تاثیر همزمان تراکم پرورش، سم آفلاتوکسین B_1 و مخلوط پودر گیاهان دارویی بر فیزیولوژی گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

زهرا محمودی‌کیا[۱]، احمد ایمانی*[۱]، کوروش سروی مغانلو[۱]، مزدک رازی[۲]

*a.imani@urmia.ac.ir

۱- گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ایران
۲- گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۷

چکیده

در این پژوهش اثر تراکم‌های مختلف نگهداری و سم آفلاتوکسین B_1 به همراه ترکیب پودر آویشن شیرازی و رزماری بر فیزیولوژی گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. بدین منظور ۶۰۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۳±۹۰ گرم، در ۶ تیمار شامل (۱) تراکم پرورش $kg.m^{-3}$ ۱۵- تغذیه با جیره غذایی فاقد سم آفلاتوکسین، (۲) تراکم پرورش $kg.m^{-3}$ ۴۵- تغذیه با جیره غذایی فاقد سم آفلاتوکسین، (۳) تراکم پرورش $kg.m^{-3}$ ۱۵- تغذیه با جیره غذایی حاوی ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین، (۴) تراکم پرورش $kg.m^{-3}$ ۴۵- تغذیه با جیره غذایی حاوی ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین، (۵) تراکم پرورش $kg.m^{-3}$ ۱۵- تغذیه با جیره غذایی حاوی ۴٪ پودر گیاهان آویشن و رزماری و ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین و (۶) تراکم پرورش $kg.m^{-3}$ ۴۵- تغذیه با جیره غذایی حاوی ۴٪ پودر گیاهان آویشن و ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین، تقسیم شدند. فعالیت آلکالین پروتئاز، لیپاز و آمیلاز تحت تاثیر تراکم پرورش بطور معنی‌داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). همچنین، بیشترین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و آلکالین پروتئاز متعلق به گروه تغذیه شده با جیره غذایی فاقد پودر گیاهان دارویی پرورش یافته در تراکم Kg/m^3 ۴۵ بود ($p<۰/۰۵$). میزان فعالیت آنزیم لیپاز ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پودر گیاهان دارویی بطور معنی‌داری کمتر از ماهیان گروه مقابل بود ($p<۰/۰۵$). بررسی‌های بافت شناسی نشان داد که پرزهای روده ماهیان پرورشی در تراکم بالا (کیلوگرم ماهی بر مترمکعب) و تغذیه شده با جیره غذایی دارای ppb ۵۰ آفلاتوکسین دچار تخریب شد. اما افزودن ترکیب پودر آویشن و رزماری مانع بروز این عارضه شد. بنظر می‌رسد بافت روده توانایی تحمل شرایط تنشی ازدحام بالا را دارد، اما اگر این ازدحام با آلودگی جیره غذایی با آفلاتوکسین همراه گردد، برای ماهی قابل تحمل نیست. البته، بررسی‌های تکمیلی نظیر سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت روده برای درک بهتر سازوکار این تغییرات توصیه می‌شود.

