شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۴، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰
صفحات ۱۰۶-۹۷

عوارض هیستوپاتولوژیک سموم آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون بر بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حامد غفاری فارسانی[۱]، احمد ایمانی[۱*]، تئو نیوولد[۲]، کنستانزه پیچ اشمید[۳]، کوروش سروی مغانلو[۱]

[۱] گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
[۲] بخش تغذیه و سلامت، گروه بیوسیستم، دانشکده مهندسی علوم زیستی ، هورلی، کی یو-لوون، بلژیک
[۳] انستیتوی علوم منابع طبیعی (IUNR) ، دانشگاه علمی کاربردی زوریخ (ZHAW) ، گرونتال، شماره صندوق پستی، ۸۸۲۰، وادنسویل، سوئیس

تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱۱/۰۳ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۸**

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی عوارض بافتی ناشی از سموم آفلاتوکسین ب ۱ و زیرالنون بر بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انجام گرفت. در این مطالعه تعداد ۵۴۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن ۰/۲۳± ۱۲/۰۷ گرم (انحراف معیار ± میانگین) در ۹ تیمار آزمایشی با سه تکرار طی ۶۰ روز با جیره محتوی غلظت‌های متفاوت آفلاتوکسین ب ۱ و زیرالنون به طور جداگانه و همزمان تغذیه شدند. در این رابطه، از غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیارد (ppb) آفلاتوکسین ب ۱ و ۳۰۰ و ۶۰۰ ppb زیرالنون برای تغذیه ماهیان استفاده شد. پس از پایان دوره آزمایش، بافت کبد ماهیان نمونه‌برداری و آسیب‌های بافتی بصورت کیفی و نیمه کمی مورد بررسی قرارگرفت. عوارض بافت‌شناسی ناشی از مواجه بافت کبد ماهی با آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون شامل نکروز و تغییر شکل هپاتوسیت‌ها بود. شدت ضایعات بافتی با افزایش سطح جیره‌ای آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون بصورت جداگانه و همزمان افزایش یافت. نتایج نشان داد که شدت این آسیب‌ها در ماهیان دریافت کننده جیره حاوی همزمان سموم آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون بیشتر از سایر تیمارها بود.

واژگان کلیدی: مایکوتوکسین، زیرالنون، هیستوپاتولوژی، جیره غذایی، آلودگی، قزل‌آلای رنگین کمان

* نویسنده مسئول: احمد ایمانی
Email: a.imani@urmia.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 74, No. 1, Spring 2021
pp. 97-106

Histopathological effects of aflatoxin B_1 and zearalenone on liver tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Hamed Ghafarifarsani[1], Ahmad Imani[1*], Theo A. Niewold[2], Constanze Pietsch-Schmied[3], Kourosh Sarvi Moghanlou[1]

[1] Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
[2] Nutrition and Health Unit, Department of Biosystems, Faculty of Bioscience Engineering, Heverlee, KU Leuven, Belgium
[3] Institute of Natural Resource Sciences (IUNR), Zurich University of Applied Sciences (ZHAW), Grüental, P.O. Box, 8820, Wädenswil, Switzerland

Received: 16-Feb-2021 **Accepted: 22-Jan-2021**

Abstract
The aim of this study was to evaluate the histological effects of aflatoxin B_1 (AFB_1) and zearalenone (ZEA) on the liver tissue of the rainbow trout. In this study, 540 rainbow trout 12.07±0.23 g (Mean±SD), as 9 experimental treatments with three replications were fed separately and simultaneously with diets containing different concentrations of AFB_1 and ZEA over 60 days. In this regard, the concentrations of 50 and 100 ppb AFB_1 and 300 and 600 ppb of ZEA were used. At the end of the experimental period, the liver tissue was sampled and pathological changes were qualitatively and semi-quantitatively examined. The toxin-induced histological damage included necrosis and deformation of hepatocytes. The severity of tissue lesions increased with increasing dietary levels of AFB_1 and ZEA separately and simultaneously. The results showed that the severity of lesions was higher in fish receiving diets containing combinations of AFB_1 and ZEA in comparison to other treatments.

Keyword: Mycotoxin, Zearalenone, Histopathology, Diet**,** Contamination, Rainbow trout.

