



اثر خوراک آلوده به سطوح مختلف آفلاتوکسین ب ۱ و زیرالنون بر عملکرد رشد و آسیب‌شناسی بافت روده و آبشش ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

سیده ژینو حسینی^۱، احمد ایمانی^{۲*}، آریا وزیرزاده^۳، کوروش سروی مغانلو^۴، مزدک رازی^۴

۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. دانشیار گروه مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴. دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸

چکیده

در این مطالعه اثر آفلاتوکسین B₁ (AFB₁) و زیرالنون (ZEA) خوراک روی ماهی قرمز، *Carassius auratus*، مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع تعداد ۵۴۰ قطعه ماهی قرمز انگشت‌قد با میانگین وزنی ۶/۲۵±۰/۱۲ گرم به‌صورت تصادفی در قالب ۹ تیمار آزمایشی با ۳ تکرار با جیره‌های غذایی آزمایشی شامل سه سطح AFB₁ (۰، ۵۰، ۱۰۰ ppb) و سه سطح ZEA (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ ppb) به مدت ۶۰ روز مورد آزمایش قرار گرفتند. شاخص‌های رشد و تغذیه و همچنین آسیب‌های بافتی وارد بر آبشش و روده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که آلودگی خوراک با AFB₁ و ZEA باعث کاهش عملکرد رشد و شاخص‌های تغذیه‌ای گروه‌های آزمایشی شد؛ بیشترین و کمترین میزان ضریب رشد حرارتی (TGC)، وزن نهایی بدن (FBW)، افزایش وزن بدن (WG) و ضریب رشد روزانه (DGC) به ترتیب متعلق به گروه کنترل و AFB₅₀ZEA₁₀₀₀ بود ($P < 0/05$). اگرچه شاخص‌های تغذیه‌ای، از جمله نسبت بازده پروتئین (PER)، ارزش پروتئین تولیدی (PPV) و بازده چربی (LER) در بین گروه‌های آزمایشی مختلف تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P > 0/05$)، اما ماهی‌های تغذیه شده با خوراک حاوی ۵۰۰ ppb ZEA کمترین مقدار LPV را داشتند ($P < 0/05$). همچنین بیشترین میزان التهاب بافت روده (۴/۰±۰/۷۵) و نکروز (۴/۰±۰/۷۵) در گروه AFB₁₀₀ ZEA₅₀₀ مشاهده شد ($P < 0/05$). همچنین، استفاده همزمان از AFB₁ و ZEA در جیره غذایی شدت آسیب‌های بافتی شامل اتصال رشته‌های آبششی، هایپرپلازی، احتقان و خونریزی را تقریباً در تمامی تیمارهای حاوی AFB₁ و ZEA افزایش داد ($P < 0/05$). بنابراین، خوراک حاوی AFB₁ و ZEA می‌تواند سبب کاهش شاخص‌های عملکرد رشد ماهی حتی در غلظت‌هایی کمتر از سطوح امن توصیه شده برای آبزیان گردد. به عبارتی باید در مورد آستانه ایمن مایکوتوکسین‌ها در خوراک از نظر سلامتی و عملکرد ماهی تجدید نظر شود.

کلمات کلیدی: مایکوتوکسین، رشد، بافت‌شناسی، ماهی، آبی‌پروری



Effect of diet contaminated with different levels of aflatoxin B₁ and zearalenone on growth performance and pathology of the intestine and gills in goldfish, *Carassius auratus*

**Seyedeh Zhino Hoseyni¹, Ahmad Imani^{2*}, Arya Vazirzadeh³,
Koorosh Sarvi Moghanloo², Mazdak Razi⁴**

1. Ph.D Candidate, Department of Fisheries Sciences, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

3. Associate Professor, Department of Natural Resources and Environmental Engineering, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

4. Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 08-Jan-2023

Accepted: 30-Apr-2023

Abstract

The effects of dietary aflatoxin B₁ (AFB₁) and zearalenone (ZEA) co-contamination on goldfish, *Carassius auratus*, was investigated. Total of 540 *C. auratus* fingerlings with an average body weight of 6.25±0.12g were randomly distributed in nine different experimental groups with 3 replicates comprised of three dietary levels of AFB₁ (0, 50 and 100ppb) and ZEA (0, 500 and 1000ppb). Fish were fed with the experimental diets for 60 days. Then growth and nutritional indicate and pathology of gill and intestinal tissue were investigated. The results showed that dietary AFB₁ and/or ZEA contamination depressed the growth performance, and nutritional indices of the experimental groups; the highest and lowest WG, final body weight, TGC and DGC were belonged to control group and AFB₅₀ZEA₁₀₀₀, respectively ($P<0.05$). Although the nutritional indices, including PER, PPV and LER, were not significantly different among the experimental groups ($P>0.05$), the fish fed the diet containing 500 ppb ZEA had the lowest value of LPV ($P<0.05$). The highest intestine tissue inflammation (4.0±0.75) and necrosis (4.0±0.75) scores were observed in AFB₁₀₀ZEA₅₀₀ group ($P>0.05$). Also, the simultaneous presence of AFB₁ and ZEA in the diet increased the severity of the gill tissue damage, including hyperplasia, congestion, hemorrhage, and lamellar fusion in almost all treatments containing AFB₁ and ZEA ($P<0.05$). The results revealed that dietary co-contamination of AFB₁ and ZEA could negatively affect fish performance at concentration even lower than those indicated in the literature implying that the safe feed mycotoxin thresholds would be revised in terms of fish welfare and performance.

Keywords: Mycotoxins, Growth, Pathology, Fish, Aquaculture

۱. مقدمه

(۲۰۰۸) بیان کردند که سطح AFB_1 در خوراک ماهی ممکن است $0/46$ ppb تا $68/5$ ppb میلیون گرم/گرم باشد. با این حال، Gonçaves و همکاران (۲۰۲۰) غلظت بالاتری از AFB_1 (غلظت‌های بالاتر از 200 ppb) را در نمونه‌های خوراک ماهی قاره آسیا و آفریقا ثبت کردند. به‌علاوه، AFB_1 خوراک در سطوح 1 یا 2 ppb منجر به افت متابولیسم (یعنی متابولیت‌های پراثری هم در پلاسما و هم در کبد) و اختلال در رشد در ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) شده است (Barany et al., 2021). همچنین، Pietsch (۲۰۲۰) بررسی کرد که در غلظت بیش از 563 ± 252 ppb ماهی ممکن است علائمی از قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی با AFB_1 نشان دهد.

مایکوتوکسین‌ها عمدتاً توسط سلول‌های کبدی متابولیزه می‌شوند. با این حال، AFB_1 در طول جذب روده‌ای متابولیزه می‌شود و روده را به‌عنوان یک مکان فعال و اصلی سم‌زدایی AFB_1 نشان می‌دهد که منجر به کاهش تحویل AFB_1 به کبد می‌شود (Sergent et al., 2008). AFB_1 با عملکرد سیتوکروم P450 به یک ماده حد واسط واکنش‌پذیر، $AFB_1-8,9$ -epoxide تبدیل می‌شود (Santacroce et al., 2008). متابولیت اپوکسید می‌تواند با مولکول‌های زیستی مختلف از جمله DNA اثر متقابل داشته باشد (Coppock et al., 2018) که متعاقباً خطر ابتلا به سرطان‌های کبد، به‌ویژه کارسینوم‌های سلول‌های کبدی را افزایش می‌دهد (Sherratt and Hayes, 2001). علاوه بر این، تبدیل زیستی AFB_1 منجر به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) می‌شود (Shen et al., 1996).