لغات کلیدی: بافت شناسی، بخش پیشین روده، رزماری، آویشن، قزل‌آلای رنگین‌کمان

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

مقدمه

امروزه با توجه به کاهش منابع آبی، افزایش تراکم پرورش یکی از راهکارهای افزایش تولید آبزیان می‌باشد (Rafatnezhad *et al.*, 2008). در شیوه پرورش متراکم، غذا و سلامت آن بطور مستقیم بر سلامت ماهی و عملکرد آن موثر است (Imani *et al.*, 2018). اقلام غذایی مانند ذرت و فرآورده‌های جانبی دانه‌های روغنی نظیر بادام زمینی و پنبه‌دانه مورد استفاده در فرمولاسیون جیره غذایی آبزیان، در شرایط رطوبت و درجه حرارت بالا براحتی در معرض آلودگی با سموم قارچی قرار می‌گیرند (Kabak *et al.*, 2006)، به شکلی که سالانه ۲۵٪ محصولات غذایی توسط قارچ‌ها و سموم ناشی از آنها آلوده می‌شوند. آفلاتوکسین‌ها سرطان‌زا و برای کبد، کلیه و سیستم عصبی سمی می‌باشند و برای همهٔ موجودات از جمله انسان و آبزیان بویژه قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان بسیار سمی هستند (Imani *et al.*, 2018). آفلاتوکسین B_1 سمی‌ترین و فراوان‌ترین ترکیب سرطان‌زای طبیعی می باشد (Celik and Sur, 2003) و در دام و طیور موجب اختلالات گوارشی، کاهش سرعت رشد و بازدهی پایین حیوان می‌شود (Gallo *et al.*, 2010). در آبزیان خطر بروز بیماری در اثر مصرف پودر ماهی و بویژه نهاده‌های غذایی با منشا گیاهی آلوده به آفلاتوکسین از جمله کنجاله پنبه دانه، بادام زمینی، ذرت و سویا وجود دارد. آفلاتوکسین موجب کاهش قابل توجه میزان پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین پلاسما می‌گردد (Santacroce *et al.*, 2008). تحقیقات نشانگر اهمیت بالای آلودگی آفلاتوکسینی خوراک قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به سایر ماهیان پرورشی می‌باشد (Lovell, 2003). در آبزی‌پروری از گیاهان دارویی به منظور جلوگیری از فعالیت میکروبی، تسهیل رشد و بلوغ گونه‌های پرورشی استفاده می‌شود. این ترکیبات همچنین می‌توانند از طریق تأثیر بر ریخت‌شناسی روده بر میزان جذب مواد مغذی و در نتیجه کارآیی تغذیه‌ای تأثیرگذار باشند (Bello *et al.*, 2012). روده مهمترین سطح تماس میان مایکوتوکسین‌های خوراکی و اثرات مضر آنها بر حیوان است (Imani *et al.*, 2018). مایکوتوکسین‌ها بر سلامت روده اثر منفی می گذارند و سبب کاهش بقاء سلول‌های روده، کاهش اسید چرب با زنجیره کوتاه و حذف باکتری‌های مفید، افزایش بیان ژن‌های دخیل در التهاب می‌شوند (Broom, 2015). آنزیم‌های گوارشی نقش بسیار مهمی در هضم و در نتیجه جذب مواد مغذی اعم از پروتئین و چربی دارند و تعیین فعالیت آنها شاخص خوبی جهت سنجش ظرفیت گوارشی و همچنین بیانگر تکامل دستگاه گوارش و وضعیت تغذیه‌ای ماهی است (Yúfera and Darias, 2007). با مطالعه فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌توان اطلاعات زیادی در ارتباط با فیزیولوژی گوارش و شرایط تغذیه‌ای ماهی فراهم نمود (Bolasina *et al.*, 2006). فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهیان با تغذیه و عادات غذایی آنها در ارتباط است؛ برای مثال، آمیلاز برای هضم کربوهیدرات‌ها ضروری می‌باشد و لیپاز آنزیمی است که توانایی آبکافت استرها را دارد و در تجزیه تری گلیسریدها به گلیسرول و اسیدهای چرب ایفاء نقش می‌کند (Oledo *et al.*, 2011). با این وجود، پژوهش‌ها در زمینه فعالیت آنزیم‌های گوارشی گونه‌های مختلف آبزیان تحت تاثیر شرایط پرورش متراکم و همچنین آلودگی با سموم قارچی (Bolasina *et al.*, 2006; Imani *et al.*, 2018; Dong *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2018) بسیار اندک است. از اینرو، مطالعه تغییر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در پاسخ به آلودگی‌های غذایی یک گام ضروری در جهت درک چگونگی مکانیسم گوارش و سازگاری جانداران با تغییر کیفیت جیره غذایی و شرایط محیط پرورش است (Rungraungsak-Torrisen *et al.*, 2006). با توجه به نبود منابع منتشره علمی در زمینه تاثیر همزمان تراکم‌های مختلف پرورش و سم آفلاتوکسین B_1 به همراه افزودن پودر آویشن شیرازی و رزماری بر فیزیولوژی دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شامل فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آسیب شناسی بافت آن، مطالعه حاضر طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش کار

جهت شروع مطالعه، ۶۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۳±۹۰ گرم از یکی از مراکز

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی استان آذربایجان غربی شهرستان ارومیه خریداری شدند. ماهیان پس از گذراندن یک هفته دوره قرنطینه و سازش با شرایط جدید، توزین و به صورت تصادفی در مخازن ۳۰۰ لیتری حاوی ۲۰۰ لیتر آب توزیع شدند. تغذیه ماهیان به میزان ۳ درصد وزن بدن بود. این مطالعه به صورت یک طرح کاملا تصادفی ساده شامل ۶ تیمار طبق جدول ۱ در سه تکرار و به مدت ۴۵ روز به اجرا درآمد. در طول دوره پرورش، فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما و میزان اکسیژن محلول به طور مرتب روزانه اندازه‌گیری و ثبت شد. این مقادیر در محدوده مناسب برای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان قرار داشت (بترتیب ۰/۵±۱۵/۵ درجه سانتی‌گراد و ۰/۶±۸/۰ میلی‌گرم در لیتر). در این پژوهش از جیره غذایی تجاری GFT_2 ساخت شرکت فرادانه استفاده شد، به این شکل که پس از آسیاب نمودن دان‌های غذایی، آفلاتوکسین و/یا پودرگیاهان آویشن و رزماری طبق جدول ۱ به جیره غذایی افزوده شد (Imani *et al*., 2018).