Corresponding author: Ahmad Imani Email: a.imani@urmia.ac.ir

۱. مقدمه

آلودگی خوراک آبزیان با سموم قارچی از مشکلات جدی صنعت آبزی‌پروری است، که با توجه به نقش خوراک بویژه در سامانه متراکم پرورش آبزیان می‌تواند آسیب جدی اقتصادی در پی داشته باشد (Matejova, 2017). آفلاتوکسین‌ها (Aflatoxins) مهم‌ترین سموم قارچی‌اندکه توسط گونه‌های مختلف جنس *Aspergillus* و برخی گونه‌های *Penicillum* طی نگهداری و برداشت اقلام غذایی و همچنین انبارداری مواد اولیه و خوراک تولید می‌شوند (Boonyaratpalin *et al*., 2001; Hooft *et al*., 2011). از میان انواع مختلف آفلاتوکسین، آفلاتوکسین ب۱ (AFB_1) سمی‌ترین، فراوان‌ترین و قوی‌ترین ترکیب سم قارچی تلقی می‌شود (Chavez-Sanchez *et al*., 1994; Bennett and Klich, 2003). این سم، درحال حاضر یکی از مهمترین سموم قارچی تحت نظارت سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (FDA) است (Aggarwal *et al*., 2004; Imani *et al*., 2017). آفلاتوکسین در دام و طیور موجب کاهش سرعت رشد و سرکوب سیستم ایمنی، عوارض کبدی، ... و سرانجام افزایش هزینه های تولید می‌شود (Boonyaratpalin *et al*., 2001; Sahoo and Mukherjee, 2001; Gopinath *et al*., 2009).

زیرالنون نیز نوعی سم قارچی است که اغلب توسط گونه‌هایی از قارچ فوزاریوم، مانند *Fusarium graminearum* و *Fusarium culumorum* تولید می‌شود. سمیت زیرالنون در ماهیان طی مطالعات مختلفی گزارش شده است (Schwartz *et al*., 2010; Woźny *et al*., 2015; Muthulakshmi *et al*., 2018; Wang *et al*., 2019).

قرارگرفتن آبزیان در معرض آلودگی سموم قارچی می‌تواند سبب بسیاری از آسیب‌های بافتی شود،که ممکن است در دراز مدت به اندام‌های داخلی نفوذ کرده و بر وضعیت و فرآیندهای فیزیولوژیکی آبزی تأثیر بگذارد (Yancheva *et al*., 2016). ضایعات بافت‌شناسی به عنوان نشانگرهای زیستی در پایش وضعیت سلامت آبزیان در رابطه با آلاینده‌ها مطرح است (Hedayati and Hassan NatajNiazie, 2015). بررسی‌های بافت شناسی معمولا از اندام‌هایی خاص مانند کلیه، کبد، آبشش، مغز، روده که عمدتا وظیفه عملکردهای حیاتیدر ماهیان دارند مانند دفع، تنفس، تجمع و انتقال زیستی زنوبیوتیک‌ها انجام می‌شود (Chamarthi *et al*., 2014; Abarghuei *et al*., 2016; Yancheva *et al*., 2016).

کبد مهمترین اندام جهت متابولیسم و سم‌زدایی است. با این وجود، توانایی کبد در کاهش سمیت آلاینده‌ها می‌تواند با افزایش غلظت‌های این ترکیبات تحت تاثیر قرار گیرد، که ممکن است آسیب‌های ساختاری به همراه داشته باشد (Cengiz and Unlu, 2006; Velmurugan *et al*., 2009).

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یک گونه اقتصادی بسیار مهم و دارای رشد سریع است و نیز از گونه های سازگارباشرایط پرورش است. اگرچه مطالعات بسیاری در مورد تاثیر سموم آفلاتوکسین بر آبزیان در کشور گزارش شده است (Motallebi Moghanjouei, 2016; Khani *et al*., 2017; Imani *et al*., 2017; Mahmoudi Kia *et al*., 2019; Imani *et al*., 2020; Ghafarifarsani *et al*., 2021)، با این وجود مطالعات محدودی در مورد تاثیر همزمان آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون بر بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شده است. همچنین در دیگر نقاط جهان نیز پژوهش‌های محدودی در این زمینه گزارش شده است (Woźny *et al*., 2015; Hooft *et al*., 2019).

اثرات احتمالی آفلاتوکسین درگونه‌های مختلف ماهی از جمله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*)، گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، بررسی شده است (Jantrarotai *et al*., 1990 a,b; Sahoo *et al*., 2001; Sahoo and Mukherjee, 2002)، مطالعات صورت گرفته نشان داده است که قزل‌آلای رنگین کمان حساس‌ترین گونه ماهی به آفلاتوکسین ب۱ است (Santacroce *et al*., 2008).

مطالعه Sahoo و همکاران در سال ۲۰۰۱ در زمینه

بررسی اثرات حاد و تحت مزمن آفلاتوکسین ب۱ بر ماهی کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) نشان داد که تغییرات در اندام‌های مختلف وابسته به دوز و زمان مواجهه است. به دلیل اهمیت روز افزون توجه به حضور سموم قارچی در نهاده‌های غذایی، بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان میزان شدت تخریب این سموم را در بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص کرده و میزان خطرات احتمالی این سموم را در خوراک آبزیان پیش‌بینی نمود. بررسی تغییرات نکروزی و عروقی در کبد و نیز نکروزی در لوله‌های کلیوی و ضخیم شدن مخاط روده از دیگر تغییرات مشاهده شده تحت تاثیر سمیت حاد این سم در این پژوهش بود.

