(DOI): 10.22092/ISFJ.2025.134725 34(5) 63-79 Iranian Scientific Fisheries Journal

Protective effect of probiotics *Lactobacillus acidophilus* and *L. plantarum* in reducing the effects of dietary aflatoxin B_1 on growth, hematology, biochemical and carcass quality indices in common carp fingerlings (*Cyprinus carpio*)

Hasanpour Fattahi A.[1]; Meshkini S.[2*]; Atashbar Kangarlooei B.[3]

*s.meshkiniy@urmia.ac.ir

1-Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
2-Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
3-Department of Ecology and Resources Management, Artemia and Aquatic animals Institute, Urmia University, Urmia, Iran

Received: June 2025 Accepted: September 2025 Published: January 2026

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Introduction

The aquaculture industry faces challenges from feed contamination with mycotoxins, particularly aflatoxin B_1, a potent carcinogen that impairs growth, immunity, liver function, and overall health in fish (Williams *et al*., 2004; Ayyat *et al*., 2018; Tasa *et al*., 2020). Cost-driven use of animal-derived feed ingredients increases the risk of fungal toxins, making mitigation strategies crucial (Allameh *et al*., 2005). Probiotics, especially *Lactobacillus acidophilus* and *L. plantarum*, can bind aflatoxin B_1 (AFB_1) via cell wall components, reducing its bioavailability and enhancing growth, nutrient utilization, and survival in fish (Haskard *et al*., 2001; Dawood *et al*., 2015; Gudadappanavar *et al*., 2017). This study evaluates the protective effects of these probiotics on growth, hematology, biochemistry, and carcass quality in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings fed AFB_1 contaminated diets.

Methodology

The study was conducted at the Artemia and Aquaculture Research Institute (AARI), Urmia, Iran. A total of 240 fish (mean weight: 8 g) were randomly assigned to four dietary treatments: control, 50 ppb aflatoxin B_1 (AFB_1), 50 ppb AFB_1 + *L. acidophilus* (5×10^8 CFU/kg), and 50 ppb AFB_1 + *L. plantarum* (5×10^8 CFU/kg). Fish were maintained under controlled conditions for eight weeks. Growth performance (specific growth rate, weight gain, feed conversion ratio) was evaluated (Hamza *et al*., 2008). Hematological parameters, including WBC, RBC, hemoglobin, and hematocrit, were measured following standard protocols (Blaxhall and Daisley, 1973; Rehulka, 2000; Lewis *et al*., 2006). Serum triglycerides, cholesterol, and glucose were determined via enzymatic assays (Borges *et al*., 2004). Carcass composition was analyzed according to AOAC (2005). Data were analyzed using one-way ANOVA in SPSS.

Results

Growth indices were significantly affected by aflatoxin B_1 (AFB_1) ($p<0.05$). Fish fed AFB_1 showed higher final weight (FW), weight gain (WG), and specific growth rate (SGR), with a lower feed conversion ratio (FCR) compared to control ($p<0.05$). Moreover, FCR was further reduced in fish receiving AFB_1 combined with *L. acidophilus* versus the AFB_1-only group ($p<0.05$). The number of white blood cells (WBC) and red blood cells (RBC) in fish fed the experimental diets decreased significantly ($p<0.05$) compared to the control diet. Hemoglobin and hematocrit levels in fish fed diets containing AFB_1 and AFB_1 + *L. plantarum* were also significantly lower than those in the control group ($p<0.05$). Blood biochemical indices were significantly affected by aflatoxin B_1 (AFB_1) and the probiotics ($p<0.05$). Triglyceride, cholesterol, and glucose levels were reduced in the AFB_1-treated group compared to the control ($p<0.05$). Moreover, the combination of AFB_1 with probiotics resulted in a significant increase in triglyceride and cholesterol levels compared to the AFB_1-only group ($p< 0.05$). Analysis of the mean carcass composition revealed that protein and lipid contents in the diet containing AFB_1 and *L. plantarum* were significantly reduced compared to the control group ($p<0.05$).

Discussion and conclusion

The study demonstrated that diets contaminated with aflatoxin B_1 ($AF\ B_1$) significantly impaired fish growth performance. AFB_1, along with other mycotoxins, disrupts growth by damaging critical organs including the liver, kidneys, and gastrointestinal tract that are essential for nutrient absorption, metabolism, and overall physiological homeostasis (Aggarwal *et al*., 2013). Consistent with these effects, hematological parameters such as red blood cell count, hemoglobin concentration, and hematocrit were significantly reduced in exposed fish, indicating cytotoxic impacts on hematopoietic organs, including the kidney and spleen (Moccia *et al*., 1984). Biochemical analyses revealed that AFB_1 exposure disrupted fish metabolism, lowering serum triglycerides and cholesterol while raising glucose, reflecting hepatotoxicity and stress-related metabolic changes (Riche, 2007). AFB_1 impairs liver enzymes, induces oxidative stress, and alters lipid and carbohydrate metabolism, leading to hyperglycemia. In contrast, dietary probiotics in common carp fingerlings improved these parameters, restoring triglyceride and cholesterol levels and reducing glucose, indicating enhanced metabolic balance. Probiotics likely exert protective effects by reducing stress, supporting gut health, and modulating metabolic pathways such as gluconeogenesis and lipolysis (Larsson & Lewander, 1973; Palmegiano *et al*., 1993), highlighting their potential to counteract aflatoxin-induced metabolic disruptions. No significant effects of AFB_1 were observed on the fish carcass composition, though dietary toxins may disrupt protein and lipid metabolism (Ellis *et al*., 1991). In conclusion, AFB_1 negatively impacted growth, hematological and biochemical parameters in common carp. Supplementation with probiotics was able to partially mitigate these adverse effects, suggesting a protective role in maintaining physiological homeostasis and improving resilience against AFB_1-induced stress.

Conflict of interest

All authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgement

We wish to express our sincere gratitude to the officials of the Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, for their support and the resources provided throughout the course of this study. We also extend our special thanks to the colleagues at the Artemia Reference Center for their invaluable guidance and contributions during the research process.

مجله علمی شیلات ایران ۷۹-۶۳ (۵) ۳٤ (DOI): 10.22092/ISFJ.2025.134725

مقاله علمی – پژوهشی:

اثر حفاظتی پروبیوتیک‌های *Lactobacillus acidophilus* و *L. plantarum* در کاهش تاثیر آفلاتوکسین B_1 خوراک بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی، بیوشیمیایی و کیفیت لاشه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انگشت‌قد

احمد حسن‌پور فتاحی[۱]، سعید مشکینی*[۲]، بهروز آتشبار کنگرلوئی[۳]

*s.meshkiniy@urmia.ac.ir

۱- گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ایران
۲- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه ایران
۳- گروه اکولوژی و مدیریت ذخایر آبی، پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱٤۰٤ تاریخ پذیرش: شهریور ۱٤۰٤ تاریخ چاپ: دی ۱٤۰٤

چکیده

یکی از مشکلات مهم صنعت آبزی‌پروری، آلوده شدن خوراک آبزیان به سموم تولیدی از عوامل قارچی و مایکوتوکسین‌هاست. در سال‌های اخیر با توجه به جایگزینی منابع گیاهی با جانوری به منظور دستیابی به خوراک کم هزینه، احتمال آلودگی خوراک آبزیان با آفلاتوکسین‌ها افزایش یافته است. از این‌رو، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات حفاظتی پروبیوتیک‌های *Lactobacillus plantarum* و *L. acidophilus* در کاهش تاثیر آفلاتوکسین B_1 خوراک بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی، بیوشیمیایی و کیفیت لاشه بچه‌ماهیان کپور معمولی انجام شد. بدین منظور، ۲۴۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ۱۵ گرم در قالب ۴ تیمار آزمایشی شامل: ۱ (شاهد: کنترل)، ۲ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1)، ۳ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. acidophilus*)، ۴ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. plantarum*) به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش شاخص‌های رشد، خون‌شناسی، بیوشیمیایی و کیفیت لاشه مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که شاخص‌های رشد تحت تاثیر آفلاتوکسین B_1 قرار گرفتند ($p<0/05$) به‌طوری‌که شاخص‌های وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و افزایش وزن بدن در ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی آفلاتوکسین، کاهش یافته و ضریب تبدیل خوراک افزایش یافتند ($p<0/05$). شاخص‌های خون‌شناسی (گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت) نیز تحت تاثیر آفلاتوکسین B_1 قرار گرفت و کاهش یافت ($p<0/05$). بر اساس نتایج مطالعه حاضر، از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم، تری‌گلیسیرید و کلسترول در ماهیان تغذیه شده با آفلاتوکسین B_1 کاهش و در ماهیان تغذیه شده با پروبیوتیک‌های *L. acidophilus* و *L. plantarum* افزایش یافتند ($p<0/05$). گلوکز در ماهیان تغذیه شده با آفلاتوکسین B_1 افزایش یافته و در ماهیان تغذیه شده با پروبیوتیک‌های *L. acidophilus* و *L. plantarum* کاهش یافت ($p<0/05$). همچنین کاهش پروتئین و چربی و افزایش رطوبت لاشه در ماهیان تغذیه شده با آفلاتوکسین B_1 به همراه پروبیوتیک *L. plantarum* مشاهده شد ($p<0/05$). بر اساس نتایج، افزودن پروبیوتیک‌های *L. acidophilus* و *L. plantarum* به خوراک، منجر به بهبود شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و کیفیت لاشه بچه‌ماهیان کپور معمولی شد.