جدول۱ : تیمارهای آزمایشی

Table 1: Experimental treatments

گروه آزمایشی	تیمارهای آزمایشی
تیمار ۱ (گروه شاهد)	۱۵ کیلوگرم بر مترمکعب ماهی (تغذیه با غذای فرادانه GFT)
تیمار ۲	۱۵ کیلوگرم بر مترمکعب ماهی (تغذیه با غذای فرادانه + سم آفلاتوکسین ۵۰ ppb)
تیمار ۳	۴۵ کیلوگرم بر مترمکعب ماهی (تغذیه با غذای فرادانه)
تیمار ۴	۴۵ کیلوگرم بر مترمکعب ماهی (تغذیه با غذای فرادانه + سم آفلاتوکسین ۵۰ ppb)
تیمار ۵	۱۵ کیلوگرم بر مترمکعب ماهی(تغذیه با غذای فرادانه + سم آفلاتوکسین ۵۰ ppb + ۲درصد پودر آویشن + ۲ درصد پودر رزماری)
تیمار ۶	۴۵ کیلوگرم بر مترمکعب ماهی(تغذیه با غذای فرادانه + سم آفلاتوکسین ۵۰ ppb + ۲درصد پودر آویشن + ۲ درصد پودر رزماری)

در پایان آزمایش جهت مطالعه میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده پس از ۲۴ ساعت قطع تغذیه، از هر تیمار ۳ ماهی به صورت کاملاً تصادفی صید و روده آنها جهت مطالعات آنزیمی جدا شد. پیش از کالبدگشایی، ماهیان توسط گل میخک ۲۰۰ ppm بیهوش شدند و با ضربه‌ای به سر کشته شدند (Imani *et al*., 2018). عصاره خام آنزیمی طبق روش Chong و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد و برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آلکالین پروتئاز، لیپاز و آمیلاز به ترتیب از سوبسترای اختصاصی آزوکازئین، پارانیتروفنیل مریستات و نشاسته استفاده شد (Iijima *et al*., 1998; Imani *et al*., 2018).

بررسی‌های بافت‌شناسی روده

جهت بررسی‌های بافت‌شناسی روده، نمونه‌برداری در پایان دوره پرورش صورت پذیرفت. عمل غذادهی ماهیان ۲۴ ساعت قبل از انجام نمونه‌برداری قطع گردید. از هر تیمار ۶ قطعه (از هر تانک دو قطعه ماهی) بصورت کاملاً تصادفی انتخاب و اقدام به نمونه‌برداری گردید. پس از تهیه مقاطع بافتی از نمونه‌های آماده شده، لام‌ها با استفاده از هماتوکسیلین-ائوزین (Haematoxylin and Eosin) رنگ‌آمیزی شده و مورد بررسی کیفی قرارگرفتند.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS، به روش آنالیز واریانس دوطرفه (ANOVA) و آزمون توکی واکاوی آماری شدند. برای حصول بهتر اهداف این پژوهش، داده‌های آزمایشی در دو گروه مختلف سازماندهی و به صورت دو طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ تجزیه آماری شدند. در آنالیز آماری نخست، به منظور تعیین اثر همزمان تراکم پرورش و آلودگی جیره‌های

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

غذایی به آفلاتوکسین، داده‌های مربوط به تیمارهای ۱ تا ۴ مد نظر قرار گرفت. در این آنالیز اثر دو عامل تراکم پرورش (در دو سطح ۱۵ و ۴۵ کیلوگرم/مترمکعب) و آلودگی جیره به آفلاتوکسین (در دو حالت عدم آلودگی جیره و آلودگی جیره با ppb ۵۰ آفلاتوکسین) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در آنالیز آماری دوم که با هدف تعیین اثر مکمل‌سازی گیاهان دارویی به جیره‌ی غذایی آلوده به آفلاتوکسین در تراکم‌های مختلف انجام شد، نیز داده‌ها به صورت طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ با دو عامل اصلی تراکم پرورش (در دو سطح ۱۵ و ۴۵ کیلوگرم/ مترمکعب) و مکمل سازی جیره‌ای گیاهان دارویی (در دو سطح عدم مکمل سازی و مکمل سازی گیاهان دارویی) صورت پذیرفت. پیش از انجام آنالیزهای آماری مورد نظر، از نرمال بودن و همگنی واریانس‌ها بترتیب توسط آزمون‌های شاپیروویلک و لون اطمینان حاصل گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها $p\leq ۰/۰۵$ بود. تمامی تحلیل‌های آماری در محیط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ صورت پذیرفت.

نتایج

آنالیز واریانس مطالعه اثر همزمان تراکم پرورش و آلودگی جیره غذایی به آفلاتوکسین B_1 (تیمارهای ۱ تا ۴) نشان داد فعالیت آنزیم‌های آلکالین پروتئاز، لیپاز و آمیلاز تنها تحت تاثیر تراکم پرورش قرار گرفتند (جدول ۲) و آلودگی جیره غذایی و همچنین اثر متقابل این دو عامل هیچ اثر بر میزان فعالیت این آنزیم‌ها نداشتند ($p>۰/۰۵$). در نتیجه در مقایسات تعقیبی، گروه‌های آزمایشی تنها با توجه به تراکم پرورش مورد آنالیز (Tukey's HSD test) قرار گرفتند. نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های مذکور در جدول ۳ آمده است. همانطوریکه از نتایج می‌توان دریافت، پرورش ماهیان در تراکم بالا به طور معنی‌داری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور شد ($p<۰/۰۵$).