لذا، هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر سموم آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون بر بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و شدت اثرگذاری آن است.

۲. مواد و روش کار

تعداد ۵۴۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۲۳± ۱۲/۰۷ گرم (انحراف معیار ± میانگین) از یکی از مراکز پرورش ماهی خصوصی واقع در شهرستان ارومیه تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه پرورش آبزیان دانشگاه ارومیه منتقل شد. ماهی‌ها در ابتدا به مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند. طی مدت سازگاری، ماهیان با خوراک ساخت کارخانه ۲۱ بیضا سه بار در روز به میزان ۰/۵درصد وزن بدن تغذیه شدند (Boujard *et al*., 2000). مخازن و سایر تجهیزات پرورش مورد استفاده قبل از ذخیره‌سازی، به وسیله محلول تجاری هیپوکلریت سدیم (۵ درصد) کاملاً ضدعفونی و سپس با آب شستشو داده شدند. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۹ تیمار (۸ جیره آزمایشی و یک جیره شاهد) با سه تکرار انجام شد. ماهیان در مخازن ۲۰۰ لیتری (با حجم آبگیری ۱۲۰ لیتر) به تعداد ۲۰ قطعه در هر مخزن توزیع شدند. یکی از تیمارها به گروه شاهد اختصاص یافت که با غذای تجاری بدون سم تغذیه شدند و سایر تیمارها به ترتیب با جیره‌های غذایی حاوی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیارد (ppb) آفلاتوکسین ب۱ و ۳۰۰ و ۶۰۰ قسمت در میلیارد زیرالنون و ترکیب آن‌ها (جدول ۱) به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. طی مدت آزمایش ماهیان به میزان ۲ درصد وزن بدن طی سه نوبت در روز تغذیه شدند. برای تنظیم میزان غذای مورد نیاز، کل ماهیان هر مخزن هر دو هفته یکبار توزین شدند. البته ماهیان پیش از هر بار توزین به مدت ۲۴ ساعت قطع غذا شدند (Imani *et al*., 2017). در طی دوره آزمایش اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکو-شیمیایی آب مخازن، به‌صورت روزانه صورت گرفت. شرایط نوری به‌صورت ۱۳ ساعت روشنایی و ۱۱ ساعت تاریکی تنظیم شد. شاخص های فیزیکو-شیمیایی آب نظیر دما و میزان اکسیژن محلول و pH با استفاده از اکسیژن متر قابل حمل (USA, HANA instrument) و pH متر اندازه‌گیری شد. بچه ماهیان در میانگین دمای ۱±۱۸ (انحراف معیار ± میانگین) درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول ۰/۵±۷/۸ و pH ۶/۹-۷/۷ نگهداری شدند. همچنین جهت حفظ کیفیت آب و خروج مواد زائد، غذای خورده نشده و مدفوع بصورت روزانه سیفون شد.

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی

تیمار	آفلاتوکسین ب ۱ (ppb)	زیرالنون (ppb)
۱	۰	۰
۲	۵۰	۰
۳	۱۰۰	۰
۴	۰	۳۰۰
۵	۰	۶۰۰
۶	۵۰	۳۰۰
۷	۵۰	۶۰۰
۸	۱۰۰	۳۰۰
۹	۱۰۰	۶۰۰

۲.۱. ساخت جیره آزمایشی و غذادهی

برای این منظور غذای تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از کارخانه خوراک دام، طیور و آبزیان ۲۱ بیضا سپیدان، فارس تهیه (جدول ۲) و سپس سطوح مورد نظر سم آفلاتوکسین ب۱ (غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ppb، وزن مولکولی ۳۱۲/۲۷ گرم بر مول) (Imani *et al*., 2017) و زیرالنون (۳۰۰ و ۶۰۰ppb زیرالنون، وزن مولکولی ۳۱۸/۳۶ گرم بر مول) (Pietsch, 2017) با خلوص ۹۸ درصد (سیگما، آلمان) به جیره غذایی تجاری افزوده شدند. در هر تیمار، مقدار محاسبه شده سم برای دست‌یابی به دوزهای مورد نظر، ابتدا با الکل اتیلیک ۹۹ درصد به حجم مورد نظر رسانده شد و سپس به صورت جداگانه روی غذاها اسپری گردید. به منظور یکسان‌سازی شرایط، در مورد تیمار شاهد (فاقد سم) مقدار مساوی الکل خالص روی غذا اسپری شد. غذاهای آماده شده به روش فوق به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. به منظور محافظت غذاها و جلوگیری از رها شدن سموم و ورود آنها به محیط آب، غذاهای آماده شده به روش فوق، توسط لایه‌ای از ژلاتین گاوی طبق روش Ramsden و همکاران (۲۰۰۹) پوشانده شدند. برای این منظور ابتدا محلول ۱۰ درصد ژلاتین گاوی در آب مقطر تهیه و روی هر یک از انواع غذاها (هر ۸ تیمار و گروه شاهد) به صورت یکنواخت اسپری گردید. در پایان، غذاها به مدت ۱۲ ساعت دیگر، در دمای اتاق خشک شدند. البته باید توجه داشت که فرایند آماده‌سازی غذا به منظور جلوگیری از فساد و در دسترس بودن مواد افزودنی ۲ هفته یکبار انجام شد. سرانجام دان‌های تهیه شده در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار کوچک به همراه مقداری ژل نم‌گیر با ثبت تاریخ ساخت، میزان سم مورد استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. طی آزمایش برای غذادهی ماهیان در هر گروه آزمایشی، یک کیسه معین از جیره غذایی آن گروه از یخچال بیرون آورده شد و بعد از توزین، به صورت جداگانه در هر ظرف، مجددا مابقی غذا به یخچال منتقل گردید.