ZEA نیز نوعی متابولیت قارچی است که عمدتاً توسط *Fusarium culmorum* و *Fusarium graminearum* تولید می‌شود (Muthulakshmi et al., 2018). ZEA به‌عنوان یک مایکواستروژن غیر استروئیدی، نسبتاً در آب محلول است و پایداری حرارتی دارد (Ryu et al., 2003). برخی از مطالعات وجود ZEA را در خوراک ماهی گزارش کرده‌اند. به‌عنوان مثال، Mwihi و همکاران (۲۰۲۰)

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های سمی ثانویه از گروه‌های متنوعی از قارچ‌های سمی هستند که در سراسر جهان مواد غذایی را آلوده می‌کنند (Bennett and Kilch, 2003). آلودگی خوراک آبزیان با مایکوتوکسین‌ها از مشکلات جدی صنعت آبی‌پروری است (Matejova, 2017). افزایش مصرف مواد اولیه با منشاء گیاهی در تنظیم جیره غذایی و جایگزینی آن‌ها با نهاده اولیه غذایی دریایی موجب افزایش احتمال آلودگی جیره‌های غذایی آبزیان به مایکوتوکسین‌ها شده است (Spring and Fegan, 2005; Marroquín-Cardona et al., 2014). در میان مایکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها، اوکراتوکسین A، فومونیسین‌ها، دی‌اکسی‌نی‌والنول و زیرالونین به‌عنوان مهم‌ترین سموم شناخته می‌شوند (Pitt, 2013). در واقع، قرار گرفتن طولانی مدت و یا مزمن در معرض مایکوتوکسین‌ها منجر به واکنش‌های التهابی و همچنین اختلال در عملکرد اندام‌های مختلف بدن می‌شود. به‌عنوان مثال، کبد، روده و کلیه به‌عنوان بافت‌های آسیب‌پذیر شناخته می‌شوند. علاوه بر این، براساس مطالعه Becit و همکاران (۲۰۱۷)، مایکوتوکسین‌ها قادر به اعمال اثرات ژنوتوکسیک و سرطان‌زا نیز هستند.

آفلاتوکسین‌ها مهم‌ترین متابولیت‌های قارچی هستند که توسط گونه‌های مختلف جنس *Aspergillus* و برخی گونه‌های مربوط به جنس پنی سیلیوم *Penicillium* طی نگهداری، برداشت و انبارداری تولید می‌شوند (Bennett and Kilch, 2003; Hoof et al., 2011).

آفلاتوکسین‌ها ترکیبات محلول در چربی هستند و به‌راحتی توسط سلول‌های اپیتلیال روده یا آبشش به جریان خون جذب می‌شوند (Agag, 2004). در بین آفلاتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها ب 1 AFB_1 سمی‌ترین، فراوان‌ترین و قوی‌ترین متابولیت محسوب می‌شود (Bennett and Klich, 2003). Santacroce و همکاران

حاوی 50 ppb AFB₁ مشاهده شد (Gonçalves *et al.*, 2018).

با توجه به اینکه احتمال بروز همزمان دو یا چندین سموم قارچی در اقلام اولیه غذایی و همچنین جیره غذایی نهایی افزایش یافته است و از آنجا که تاکنون مطالعه‌ای در خصوص بررسی قابلیت ماهی حوض در متابولیسم کبدی و روده‌ای مجزا و همزمان سموم قارچی آفاتوکسین و زیرالنون صورت نگرفته است، این مطالعه می‌تواند اطلاعات مفیدی در ارتباط با توانایی این گونه در میزان تحمل و قابلیت سم‌زدایی همزمان این سموم فراهم آورد. در این مطالعه اثرات منفرد و ترکیبی AFB₁ و ZEA خوراکی بر عملکرد رشد و اثرات بافت‌شناسی روده و آبشش ماهی حوض *Carassius auratus* مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش کار

۲.۱. تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاهی

این آزمایش به مدت ۶۰ روز در آزمایشگاه تحقیقات آبی‌پروری دانشگاه ارومیه انجام شد. ۵۴۰ قطعه بچه ماهی قرمز انگشت قد *C. auratus* از یک مزرعه محلی تهیه شد. پس از دو هفته سازگاری با شرایط جدید، ماهی‌ها در هر واحد آزمایشی مجدداً وزن شده و به‌طور تصادفی به ۹ تیمار آزمایشی با ۳ تکرار تقسیم شدند. هر گروه آزمایشی شامل ۲۰ قطعه ماهی انگشت‌قد با میانگین وزنی $6/25 \pm 0/12$ گرم بود. واحدهای آزمایشی مخازن ۱۰۰ لیتری استوانه‌ای پلی اتیلن حاوی ۸۰ لیتر آب هوادهی شده بود. دوره نوری در طول دوره پرورش طبیعی بود. پارامترهای کیفیت آب از جمله اکسیژن محلول ppm $0/7 \pm 4/7$ ، $pH=7/6-7/9$ و دما ۲۴ درجه سانتی‌گراد، روزانه تحت نظارت قرار گرفت و با جایگزینی ۶۰ درصد از آب هر واحد آزمایشی با آب به‌خوبی هوادهی شده تازه، در شرایط بهینه ماهی نگهداری شدند. تمام واحدها روزانه برای خارج کردن مدفوع و باقی‌مانده غذای خورده نشده ۳۰ دقیقه پس از تغذیه سیفون شدند. ماهی‌ها روزانه برای

مشاهده کردند که ۴۰ درصد از نمونه‌های خوراک آلوده به ZEA در محدوده $>38/0$ تا $747/9 \text{ ppb}$ با غلظت متوسط و میانگین 136 ppb و $58/8$ بود. در مطالعه Greco و همکاران (۲۰۱۵)، بالاترین غلظت ZEA در خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین کمان 88 ppb بود. ZEA همچنین در تمام نمونه‌های خوراک تجاری کپور ماهیان با غلظت متوسط $67/9 \text{ ppb}$ یافت شد (Pietsch *et al.*, 2013). در مطالعه دیگری بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، غلظت ZEA در خوراک ماهی و نمونه‌های بافت تخمدان به ترتیب $81/8 \text{ ppb}$ و $7/1 \text{ ppb}$ بود (Woźny *et al.*, 2013). Pietsch (۲۰۲۰) تأکید کرد که کمترین سطح اثر مشاهده شده (LOEL) برای هر گونه پاسخ ایمنی در گونه‌های مختلف ماهی در معرض رژیم غذایی آلوده به ZEA $583 \pm 163 \text{ ppb}$ می‌باشد. با این حال، 1800 ppb به‌عنوان LOEL در قزل‌آلای رنگین‌کمان از نظر بافت‌شناسی کبد و رشد تخمدان در نظر گرفته شد. به‌طور کلی، ZEA در قسمت فوقانی روده جذب می‌شود (Kowalska *et al.*, 2016). واکنش‌های تغییر شکل زیستی عمدتاً در کبد رخ می‌دهد، اما ممکن است اندام‌های دیگر (به‌عنوان مثال کلیه‌ها و روده‌ها) نیز درگیر شوند (Santacroce *et al.*, 2008). قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی آلوده شده با ZEA ممکن است برخی از عملکردهای فیزیولوژیکی را در گونه‌های مختلف ماهی مختل کند. به‌عنوان مثال، تغذیه با رژیم غذایی حاوی ZEA در 2 ppm منجر به اختلال در عملکرد تخمدانی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود (Woźny *et al.*, 2013). Ghafarifarsani و همکاران (۲۰۲۱) کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده و پارامترهای ایمنی سرم در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی ZEA 600 ppb را گزارش کردند. تغذیه ماهی *Acipenser dabryanus* با خوراک حاوی ZEA 1030 ppb منجر به کاهش پارامترهای بیوشیمیایی سرم، از جمله گلوکز، تری‌گلیسیرید و پروتئین کل به همراه پیکنوز هسته‌ای بافت کبد شد (Wu *et al.*, 2021). همچنین، کاهش در میزان افزایش وزن گربه ماهی (*Pangasius hypophthalmus*) تغذیه شده با خوراک

بررسی وجود هرگونه علائم بالینی بیماری یا ناهنجاری‌های خارجی بررسی شدند.