آنالیز واریانس بررسی اثر همزمان تراکم پرورش و افزودن پودر گیاهان دارویی به جیره غذایی ماهیان تغذیه شده با خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1 نشان داد که اثر متقابل دو عامل مورد بررسی (تراکم و پودر گیاهان دارویی) بر میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و آلکالین پروتئاز معنی‌دار بود. با این وجود، میزان فعالیت آنزیم لیپاز تنها تحت تاثیر عامل اصلی وجود یا فقدان ترکیب پودر گیاهان دارویی در جیره غذایی قرار گرفت (جدول ۴). بنابراین، جهت مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و آلکالین پروتئاز گروه‌های مختلف آزمایشی تمامی گروه‌ها مد نظر قرار گرفتند و در ارتباط با فعالیت آنزیم لیپاز صرفا به بررسی عامل اصلی تراکم بسنده شد.

جدول ۲: آنالیز واریانس (*P* value) اثر همزمان تراکم پرورش و آلودگی جیره به آفلاتوکسین B_1 بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی

Table 2: ANOVA output of interactive effect of stocking density and dietary aflatoxin B_1 contamination on digestive enzymes activity.

عامل	آنزیم‌های گوارشی		
	آمیلاز	لیپاز	آلکالین پروتئاز
آفلاتوکسین	۰/۲۰۴	۰/۷۹۹	۰/۲۳۷
تراکم پرورش	۰/۰۰۰	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰
آفلاتوکسین*تراکم پرورش	۰/۹۳۵	۰/۳۲۴	۰/۴۱

همانطوریکه در شکل ۱ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز متعلق به گروه تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۰ درصد ترکیب پودر گیاهان دارویی و پرورش یافته در تراکم $۴۵\ Kg/m^3$ بود و با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز در شکل ۲ نشان داده شده است. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم نیز در تیمار ۰ درصد ترکیب پودر گیاهان دارویی- تراکم پرورش $۴۵\ Kg/m^3$ مشاهده گردید که به طور معنی‌داری بیش از سایر گروه‌های آزمایشی بود ($p<۰/۰۵$). میزان فعالیت آنزیم لیپاز ماهیان تحت تاثیر حضور ترکیب پودر گیاهان دارویی قرار گرفت و به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۳، $p<۰/۰۵$).

شکل ۴ بررسی بافت قسمت ابتدایی روده ماهیان تیمارهای مختلف را در پایان دوره پرورش نشان می‌دهد.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

جدول ۳: فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهیان گروه‌های آزمایشی در پایان دوره پرورش

Table 3: Digestive enzymes activity of experimental groups at the end of experimental period.

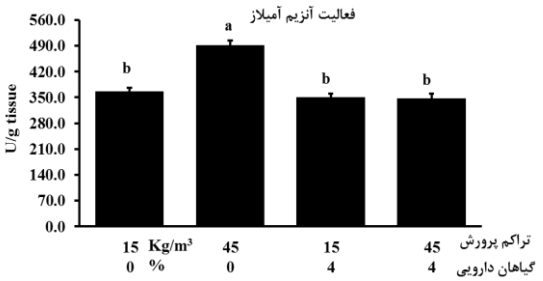
تراکم پرورش (Kg/m^3)	آنزیم‌های گوارشی (U/g tissue)		
	آمیلاز	لیپاز	آلکالین پروتئاز
۱۵	۳۵۶/۶۷±۹/۰۶^{b*}	۴۵/۱۷±۰/۹۵^{b}	۲۶۷/۱۷±۲/۷۱^{b}
۴۵	۴۷۹/۳۳±۱۳/۰۰^{a}	۴۹/۵۰±۰/۷۶^{a}	۲۷۸/۳۲±۵/۰۲^{a}

* حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود تفاوت معنی داری آماری می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۴: آنالیز واریانس (P value) اثر تراکم پرورش و افزودن پودر گیاهان دارویی به جیره آلوده به آفلاتوکسین B_1 بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی

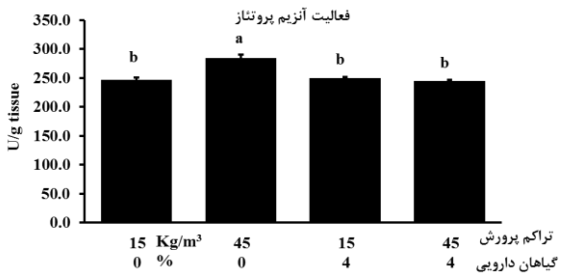
Table 4: ANOVA output of interactive effect of stocking density and medicinal plant inclusion in aflatoxin B_1 contamination diets on digestive enzymes activity.