جدول ۲- تجزیه تقریبی جیره تجاری (شرکت ۲۱ بیضا) مورد استفاده در تغذیه بچه ماهیان قزل‌آلا

پروتئین خام	چربی خام	فیبر خام	خاکستر	رطوبت	فسفر کل
۴۶/۱	۱۵/۶	۲/۲	۱۰/۳	۷/۳	۰/۸

۲.۲. نحوه نمونه‌برداری جهت بررسی بافت‌شناسی

جهت انجام بافت‌شناسی، پس از بیهوش کردن ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک (۲۵۰ قسمت در میلیون)، نمونه‌برداری از بافت کبد (۳ قطعه ماهی از هر تکرار) صورت گرفت.

۲.۳. بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت کبد

نمونه‌ها با روش مرسوم بافت شناسی کلاسیک مورد مطالعه بافتی قرار گرفتند. به این ترتیب که ابتدا نمونه‌های بافتی در محلول بوئن به مدت ۷۲ ساعت تثبیت شدند. سپس به ترتیب مراحل آبگیری، شفاف‌سازی با گزیلول، آغشتگی با پارافین و قالب‌گیری انجام شد. پس از مراحل آماده‌سازی بافتی و تهیه بلوک‌های پارافینی، مقاطعی به ضخامت ۵ میکرون از بافت‌ها تهیه و به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری و بزرگ‌نمایی ۴۰۰ بررسی شدند. برای توصیف شدت تغییر آسیب شناسی از روش Booman *et al*. (2018) استفاده شد.

۲.۴. کمی‌سازی آسیب بافتی

برای توصیف شدت آسیب‌های بافتی، بافت بدون آسیب (normal=۰)، آسیب بافتی ضعیف (faint=۱)، آسیب بافتی متوسط (moderate=۲)، آسیب بافتی

متو سط تا شدید (۳=moderate to intensive) و آ سیب بـافتی شـــدید (۴=intensive) در نظر گرفتـه شـــد (Booman *et al*., 2018).

۲.۵. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

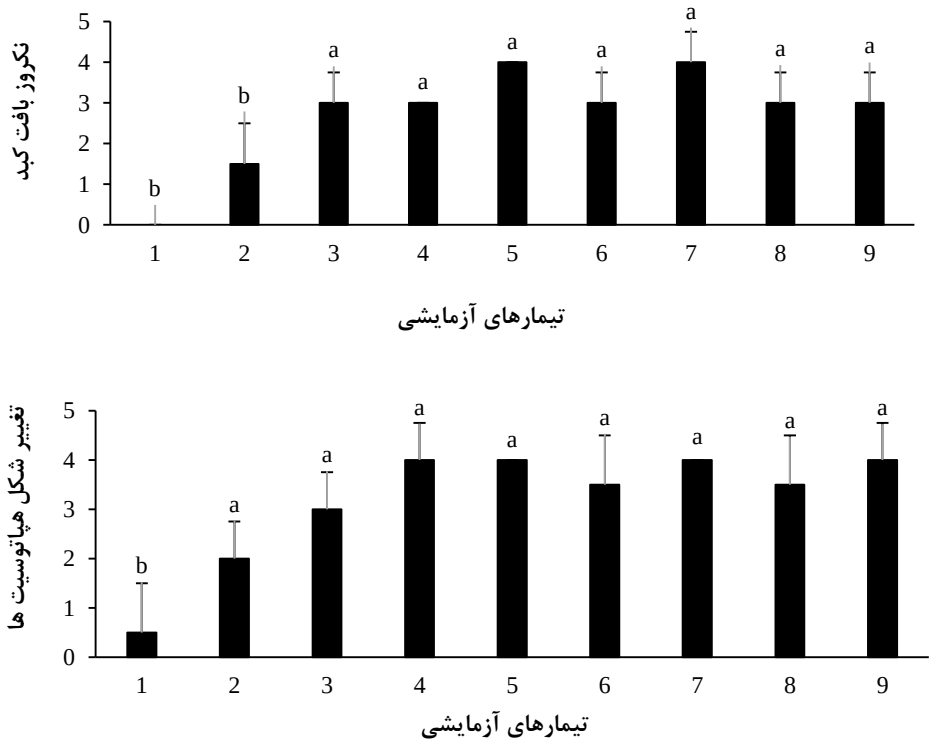
داده‌ها با ا ستفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ و با اســتفاده از آزمون Friedman تجزیه واریانس شـدند. همچنین، از آزمون مقـایســـه جفتی نـاپـارامتری Mann-Whitney U پس از اصـــلاح Bonferroni جهت تشـخیص تفاوت های میان گروهی اسـتفاده شـد. نتایج بصورت میانه ± فاصله بین چارکی (IQR) ارائه شدند.

