد در این تیمارها شرایط تغذیه ای مناسب نبوده و کبد از اندازه کوچکتری برخوردار بوده است. تغییرات بافتی و همچنین کاهش HSI ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین نشان دهنده روند تخریب بافت کبد در ماهیان تیمارهای مربوطه می‌باشد (Zychowski *et al.*, 2013b).

آفلاتوکسین بصورت وابسته به دوز موجب تخریب و ضایعات بافتی در کبد ماهیان گردید و افزودن اسانس دارچین در گروه ۲۵ppb آفلاتوکسین موجب کاهش قابل ملاحظه تخریب سلولی و تجمع خون شد. با این حال در ترکیب اسانس و ۵۰ppb آفلاتوکسین تغییرات قابل توجهی در کاهش آسیب‌های بافتی دیده نشد. همانند نتایج پژوهش حاضر، وجود آفلاتوکسین در جیره غذایی گربه ماهی کانالی موجب نکروز شدید کبد، بافتهای خونساز و لوزالمعده و همچنین افزایش سلولهای التهابی و خیز سلولهای کبدی شد (Jantratail and Lovell, 1990). متابولیسم مایکوتوکسین‌ها منجربه ایجاد ترکیبات سمی در اندام‌ها و سلول‌های مختلف بدن می‌شود (Bondy and Pestka, 2000; Oswald and Comera, 1998). همچنین سم آفلاتوکسین به همراه ترکیبات سمی حاصل از آن ممکن است در شکل گیری رادیکال‌های آزاد که منجر به تخریب سلول‌های کبدی می‌گردند، نقش داشته باشند (Hagen *et al.*, 2002). همچنین در پی ایجاد آسیب‌های بافتی، میزان استرس اکسیداتیو در بافت درگیر افزایش می‌یابد (Muriel, 2009). در واقع اثرات تعاملی رادیکال‌های آزاد ناشی از تجمع سم در بافت کبد، می‌تواند موجب اختلال در کارکرد آن شود (Ganz, 2003). تغییر شرایط اکسیداسیون/احیا سلولی در بافت کبد به دلیل وجود آفلاتوکسین B1

www.SID.ir

Archive of SID

در جیره غذایی ماهیان پرورشی نیازمند بررسی‌های بیشتری است.

در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به دلیل عوارض کم و دارا بودن ترکیبات فعال با خاصیت آنتی اکسیدانی، همواره مورد توجه بوده است. Osawa و Kato در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که منابع گیاهی می‌توانند بافت‌ها را از آسیب‌های ناشی از وجود رادیکال‌های آزاد حفظ کنند. Khosravi و همکاران (۲۰۱۳) نیز طی مطالعه‌ایی گزارش کردند عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی قادر به مهار اثرات اکسیدانی ایزونیازید و تولید رادیکال آزاد در موش‌ها است. در مطالعه حاضر نیز اسانس دارچین نقش حفاظتی قابل توجهی برای بافت کبد داشت که می‌تواند به دلیل اثرات محافظتی و حمایتی آن بر سلول‌های بافت کبد باشد. البته این اثر حفاظتی بسته به غلظت سم موجود در جیره غذایی ماهیان داشت و در مقادیر بالای سم نقش حفاظتی اسانس دارچین چشم‌گیر نبود. تعامل میان ترکیبات فعال گیاهی از جمله فلاوونوئیدها و غشاء سلولی یکی دیگر از مهمترین مکانیسم‌های عملکرد این ترکیبات محسوب می‌شود (Verstraeten *et al.*, 2010). اسانس دارچین نیز ممکن است با تثبیت غشاء سلولی، شدت آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد. علاوه بر این، اسانس دارچین می‌تواند با مهار رادیکال‌های آزاد و افزایش سرعت ترمیم سلولی از پیشرفت آسیب‌ها بکاهد. در این میان آنتی اکسیدان‌ها به عنوان اصلی‌ترین راه مبارزه با رادیکال‌های آزاد و بازسازی سلول‌های تخریب شده مطرح هستند. علاوه بر این، موجب افزایش کارایی سیستم ایمنی بدن در مقابل انواع بیماری‌ها می‌گردد.

نتیجه آنکه آفلاتوکسین سبب تخریب بافت کبد و در نتیجه آزاد سازی آنزیم‌های بافتی (انواع ترانسفرازهای مورد بررسی در این پژوهش) به جریان خون گردید. همچنین تخریب بافتی ناشی از آفلاتوکسین B1 تا حدودی به وسیله اسانس دارچین بهبود یافت. بنابراین اسانس دارچین می تواند گزینه مناسبی برای کاهش اثرات سوء سموم به ویژه در بافت کبد باشد. با این وجود بررسی سازوکار حفاظتی اسانس دارچین و سایر ترکیبات گیاهی با تاکید بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و همچنین بررسی کلیت غشاء سلولی و تعامل میان ترکیبات زیست فعال گیاهی و غشاء سلولی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی حاصل آورد که در تهیه و فرمولاسیون جیره‌های غذایی آبزیان موثر خواهد بود.