عامل	آنزیم‌های گوارشی		
	آمیلاز	لیپاز	آلکالین پروتئاز
پودر گیاهان دارویی	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱
تراکم پرورش	۰/۰۰۱	۰/۴۴۱	۰/۰۰۳
پودر گیاهان دارویی*تراکم پرورش	۰/۰۰۰	۰/۰۶۸	۰/۰۰۰



شکل ۱: میزان فعالیت آنزیم آمیلاز ماهیان پرورش یافته در تراکم‌های مختلف و تغذیه شده با جیره غذایی حاوی/ فاقد پودر گیاهان دارویی (آویشن شیرازی و رزماری). در این آزمایش ماهیان با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه شده‌اند، حروف غیریکسان نشانه اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ می‌باشند.

Figure 1: Amylase activity of fish at various stocking density and received diets with/without medicinal plants (thyme and rosemary). In this trial, all diets were contaminated with aflatoxin B_1. Columns with different letters are significantly different at p<0.05.



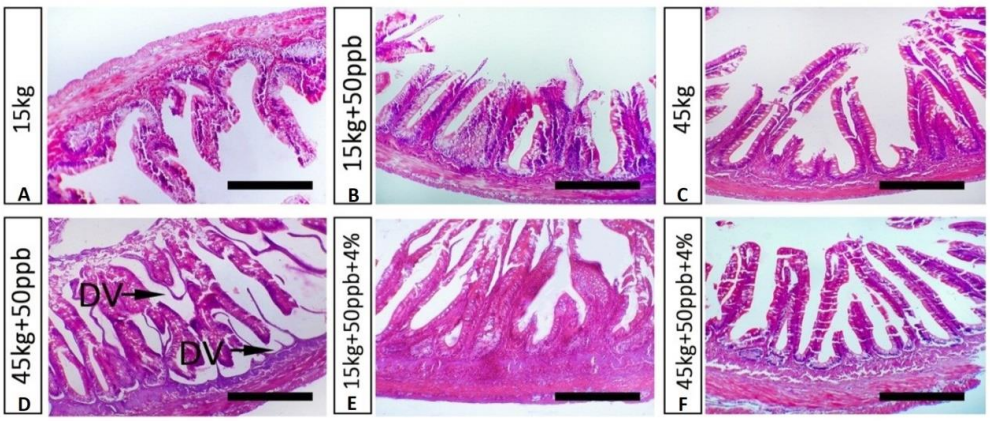
شکل ۲: میزان فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز ماهیان پرورش یافته در تراکم‌های مختلف و تغذیه شده با جیره غذایی حاوی/ فاقد پودر گیاهان دارویی(آویشن شیرازی و رزماری). در این آزمایش ماهیان با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه شده‌اند، حروف غیریکسان نشانه اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ می‌باشند.

Figure 2: Alkaline protease activity of fish at various stocking density and received diets with/without medicinal plants (thyme and rosemary). In this trial, all diets were contaminated with aflatoxin B_1. Columns with different letters are significantly different at p<0.05.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

شکل ۳: میزان فعالیت آنزیم لیپاز ماهیان قزل آلای رنگین کمان پرورشی تغذیه شده با جیره غذایی حاوی/فاقد ترکیب پودر گیاهان دارویی (آویشن شیرازی و رزماری). در این آزمایش ماهیان با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه شده‌اند، حروف غیریکسان نشانه اختلاف آماری معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ می‌باشند.

Figure 3: Lipase activity of received diets with/without medicinal plants (thyme and rosemary). In this trial, all diets were contaminated with aflatoxin B1. Columns with different letters are significantly different at p<0.05.



شکل۴: مقاطع بافت شناسی بخش پیشین روده ماهیان گروه‌های مختلف در پایان آزمایش (H&E، ۴۰×). مقیاس موجود در تصاویر µm ۲۵۰ می‌باشد. A: ماهیان تغذیه شده با جیره فاقد آلودگی و افزودنی گیاهی در تراکم kg/m^3 ۱۵، B: ماهیان تغذیه شده با جیره آلوده و فاقد افزودنی گیاهی در تراکم kg/m^3 ۱۵، C: ماهیان تغذیه شده با جیره فاقد آلودگی و افزودنی گیاهی در تراکم kg/m^3 ۴۵، D: ماهیان تغذیه شده با جیره آلوده و فاقد افزودنی گیاهی در تراکم kg/m^3 ۴۵، E: ماهیان تغذیه شده با جیره آلوده و دارای افزودنی گیاهی در تراکم kg/m3 ۱۵ و F: ماهیان تغذیه شده با جیره آلوده و دارای افزودنی گیاهی در تراکم kg/m3 ۴۵. DV: تخریب پرزها.