۳. نتایج

هیستوپاتولوژی کبد

مشاهدات نیمه‌کمی آ سیب‌های بافت کبد در شکل ۱ ارائه شده ا ست. همچنین نتایج آ سیب شنا سی بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف سم آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون در شکل ۲ نمایش داده شده است.

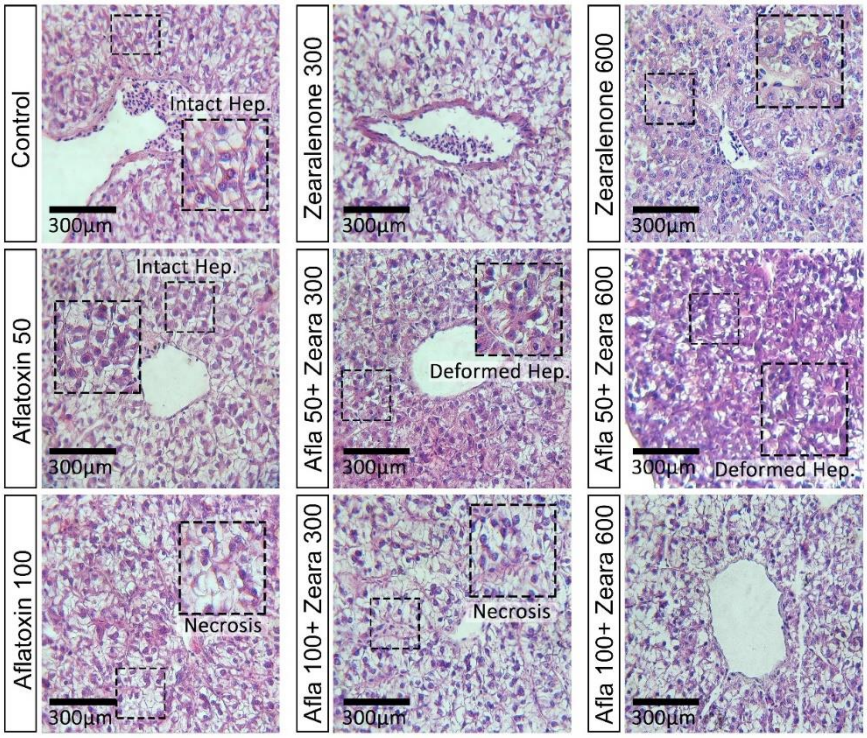
شدت آسیب‌های بافتی در ماهیان تغذیه شده با جیره محتوی آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون به صورت جداگانه و همزمان به طور معنی‌داری بالاتر از کنترل بودند (شـــکل ۱، P <۰/۰۵). در این رابطـه، شـــدت نکروز در کلیـه تیمارهای آفلاتوکســـین ب۱ و زیرالنون و ترکیب آن‌ها بالاتر از تیمار ppb ۵۰ آفلاتوکســـین ب۱ بود (شـــکل ۱، P <۰/۰۵). همچنین شـــدت آســـیب‌های بافتی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آفلاتوکســـین ب۱ و زیرالنون نشان ندادند (شکل ۱، P >۰/۰۵). بالاترین شدت تغییر شکل هپاتوسیت‌ها در تیمارهای ۳۰۰ (۰/۷۵±۴/۰)، ppb ۶۰۰ زیرالنون (۰/۰±۴/۰)، ۵۰ و ppb ۱۰۰ آفلاتوکســـین ب۱ به همراه ppb ۶۰۰ زیرالنون (۰/۰±۴/۰ و ۰/۷۵±۴/۰) مشاهده شد (شکل ۱، P <۰/۰۵).



شکل ۱- نمودارمشاهدات نیمه‌کمی تغییرات بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون به مدت ۶۰ روز.

حروف انگلیسی غیر مشترک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها (فاصله بین چارکی ± میانه) در سطح P<۰/۰۵ است.