لغات کلیدی: آفلاتوکسین B_1 ، پروبیوتیک، *Lactobacillus acidophilus*، *Lactobacillus plantarum*، کپور معمولی

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقدمه

امروزه صنعت آبزی‌پروری در سرتاسر جهان با مشکلاتی مانند آلوده شدن خوراک آبزیان به سموم تولیدی از عوامل قارچی و مایکوتوکسین‌ها مواجه است (Ayyat *et al.,* 2018). مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های قارچی ثانویه هستند که گونه‌های جنس *Aspergillus* آنها را تولید می‌کنند. با توجه به جایگزینی منابع گیاهی با جانوری و فرمولاسیون جیره‌های کم هزینه، احتمال وجود متابولیت‌های قارچی (آفلاتوکسین‌ها) در خوراک‌های آبزیان بیشتر است (Tasa *et al.,* 2020). آفلاتوکسین B_1 سمی‌ترین و فراوان‌ترین ترکیب سرطان‌زای طبیعی تلقی می‌شود (Williams *et al*., 2004) و یکی از مهم‌ترین مایکوتوکسین‌های تحت نظارت سازمان غذا و داروی آمریکاست (Celik and Sur, 2003). مشخص شده است که قرار گرفتن ماهیان در معرض آفلاتوکسین B_1 باعث تغییرات فیزیولوژیک از جمله کاهش وزن، کاهش رشد، کم‌خونی، سرکوب سیستم ایمنی، آسیب‌های کبدی و افزایش واکنش‌های التهابی در بافت‌ها می‌شود (Hussein *et al.,* 2000; Khan *et al*., 2001; Pietsch *et al.,* 2020; Tasa *et al.,* 2020). کاهش آثار آفلاتوکسین‌ها در تغذیه آبزیان یکی از جنبه‌های مهم تحقیقات محسوب شده و بدین منظور روش‌های متنوعی به کار گرفته شده است (Allameh *et al.,* 2005). برای مثال، Tasa و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که افزودن پودر تیمول و رزماری به خوراک ماهی کپور معمولی، منجر به کاهش اثرات آفلاتوکسین بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی این گونه شد. یافته‌های Ghafarifarsani و همکاران (۲۰۲۱) نیز نشان داد که استفاده از اسانس آویشن به میزان یک درصد در خوراک ماهی کپور معمولی، اثرات منفی آفلاتوکسین بر عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی ذاتی را در این گونه کاهش داد. در مطالعه Mahmoudikia و همکاران (۲۰۱۸) نیز افزودن ۴ درصد پودر گیاهان رزماری و آویشن به خوراک ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به کاهش آثار آفلاتوکسین B_1 شد. استفاده از پروبیوتیک‌ها در خوراک آبزیان نیز یکی از راهکارهای زیستی مطرح‌شده در کاهش آثار آفلاتوکسین‌هاست (Salim *et al.,* 2011). پروبیوتیک‌ها، افزودنی‌های خوراکی حاوی میکروارگانیسم‌های زنده طبیعی و غیربیماری‌زا هستند که در صورت مصرف، می‌توانند سلامت دستگاه گوارش و سلامت عمومی میزبان را تقویت کنند (Manafi, 2012). محققین قابلیت پروبیوتیک‌ها را در تقویت سیستم ایمنی، تعادل فلور میکروبی روده، خواص آنتی‌اکسیدانی در خوراک موجودات گزارش کرده‌اند (Bagherzadeh Kasmani *et al.,* 2012; Manafi, 2012; Manafi, 2018). با توجه به این‌که پلی‌ساکاریدها و پپتیدوگلیکان‌های دیواره سلولی پروبیوتیک‌ها از توانایی اتصال به آفلاتوکسین B_1 برخوردارند (Haskard *et al.,* 2001)، پس می‌توانند در کاهش آثار سم آفلاتوکسین نیز مؤثر باشند (Salim *et al.,* 2011). باکتری‌های *Lactobacillus acidophilus* و *L. plantarum*، شایع‌ترین گونه‌های *Lactobacillus* در روده جانوران مختلف هستند و تعدادی از این گونه‌ها به عنوان پروبیوتیک معرفی می‌شوند (Gudadappanavar *et al.,* 2017). پروبیوتیک *L. plantarum* موجود در دستگاه گوارش ماهیان، به دلیل خواص پروبیوتیک در صنعت آبزی‌پروری مفید است . اثر این باکتری به عنوان پروبیوتیک برای افزایش مقاومت در برابر بیماری، افزایش دفاع ایمنی غیراختصاصی و بهبود عملکرد رشد در ماهیان مشخص شده است (Soltani *et al*., 2019). این پروبیوتیک یکی از مهم‌ترین گونه‌های پروبیوتیک محسوب می‌شود که قادر به تولید ترکیبات ضد میکروبی مانند پلانتاریسین است که می‌توانند دامنه وسیعی از پاتوژن‌ها را نابود نماید (Cebeci and Gurakan, 2003). نتایج مطالعات متعدد نشان داد که مصرف پروبیوتیک *L. plantarum* در خوراک گونه‌های مختلفی از ماهیان موجب بهبود عملکرد شاخص‌های رشد، تغذیه و افزایش بازماندگی شد (Dawood *et al.*, 2015; Duc *et al.*, 2016; Zheng *et al.*, 2017). همچنین در مطالعه‌ای که بر ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) انجام گرفت، مشخص شد که افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک *L. acidophilus* به جیره این گونه، منجر به بهبود شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل خوراک شد (Lara-Flores *et al.,* 2003). افزودن پروبیوتیک *L. acidophilus* به خوراک گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) نیز منجر به افزایش سطح هماتوکریت،

هموگلوبین و تعداد کل گلبول‌های قرمز و سفید این گونه شد (Al-Dohail *et al*., 2009).

مطالعه حاضر، با هدف بررسی آثار حفاظتی پروبیوتیک‌های *La. acidophilus* و *L. plantarum* بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی، بیوشیمیایی و کیفیت لاشه بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1 طراحی و انجام گرفت.

مواد و روش کار

تهیه مواد مورد نیاز و ساخت خوراک‌های آزمایشی

برای ساخت خوراک‌های آزمایشی، ابتدا خوراک تجاری FFC3 شرکت بهدانه شمال مخصوص ماهی کپور معمولی پس از تجزیه‌وتحلیل تقریبی (جدول ۱) آسیاب شده و در ادامه آفلاتوکسین B_1 تهیه شده از آزمایشگاه مایکوتوکسین پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی و پروبیوتیک‌های *L. plantarum* و *L. acidophilus* تهیه شده از شرکت توسعه بن‌دا با نام تجاری بایولوئنس، بر اساس جدول ۲ به خوراک‌ها افزوده شدند (Tasa *et al*., 2020; Pandey *et al.,* 2022; Gabr *et al*., 2023). در مرحله بعد با افزودن رطوبت، خمیر به‌دست آمده با استفاده از چرخ گوشت صنعتی، به صورت رشته‌هایی به اندازه ۲ میلی‌متر درآمده و پس از خشک شدن در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، برای تغذیه ماهیان استفاده شدند. غذادهی ماهیان تحت آزمایش به صورت روزانه ۳ درصد وزن بدن و در سه نوبت انجام گرفت (Hung *et al*, 2008).