۲.۲. جیره‌های غذایی آزمایشی و غذادهی

برای تهیه جیره غذایی آزمایشی، از رژیم غذایی پایه (جدول ۱) با پس‌زمینه AFB_1 و ZEA به ترتیب >0.5 و $59/33$ ppb استفاده شد. در ادامه محلول‌های اتانولی AFB_1 (۰، ۵۰ و ۱۰۰ ppb) (Imani et al., 2017) و ZEA (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppb) (Pietsch et al., 2017) با خالص سازی ۹۸ در صد (TLC و HPLC، سیگما آلمان)

جدول ۱- ترکیب تقریبی جیره غذایی پایه

انرژی قابل هضم (kcal.kg)	۴۰۰۰
رطوبت٪	<۱۰
خاکستر٪	<۱۲
فیبر خام٪	<۳
فسفر٪	۱/۱
چربی خام٪	۱۰±۲
پروتئین خام٪	۳۵±۲
قطر خوراک میلی‌متر	۰/۵-۰/۸

جدول ۲- تیمارهای آزمایشی

تیمار	عنوان تیمار	AFB_1 (ppb)	ZEA (ppb)
۱	A_0Z_0	۰	۰
۲	$A_{50}Z_0$	۵۰	۰
۳	$A_{100}Z_0$	۱۰۰	۰
۴	A_0Z_{300}	۰	۵۰۰
۵	A_0Z_{600}	۰	۱۰۰۰
۶	$A_{50}Z_{300}$	۵۰	۵۰۰
۷	$A_{50}Z_{600}$	۵۰	۱۰۰۰
۸	$A_{100}Z_{300}$	۱۰۰	۵۰۰
۹	$A_{100}Z_{600}$	۱۰۰	۱۰۰۰

۳.۲. شاخص‌های رشد و تغذیه

در پایان آزمایش، ماهی‌ها توسط عصاره آبی پودر گل میخک (۲۰۰ mg/l) بیهوش و وزن شدند. در این راستا،

غذادهی ماهیان ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی قطع شد. در پایان شاخص‌های رشد و تغذیه طبق معادلات زیر محاسبه شدند (Mohammadi et al., 2020).

شدند.

۲.۴.۲. مشاهدات هیستوپاتولوژیک کمی و نیمه کمی

همه ضایعات از ۰ تا ۴ درجه بندی شدند که در درصد درگیری اندام متفاوت بودند. امتیاز ۰ نشان دهنده بافت بدون آسیب است (هیچ تغییر بافتی مشاهده نشد)؛ امتیاز ۱ حاکی از درگیری اندام تا ۲۵ درصد است و به عنوان اندام با تغییرات خفیف درجه بندی می شود؛ امتیاز ۲ که ۲۶ تا ۵۰ درصد تغییرات بافتی را نشان می دهد و نشان دهنده زوال اندام خفیف تا متوسط است؛ امتیاز ۳ که ۵۱ تا ۷۵ درصد تغییرات بافتی را نشان می دهد و دلالت بر تغییرات پاتولوژیک بافتی متوسط تا شدید دارد، و امتیاز ۴ که بیش از ۷۵ درصد درگیری بافتی را نشان می دهد و نشان دهنده آسیب بافتی بسیار شدید است (Tasa et al., 2020).

۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تجزیه و تحلیل آماری تمام داده ها با استفاده از نرم افزار آماری IBM SPSS نسخه ۲۰ انجام شد (IBM Corp, NY, USA). نرمال بودن توزیع داده ها و همگنی واریانس ها به ترتیب قبل از انجام آنالیز واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA)، با آزمون های Shapiro-Wilk's و Levene's بررسی شد. همچنین از آزمون Tukey' HSD برای مقایسه های جفتی پس از اصلاح Bonferroni جهت تشخیص تفاوت های میان گروهی استفاده شد. مشاهدات بافت شناسی نیمه کمی با استفاده از آزمون غیر پارامتری Friedman، و به دنبال آن آزمون Mann-Whitney-U به صورت زوجی بین گروه های آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی داری تمام آزمون ها کمتر از ۵ درصد در نظر گرفته شد و نتایج به صورت Mean±SE گزارش شد.

۳. نتایج

۱.۳. شاخص های رشد و تغذیه

(گرم) W_1 وزن اولیه - (گرم) W_2 وزن نهایی = (گرم، WG)

میانگین وزن - میانگین وزن نهایی = $[(WG, \%) = 100 \times (\text{میانگین وزن اولیه}) / (\text{میانگین وزن نهایی})]$ درصد افزایش وزن

$100 \times [(W_2^{1/3} - W_1^{1/3}) / (\text{مدت زمان})]$ (DGC) ضریب رشد روزانه

که W_1 و W_2 به ترتیب وزن اولیه و وزن نهایی ماهی ها پس از ۶۰ روز دوره پرورش می باشد.

پروتئین مصرفی / افزایش وزن = (PER) نسبت راندمان پروتئین

پروتئین مصرفی / افزایش پروتئین = (PPV) مقدار پروتئین تولیدی

چربی مصرفی / افزایش چربی = (LPV) مقدار چربی تولیدی

چربی مصرفی / افزایش وزن = (LER) نسبت بازدهی چربی

۴.۲. بافت شناسی

۱.۴.۲. آماده سازی اسلاید و مشاهدات هیستوپاتولوژیک

سه ماهی از هر تیمار به طور تصادفی برداشت و با استفاده از عصاره آبی پودر میخک بیهوش شدند و با ضربه محکم به سر به طور انسانی کشته شدند (Ghafarifarsani et al., 2021). پس از آن، برش شکمی ایجاد و ناحیه فوقانی روده (پروگزیمال) به همراه دومین کمان آبششی سمت چپ جدا شد و به آرامی با محلول نمکی ۰/۹ درصد سرد شسته و روی حوله کاغذی پیچیده شد. نمونه ها به مدت ۷۲ ساعت در محلول بوئن تثبیت شدند و در نهایت در محلول بافر فرمالدئید ۴ درصد و pH ۶/۹ تا آماده سازی برش ها نگهداری شدند. پس از مراحل آبگیری و پارافینه کردن، مقاطع بافتی فوق نازک (۴ میکرومتر) تهیه شد و روی لامها قرار گرفت و با روش استاندارد هماتوکسیلین-ئوزین رنگ آمیزی شد (Nazdar et al., 2017). مقاطع بافت روده برای وجود التهاب و نکروز مورد بررسی قرار گرفت. مقاطع بافت آبشش برای علائم پاتولوژیک شامل آنوریسم، خونریزی عروقی، دژنراسیون سلولی، ادم، چسبندگی کامل و هیپرپلازی لاملاها، لاملاهای تخریب شده و نکروز بررسی

تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۵۰۰ ppb ZEA کمترین مقدار LPV را داشتند ($P < 0.05$ ، جدول ۴).