ضـــایعه بافتی خاصـــی در کبد ماهیان گروه کنترل مشاهده نشد (شکل ۲). وجود آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون به جیره غذایی منجر به تغییرات گســـترده بافتی در کبد ماهیان قزل آلای انگشـــت قد مورد مطالعه شـــامل نکروز (Necrosis) و تغییر شـــکل هپا توســـیت‌ها (Deformed hepatocyte) شد (شکل ۲).



شکل ۲- برش عرضی بافت کبد ماهیان گروه‌های مختلف آزمایشی در پایان دوره پرورش (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین با درشت‌نمایی ۴۰۰). هپاتوسیت سالم (Intact hepatocyte)؛ نکروز (Necrosis)؛ تغییر شکل هپاتوسیت (Deformed hepatocyte).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

آلودگی خوراک آبزیان با ســـموم قارچی بخصـــوص آفلاتوکســـین ب۱ و زیرالنون موجب کاهش کارایی رشـــد، ایمنی، تولیدمثل و ســـایر فرآیندهای فیزیولوژیک آبزیان می‌شود (Santacroce *et al*., 2008; Imani *et al*., 2017; Pietsch, 2020).

در مطالعه حاضر، تغذیه ماهیان با جیره غذایی محتوی سموم آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون حتی در غلظت ۵۰ و ۳۰۰ ppb قســـمت در میلیارد به مدت محدود ۶۰ روز باعث آسیب‌هایی در بافت کبد نظیر نکروز و تغییر شکل هپاتوســـیت‌ها شـــد. در مطالعه حاضـــر، غلظت‌های آفلاتوکسین مورد استفاده در جیره ماهیان بسیار بالاتر از حد مجاز مورد تایید مقررات ایران و اتحادیه اروپا (ISIRI, 2002; Pietsch, 2020) بود. در مقابل، غلظت‌های زیرالنون در محدوده توصیه شده بودند (Knutsen *et al*., 2017, EFSA). طبق مطالعات حداقل غلظت تاثیر زیرالنون بر بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان ۱۸۰۰ ppb گزارش شده است (Knutsen *et al*., 2017, EFSA). مشابه نتایج این تحقیق، مطالعات مختلفی تاثیر ســـموم قارچی بر بافت کبد را گزارش کرده‌اند. در مطالعه Sahoo و همکاران (۲۰۰۱) دوز حاد (۵/۷۵-۷/۱۳ ppb) آفلاتوکســـین ب۱ تغییرات نکروزی و عروقی در کبد ماهی کپور هندی روهو ایجاد

کرد. Tuan و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که جیره‌های حاوی ppb ۱۰ آفلاتوکسین ب۱ باعث نکروز کبدی شدید در تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) می‌شود.

همچنین نتایج مطالعه Hooft و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که مواجه با دی‌اکسی‌نی‌والنول (DON) باعث تومورهای کبدی در ماهی قزل آلای رنگین کمان می شود. تشکیل ندول‌های سفید تا زرد رنگ، اتساع عروق خونی، تخریب سیتوپلاسم، تجمع خون، نفوذ سلول‌های ایمنی و نکروز، رسوب چربی و واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم و دیگر تغییرات بافت‌شناسی کبد را ناشی از تاثیر آفلاتوکسین ب۱ می دانند (Woźny *et al*., 2015; Khani *et al*., 2017; Mwihia *et al*., 2018). علاوه بر آفلاتوکسین ب۱، تاثیر زیرالنون نیز بر بافت کبد ماهیان در برخی مطالعات گزارش شده است. در مطالعه Woźny و همکاران (۲۰۱۵)، استفاده از ppb ۱/۸۱ زیرالنون در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان آسیب‌های بافتی شامل نکروز، واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم و تجمع ماکروفاژ را در بافت کبد به همراه داشت.

مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که استرس اکسیداسیون و تولید رادیکال‌های فعال آزاد عامل اصلی آسیب‌های بافتی ناشی از سموم قارچی اند. بنابراین، آسیب‌های بافتی ناشی از آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون ممکن است ناشی از استرس اکسیداسیون ناشی از این سموم باشد. به طور کلی، آفلاتوکسین‌ها بخصوص آفلاتوکسین ب۱، عاملی سرطان‌زا در بسیاری از گونه‌ها از جمله انسان، پرندگان، خوک‌ها ، ماهی‌ها و جوندگان به شمار می آیند. استرس اکسیداسیون ناشی از آفلاتوکسین‌ها موجب آسیب ماکرو مولکول‌هایی مانند DNA، پروتئین و لیپیدها می‌شود که نتیجه نهایی آن ایجاد تومورها و آسیب‌های بافتی می‌باشد (Marin and Taranu, 2012). متابولیسم سم در کبد موجب تشکیل متابولیت‌ها و رادیکال‌های آزاد می شود که این متابولیت‌ها با اتصال و واکنش با ساختار ماکرو مولکول‌ها ساختار آن‌ها را تغییر و عملکردشان را مختل می‌کند (Marin and Taranu, 2012).