Figure 4: Histological sections of proximal intestine of various experimental groups at the end of the experimental period (x 40). The scale represents 250µm. A: Fish fed diet without any contamination or supplement and reared at 15 kg/m3, B: Fish fed contaminated diet without supplement and reared at 15 kg/m3, C: Fish fed diet without any contamination or supplement and reared at 45 kg/m3, D: Fish fed contaminated diet without supplement and reared at 45 kg/m3, E: Fish fed contaminated diet with supplement and reared at 15 kg/m3 and F: Fish fed contaminated diet with supplement and reared at 45 kg/m3. DV: Villus detachment.

ماهیان پرورش یافته در تراکم Kg/m^3 ۴۵ که با جیره غذایی آلوده به ppb ۵۰ سم آفلاتوکسین تغذیه شده بود ضایعه انفصال یا تخریب پرزهای روده (Detachment of Villus) قابل مشاهده بود و این پرزها از حالت طبیعی برخوردار نبودند. با این وجود پرورش ماهیان در تراکم بالا اثر خاصی بر بافت روده ماهیان نداشت، اما اگر این ازدحام با آلودگی جیره غذایی با آفلاتوکسین همراه گردد، برای ماهی قابل تحمل نیست. همچنین گنجانیدن پودر گیاهان دارویی رزماری و آویشن در جیره غذایی توانست مانع تخریب پرزها گردد.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

بحث

با توجه به افزایش تمایل به متراکم سازی پرورش آبزیان به علت کمبود زمین و دسترسی به منابع آبی، اهمیت تغذیه و تامین خوراک با کیفیت بیش از پیش نمایان شده است. در چنین شرایطی درک تاثیر متراکم‌سازی سامانه‌های پرورشی آبزیان بویژه در مرحله پرواری و همچنین اثر آلودگی جیره‌های غذایی و شیوه‌های مدیریت تاثیر این سموم (استفاده از گیاهان دارویی) می‌تواند در بهینه‌سازی و مدیریت آبزی‌پروری و در نتیجه افزایش سود دهی مزارع مفید باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که آلودگی جیره غذایی به آفلاتوکسین اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت این آنزیم‌ها نداشت ($p>0/05$). در مطالعه Imani و همکاران (۲۰۱۸)، بر بچه ماهیان ۱۰ گرمی قزل آلای رنگین کمان، آلودگی جیره غذایی به آفلاتوکسین بر میزان فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز موثر بود. همچنین در جوجه‌ها (Marchioro *et al*., 2013) و اردک (Han *et al*., 2008) افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مشاهده شده است. همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در جوجه‌های دریافت کننده ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین در جیره غذایی افزایش یافت (Richardson and Hamilton, 1987) که با نتیجه پژوهش حاضر متفاوت است. با این حال، چنین افزایشی در فعالیت آنزیم‌های گوارشی به مفهوم عملکرد بهتر در جذب مواد مغذی نیست، زیرا آسیب‌های حاد یا مزمن لوزالمعده باعث می‌شود که مقادیر بیشتری آنزیم از سلول‌های ترشحی لوزالمعده حیوان آزاد شوند و این امر باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی دستگاه گوارش می‌گردد (Lempinen *et al*., 2005).

تزریق درون صفاقی آفلاتوکسین در ماهی روهو (*Labeo rohita*) سبب نکروز سلول‌های آسینی لوزالمعده و کاهش گرانول‌های سیتوپلاسمی یا به عبارت دیگر، کاهش ساخت/ترشح آنزیم‌های گوارشی و در نتیجه کاهش اشتهای ماهی شد (Sahoo, 2005). نتایج مشابهی در گربه ماهی روگاهی گزارش شده است (Jantrarotai *et al*., 1990). همچنین Osborne و Hamilton (۱۹۸۱) مشاهده کردند که در جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین ۱/۲۵ µg/g سطح فعالیت آنزیم‌های لیپاز، تریپسین و آمیلاز کاهش یافت. این کمبود گوارشی می تواند یک سندرم مضر برای شیوع آفلاتوکسیکوز باشد. Matur و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که فعالیت لیپاز در مرغ‌هایی که با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه شده بودند، در مقایسه با گروه تغذیه شده با جیره غذایی عاری از آفلاتوکسین کاهش یافت. همچنین در پژوهش Nazdar و همکاران (۲۰۱۸) به رغم کاهش فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذره اکسید نیکل در ماه اول، افزایش فعالیت در ماه دوم مطالعه مشاهده گردید.