۲.۳. بافت‌شناسی

عکس گرفته شده با میکروسکوپ نوری از بافت روده و آبشش گروه‌های آزمایشی مختلف به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. براساس مشاهدات بافت‌شناسی در روده (جدول ۶) التهاب بافتی و نکروز به‌طور قابل توجهی به‌صورت وابسته به دوز با افزایش سطح ZEA و AFB₁ نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. در این رابطه تغذیه ماهیان با ZEA و AFB₁ و ترکیبات آنها (AFB₁+ZEA) باعث ایجاد طیفی از ضایعات در بافت روده (شکل ۱) و آبشش (شکل ۲) شد. در بافت روده، التهاب و نکروز بافتی به‌طور قابل توجهی با افزایش سطح ZEA و AFB₁ در جیره غذایی ماهیان افزایش یافت (جدول ۶، $P < 0.05$). بیشترین التهاب در بافت روده در تیمارهای ZEA ۱۰۰۰ ppb + AFB₁ ۱۰۰ ppb و ZEA ۵۰۰ ppb + AFB₁ ۱۰۰ ppb مشاهده شدند (جدول ۶، $P < 0.05$).

جدول‌های ۳ و ۴ شامل نتایج شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای مختلف از جمله وزن نهایی بدن، ضریب رشد روزانه، ضریب رشد حرارتی، افزایش وزن بدن (WG)، نسبت بازدهی پروتئین، مقدار پروتئین تولیدی، مقدار چربی تولیدی، نسبت بازدهی چربی، WG Reduction، Relative WG، گروه‌های آزمایشی مختلف در طول دوره آزمایشی است. نتایج نشان داد که محتویات مایکوتوکسین جیره به‌طور متقابل بر عملکرد رشد ماهی تأثیر می‌گذارد، به‌طوری که ماهی‌های دریافت‌کننده جیره حاوی ۱۰۰۰ ZEA + AFB₁ ۵۰ ppb کمترین وزن نهایی بدن را نشان دادند، در حالی که ماهی‌هایی که با رژیم غذایی بدون مایکوتوکسین تغذیه شدند (یعنی گروه کنترل) بالاترین وزن نهایی بدن را داشتند ($P < 0.05$ ، جدول ۳). نتایج مشابهی برای شاخص‌های DGC، TGC، WG و WG مشاهده شد. با این حال بالاترین میزان Relative WG در گروه تغذیه شده با جیره حاوی ZEA ۱۰۰۰ ppb + AFB₁ ۵۰ ppb مشاهده شد ($P < 0.05$). اگرچه شاخص‌های تغذیه‌ای، از جمله PER، PPV و LER در بین گروه‌های آزمایشی مختلف تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P < 0.05$ ، جدول ۴)، اما ماهی‌های

جدول ۳- شاخص‌های رشد ماهی قرمز پس از قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی با سطوح مختلف AFB₁ و ZEN به مدت ۶۰ روز. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند (ستون‌های با بالانویس‌های مختلف در سطح $P < 0.05$ تفاوت معنی‌داری داشتند)

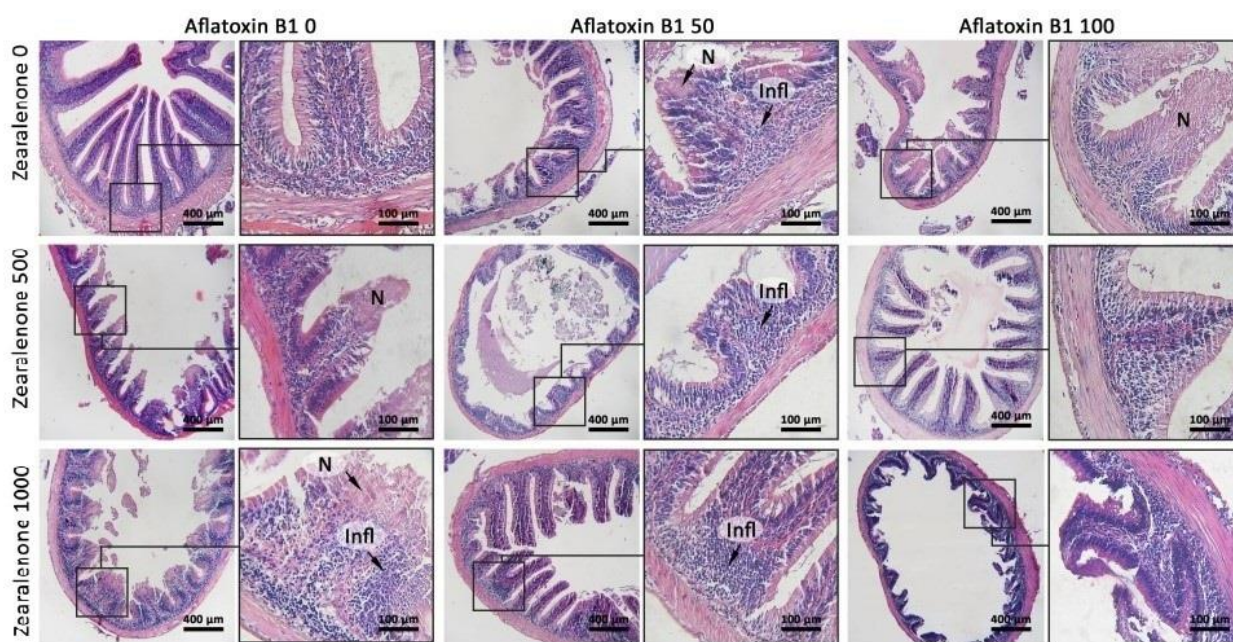
AFB ₁	ZEN	شاخص‌های رشد					
		Final body weight	WG Reduction%	Relative WG%	WG	DGC	TGC
۰	۰	۱۴/۰۲±۱/۰۲ ^a	۰/۰±۰/۰ ^a	۱۰۰/۰۰±۱۱/۷۵ ^a	۷/۸۸±۰/۹۲ ^a	۰/۹۶±۰/۰۸ ^a	۰/۳۹±۰/۰۳ ^a
۵۰	۰	۱۳/۲۹±۰/۴۹ ^{ab}	۸/۸۲±۶/۱۱ ^{ab}	۹۱/۱۸±۶/۱۱ ^{ab}	۷/۱۸±۰/۴۸ ^{ab}	۰/۹۰±۰/۰۴ ^{ab}	۰/۳۶±۰/۰۱ ^a
۱۰۰	۰	۱۱/۹۸±۰/۷۷ ^{abc}	۲۸/۶۱±۷/۳۵ ^{bc}	۷۱/۳۹±۷/۳۵ ^{bc}	۵/۶۲±۰/۵۸ ^{bc}	۰/۷۲±۰/۰۵ ^{cd}	۰/۲۹±۰/۰۲ ^{cd}
۰	۵۰۰	۱۲/۳۳±۰/۳۵ ^{abc}	۲۲/۴۰±۴/۶۴ ^{aabc}	۷۷/۶۰±۴/۶۴ ^{abc}	۶/۱۱±۰/۳۶ ^{abc}	۰/۷۸±۰/۰۳ ^{bc}	۰/۳۲±۰/۰۱ ^{bc}
۰	۱۰۰۰	۱۱/۸۵±۰/۴۲ ^{abcd}	۳۰/۱۶±۴/۸۰ ^{bc}	۶۹/۸۴±۴/۸۰ ^{bc}	۵/۵۰±۰/۳۷ ^{bc}	۰/۷۱±۰/۰۳ ^{cd}	۰/۲۹±۰/۰۱ ^{cd}
۵۰	۵۰۰	۱۱/۸۹±۰/۳۲ ^{abcd}	۲۷/۳۳±۲/۶۵ ^{bc}	۷۲/۶۷±۲/۶۵ ^{bc}	۵/۷۲±۰/۲۰ ^{a bc}	۰/۷۴±۰/۰۱ ^{bcd}	۰/۳۰±۰/۰۱ ^{bcd}
۵۰	۱۰۰۰	۹/۶۱±۰/۲۲ ^d	۵۷/۹۰±۴/۵۳ ^d	۴۲/۱۰±۴/۵۳ ^d	۳/۳۱±۰/۳۵ ^d	۰/۴۶±۰/۰۴ ^e	۰/۱۹±۰/۰۲ ^e
۱۰۰	۵۰۰	۱۱/۸۰±۰/۵۴ ^{bcd}	۳۴/۷۲±۴/۶۷ ^{a cd}	۶۵/۲۸±۴/۶۷ ^{cd}	۵/۱۴±۰/۳۶ ^{cd}	۰/۶۷±۰/۰۱ ^{cd}	۰/۲۷±۰/۰۱ ^{cd}
۱۰۰	۱۰۰۰	۱۰/۶۵±۰/۰۸ ^{cd}	۴۴/۱۵±۰/۱۸ ^{a cd}	۵۵/۸۴±۰/۱۸ ^{cd}	۴/۴۰±۰/۰۱ ^{cd}	۰/۵۹±۰/۰۰۱ ^{de}	۰/۲۴±۰/۰۰ ^{de}
آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) P-value:							
AFB ₁		۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
ZEN		۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
AFB ₁ × ZEN		۰/۱۰۵	۰/۰۲۴	۰/۰۲۴	۰/۰۲۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶

جدول ۴- شاخص‌های تغذیه‌ای ماهی قرمز پس از قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی با سطوح مختلف AFB₁ و ZEN به مدت ۶۰ روز (داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. ستون‌های با بالانویس‌های مختلف در سطح $P < 0.05$ تفاوت معنی‌داری داشتند)

AFB ₁	ZEN	شاخص‌های تغذیه‌ای			
		PPV	LPV	PER	LER
.	.	۰/۲۱±۰/۰۰ ^a	۰/۰۷±۰/۰۰ ^a	۲/۳۵±۰/۰۸ ^a	۸/۲۲±۰/۳۰ ^a
۵۰	.	۰/۱۹±۰/۲۰ ^a	۰/۰۶±۰/۰۱ ^{ab}	۲/۶۵±۰/۲۳ ^a	۹/۲۸±۰/۸۳ ^a
۱۰۰	.	۰/۱۷±۰/۰۰ ^a	۰/۰۶±۰/۰۰ ^{ab}	۱/۵۷±۰/۱۰ ^a	۵/۵۲±۰/۳۵ ^a
.	۵۰۰	۰/۱۶±۰/۰۰ ^a	۰/۰۵±۰/۰۰ ^b	۲/۳۰±۰/۰۱ ^a	۸/۰۵±۰/۰۳ ^a
.	۱۰۰۰	۰/۱۸±۰/۰۰ ^a	۰/۰۷±۰/۰۰ ^{ab}	۲/۴۰±۰/۰۴ ^a	۸/۴۱±۰/۱۶ ^a
۵۰	۵۰۰	۰/۱۷±۰/۰۳ ^a	۰/۰۶±۰/۰۰ ^{ab}	۱/۸۲±۰/۱۶ ^a	۶/۳۹±۰/۵۷ ^a
۵۰	۱۰۰۰	۰/۱۷±۰/۰۱ ^a	۰/۰۷±۰/۰۰ ^{ab}	۲/۱۷±۰/۷۷ ^a	۷/۶۱±۲/۷۲ ^a
۱۰۰	۵۰۰	۰/۱۷±۰/۰۳ ^a	۰/۰۶±۰/۰۰ ^{ab}	۲/۲۰±۰/۲۱ ^a	۷/۷۲±۰/۷۴ ^a
۱۰۰	۱۰۰۰	۰/۱۷±۰/۰۳ ^a	۰/۰۶±۰/۰۰ ^{ab}	۲/۲۵±۰/۰۴ ^a	۷/۸۹±۰/۱۴ ^a

آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA): P-value

AFB ₁	۰/۴۳۶	۰/۸۸۵	۰/۱۸۲	۰/۱۸۲
ZEN	۰/۰۹۸	۰/۰۱۵	۰/۶۲۷	۰/۶۲۷
AFB ₁ × ZEN	۰/۲۹۶	۰/۰۹۹	۰/۰۵۴	۰/۰۵۴



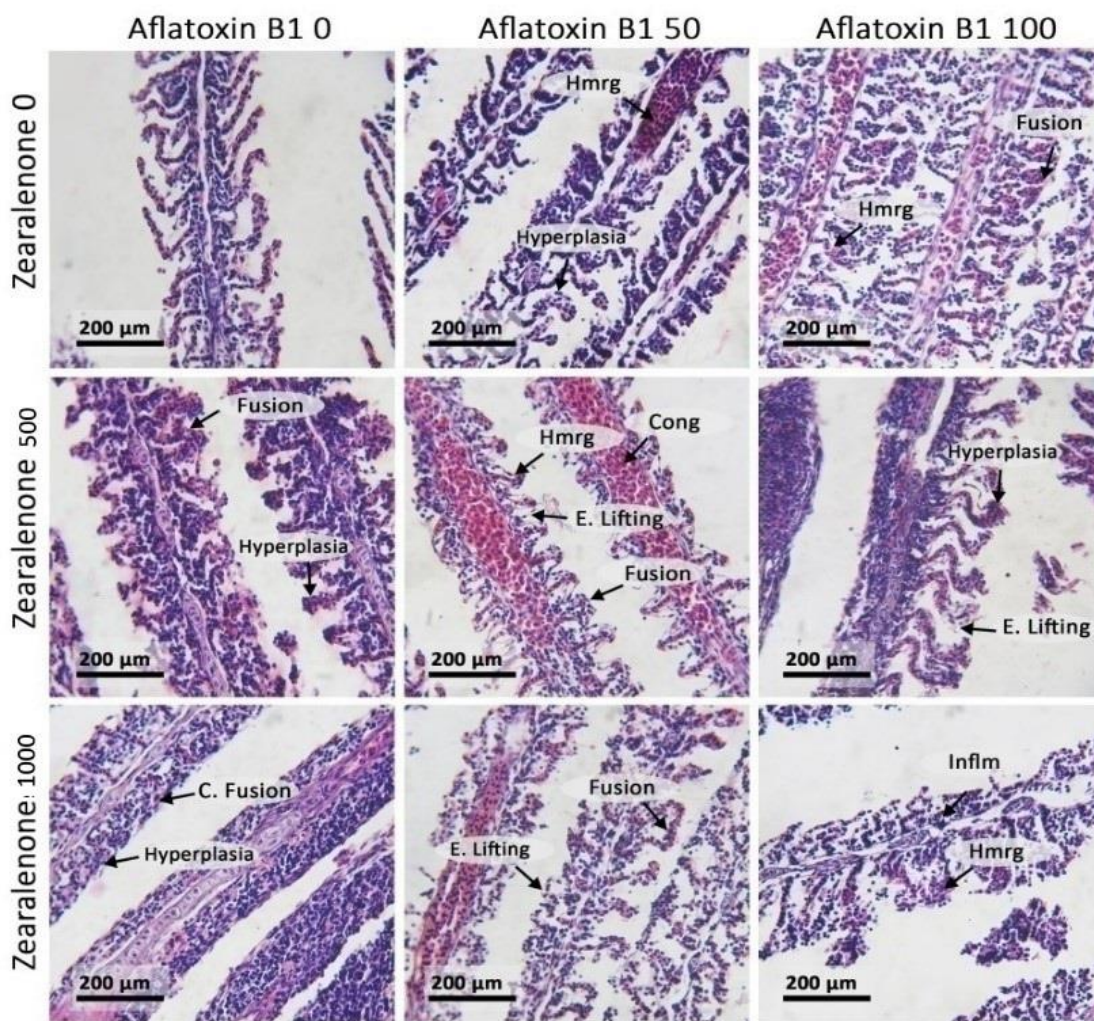
شکل ۱- میکروگراف‌های روده ماهی قرمز تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی AFB₁ و ZEA در پایان یک آزمایش ۶۰ روزه. N: نکروز، Infl: التهاب. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین

همچنین، استفاده همزمان از AFB₁ و ZEA در جیره غذایی شدت آسیب‌های بافتی شامل اتصال رشته‌های

به‌علاوه، بالاترین میزان نکروز در تیمار ZEA ۱۰۰۰ ppb + AFB₁ ۱۰۰ ppb مشاهده شد (جدول ۶، $P < 0.05$).

بین گروه‌های آزمایشی مختلف از نظر چسبندگی کامل لاملاها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۵، $P < 0/05$). نتایج فوق به وضوح نشان می‌دهد که استفاده همزمان از ZEA و AFB_1 در جیره غذایی ماهیان می‌تواند آسیب‌های بافتی آبشش و روده را تشدید کند.

آبششی، هایپرپلازی، احتقان و خون‌ریزی را تقریباً در تمامی تیمارهای $ZEA + AFB_1$ افزایش داد (جدول ۵، $P < 0/01$). به هم چسبیدگی لاملاها تقریباً در تمام گروه‌های آزمایشی در معرض هر دو مایکوتوکسین به‌طور قابل‌توجهی بالاتر بود (جدول ۵، $P < 0/05$). با این حال،



شکل ۲- میکروگراف‌های آبشش ماهی قرمز تغذیه‌شده با رژیم غذایی حاوی ZEA و AFB_1 در پایان یک آزمایش ۶۰ روزه. Hmrg: خون‌ریزی، Cong: پرخونی، E. lifting: جدا شدن اپیتلیوم از لاملا، inflm: التهاب آبشش، C.Fusion: چسبندگی کامل. رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین.

جدول ۵- مشاهدات نیمه کمی آبتشش ماهی قرمز پس از قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی با سطوح مختلف AFB₁ و ZEA به مدت ۶۰ روز (داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. ستون‌های با بالانویس‌های مختلف در سطح $P < 0.05$ تفاوت معنی داری داشتند)

تیمارها	خونریزی	پرخونی	چسبندگی کامل	هایپرپلازی	جسبندگی
A ₀ Z ₀	۰/۰±۰/۰ ^c	۰/۰±۰/۰ ^c	۱/۰±۰/۷۵ ^c	۰/۰±۰/۰ ^c	۰/۰±۰/۰ ^e
A ₅₀ Z ₀	۳/۵±۱/۰ ^{ab}	۳/۰±۰/۷۵ ^a	۳/۵±۱/۰ ^{ab}	۳/۰±۰/۷۵ ^b	۲/۵±۱/۰ ^{bcd}
A ₁₀₀ Z ₀	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۷۵ ^a	۳/۰±۰/۷۵ ^{ab}	۳/۰±۱/۵ ^b	۲/۰±۰/۷۵ ^{cd}
A ₀ Z ₅₀₀	۲/۵±۱/۰ ^b	۱/۰±۰/۷۵ ^b	۲/۵±۱/۰ ^b	۳/۰±۰/۷۵ ^b	۱/۵±۱/۰ ^d
A ₀ Z ₁₀₀₀	۳/۰±۰/۷۵ ^b	۱/۵±۱/۰ ^b	۴/۰±۰/۰ ^a	۳/۰±۰/۷۵ ^b	۲/۵±۱/۷۵ ^{abcd}
A ₅₀ Z ₅₀₀	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۷۵ ^{ab}	۴/۰±۰/۰ ^a	۳/۰±۰/۷۵ ^{abc}
A ₅₀ Z ₁₀₀₀	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۷۵ ^{ab}	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۰ ^a
A ₁₀₀ Z ₅₀₀	۴/۰±۰/۰ ^a	۳/۵±۱/۰ ^a	۳/۰±۱/۵ ^{ab}	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۷۵ ^{ab}
A ₁₀₀ Z ₁₀₀₀	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۰ ^a	۳/۰±۰/۷۵ ^{ab}	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۷۵ ^{ab}

جدول ۶- مشاهدات نیمه کمی روده ماهی قرمز پس از قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی با سطوح مختلف AFB₁ و ZEA به مدت ۶۰ روز (داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. ستون‌های با بالانویس‌های مختلف در سطح $P < 0.05$ تفاوت معنی داری داشتند)

تیمارها	نکروز	التهاب
A ₀ Z ₀	۰/۰±۰/۰ ^f	۰/۰±۰/۰ ^d
A ₅₀ Z ₀	۲/۰±۰/۷۵ ^{cde}	۲/۵±۰/۱ ^b
A ₁₀₀ Z ₀	۳/۰±۰/۷۵ ^{abcd}	۳/۰±۰/۷۵ ^b
A ₀ Z ₅₀₀	۱/۰±۰/۷۵ ^e	۱/۰±۰/۷۵ ^c
A ₀ Z ₁₀₀₀	۲/۰±۱/۵ ^{de}	۲/۰±۰/۷۵ ^{bc}
A ₅₀ Z ₅₀₀	۳/۰±۰/۷۵ ^{bcde}	۱/۰±۰/۷۵ ^{bc}
A ₅₀ Z ₁₀₀₀	۳/۰±۰/۷۵ ^{abc}	۲/۰±۱/۵ ^{bc}
A ₁₀₀ Z ₅₀₀	۴/۰±۰/۷۵ ^{ab}	۴/۰±۰/۷۵ ^{bc}
A ₁₀₀ Z ₁₀₀₀	۴/۰±۰/۰ ^a	۴/۰±۰/۰ ^a

۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

به عنوان یک جنبه مهم زیستی/آبزی پروری، عملکرد رشد ماهی می تواند تحت تأثیر منفی میکوتوکسین‌ها قرار گیرد. در مطالعه حاضر، مواجهه همزمان AFB₁ و ZEA به طور قابل توجهی بر رشد (relative WG، WG، FW، DGC و TGC) در تقریباً تمام ماهی‌های در معرض تأثیر گذاشت. نتایج ما با مطالعاتی دیگری که اثرات منفی AFB₁ و ZEA را بر عملکرد ماهی گزارش کردند مطابق بود (Santacrose et al., 2008; Gonçalves et al.,)

Ghafariarsani و همکاران (۲۰۲۱a) گزارش کردند که وجود AFB₁ در محدوده ۵۰-۲۵ ppb به طور قابل توجهی شاخص‌های رشد قزل‌آلای رنگین کمان را کاهش می‌دهد. در همان گونه SGR توسط در معرض قرار گرفتن با AFB₁ (50-100 ppb) و ZEA (۶۰۰ ppb) -۳۰۰ و ترکیب آن‌ها در مقایسه با ماهی‌های گروه شاهد بدتر شد (Ghafariarsani et al., 2021b). همچنین، تأخیر در رشد، ناهنجاری بدن و اختلال در یکپارچگی ساختمانی روده در کپور علف خوار انگشت قد

غذایی باعث افزایش شدت آسیب بافت آبشش از جمله به هم چسبیدگی لاملایی، هیپرپلاژی، احتقان و خونریزی شد. آسیب‌های بافتی ناشی از مایکوتوکسین‌ها معمولاً به استرس اکسیداتیو نسبت داده می‌شود و به دنبال آن واکنش‌های سیتوتوکسیک، آسیب‌های DNA، واکنش‌های التهابی و در نهایت آپوپتوز رخ می‌دهد (Odongo et al., 2018; Ezdini et al., 2020; You et al., 2021). چنین آسیب‌های بافتی ممکن است ماهی را برای تأمین نیاز اکسیژن متابولیکی هم برای متابولیسم منظم بدن و هم افزایش تقاضای متابولیک برای سم‌زدایی سموم که ممکن است منجر به تخلیه متابولیک و در نتیجه کاهش شاخص‌های عملکرد رشد ماهی شود، دچار مشکل کند (Barany et al., 2021).

در نتیجه مطالعه حاضر، رژیم غذایی حاوی AFB₁ و ZEA سبب کاهش شاخص‌های عملکرد رشد ماهی حتی در غلظت‌های کمتر از AFB₁ ۱۰۰ ppb و ZEA ۵۰۰ ppb، علی‌رغم این واقعیت که گزارش شده است که ماهی ممکن است نشانه‌هایی از کاهش ایمنی و رشد را در AFB₁ ۵۰۰ ppb و ZEA ۵۸۳ ppb نشان دهند، شدند (Pietsch, 2020).

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور کلی، آلودگی رژیم غذایی با ZEA و AFB₁ به‌ترتیب بر روده و بافت آبشش به‌عنوان مهم‌ترین اندام‌های جذب مواد مغذی و متابولیسم تأثیر منفی خواهند گذاشت. این وضعیت در ماهیانی که در معرض ترکیب AFB₁ و ZEA قرار داشتند بارزتر بود. در نهایت مشخص شد که آلودگی چند سمی رژیم غذایی با AFB₁ و ZEA می‌تواند بر عملکرد ماهی و تغییرات بافت‌شناسی در غلظت‌هایی حتی کمتر از آنچه قبلاً در مقالات مختلف عنوان شده، تأثیر منفی گذارد (Hegazi et al., 2013; Pietsch, 2020) و باید در مورد آستانه ایمن مایکوتوکسین‌ها در خوراک ماهیان از نظر سلامت و عملکرد ماهی تجدید نظر شود.

(*Ctenopharyngodon idella*)، پس از تغذیه با رژیم غذایی حاوی غلظت‌های بیشتر از ۱۰۴۱ ppb ZEA مشاهده شد (Wang et al., 2019).

به‌طور کلی، مایکوتوکسین‌ها، از جمله AFB₁ و ZEA، رشد ماهی را با اختلال در مصرف خوراک، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، جذب مواد مغذی و تغییرات پاتولوژیک بافت کبد یا روده کاهش می‌دهند (Santacroce et al., 2008; Imani et al., 2020; Ghafarifarsani et al., 2021b). مشاهدات بافت‌شناسی نشان داد که قرار گرفتن ماهی قرمز در معرض رژیم غذایی آلوده شده با AFB₁ و ZEA منجر به آسیب‌های بافتی مختلف در آبشش (به‌عنوان مثال به هم چسبیدگی لاملا، جدا شدن اپیتلیوم از لاملا، التهاب آبشش، چسبندگی کامل، هیپرپلازی، احتقان و خونریزی) و روده (به‌عنوان مثال نکروز و التهاب) شد. به‌همین ترتیب Ghafarifarsani و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که هر گونه قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی آلوده شده با AFB₁ و ZEA (۵۰ یا ۱۰۰ ppb AFB₁ و ۳۰۰ یا ۶۰۰ ppb ZEA) طول پرز و تراکم سلول‌های جامی شکل را در روده قزل‌آلای رنگین‌کمان کاهش می‌دهد. در راستای نتایج این مطالعه، آسیب‌های بافت روده شامل نکروز، نفوذ سلول‌های ایمنی و فیبروپلازی با افزایش محتوای AFB₁ رژیم غذایی در کپور معمولی هم‌زمان شد (Tasa et al., 2020). Hayatullah و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که قرار گرفتن در معرض AFB₁ وابسته به دوز (۲۵ ppb تا ۱۰۰ ppb) باعث ایجاد ضایعات بافتی از جمله هیپوپلازی سلول‌های جامی شکل، از بین رفتن پرزها و نفوذ لکوسیت‌ها در ماهی کپور می‌شود. شدت التهاب روده و نکروز به‌طور قابل توجهی با افزایش محتوای AFB₁ و ZEA در رژیم غذایی افزایش یافت. بیشترین میزان التهاب و نکروز بافتی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی همراه با غلظت بالای هر دو سم مشاهده شد. مشابه روده، تجویز همزمان AFB₁ و ZEA در رژیم