جدول ۱: تجزیه‌وتحلیل تقریبی خوراک

Table 1: Approximate diet analysis

No	Factor	% in dry matter
1	Protein	35
2	Lipid	6
3	Phosphorus	1.2
4	Ash	10
5	Fiber	5.5
6	Moisture	10

جدول ۲: گروه‌های آزمایشی

Table 2: Experimental groups

No	Treatment	Aflatoxin and probiotic content
1	Control	Diet without aflatoxin B_1 and probiotics
2	Afla	Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1
3	Afla+L.acid	Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1 and 10^8 CFU/ml/kg of probiotic *Lactobacillus acidophilus*
4	Afla+L.plan	Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1 and 10^8 CFU/ml/kg of probiotic *Lactobacillus plantarum*

تهیه بچه‌ماهیان و شروع دوره پرورش

این مطالعه در سالن تکثیر و پرورش آبزیان پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری دانشگاه ارومیه انجام گرفت. ابتدا تعداد ۲۴۰ عدد بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۸ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید کاظمی (پلدشت، آذربایجان غربی) تهیه و پس از ضدعفونی با محلول نمک ۳ درصد به صورت تصادفی با تراکم ۲۰ عدد درمخازن ۳۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شدند. در ادامه پس از طی یک هفته سازگاری ماهیان با محیط جدید دوره پرورش شروع شد. این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل ۴ تیمار در ۳ تکرار برای هر تیمار آزمایشی به مدت ۲ ماه اجرا شد. منبع تامین آب جهت پرورش بچه‌ماهیان آب چاه و با میانگین دمایی ۰/۵±۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. در طول دوره پرورش، روزانه ۳۰ درصد از حجم آب تانک‌ها به صورت سیفون خارج شده و آب تازه جایگزین می‌شد.

محاسبه شاخص‌های رشد

در پایان دوره پرورش، برای بررسی تغییرات شاخص‌های رشد، زیست‌سنجی بر ماهیان انجام شد. با استفاده از داده‌های مربوط به وزن نهایی (FW) و مقدار غذای مصرفی، شاخص‌های نرخ رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن بدن (WG) و ضریب تبدیل غذا (FCR) براساس روابط ذیل محاسبه شدند (Hamza *et al*., 2008):

وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم) :FW
۱۰۰× (طول دوره پرورش (روز)/ (لگاریتم طبیعی :SGR
وزن اولیه - لگاریتم طبیعی وزن نهایی))
۱۰۰× (وزن اولیه (گرم)/(وزن اولیه (گرم) - وزن :WG
نهایی (گرم))
مقدار غذای خشک داده شده (گرم)/ افزایش وزن :FCR
(گرم)

سنجش شاخص‌های خون‌شناسی

در انتهای دوره آزمایش، پس از بیهوشی ماهیان با استفاده از محلول پودر گل میخک به غلظت ۲۵۰ قسمت در میلیون، با استفاده از سرنگ آغشته به هپارین از ساقه دمی خون‌گیری به‌عمل آمد (Akhlaghi and Mirab Brojerdi, 1997). در ادامه خون‌ها به میکروتیوب‌های ۱/۵ سی‌سی منتقل شده و در دمای یخچال نگهداری شدند. تعداد گلبول‌های سفید (WBC) و قرمز (RBC) با استفاده از محلول هایم و توسط ملانژور بر اساس روش Lewis و همکاران (۲۰۰۶) مقدار هموگلوبین (Hb) از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین بر اساس روش Blaxhall و Daisley (۱۹۷۳) و میزان درصد هماتوکریت (Htc%) نیز با استفاده از میکروهماتوکریت و بر اساس روش Rehulka (۲۰۰۰) به‌دست آمد.

سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی سرم پس از بی‌هوشی ماهیان، خون‌گیری از ساقه دمی انجام شد. در ادامه پس از این‌که خون‌ها لخته شدند با استفاده از سانتریفیوژ (۳۵۰۰ دور در ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) سرم به‌دست آمده جداسازی شده و به میکروتیوب منتقل شده و تا انجام آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Klontz, 1994). اندازه‌گیری تری‌گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز[1]، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز[2] و سنجش گلوکز نیز به روش آب اکسیژنه و آنزیم گلوکز اکسیداز انجام گرفت (Borges *et al.*, 2004).

ترکیب شیمیایی لاشه

برای سنجش ترکیبات شیمیایی لاشه (چربی خام، پروتئین خام، خاکستر و رطوبت) در انتهای آزمایش از ۳ عدد ماهی کامل برای هر تکرار و با استفاده از روش استاندارد AOAC (۲۰۰۵) استفاده شد. بدین منظور برای سنجش پروتئین از روش کجلدال، اندازه‌گیری چربی کل با استفاده از حلال هگزان، سنجش خاکستر به‌وسیله کوره با دمای ۵۵۰-۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت و تعیین رطوبت نیز به روش خشک کردن در آون طی دمای ۱۰۲-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۱۶ ساعت انجام شد.

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

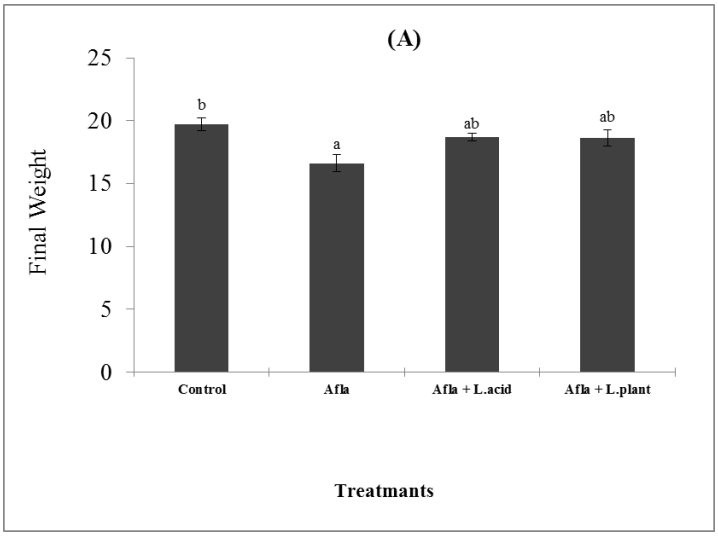
داده‌های به‌دست آمده از مطالعه حاضر با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی مورد بررسی قرار گرفتند. البته پیش از انجام تجزیه‌وتحلیل، نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها به‌ترتیب با استفاده از آزمون‌های شاپیروویلک و لون صورت گرفت. کلیه تجزیه‌وتحلیل‌ها در محیط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام پذیرفت و سطح خطای نوع اول در آزمون‌ها ۰/۰۵ انتخاب شد. همچنین نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند.