References

Acar, Ü., Kesbiç, O.S., Yılmaz, S., Gültepe, N., Türker, A., 2015. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture* 437, 282-286.

Ahmad, M. H., El Mesallamy, A. M., Samir, F., Zahran, F. 2011. Effect of Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum)* on Growth Performance, Feed Utilization, Whole-Body Composition, and Resistance to *Aeromonas hydrophila* in Nile Tilapia. *Journal of Applied Aquaculture* 23(4), 289–298.

Alishahi, M., Halimi, M., Khansari, A., Yavari, V., 2015. Extracts of *Oliviera decumbens* and *Satureja* khuzestanica as immunostimulants affect some innate immunity indices of *Cyprinus carpio* against *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture Research* 1-8. doi:10.1111/are.12742.

Autrup, J.L., Schmidt, J., Autrup, H., 1993. Exposure to aflatoxin B_1 in animal feed production plant workers. *Environmental Health Perspectives* 99, 195-197.

Azimi, J., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A., Ahari, H., 2013. Effects of adding of two commercial absorbent materials and natural zeolite to the diets contaminated with aflatoxin B_1 on broiler performance and their immune system. *Iranian Journal of Animal Science Research* 4 (4), 292-297 (in Persian).

Bauer, D. H., Lee. D. J., Sinnhuber, R. O., 1969. Acute toxicity of aflatoxins B_1 and G_1 in rainbow trout. *Toxicology and Applied Pharmacology* 15(2), 415-419.

Bondy, G.S., Pestka, J.J., 2000. Immunomodulation by fungal toxins. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews* 3(2), 109-143.

Boonyaratpalin, M., Supamattaya, K., Verakunpiriya, V., Suprasert, D., 2001. Effects of aflatoxin B_1 on growth performance, blood components, immune function and histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). *Aquaculture Research* 32(s1), 388–398.

Boujard, T., Burel, C., Médale, F., Haylor, G., Moisan, A., 2000. Effect of past nutritional

www.SID.ir

Archive of SID

history and fasting on feed intake and growthin rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Living Resources* 13(3), 129-137.

Buentello, A., Jirsa, D., Barrows, F.-T., Drawbridge, M., 2013. Minimizing fishmeal use in juvenile California yellowtail, *Seriola lalandi*, diets using non-GM soybeans selectively bred for aquafeeds. *Aquaculture* 435, 403-411.

Celik, I., Sur, E., 2003. Effects of aflatoxin B_1 on the development of the bursa of Fabricius and blood lymphocyte acid phosphatase of the chicken. *Journal of British Poultry Science* 44, 558–66.

Celik, I., Oguz, H., Demet, O., Boydak, M., Donmez, H.H.M., Sur, E., Nizamlioglu, F., 2000. Embryotoxicity assay of aflatoxin produced by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. *British Poultry Science* 41(4), 401-409.

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.

Chavez-Sanchez, M.C., Palacios, C.M., Moreno, I.O., 1994. Pathological effects of feeding young *Oreochromis niloticus* diets supplemented with different levels of aflatoxin B_1. *Aquaculture* 127(1), 49-60.

Clerton, P., Troutaud, D., Verlha, V., Gabraudan, J., Deschaux, P., 2001. Dietary vitamin E and rainbow *trout* (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: effect on gut and on head kidney leucocytes. *Fish and Shellfish Immunology* 11, 1-13.

Denli, M., Blandon, J.C., Guynot, E.M., Salado, S., Perez, J.F., 2009. Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes, and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B_1. *Poultry Science* 88, 1444–1451.

Dong, G., Xie, S., Zhu, X., Han, D., Yang, Y., Song, L., Gan, L., Chen, W., 2012. Responses of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson) exposed to dietary cyanobacteria and subsequent recovery. *Toxicon* 60(7), 1298-1306.

Donmez, N., Donmez, H. H., Keskin, E., Kısadere., I ., 2012. Effects of Aflatoxin on Some Haematological Parameters and Protective Effectiveness of Esterified Glucomannan in Merino Rams. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-4.

El-Boshy, M.E., El-Ashram, A.M.M., El-Ghany, N.A.A., 2008. Effect of dietary beta 1,3 glucan on immunomodulation on diseased *Oreochromis niloticus* experimentally infected with aflatoxin B_1. In Proceedings of 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 1109-1127.