References

۵. منابع

- Agag, B.I., 2004. Mycotoxins in foods and feeds: 1. Aflatoxins. *Assiut University Bulletin for Environmental Researches* 7: 173-206.
- Barany, A., Guilloto, M., Cosano, J., De Boevre, M., Oliva, M., De Saeger, S., Fuentes, J., Martínez-Rodríguez, G., Mancera, J.M., 2021. Dietary Aflatoxin B₁ (AFB₁) reduces growth performance, impacting growth axis, metabolism, and tissue integrity in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 533, 736189.
- Bennett, J.W., Klich, M., 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Review* 16(3), pp: 497-516.
- Coppock, R.W., Christian, R.G., Jacobsen, B.J., 2018. Aflatoxins. In *Veterinary Toxicology*. Academic Press, pp: 983-994.
- Ezdini, K., Salah-Abbès, J.B., Belgacem, H., Mannai, M., Abbès, S., 2020. Lactobacillus paracasei alleviates genotoxicity, oxidative stress status and histopathological damage induced by Fumonisin B₁ in BALB/c mice. *Toxicon* 185, 46-56.
- Ghafariarsani, H., Imani, A., Niewold, T.A., Pietsch-Schmied, C., Moghanlou, K. S., 2021b. Synergistic toxicity of dietary Aflatoxin B₁ (AFB₁) and Zearalenone (ZEA) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is attenuated by anabolic effects. *Aquaculture* 541, 736793.
- Ghafariarsani, H., Kachuei, R., Imani, A., 2021a. Dietary supplementation of garden thyme essential oil ameliorated the deteriorative effects of Aflatoxin B₁ on growth performance and intestinal inflammatory status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 531, 735928.
- Gonçalves, R.A., Schatzmayr, D., Albalat, A., Mackenzie, S. 2020. Mycotoxins in aquaculture: Feed and food. *Reviews in Aquaculture* 12(1), 145-175.
- Greco, M., Pardo, A., Pose, G., 2015. Mycotoxigenic fungi and natural co-occurrence of mycotoxins in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feeds. *Toxins* 7, 4595-4609.
- Hegazi, S., El-sabagh, M., El-Keeidy, A., Zein El-Dein, A.I., 2013. Aflatoxin in feed and its effect on fish health. *Kafrelsheikh Veterinary Medical Journal* 11(2), 317-329.
- Hooft, J.M., Elmor, A.E.H.I., Encarnaçao, P., Bureau, D.P., 2011. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is extremely sensitive to the feed-borne fusarium mycotoxin deoxynivalenol (DON). *Aquaculture* 311(1), 224-232.
- Hueza, I.M., Raspantini, P.C.F., Raspantini, L.E.R., Latorre, A.O., Górniak, S.L., 2014. Zearalenone, an estrogenic mycotoxin, is an immunotoxic compound, *Toxins* 6(3), 1080-95.
- 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., Ghafariarsani, H., Mahmoudi, S.S., Noori, F., Farzaneh, M., 2020. Histopathological effect of Aflatoxin B₁ on some internal tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries* 73(2), 149-161. (In Persian)
- Kowalska, K., Habrowska-Górczynska, D.E., Piastowska-Ciesielska, A.W., 2016. Zearalenone as an endocrine disruptor in humans. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 48, 141-149.
- Malekinejad, H., Agh, N., Vahabzadeh, Z., Varasteh, S., Alavi, M.H., 2012. *In vitro* reduction of zearalenone to β -zearalenol by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatic microsomal and post-mitochondrial subfractions. *Iranian Journal of Veterinary Research* 13(1), 28-35.
- Marroquín-Cardona, A.G., Johnson, N.M., Phillips, T.D., Hayes, A.W., 2014. Mycotoxins in a changing global environment - A review. *Food and Chemical Toxicology* 69, 220-230.

- Matejova, I., 2017. Impact of mycotoxins on aquaculture fish species: A review. *Journal of the World Aquaculture Society* 48, 186-200.
- Mohammadi, G., Rashidian, G., Hoseinifar, S.H., Naserabad, S.S., Van Doan, H., 2020. Ginger (*Zingiber officinale*) extract affects growth performance, body composition, haematology, serum and mucosal immune parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Fish and Shellfish Immunology* 99, 267-273.
- Muthulakshmi, S., Maharajan, K., Habibi, H.R., Kadirvelu, K., Venkataramana, M. 2018. Zearalenone induced embryo and neurotoxicity in zebrafish model (*Danio rerio*): role of oxidative stress revealed by a multi biomarker study. *Chemosphere* 198, 111-121.
- Mwihia, E.W., Lyche, J.L., Mbuthia, P.G., Ivanova, L., Uhlig, S., Gathumbi, J.K., Maina, J.G., Eshitera, E.E., Eriksen, G.S., 2020. Co-Occurrence and Levels of Mycotoxins in Fish Feeds in Kenya. *Toxins* 12(10), 627.
- Odongo, G. A., Schlotz, N., Baldermann, S., Neugart, S., Ngwene, B., Schreiner, M. and Lamy, E., 2018. Effects of *Amaranthus cruentus* L. on Aflatoxin B₁-and oxidative stress-induced DNA damage in human liver (HepG2) cells. *Food Bioscience* 26, 42-48.
- Pietsch, C., 2017. Zearalenone (ZEA) and its influence on regulation of gene expression in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver tissue. *Toxins* 9(9), 283.
- Pietsch, C., 2020. Risk assessment for mycotoxin contamination in fish feeds in Europe. *Mycotoxin Research* 36(1), 41-62.
- Pietsch, C., Kersten, S., Burkhardt-Holm, P., Valenta, H., Dänicke, S., 2013. Occurrence of deoxynivalenol and Zearalenone in commercial fish feed: An initial study. *Toxins* 5(1), 184-192.
- Pitt, J.I., Taniwaki, M.H., Cole, M.B. 2013. Mycotoxin production in major crops as influenced by growing, harvesting, storage and processing, with emphasis on the achievement of Food Safety Objectives. *Food Control* 32(1), 205-215.
- Ryu, D., Hanna, M.A., Eskridge, K.M., Bullerman, L.B., 2003. Heat stability of Zearalenone in an aqueous buffered model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 1746-1748.
- 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.
- Sergent, T., Ribonnet, L., Kolosova, A., Garsou, S., Schaut, A., De Saeger, S., Van Peteghem, C., Larondelle, Y., Pussemier, L., Schneider, Y.J., 2008. Molecular and cellular effects of food contaminants and secondary plant components and their plausible interactions at the intestinal level. *Food and Chemical Toxicology* 46(3), 813-841.
- Shen, H.M., Shi, C.Y., Shen, Y., Ong, C.N., 1996. Detection of elevated reactive oxygen species level in cultured rat hepatocytes treated with Aflatoxin B₁. *Free Radical Biology Medicine* 21, pp: 139-146.
- Sherratt, P.J., Hayes, J.D., 2001. Glutathione S-transferases. *Enzyme Systems That Metabolise Drugs and Other Xenobiotics* 9, 219-252.
- Spring, P., Fegan, D.F. 2005. Mycotoxins a rising threat to aquaculture. Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Proceedings of Alltech's 21st Annual Symposium, Lexington, Kentucky, USA, pp: 323-331.
- Tasa, H., Imani, A., Moghanlou, K.S., Nazdar, N., Moradi-Ozarlou, M., 2020. Aflatoxicosis in fingerling common carp (*Cyprinus carpio*) and protective effect of rosemary and thyme powder: Growth performance and digestive status. *Aquaculture* 527, 735437.
- Wang, Y.L., Zhou, X.Q., Jiang, W.D., Wu, P., Liu, Y., Jiang, J., Wang, S.W., Kuang, S.Y., Tang, L., Feng, L., 2019. Effects of dietary Zearalenone on oxidative stress, cell apoptosis, and tight junction in the intestine of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Toxins* 11(6), 333.

- Woźny, M., Obremski, K., Jakimiuk, E., Gusiatin, M., Brzuzan, P., 2013. Zearalenone contamination in rainbow trout farms in north-eastern Poland. *Aquaculture* 416, pp: 209-211.
- Wu, J., Du, H., Wu, J., Luo, J., Fu, P., Qiao, X., Wei, Q., 2021. Effects of dietary Zearalenone on the serum biochemistry, hepatic and intestinal histology, and intestinal microbiota of juvenile Dabry' s sturgeon (*Acipenser dabryanus*). *Journal of Applied Ichthyology* 37(6), 932-941.
- You, L., Wang, X., Wu, W., Jačević, V., Nepovimova, E., Wu, Q., Kuca, K., 2021. Hypothesis: Long non-coding RNA is a potential target of mycotoxins. *Food and Chemical Toxicology* 155, 112397.