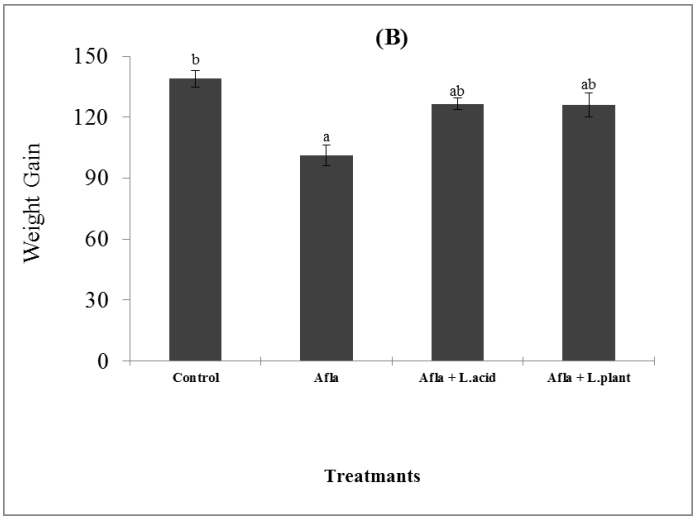
نتایج

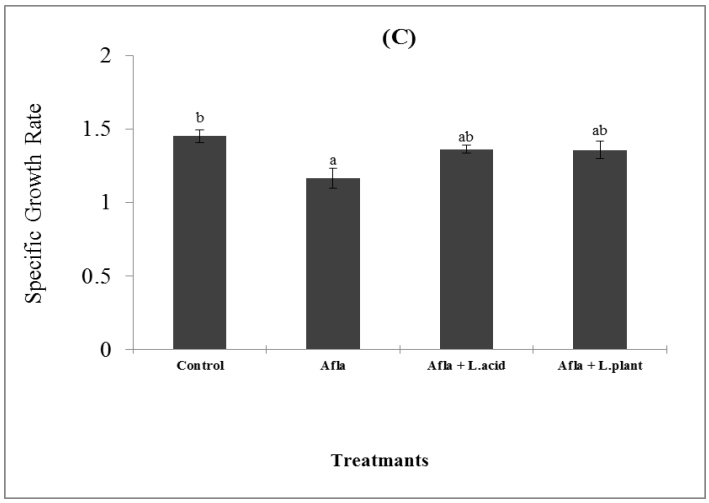
عملکرد رشد

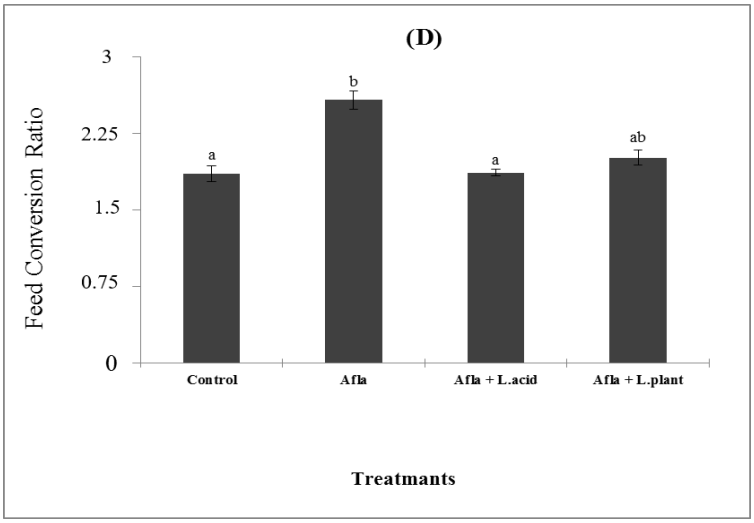
نتایج مربوط به شاخص‌های رشد نشان داد که این شاخص‌ها تحت تاثیر سم آفلاتوکسین B_1 قرار گرفتند ($p<0/05$) به‌طوری‌که وزن نهایی (FW)، افزایش وزن بدن (WG) و نرخ رشد ویژه (SGR) در تیمار ۲ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1) در مقایسه با تیمار ۱ (شاهد) کاهش و شاخص ضریب تبدیل خوراک (FCR) در تیمار ۲ در مقایسه با تیمار ۱ افزایش یافت ($p<0/05$). همچنین بر اساس این نتایج ضریب تبدیل خوراک در تیمار ۳ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. acidophilus*) در مقایسه با تیمار ۲ کاهش یافت ($p<0/05$) (شکل ۱).

[1] Lipase/GPO-PAP
[2] Cholesterol oxidase


(A)
Final Weight
25
20
15
10
5
0
b
a
ab
ab
Control
Afla
Afla + L.acid
Afla + L.plant
Treatmants


(B)
Weight Gain
150
120
90
60
30
0
b
a
ab
ab
Control
Afla
Afla + L.acid
Afla + L.plant
Treatmants


(C)
Specific Growth Rate
2
1.5
1
0.5
0
b
a
ab
ab
Control
Afla
Afla + L.acid
Afla + L.plant
Treatmants



شکل ۱: شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در تیمارهای مختلف پرورشی. وزن نهایی: FW (A)، افزایش وزن بدن: WG (B)، نرخ رشد ویژه: SGR (C)، ضریب تبدیل خوراک: FCR (D). ۱: شاهد (خوراک بدون آفلاتوکسینB_1 و پروبیوتیک)، ۲: آفلاتوکسین (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و بدون پروبیوتیک)، ۳: آفلاتوکسین و پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. acidophilus*)، ۴: آفلاتوکسین و پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L plantarum*). حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<0/05$ بود (میانگین ± انحراف معیار، n=۳).

Figure 1: Growth indices of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings in different treatments. Final Weight: FW (A), Weight Gain: WG (B), Specific Growth Rate: SGR (C), Feed Conversion Ratio: FCR (D). 1: Control (Diet without aflatoxin B_1 and probiotics), 2: Afla (Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1 and no probiotics), 3: Afla+L.acid (Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1 and 10^8 CFU/ml/kg of probiotic *Lactobacillus acidophilus*), 4: Afla+L.plant (Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1 and 10^8 CFU/ml/kg of probiotic *Lactobacillus plantarum*). Data (Mean ± SE) with different superscripts were significantly different (P <0.05).

شاخص‌های خون‌شناسی

مقایسه آزمون میانگین شاخص‌های خون‌شناسی نشان داد که این شاخص‌ها تحت تاثیر سم آفلاتوکسین B_1 قرار گرفتند و کاهش یافتند ($p<0/05$) به‌طوری‌که تعداد گلبول‌های سفید (WBC) و تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) در تیمارهای ۲ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1)، ۳ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. acidophilus*) و ۴ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. plantarum*) در مقایسه با تیمار ۱ (شاهد) کاهش یافتند ($p<0/05$). همچنین بر اساس این نتایج میزان هموگلوبین (Hb) در تیمارهای ۲ و ۴ در مقایسه با تیمار ۱ و درصد هماتوکریت (Hct) در تیمار ۲ در مقایسه با تیمار ۱ کاهش یافتند ($p<0/05$) (جدول ۳).

شاخص‌های بیوشیمیایی

نتایج مربوط به شاخص‌های بیوشیمیایی نشان داد که این شاخص‌ها تحت تاثیر سم آفلاتوکسین B_1 و پروبیوتیک‌های *L. acidophilus* و *L. plantarum* قرار گرفتند ($p<0/05$) به‌طوری‌که تری‌گلیسیرید، کلسترول و گلوکز در تیمار ۲ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1) در مقایسه با تیمار ۱ (شاهد)، کاهش یافتند ($p<0/05$). همچنین بر اساس این نتایج تری‌گلیسیرید در تیمارهای ۳ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. acidophilus*) و ۴ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون

آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. plantarum*) در مقایسه با تیمار ۲ افزایش و گلوکز در این تیمارها کاهش یافتند ($p<0/05$). کلسترول نیز در تیمار ۳ در مقایسه با تیمار ۲ افزایش یافت ($p<0/05$) (شکل ۲).

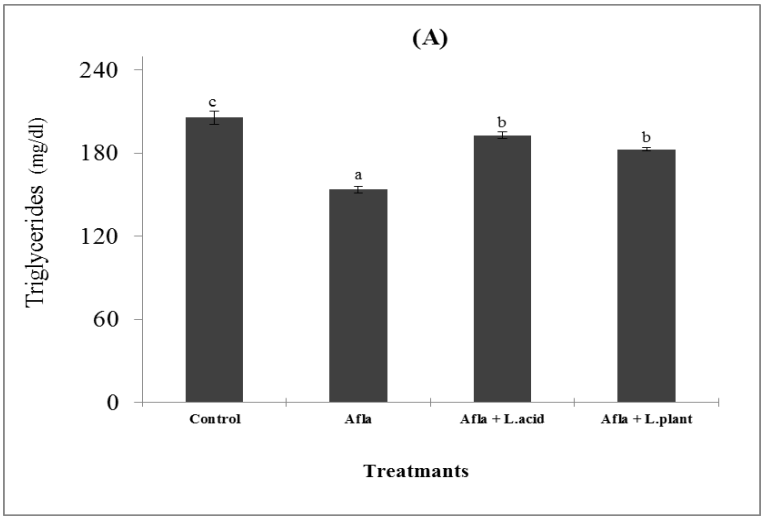
جدول ۳: شاخص‌های خون‌شناسی بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در تیمارهای مختلف پرورشی (میانگین ± انحراف معیار، n=۳)

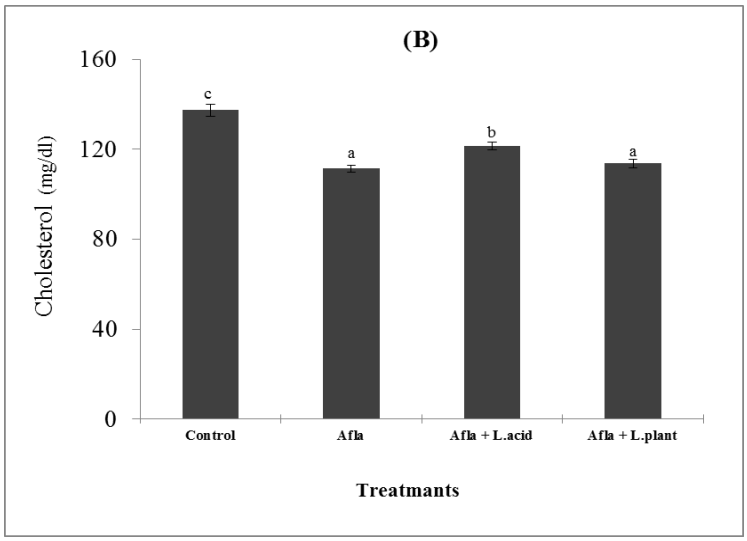
Table 3: Hematology indices of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings in different treatments (Mean ± SD, n=3).