Farzaneh, M., Kiani, H., Sharifi, R., Reisi, M., Hadian, J., 2015. Chemical composition and antifungal effects of three species of Satureja (*S. hortensis*, *S. spicigera*, and *S. khuzistanica*) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 109, 145-151.

Fernandez, A., Hernandez, M., Verde, M.T., Sanz, M., 2000. Effect of aflatoxin on performance, hematology and clinical immunology in lambs. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 64, 53-58.

Ferraris, R.P., Tan, J.D., Dela Cruz, M.C., 1987. Development of the digestive tract of Milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): histology and histochemistry. *Aquaculture* 61(3), 241-257.

Gallo, A., Masoero, F., Bertuzzi, T., Piva, G., Pietri, A., 2010. Effect of the inclusion of adsorbents on aflatoxin B_1 quantification in animal feedstuffs. *Food Additives and Contaminants* 27(1), 54-63.

Ganz, T., 2003. Iron homeostasis. *Cell Metabolism* 7, 288-290.

Hagen, K., Eckes, K., Melefors, Ö., Hultcrantz, R., 2002. Iron overload decreases the protective effect of tumour necrosis factor-α on rat hepatocytes exposed to oxidative stress. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 37(6), 725-731.

Hahm, D. H., Yeom, M., Lee, E. H., Shim, I., Lee, H. J., Kim, H.Y., 2001. Effect of *Scutellariae radix* as a novel antibacterial herb on the ppk (Polyphosphate kinase) mutant of *Salmonella typhimurium*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 11(6), 1061-1065.

Han, D., Xie, S., Zhu, X., Yang, Y., Guo, Z., 2010. Growth and hepatopancreas performances of gibel carp fed diets containig low levels of aflatoxin B_1. *Aquaculture Nutrition* 16, 335-342.

Hooft, J.M., Abdel Hakeem, I.E., Encarnação, P., Bureau, D., 2011. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is extremely sensitive to the feed-borne Fusarium mycotoxin deoxynivalenol (DON). *Aquaculture* 311, 224–232.

Jantratail, W., Lovell, R.T., 1990. Subchronic toxicity of dietary aflatoxin B_1 to channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 2, 248-254.

Jindal, N., Mahipal, S.K., Mahajan, N.K., 2005. Toxicity of aflatoxin B_1 in broiler chicks and its reduction by activated charcoal. *Research in Veterinary Science* 56, 37-40.

Kazemipour, Y., Rezaei, M., Keyvani, Y., 2005. Qualitative comparison of effects of garlic and mallow and motherworth extracts in healing of superfacial wounds in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Pajouhesh-va-*

www.SID.ir

Archive of SID

Sazandegi (66 in Animal and Fisheries Sciences) 17(1), 93-97 (in Persian).

Kececi, T., Oguz, H., Kurtoglu, V., Demet, O., 1998. Effects of polyvinylpolypyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *British Poultry Science* 39(3), 452-458.

Khosravi, M., Khakpour, S., Tajadod, G., Tokazabani Balasi, F., 2013. Effect of *Salvia officinalis* hydroalcoholic extract on liver enzymes in male rat. *Medical Sciences* 23 (2), 113-119 (in Persian).

Kim, D.H., Austin, B., 2006. Cytokine expression in leucocytes and gut cells of rainbow trout, Oncorhynchus *mykiss*, induced by probiotics. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 114(3), 297-304.

Koohi, M.K., Shahroziyan, E., Daraei, B., Javaheri, A., Sadeghi Hashjin, G., 2011. The pretreatment effects of pentoxifylline on aflatoxin B_1-induced oxidative damage in perfused rat liver. *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 5(1), 43-47.

Lee, D.G., Kim, H.K., Park, Y., Park, S.C., Woo, E.R., Jeong, H.G., Hahm, K.S., 2003. Gram-positive bacteria specific properties of silybin derived from *Silybum marianum*. *Archives of Pharmacal Research* 26(8), 597-600.

Liu, Y., Wang, W., 2016. Aflatoxin B_1 impairs mitochondrial functions, activates ROS generation, induces apoptosis and involves Nrf2 signal pathway in primary broiler hepatocytes. *Animal Science Journal* (in Press).

Lovell, R. T., 2003. Diet and Fish Husbandry, In: John E. Halver and Ronald W. Hardy (Eds), Fish Nutrition (3rd Edition). Academic Press, San Diego, pp. 703-754.

Mohapatra, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Prusty, A.K., Kumar, V., Kumar, S., 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.