نتیجه‌گیری کلی

به عنوان جمع‌بندی نهایی می‌توان عنوان کرد که مواجهه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با سطوح مورد مطالعه آفلاتوکسین ب۱ و زیرالنون، باعث ایجاد اثرات تخریبی بر بافت کبد در این گونه می‌شود. همچنین، این عوارض بافتی با افزایش غلظت سموم و حضور همزمان آن‌ها در جیره غذایی شدت خواهد یافت.

۵. منابع

References

Abarghuei, S., Hedayati, A., Ghorbani, R., Kolangi, H., Bagheri, T. 2016. Histopathological effects of waterborne silver nanoparticles and silversalt on the gills and liver of goldfish. *International Journal of EnvironmentalScience and Technology* 13(7), 1753–1760.

Aggarwal, B. B., Bhardwaj, A., Aggarwal, R. S., Seeram, N. P., Shishodia, S., Takada, Y. 2004. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: Preclinical and clinical studies. *Anticancer Research*, 24(5A), 2783–2840.

Bennett, J. W., Klich, M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16(3), 497–516.

Booman, M., Forster, I., Vederas, J.C., Groman, D.B., Jones, S.R. 2018. Soybean mealinduced enteritis in Atlantic salmon (*Salmosalar*) and Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) but not in pink salmon (*O. gorbuscha*). *Aquaculture* 483, 238–243.

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 (*PenaeusmonodonFabricius*). *Aquaculture Research* 32(s1), 388-398.

Boujard, T., Burel, C., Médale, F., Haylor, G., Moisan, A. 2000. Effect of past nutritional history and fasting on feed intake and growth in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Living Resources* 13(3), 129-137.

Cengiz, E.I., Unlu, E. 2006. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish*Gambusiaaffinis*, A microscopic study. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 21(3): 246-253.

Chamarthi, R. R., Bangeppagari, M., Gooty, J. M., Mandala, S., Tirado, J. O., Marigoudar, S. R. 2014. Histopathological alterations in the gill, liver and brain of *Cyprinus carpio* on exposure to quinalphos. *American Journal of Life Sciences* 2(4), 211-216.

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.

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), Knutsen, H-K, Alexander, J, Barregård, L, Bignami, M, Brüschweiler, B, Ceccatelli, S, Cottrill, B, Dinovi, M, Edler, L, Grasl-Kraupp, B, Hogstrand, C, Hoogenboom, LR, Nebbia, CS, Petersen, A, Rose, M, Roudot, A-C, Schwerdtle, T, Vleminckx, C, Vollmer, G, Wallace, H, Dall'Asta, C, Dänicke, S, Eriksen, G-S, Altieri, A, Roldán-Torres, R and Oswald, IP, 2017. Scientific opinion on the risks for animal health related to the presence of zearalenone and its modified forms in feed. *EFSA Journal* 15(7), 4851, 123 pp.

Ghafarifarsani, H., Kachuei, R., & Imani, A. 2021. Dietary supplementation of garden thyme essential oil ameliorated the deteriorative effects of aflatoxin B_1 on growth performance and intestinal inflammatory status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 531, 735928.

Gopinath, R., Paul Raj, R. 2009. Histological alterations in the hepatopancreas of *Penaeus monodon Fabricius* (1798) given aflatoxin B_1-incorporated diets. *Aquaculture Research* 40, 1235-1242.

Hedayati, A., Hassan NatajNiazie, E. 2015. Hematological changes of silver carp in response to diazinon pesticide. *Journal of EnvironmentalHealth Science and Engineering* 13(1), 52.

Hooft, J. M., Elmor, A. E. H. I., Encarnação, P., Bureau, D. P. 2011. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is extremely sensitive to the feed-borne fusariummycotoxindeoxynivalenol (DON). *Aquaculture*, 311(1), 224-232.

Hooft, J. M., Ferreira, C., Lumsden, J. S., Sulyok, M., Krska, R., Bureau, D. P. 2019. The effects of naturally occurring or purified deoxynivalenol (DON) on growth performance, nutrient utilization and histopathology of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Aquaculture 505*, 319-332.

Imani, A., Bani, M. S., Noori, F., Farzaneh, M., Moghanlou, K. S. 2017. The effect of bentonite and yeast cell wall along with cinnamon oil on aflatoxicosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Digestive enzymes, growth indices, nutritional performance and proximate body composition. *Aquaculture* 476, 160-167.

Imani, A., Sarvi Moghanlou, K., Ghafari Farsani, H., Mahmoudi, S. S., Noori, F., Farzaneh, M. 2020. Histopathological effect of aflatoxin B_1 on some internal tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries* 73(2), 149-161.