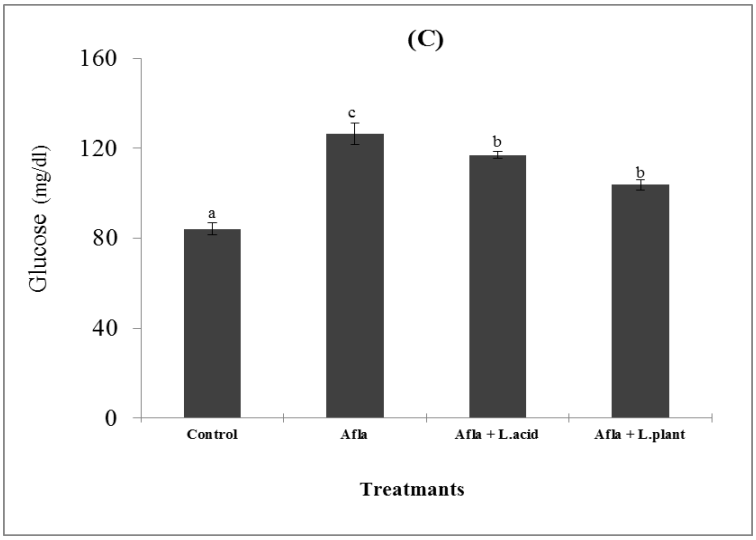
Treatment	Nomenclature	WBC ($\times10^4$/mm^3)	RBC ($\times10^6$/mm^3)	Hb (g/dL)	Hct (%)
1	Control	2.7±0.05^b	1.14±0.01^b	6.04±0. 1^b	30.5±0.5^b
2	Afla	2.22±0.03^a	0.98±0.02^a	5.26±0.07^a	27.2±0.6^a
3	Afla+L.acid	2.32±0.04^a	1.05±0.01^a	5.67±0.07^{ab}	29.1±0.3^{ab}
4	Afla+L.plan	2.28±0.03^a	1.03±0.04^a	5.56±0.12^a	28. 4±0.5^{ab}

حروف غیریکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<0/05$ بود (میانگین± انحراف معیار)

Data (Mean ± SE) with different superscripts are significantly different ($p<0.05$)







شکل ۲: شاخص‌های بیوشیمیایی بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در تیمارهای مختلف پرورشی. تری‌گلیسیرید (A)، کلسترول: (B)، گلوکز (C). ۱: شاهد (خوراک بدون آفلاتوکسینB_1 و پروبیوتیک)، ۲: آفلاتوکسین (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و بدون پروبیوتیک)، ۳: آفلاتوکسین و پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. acidophilus*)، ۴: آفلاتوکسین و پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L plantarum*). حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<0/05$ بود (میانگین ± انحراف معیار، n=۳).

Figure 2: Hematology indices of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings in different treatments. Triglycerides (A), Cholesterol (B), Glucose (C). 1: Control (Diet without aflatoxin B_1 and probiotics), 2: Afla (Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1 and no probiotics), 3: Afla+L.acid (Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1 and 10^8 CFU/ml/kg of probiotic *Lactobacillus acidophilus*), 4: Afla+L.plant (Diet containing 50 ppb of aflatoxin B_1 and 10^8 CFU/ml/kg of probiotic *Lactobacillus plantarum*). Data (Mean ± SE) with different superscripts were significantly different ($P<0.05$).

ترکیب شیمیایی لاشه

مقایسه آزمون میانگین ترکیب تقریبی لاشه) نشان داد که پروتئین و چربی در تیمار ۴ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. plantarum*) اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱ (شاهد) داشت و کاهش یافت ($p<0/05$). همچنین بر اساس این نتایج خاکستر لاشه در تیمار ۳ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 و 10^8 واحد کلنی/ میلی‌لیتر/ کیلوگرم خوراک پروبیوتیک *L. acidophilus*) با تیمارهای ۲ (خوراک حاوی ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1) و ۴ دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<0/05$). رطوبت نیز در تیمار ۴ در مقایسه با تیمار ۱ افزایش یافت ($p<0/05$) (جدول ۴).

جدول ۴: ترکیب شیمیایی لاشه بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در تیمارهای مختلف پرورشی (میانگین ± انحراف معیار، n=۳)

Table 4: Chemical composition of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings in different treatments (Mean ± SD, n=3)

Treatment	Nomenclature	Protein (%)	Lipid (%)	Ash (%)	Moisture (%)
1	Control	0.1^{b}±15.4	0.2^{b}±9.1	0.1^{ab}±2.7	0.2^{a}±72.7
2	Afla	0.1^{ab}±15.2	0.2^{ab}±8.1	0.1^{b}±2.8	0.2^{a}±73.9
3	Afla+L.acid	0.1^{ab}±15.3	0.3^{b}±8.8	0.1^{a}±2.4	0.4^{a}±73.5
4	Afla+L.plan	0.4^{a}±14.4	0.2^{a}±7.2	0.2^{b}±2.9	0.3^{b}±75.5

حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p<0/05$ بود (میانگین ± انحراف معیار)

Data (Mean ± SE) with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

بحث

یکی از نیازها برای دستیابی به توسعه پایدار در آبزی‌پروری، استفاده از خوراک با کیفیت است (Engle *et al.,* 2017). آلودگی اقلام اولیه غذایی و خوراک آبزیان به سموم قارچی مانند آفلاتوکسین‌ها از مشکلات مهم کیفیت خوراک در آبزی‌پروری محسوب می‌شود (Ayyat *et al.,* 2018). با توجه به تاثیر منفی آفلاتوکسین خوراک بر عملکرد فیزیولوژی ماهیان (Tasa *et al.,* 2020)، در سال‌های اخیر استفاده از مکمل‌های غذایی برای کاهش آثار این سموم مورد توجه قرار گرفته است (Allameh *et al.,* 2005). در این بین انواع باکتری‌های پروبیوتیک به‌واسطه اثر تقویت سیستم ایمنی و خواص آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به عنوان یک عامل زیستی در حذف آفلاتوکسین‌ها مورد استفاده قرار بگیرند (Bagherzadeh Kasmani *et al.,* 2012; Manafi, 2012; Manafi, 2018).

بررسی روند تغییرات شاخص‌های رشد در مطالعه حاضر، نشان‌دهنده کاهش این شاخص‌ها در ماهیان تغذیه شده با خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1 بود. در مطالعات Ayyat و همکاران (۲۰۱۸) و Naiel و همکاران (۲۰۱۹) مشخص شد که خوراک حاوی آفلاتوکسین B_1 منجر به کاهش شاخص‌های رشد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) شد. نتایج مطالعه Fan و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان داد که تغذیه ماهی کپور معمولی با خوراک آلوده به ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 باعث کاهش رشد و افزایش ضریب تبدیل غذایی شد. اثرات مخرب سموم قارچی بر عملکرد رشد ماهیان معمولاً به تاثیر این سموم بر کاهش مصرف غذا، جذب مواد مغذی، ساخت پروتئین، اختلال در کارکرد کبد و به افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها نیز نسبت داده می‌شود (Santacroce *et al*., 2008). علاوه‌براین، اثرات سمی ناشی از آفلاتوکسین B_1 ممکن است به دلیل افزایش غلظت رادیکال‌های آزاد در کبد طی متابولیسم این سم باشد (Towner *et al*., 2003). همچنین مشخص شده است که سموم با اختلال و آسیب بر اندام‌های حیاتی منجر به کاهش رشد می‌شوند (Aggarwal *et al*., 2013). بر اساس نتایج مطالعه حاضر، افزودن پروبیوتیک به خوراک بچه‌ماهیان کپور معمولی منجر به بهبود غیرمعنی‌دار شاخص‌های رشد شد. در مطالعات Lara-Flores و همکاران (۲۰۰۳) و Al-Dohail و همکاران (۲۰۰۹) افزودن پروبیوتیک‌های *L. acidophilus* و *L. plantarum* به‌ترتیب در خوراک گربه‌ماهیان آفریقایی (*Clarias gariepinus*) و بچه‌ماهیان تیلاپیای نیل منجر به بهبود شاخص‌های رشد شد. نتایج مطالعه Ayyat و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان داد که غنی‌سازی خوراک با پروبیوتیک‌های باکتوسل منجر به کاهش آثار آفلاتوکسین بر شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان تیلاپیای نیل شد. پیشتر مشخص شد که پروبیوتیک‌ها در بهبود سلامت دستگاه گوارش و سلامت عمومی ماهیان موثر هستند (Bagherzadeh Kasmani *et al.,* 2012; Manafi, 2018). پروبیوتیک‌ها با اتصال به آفلاتوکسین B_1 به‌وسیله پلی‌ساکاریدها و پپتیدوگلیکان‌های دیواره سلولی، در حذف آثار این سم موثر هستند (Haskard *et al.,* 2001).