عصاره‌های مختلف گیاهی به منظور بهبود عملکرد حیوانات با اثر تحریک کنندگی بر ترشحات دستگاه گوارش یا به دلیل اثرات ضد باکتریایی مستقیم بر فلور روده به جیره اضافه می‌شوند (Citarasu, 2010). در این پژوهش استفاده از پودر گیاهان آویشن شیرازی و رزماری بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی مورد مطالعه در ماهیان تغذیه با جیره‌های غذایی آلوده به آفلاتوکسین تاثیر داشت و سطح آنزیم لیپاز به طور معنی‌داری کاهش یافت. در منابع مختلف آثار تعدیل‌کنندگی ترکیبات گیاهی نظیر اسانس دارچین و سیلیمارین بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی گزارش شده است. به این شکل که تغذیه با این ترکیبات گیاهی تا حدی از افزایش پاتولوژیک فعالیت آنزیم آلکالین پروتئاز کاسته بود (Nazdar *et al*., 2018; Imani *et al*., 2018). در پژوهش حاضر، افزایش تراکم پرورش موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مورد مطالعه گردید. در پژوهشی که Saekhow و همکاران (۲۰۱۸) بر ماهی جنگجوی سیامی نر (*Betta splendens*) انجام دادند، مشخص شد که کاهش حجم آب به طور معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی اثر می‌گذارد. بدین ترتیب که میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز، تریپسین و کیموتریپسین کاهش، اما میزان فعالیت آنزیم آمیلاز افزایش می‌یابد. همچنین در پژوهشی بر فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceous*) پژوهشگران دریافتند که انتقال لاروهای این ماهی به تراکم پایین سبب کاهش فعالیت آنزیم تریپسین می‌گردد (Bolasina *et al*.,

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

2006). با این وجود، Liu و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه اثر تراکم‌های مختلف نگهداری بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، ایمنی، شاخص‌های استرس سرم و رشد ماهی *Cynoglossus semilaevis* Günther دریافتند که در ماهیان پرورشی در تراکم بالا، میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و لیپاز کاهش می‌یابد. همچنین پژوهشگران دریافتند که میزان فعالیت تریپسین، آمیلاز و لیپاز به طور معنی‌داری با افزایش تراکم *Palaemonetes sinensis* کاهش می‌یابد (Dong *et al*., 2018). در مطالعه Lazarevic و همکاران (۲۰۰۴) مشخص شد که میزان فعالیت آنزیم تریپسین در لاروهای ابریشم‌باف ناجور (*Lymantria dispar*) پرورشی در تراکم بالا بیشتر از میزان فعالیت این آنزیم در لاروهای نگهداری شده به صورت انفرادی می باشد، در حالیکه میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و لوسین آمینوپپتیداز تحت تاثیر تراکم قرار نمی‌گیرد. با توجه به نوع آنزیم، سن و گونه جانوری مورد مطالعه نتایج متفاوتی حاصل می‌گردد که تفسیر آنها نیازمند شناخت سازوکارهای اختصاصی ترشح هر آنزیم، شرایط استرسی حاکم بر موجود و در نتیجه تقاضای انرژیتیک آن، کیفیت جیره غذایی، مدت زمان مواجهه و ... است (Lazarevic *et al*., 2004; Dong *et al*., 2018).

در این پژوهش مشخص گردید که میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان تحت تاثیر تراکم افزایش می‌یابد. استفاده از پودر گیاهان آویشن و رزماری در جیره غذایی توانست اثر تراکم بر افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی را تعدیل یا خنثی نماید. مطابق با نتایج پژوهش حاضر، آلودگی جیره غذایی با سم آفلاتوکسین ۵۰ppb و تاثیر تراکم به تنهایی بر بافت ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان تاثیری نداشت. ولی همزمانی این دو عامل باعث آسیب به پرزهای روده گردید، نکته‌ای که با توجه به روند فزاینده متراکم‌سازی سامانه‌های پرورشی آبزیان و همچنین تکیه این شیوه پرورش به جیره‌های غذایی که احتمال آلودگی آنها به سموم قارچی نیز در حال افزایش است، در توسعه آتی صنعت آبزی‌پروری حائز اهمیت است. نتایج مطالعه فانی مکی و همکاران (۱۳۹۲) در ارتباط با اثر سطوح مختلف آفلاتوکسین B_1 بر طول روده، فرآسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی نشان داد که کمترین میزان ایلئوم و طول روده متعلق به جوجه‌های دریافت‌کننده سطح ۵۰۰ppb آفلاتوکسین B_1 بود. در مطالعه Ghaednia و همکاران (۲۰۱۳) نیز مشخص شد که تغذیه میگوهای سفید هندی جوان با جیره‌های حاوی مقادیر بیش از ۴۰۰ ppb آفلاتوکسین B_1 موجب کاهش میزان رشد در میگوها می شود. مطالعات بافت‌شناسی نیز این امر را تایید کرد و نشان داد که رشته‌های عضلانی میگوها تحلیل رفته و میگوها دچار لاغری مفرط شده‌اند. بررسی‌های بافت‌شناسی روده نیز آشکار ساخت که تغذیه میگوها با جیره‌های غذایی حاوی مقادیر بیش از ۸۰۰ ppb آفلاتوکسینB_1، موجب تخریب دیواره روده و بافت‌های دستگاه گوارش و در نتیجه اختلال در جذب مواد غذایی و افزایش ضریب تبدیل غذایی افزایش می‌گردد. در مطالعه Garcia و همکاران (۲۰۰۷) استفاده از مخلوط عصاره‌های گیاهی سبب افزایش طول پرزها در ناحیه ژوژنوم جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد گردید. آنچه از مطالعه حاضر می‌توان برداشت نمود این است که به دلیل استرس ناشی از تراکم بالا و همزمانی آن با وجود آلودگی آفلاتوکسین در جیره غذایی ممکن است در ماهی قزل‌آلا موجب تغییرات ناخواسته بافتی در روده و سرانجام اختلال در جذب مواد مغذی گردد که استفاده از پودر گیاه آویشن و رزماری مانع این تغییرات نامطلوب می‌گردد.