ISIRI 5925 (Institute of Standard and Industrial Research of I.R. Iran), 2002. Maximum Tolerated Limits of Mycotoxins in Foods and Feeds. National Standard No. 5925.

Jantrarotai, W., Lovell, R. T. 1990 a. Sub chronic toxicity of dietary aflatoxin B_1 to channel catfish. *Journal Aquatic Animal Health* 2, 248–254.

Jantrarotai, W., Lovell, R. T., Grizzle, J. M. 1990 b. Acute toxicity of dietary aflatoxin B_1 to channel catfish. *Journal Aquatic Animal Health*, 2, 237–247.

Khani, S., Sarvimoghanlou, K., Imani, A., Agh, N., Razi, M. 2017. The Protective Effect of Dietary Cinnamon Essential Oil (*Cinnamomumverum*) Supplementation in Reducing the Toxicity of Aflatoxin B_1 to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fingerlings, *Journal of Fisheries* 69(4), 481-495 (In Persian).

Mahmoudi Kia, Z., Imani, A., SarviMoghanloo, K., Razi, M. 2019. Effect of simultaneous rearing densities, Aflatoxin B_1 toxin and herb powder mixture on digestive physiology of rainbow trout. *Iranian Journal of Fisheries* 28(1), 107-117 (In Persian).

Marin, D. E., Taranu, I. 2012. Overview on aflatoxins and oxidative stress. *Toxin Reviews* 31(3-4), 32-43.

Matejova, I. 2017. Impact of mycotoxins on aquaculture fish species: A review. *Journal of the World Aquaculture Society* 48, 186-200.

Motallebi Moghanjouei, M., 2016. Study and evaluation of economical and wellbeing effects of aflatoxins in some Iranian aquaculture. *Research project of the Fisheries Sciences Research Institute of Iran*. pp. 298 (In Persian).

Muthulakshmi, S., Maharajan, K., Habibi, H. R., Kadirvelu, K., Venkataramana, M. 2018. Zearalenone induced embryo and neurotoxicity in zebrafish model (*Daniorerio*): role of oxidative stress revealed by a multi biomarker study. *Chemosphere* 198, 111-121.

Mwihia, E. W., Mbuthia, P. G., Eriksen, G. S., Gathumbi, J. K., Maina, J. G., Mutoloki, S., Lyche, J. L. 2018. Occurrence and levels of aflatoxins in fish feeds and their potential effects on fish in Nyeri, Kenya. *Toxins* 10(12), 543.

Pietsch, C. 2020. Risk assessment for mycotoxin contamination in fish feeds in Europe. *Mycotoxin research* 36(1), 41-62.

Ramsden, C.S., Smith, T.J., Shaw, B. J., Handy, R.D. 2009. Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): no effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. *Ecotoxicology* 18(7), 939-951.

Sahoo, P. K., Mukherjee, S. C. 2002. Influence of high dietary α-tocopherol intakes onspecificimmune response, nonspecific resistance factors and disease resistance ofhealthy and aflatoxin B_1-induced immunocompromised Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition* 8(3), 159–167.

Sahoo, P. K., Mukherjee, S. C., Nayak, S. K., Dey, S. 2001. Acute and subchronic toxicity of aflatoxine B_1 to rohum *Labeo rohita* (Hamilton). *Indian Journal of Experimental Biology* 39, 453-458.

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.

Schwartz, P., Thorpe, K. L., Bucheli, T. D., Wettstein, F. E., Burkhardt-Holm, P. 2010. Short-term exposure to the environmentally relevant estrogenic mycotoxin zearalenone impairs reproduction in fish. *Science of the Total Environment 409*(2), 326-333.

Tuan, N. A., Grizzle, J. M., Lovell, R. T., Manning, B. B., Rottinghaus, G. E. 2002. Growth and hepatic lesions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B_1. *Aquaculture* 212(1-4), 311-319.

Velmurugan, B., Mathews, T., Cengiz, E. I. 2009. Histopathological effects of cypermethrin on gill, liver and kidney of fresh water fish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), and recovery after exposure. Environmental technology 30(13), 1453-1460.

Wang, Y. L., Zhou, X. Q., Jiang, W. D., Wu, P., Liu, Y., Jiang, J., ... Feng, L. 2019. Effects of dietary zearalenone on oxidative stress, cell apoptosis, and tight junction in the intestine of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodonidella*). *Toxins* 11(6), 333.

Woźny, M., Dobosz, S., Obremski, K., Hliwa, P., Gomułka, P., Łakomiak, A., Brzuzan, P. 2015. Feed-borne exposure to zearalenone leads to advanced ovarian development and limited histopathological changes in the liver of premarket size rainbow trout. *Aquaculture 448*, 71-81.

Yancheva, V., Velcheva, I., Stoyanova, S., Georgieva, E. 2016. Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. *Applied Ecology and Environmental Research* 14(1), 47-75.