نتایج مربوط به شاخص‌های خون‌شناسی در مطالعه حاضر، نشان‌دهنده کاهش این شاخص‌ها در ماهیان تغذیه شده با آفلاتوکسین B_1 بود. نتایج مطالعه Varior (۲۰۰۳) نشان داد که آفلاتوکسین منجر به کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز خون تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) شد. همچنین در مطالعات Sherif و Gad (۲۰۱۳) و Ayyat و همکاران (۲۰۱۸) مشخص شد که خوراک حاوی آفلاتوکسین B_1 منجر به کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و درصد هماتوکریت ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) شد. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن پروبیوتیک به خوراک بچه‌ماهیان کپور معمولی منجر به افزایش غیرمعنی‌دار برخی شاخص‌های خون‌شناسی شد. در مطالعه Grama و Ringo (۲۰۰۵) مشخص شد که غنی‌سازی خوراک بچه‌ماهیان تیلاپیای نیل با پروبیوتیک *Pedioccus acidilactici* منجر به بهبود شاخص‌های خون‌شناسی شد. در مطالعه El-Mokhlesany و همکاران (۲۰۲۳) نیز استفاده از مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) در خوراک آلوده به آفلاتوکسین منجر به بهبود شاخص‌های خونی ماهی کفال (*Liza ramada*) شد. از مهم‌ترین عوامل سلامت فیزیولوژیک ماهیان، بررسی

شاخص‌های خونی است که با نوع تغذیه، گونه و عوامل محیطی در ارتباط است و می‌توان با ارزیابی این شاخص‌ها، به شرایط تغذیه‌ای ماهیان پی برد (Fanouraki *et al*., 2007). کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و بالتبع کاهش هموگلوبین و هماتوکریت به کمبود انتشار اکسیژنی به بافت‌ها در ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی آفلاتوکسین نسبت داده شده است (Van der Oost *et al*., 2003). همچنین عنوان شد که کاهش شاخص‌های خونی در مواجهه با سموم و عوامل تنش‌زا، به دلیل آسیب‌های بافتی به اندام‌های مسئول ساخت این شاخص‌هاست (Moccia *et al*., 1984). افزایش شاخص‌های خونی در اثر عوامل تغذیه‌ای مانند پروبیوتیک‌ها، بر مکانیسم erythropoiesis[1] و کاهش حجم پلاسما ارتباط داده شده است (Yildirim-Aksoy *et al*., 2008). تصور محققان بر این است که افزایش شاخص‌های خونی می‌تواند به دلیل تحریک سیستم ایمنی به‌وسیله مکمل‌های غذایی (پروبیوتیک) باشد (Silva *et al*., 2009).

بررسی روند تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی مطالعه حاضر، نشان‌دهنده کاهش سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول و افزایش گلوکز سرم در ماهیان تغذیه شده با آفلاتوکسین B_1 بود. نتایج مطالعه Varior (۲۰۰۳) نشان داد که آفلاتوکسین منجر به تغییر در سطح برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در تیلاپیای موزامبیک شد. تغییر در سطوح شاخص‌های بیوشیمیایی سرم بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با آفلاتوکسین B_1 در مطالعه Pradeepkiran و همکاران (۲۰۱۵) نیز مشاهده شد. همچنین نتایج بررسی‌های Alinezhad و همکاران (۲۰۱۷) و Ghafarifarsani و همکاران (۲۰۲۱) نشان‌دهنده تغییر در سطح شاخص‌های بیوشیمیایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۵۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین B_1 بود. با توجه به این‌که سطوح غلظت شاخص‌های بیوشیمیایی، به عنوان یکی از مولفه‌های وضعیت سلامت ماهیان مطرح هستند، می‌توان در مطالعه حاضر کاهش تری‌گلیسیرید و کلسترول و افزایش گلوکز سرم را به اثر مواجهه با شرایط استرسی و اثر سم آفلاتوکسین B_1 نسبت داد (Tanaka *et al*., 2001). تغییر در سطح تری‌گلیسیرید،کلسترول و گلوکز سرم در مواجهه با عوامل تنش‌زا به تغییر در میزان متابولیسم و آسیب سلولی نسبت داده می‌شود (Riche, 2007). علت افزایش گلوکز سرم ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مواجهه‌شده با شرایط استرسی در مطالعه Jasour و همکاران (۲۰۱۸) به افزایش آن در سرم برای تامین انرژی برای مقابله با شرایط تنش عنوان شد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، افزودن پروبیوتیک به خوراک بچه‌ماهیان کپور معمولی منجر به افزایش سطوح تری‌گلیسیرید و کلسترول و کاهش گلوکز سرم شد. در مطالعه Weisi و همکاران (۲۰۲۲) نیز افزودن پروبیوتیک‌های *L. acidophilus* و *Candida utilis* به خوراک بچه‌ماهیان کپور معمولی منجر به بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی سرم شد. پیش‌تر نیز مشخص شد که مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی خوراک منجر به بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی سرم می‌شوند (Dhingra and Bansal, 2006; Gul *et al*., 2011). کاهش شرایط استرسی به‌وسیله پروبیوتیک‌ها منجر به تحریک ترشح هورمون‌های اپی‌نفرین و گلوکاکون و باعث فعال شدن گلوکونئوژنز و لیپولیز شده و تری‌گلیسیرید تجزیه می‌شود و غلظت آن تغییر می‌یابد. سپس اسیدهای چرب آزاد شده وارد گردش خون می‌شوند و در فرآیند چرخه اسید سیتریک، تولید انرژی می‌کنند. ادامه این روند منجر به تولید کلسترول می‌گردد (Larsson and Lewander, 1973; Palmegiano *et al*., 1993).

یافته‌های مطالعه حاضر، نشان‌دهنده تاثیر غیرمعنی‌دار آفلاتوکسین بر ترکیب شیمیایی لاشه بود به‌طوری‌که پروتئین و چربی لاشه در ماهیان تغذیه شده با خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1، کاهش یافتند. مطالعات متعددی کاهش کیفیت لاشه ماهیان تغذیه شده با آفلاتوکسین را گزارش کردند که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت. در مطالعات Mahfouz و Sherif (۲۰۱۵) و Ayyat و همکاران (۲۰۱۸) مشخص شد که خوراک حاوی آفلاتوکسین B_1 منجر به کاهش کیفیت لاشه بچه‌ماهیان تیلاپیای نیل شد. در مطالعه Tasa و همکاران (۲۰۲۰) نیز تغذیه بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با خوراک حاوی

[1] آزاد شدن اریتروسیت‌ها از بافت‌های خون‌ساز

آفلاتوکسین B_1 منجر به کاهش پروتئین و چربی لاشه شد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، افزودن پروبیوتیک‌ها به خوراک ماهیان بر کاهش اثرات آفلاتوکسین موثر نبود. در مطالعه Dash و همکاران (۲۰۱۴) بررسی تاثیر پروبیوتیک *L. plantarum* بر میگوی *Macrobrachium rosenbergii* نشان داد که افزودن این پروبیوتیک به خوراک باعث تغییر در کیفیت لاشه میگوها نشد. همچنین در مطالعه Weisi و همکاران (۲۰۲۲) افزودن پروبیوتیک‌های *L. acidophilus* و *Candida utilis* به خوراک بچه‌ماهیان کپور معمولی، باعث تغییرات معنی‌داری بر ترکیب شیمیایی لاشه نشد. تصور بر این است که خوراک‌های حاوی سموم و آلاینده‌ها باعث اختلال در سنتز پروتئین و متابولیسم چربی می‌شوند و بر ترکیب بدن ماهیان اثر می‌گذارند (Ellis *et al.*, 1991). پایین بودن درصد چربی بدن در ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی آفلاتوکسین به اختلال مسیر متابولیک چربی‌ها و کاهش نرخ لیپوژنز نسبت داده شده است. همچنین ذخیره‌سازی کمتر چربی در بدن می‌تواند به مفهوم نیاز بالای متابولیک حیوان به انرژی جهت مقابله با عوامل تنش‌زا (خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1) باشد (Peng *et al.*, 2009).