Muriel, P., 2009. Role of free radicals in liver diseases. *Hepatology International* 3(4), 526-536.

Mushlova, Z., Schindler, I., Staeck, W., 2009. Desscription of *Andinoacara stalsbergi* (Teleostei: Cichlidae: Cichlasomatini) from pacific coastal rivers in Peru/and annotation on the phylogeny of the genus. *Vertebrate Zoology* 59,131-141.

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

Osawa, T., Kato, Y., 2005. Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. Annals of the New York Academy of Sciences 1043(1), 440-451.

Oswald, I.P., Comera, C., 1998. Immunotoxicity of mycotoxins. *Revue de Medecine Veterinaire* 149, 585–590.

Rezaei, M.H., Sourinejad, I., Soltanian, S., Yousefzadi, M., 2012. Study of some growth and hematology indices of catfish *Pangasianodon hypophthalmus* after diet supplementation with *Salvia macrosiphon* extract. *Journal of Aquatic Ecology* 2 (2), 43-28 (in Persian).

Roozi, Y., Moraki, N., Zoriyeh Zahra, S.J., Haghighi, M., 2013. Effect of different levels of powdered cinnamon (*Cinnamomum zeylanicm*) in the diet of fish green terror (*Andinocara rivulatus*) index, blood glucose and survival. *Breeding and Aquaculture Sciences Quarterly* 1(3), 41-52 (in Persian).

Santacroce, M.P., Conversano, M.C., Casalino, E., Lai, O., Zizzadoro, C., Centoducati, G., Crescenzo, G., 2008. Aflatoxins in aquatic species: metabolism, toxicity and perspectives. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 18(1), 99-130.

Sepahdari, A., Ebrahimzade Mosavi, H.A., Sharifpour, I., Khosravi, A., Motallebi, A.A., Mohseni M., Kakoolaki S., Pourali H.R., Hallajian A., 2010. Effects of different dietary levels of AFB_1 on survival rate and growth factors of Beluga (*Huso huso*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 9(1), 141-150.

Selim, K. M., El-hofy, H., Khalil, R. H., 2014. The efficacy of three mycotoxin adsorbents to alleviate aflatoxin B_1-induced toxicity in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture International* 22(2), 523-540.

Simmons, A., 1997. Hematology Simmons and Butterworth Heinemann Medical. University Press, UK, 507 p.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Rumsey, G. L., 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 41(1), 125-139.

Stroka, J., Anklam, E., Joerissen, U., Gilbert, J., 2001. Determination of aflatoxin B_1 in baby food (infant formula) by immunoaffinity column cleanup liquid chromatography with postcolumn bromination: collaborative study. *Journal of AOAC International* 84(4), 1116-1123.

Tsoumas, J. V., Alderman, D. J., Rodgers, C. J., 1998. *Aeromonas salmonicida*, development of resistance to 4- quinolone antimicrobials. *Journal of Fish Disease* 12(5), 493–507.

Van Vleet, J.F., Ferrans, V.J., 1992. Etiologic

www.SID.ir

Archive of SID

factors and pathologic alterations in selenium-vitamin E deficiency and excess in animals and humans. *Biological Trace Element Research* 33(1-3), 1-21.

Verstraeten, S.V., Fraga, C.G., Oteiza, P.I., 2010. Flavonoids-Membrane Interactions: Consequences for Biological Actions. In: Fraga, C.G., (Ed.), Plnat Phenolics and Human Helath: Biochemistry, Nutrition and Pharmacology. John Wiley and Sons Incorporation, New Jersey, pp. 108-135.

Williams, J.H., Phillips, T.D., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M., Aggarwal, D., 2004. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80(5), 1106-1122.

Zhou, X-Y., Zhang, T., Ren, L., Wu, J-J., Wang, W., Liu, J-X., 2016. Copper elevated embryonic hemoglobin through reactive oxygen species during zebrafish erythrogenesis. *Aquatic Toxicology* 175, 1-11

Zychowski, K.E., Hoffmann, A.R., Ly, H.J., Pohlenz, C., Buentello, A., Romoser, A., Gatlin, D.M., Phillips, T.D., 2013a. The effect of aflatoxin-B_1 on red drum (*Sciaenops ocellatus*) and assessment of dietary supplementation of Novasil for the prevention of aflatoxicosis. *Toxins* 5(9), 1555-1573.

Zychowski, K.E., Pohlenz, C., Mays, T., Romoser, A., Hume, M., Buentello, A., Gatlin, D.M., Phillips, T.D., 2013b. The effect of NovaSil dietary supplementation on the growth and health performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed aflatoxin-B_1 contaminated feed. *Aquaculture* 376, 117–123.

www.SID.ir