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، می‌توان بیان کرد که آلودگی خوراک به آفلاتوکسین B_1 تاثیر منفی بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی، بیوشیمیایی و کیفیت لاشه بچه‌ماهیان کپور معمولی داشت. همچنین افزودن پروبیوتیک‌های *L. plantarum* و *L. acidophilus* به خوراک تا حدودی توانست بر بهبود شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی موثر باشد. البته پروبیوتیک *L. acidophilus* در مقایسه با *L. plantarum*، موثرتر بود.

منابع

Aggarwal, V., Deng, X., Tuli, A. and Goh, K.S., 2013. Diazinon- chemistry and environmental fate: A California perspective. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 107-140. DOI:10.1007/978-1-4614-5577-6-5

Akhlaghi, M. and Mirab Brojerdi, M., 1997. Investigating the effect of anesthetizing clove in fish and determining its LC_{50}. *Journal of Veterinary Research*, 54(2):49-52.

Al-Dohail, M.A. Hashim, R. and Aliyu-Paiko, M., 2009. Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. *Aquaculture Research*, 40(14):1642-1652. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02265.x

Alinezhad, S., Faridi, M., Falahatkar, B., Nabizadeh, R., and Davoodi, D., 2017. Effects of nanostructured zeolite and aflatoxin B_1 in growth performance, immune parameters and pathological conditions of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish and Shellfish Immunology*, 70:648-655. DOI:10.1016/j.fsi.2017.08.021

Allameh, A., Safamehr, A.R., Mirhadi, S.A., Shivazad, M., Razzaghi-Abyaneh, M. and Afshar-Naderi, A., 2005. Evaluation of biochemical and production parameters of broiler chicks fed ammonia treated aflatoxin contaminated maize grains. *Animal Feed Science Technology*, 122:289–301. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2005.03.005

AOAC, 2005. Official methods of analysis of association of official agriculture chemists. 18th ed, Washington, Gaithersburg. 25 P.

Ayyat, M.S., Ayyat, A.M.N., Al-Sagheer, A.A. and El-Hais, A.E.A.M., 2018. Effect of some safe feed additives on growth performance, blood biochemistry, and bioaccumulation of aflatoxin residues of Nile tilapia fed aflatoxin-B_1 contaminated diet. *Aquaculture*, 495:27-34. DOI:10.1016/j.aquaculture.2018.05.030

Bagherzadeh Kasmani, F., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A. and Shariatmadari, F., 2012. A novel aflatoxin-binding *Bacillus* probiotic: Performance, serum biochemistry, and immunological parameters in Japanese quail. *Poultry Science*, 91(8):1846. DOI:10.3382/ps.2011-01830

Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, (5):771-781. DOI:10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and Serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* 30:21-25. DOI:10.1007/s10695-004-5000-1.

Cebeci, A. and Gürakan, C., 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, 20(5):511-518. DOI:10.1016/S0740-0020(02)00174-0

Celik, I. and 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. DOI:10.1080/00071660310001618352

Dash, G. Raman, R.P. Prasad, K.P. Makesh, M. Pradeep, M.A. and Sen, S., 2014. Evaluation of *Lactobacillus plantarum* as feed supplement on host associated microflora, growth, feed efficiency, carcass biochemical composition and immune response of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Aquaculture*, 432:225-236. DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.05.011

Dawood, M.A., Koshio, S., Ishikawa, M. and Yokoyama, S., 2015. Interaction effects of dietary supplementation of heat-killed *Lactobacillus plantarum* and β-glucan on growth performance, digestibility and immune response of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. *Fish and Shellfish Immunology*, 45(1):33-42. DOI:10.1016/j.fsi.2015.01.033

Dhingra, S. and Bansal, M.P., 2006. Attenuation of LDL receptor gene expression by selenium deficiency during hypercholesterolemia. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 282:75-82. DOI:10.1007/s11010-006-1266-1.

Duc, P.M., Nhan, H.T., Thi, T., Hoa, T., Mong, H., Chau, H. and An, C.M., 2016. Effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain L-137 on growth performance and immune responses of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) via dietary administration. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 6:270-280.

Ellis, W.O., Smith, J.P., Simpson, B.K., Oldham, J.H. and Scott, P.M., 1991. Aflatoxin in food: Occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. *Food and Nutrition*, 30:403-439. DOI:10.1080/10408399109527551.

El-Mokhlesany, S.A., Ibrahim, M.A., Amer, A.A., Gewaily, M.S., Zaineldin, A.I., Soliman, A. and Dawood, M.A., 2023. The protective effects of *Saccharomyces cerevisiae* on the growth performance, intestinal health, and antioxidative capacity of mullet (*Liza ramada*) fed diets contaminated with aflatoxin B_1. *Annals of Animal Science*, 23(3):859-868. DOI:10.2478/aoas-2023-0005

Engle, C.R., D'Abramo, L., Ponniah, A.G. and Slater, M., 2017. Global aquaculture 2050. *Journal of the World Aquaculture Society*, 48(1):3-6. DOI:10.1111/jwas.12400

Fan, Y., Liu, L., Zhao, L., Wang, X., Wang, D., Huang, C. and Ma, Q. 2018. Influence of *Bacillus subtilis* ANSB060 on growth, digestive enzyme and aflatoxin residue in Yellow River carp fed diets contaminated with aflatoxin B_1. *Food and Chemical Toxicology*, 113:108-114. DOI:10.1016/j.fct.2018.01.033.

Fanouraki, B. P., Divaach, M. and Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red progy (*Pargrus pagrus*). *Aquaculture*, 265:294-304. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.01.006

Gabr, G.A., Ibrahim, Y.S., Al-Shawi, S.G., Abosaooda, M., Gupta, J., Oudaha, K.H. and Dadras, M., 2023. Single or combined consumption of resveratrol and the probiotic, *Lactobacillus acidophilus* attenuate the effects of crowding stress on growth, immune characteristics, and antioxidant defense in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Reports*, 29:101471. DOI:10.1016/j.aqrep.2023.101471

Ghafarifarsani, H., Kachuei, R. and 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. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.735928

Grama, L. and Ringo, E., 2005. Prospects of fish probiotics. *In Biology of growing animals*, 2:379-417. DOI:10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x

Gudadappanavar, A.M., Hombal, P.R., Timashetti, S.S. and Javali, S.B., 2017. Influence of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* on wound healing in male Wistar rats-an experimental study. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 7(4):233-238. DOI:10.4103/ijabmr.IJABMR_329_16.

Gul, Y., Gao, Z.X., Qian, X.Q. and Wang, W.M., 2011. Haematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus* Cantor, 1842). *Journal of Applied Ichthyology*, 27(1):122–128. DOI:10.1111/j.1439-0426.2010.01565.x

Hamza, N., Mhetli, M., Ben, I., Cahu, C. and Kestemont, P., 2008. Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture*, 275(1-4):274–282. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.01.014

Haskard, C.A., El-Nezami, H.S., Kankaanpaa, P.E., Salminen, S. and Ahokas, J.T., 2001. Surface binding of aflatoxin B_1 by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7):3086-3091. DOI:10.1128/AEM.67.7.3086-3091.2001

Hung, S.S.Y., Fu, C.H.L., Higgs, D.A., Blfry, S.K., Schulte, P.M. and Brauner, C.J., 2008. Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring Chinook salmon parr, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*, 274:109-117. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.11.011

Hussein, S.Y., Mekkawy, I.A.A., Moktar, Z.Z. and Mubarak, M., 2000. Protective effect of *Nigella sativa* seed against aflatoxicosis in *Oreochromis niloticus*. Proc. Conf. Mycotoxins and Dioxins and the Environment, Bydgoszcz, pp. 25-27.

Jasour, M.S., Wagner, L., Sundekilde, U.K., Larsen, B.K., Rasmussen, H.T., Hjermitslev, N.H., Hammershoj, M., Dalsgaard, A.J.T. and Dalsgaard, T.K., 2018. Fishmeal with different levels of biogenic amines in aqua feed: comparison of feed protein quality, fish growth performance, and metabolism. *Aquaculture*, 488:80-89. DOI:10.1016/j.aquaculture.2018.01.030

Khan, M.J., Renata, U.C., Christine, I. and Bohm, J., 2001: Occurrence of aflatoxins in some common concentrate feeds in bangladesh. *Journal of Bangladesh Veterinarian*,18(2):130-135.

Klontz, G. W., 1994. Fish hematology. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaatari, S.L. and Smith, S.A. (eds) Techniques in fish immunology. Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. pp. 21–132.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Mendez, B.E. and Lopez-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216(1-4):193-201. DOI:10.1016/S0044-8486(02)00277-6

Larsson A. and Lewander K., 1973. Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* (A), 44:367–374. DOI:10.1016/0300-9629(73)90489-1

Lewis, S., Bain, B. and Bates, I., 2006. Dacie and Lewis Practical Hematology. Tenth Edition. Philadelphia, PA. Churchill Livingstone, Elsevier. 722 P. DOI:10.1016/B0-44-306660-4/50007-6

Mahfouz, M.E. and Sherif, A.H., 2015. A multiparameter investigation into adverse effects of aflatoxin on *Oreochromis niloticus* health status. *The Journal of Basic and*

Applied Zoology, 71:48-59. DOI:10.1016/j.jobaz.2015.04.008

Mahmoudikia, Z., Imani, A., Sarvi Moghanlou, K. and Razi, M., 2018. Simultaneous effect of stocking density, dietary aflatoxin B_1 and medicinal plant multiblend on digestive physiology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 28(1):107-118. DOI:10.22092/ISFJ.2019.118888 (in Persian)

Manafi, M., 2012. Counteracting effect of highgrade sodium bentonite during aflatoxicosis in broilers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14: 539-547. DOI: 20.1001.1.16807073.2012.14.3.4.8

Manafi, M., 2018. Impact of application of natural toxin binder on performance, humoral immune response, cecal microbial population and changes in small intestine morphology of broilers fed with diet contaminated with aflatoxin B_1. *Journal of Veterinary Research*, 73(3):273-282. DOI:10.22059/jvr.2018.128340.2327

Moccia, R.D., Hung, S.S.O., Slinger, S.J. and Ferguson, H.W., 1984. Effect of oxidized fish oil, vitamin E and ethoxyquin on the histopathology and haematology of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, 7: 269–282. DOI:10.1111/j.1365-2761.1984.tb00932.x

Naiel, M.A., Ismael, N.E. and Shehata, S.A., 2019. Ameliorative effect of diets supplemented with rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on aflatoxin B_1 toxicity in terms of the performance, liver histopathology, immunity and antioxidant activity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 511:734264. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734264

Palmegiano, G.M., Bianchini, M., Boccignone, M., Forneris, G., Sicuro, B. and Zoccarato, I., 1993. Effects of starvation and meal timing on fatty acid composition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Rivista Italian Aquaculture*, 28:5–11.

Pandey, A., Tyagi, A. and Khairnar, S.O., 2022. Oral feed-based administration of *Lactobacillus plantarum* enhances growth, haematological and immunological responses in *Cyprinus carpio*. *Emerging Animal Species*, 3:100003. DOI:10.1016/j.eas.2022.100003

Peng, S., Chen, L., Qin, J.G., Hou, J., Yu, N., Long, Z., Li, E. and Ye, J., 2009. Effect of dietary vitamin E supplementation on growth performance, lipid peroxidation and tissue fatty acid composition of black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*) fed oxidized fish oil. *Aquaculture Nutrition*, 15:329–337. DOI:10.1111/j.1365-2095.2009.00657.x

Pietsch, C., Müller, G., Mourabit, S., Carnal, S. and Bandara, K., 2020. Occurrence of fungi and fungal toxins in fish feed during storage. *Toxins*, 12(3):171. DOI:10.3390/toxins12030171

Pradeepkiran., J.A. Kumar., A.S., Ismail., S.M., Madhuri., E. and Bhaskar., M., 2015. Amelioration effect of probiotics (cheese) and prebiotic (garlic) on aflatoxin B_1 induced hematological alterations in fresh

water fish *Cyprinus carpio* L. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 5(4):117-124.

Rehulka, J., 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 190:27-47. DOI:10.1016/S0044-8486(00)00383-5

Riche, M., 2007. Analysis of refractometry for determining total plasma protein in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) at various salinities. *Aquaculture*, 264:279–284. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.12.018

Salim, A.B., Zohair, A., Hegazy, A.E.S. and Said, A., 2011. Effect of some strains of probiotic bacteria against toxicity induced by aflatoxins in vivo. *The Journal of American Science*, 7(1):1-12.

Santacroce, M.P., Conversano, M.C., Casalino, E., Lai, O., Zizzadoro, C., Centoducati, G. and Crescenzo, G., 2008. Aflatoxins in aquatic species: metabolism, toxicity and perspectives, *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 18(1):99–130. DOI:10.1007/s11160-007-9064-8.

Sherif, A.H. and Gad, M.D., 2013. Studies on the effect of acidifier on cultured *Oreochromis niloticus* fish. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*, 8(1):229-236.

Silva, B.C., Martins, M.L., Jatobá, A., Buglione Neto, C.C., Vieira, F.N., Pereira, G.V., Jerônimo, G.T., Seiffert, W.Q. and Mouriño, J.L.P., 2009. Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29:874- 880. DOI:10.1590/S0100-736X2009001100002

Soltani, M., Kane, A., Taheri-Mirghaed, A., Pakzad, K. and Hosseini-Shekarabi, P., 2019. Effect of the probiotic, *Lactobacillus plantarum* on growth performance and haematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunized with bivalent *streptococcosis*/*lactococcosis* vaccine. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(2):283-295. DOI:10.22092/ijfs.2018.117757 (in Persian)

Tanaka,Y., Sakurai, E. and Lizuka,Y., 2001. Effect of selenium on serum, hepatic and lipoprotein lipids concentration in rats fed on a high-cholesterol diet. *Yakugaku Zasshi*, 121:93–96. DOI:10.1248/yakushi.121.93.

Tasa, H., Imani, A., Moghanlou, K.S., Nazdar, N. and 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. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.735437

Towner, R.A., Qian, S.Y., Kadiiska, M.B. and Mason, R.P., 2003. *In vivo* identification of aflatoxin-induced free radicals in rat bile. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(10):1330-1340. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2003.08.002.

Van der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, Environ. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 13:57-149. DOI:10.1016/s1382-6689(02)00126-6.

Varior, S., 2003. Biochemical and histopathological effects of aflatoxin on *O. mossambicus*. Thesis for Ph.D. Department of Marine Biology, Microbiology and Biochemistry Cochin University of Science and Technology, India. 184 P.

Weisi, T., Ahmadifard, N., Atashbar Kangharloei, B. and Tukmechi, A., 2022. Effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* and Candida utilis on mucus immunity indices, liver enzymes, and growth of common carp, *Cyprinius carpio*. *Journal of Aquatic Animals Nutrition*, 8(3):1-15. DOI:10.22124/janb.2023.24077.1190 (In Persian)

Williams, J.H., Phillips, T.D., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M. and 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. DOI:10.1093/ajcn/80.5.1106

Yildirim-Aksoy, M., Lim, C., Li, M.H. and Klesius, P.H., 2008. Interaction between dietary levels of vitamins C and E on growth and immune responses in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquaculture Research*, 39(11):1198-1209. DOI:10.1111/j.1365-2109.2008.01984.x

Zheng, X., Duan, Y., Dong, H. and Zhang, J., 2017. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* in different treatments on growth performance and immune gene expression of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and stress of acute low salinity. *Fish and Shellfish Immunology*, 62:195-201. DOI:10.1016/j.fsi.2017.01.015