منابع

فانی مکی، ا.، ابراهیم زاده، ا.، انصاری نیک، ح. و قزاقی، م.۱۳۹۲. اثر گیاهان دارویی خار مریم (*Silybum marianum* L.) و آویشن (*Thymus vulgaris* L.) بر سیستم ایمنی و برخی از فرآسنجه های خونی در جوجه های گوشتی. آسیب‌شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۷ (۲): ۱۸۴۳-۱۸۳۶.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

Bello, O.S., Emikpe, B.O. and Olaifa, F.E. 2012. The body weight changes and gut morphometry of clariasgariepinus juveniles on feeds supplemented with walnut (*Tetracarpidium conophorum*) leaf and onion (*Allium cepa*) bulb residues. *International Journal of Morphology*, 30: 253-257. DOI: 10.4067/S0717-95022012000100045.

Bolasina, S., Perez, A. and Yamashita, Y., 2006. Digestive enzymes activity during ontogenic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 252: 503-515. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.07.015

Broom, L. 2015. Mycotoxins and the intestine. *Animal Nutrition*, 1(4): 262-265. DOI:10.1016/j.aninu¬.2015.11.001.

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

Chong, A. S. C., Hashim, R., Lee, C. Y. and Ali, B. A., 2002. Partial characterization and activities of proteases form the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). *Aquaculture*, 203: 321-333. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00630-5

Citarasu, T., 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3): 403-414. DOI:10.1007/s10499-009-9253-7

Dong, J., Zhao, Y.Y., Yu, Y.H., Sun, N., Li, Y.D., Wei, H., Yang, Z.Q., Li, X.D. and Li, L., 2018. Effect of stocking density on growth performance, digestive enzyme activities, and nonspecific immune parameters of *Palaemonetes sinensis*. *Fish and Shellfish Immunology*, 73: 37-41. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.12.006

Gallo, A., Masoero, F., Bertuzzi, T., Piva, G. and Pietri, A. 2010. Effect of the inclusion of adsorbents on aflatoxin B_1 quantification in animal feedstuffs. *Food Additives and Contaminants*, 27(1): 54-63. DOI:10.1080/02652030903207219

Garcia, V., P. Catala-Gregori, F. Hernandaz, M. D. Megias and J. Madrid. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestin mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Applied Poultry Research*, 16: 555-562. DOI:10.3382/japr.2006-00116

Ghaednia, B., Bayat, M., Sohrabi Haghdoost, I., Motallebi, A.A. and Sepahdari, A. 2013. Effects of aflatoxin B1 on growth performance, health indices, phagocytic activity and histopathological alteration in *Fenneropenaeus indicus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 12(4)813-826.

Han, XY., Huang, QC., Li, WF., Jiang, JF. and Xu, ZR., 2008. Changes in growth performance, digestive enzyme activities and nutrient digestibility of cherry valley ducks in response to aflatoxin B1 levels. *Livestock Science*, 119: 216-220. DOI:10.1016/j.livsci.2008.04.006

Iijima, N., Tanaka, S. and Ota, Y., 1998. Purification and characterization of bile

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. Fish Physiology and Biochemistry, 18(1): 59-69. DOI:10.1023/A:1007725513389

Imani, A., Bani, M.S., Noori, F., Farzaneh, M. and Moghanlou, K.S., 2018. 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. DOI:10.1016/j.aquaculture.2017.04.023

Jantrarotai, W., Lovell, R.T. and Grizzle, J.M. 1990. Acute toxicity of aflatoxin B1 to channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2(4): 237–247. DOI:10.1577/1548-8667 (1990)002<0237:ATOABT>2.3.CO;2

Kabak, B., Dobson, A.D. and Var, I.I.L. 2006. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8): 593–619. DOI:10.1080/10408390500436185

Lazarevic, J., Peric-Mataruga, V., Vlahovic, M., Mrdakovic, M. and Cvetanovic, D., 2004. Effects of rearing density on larval growth and activity of digestive enzymes in *Lymantria dispar* L.(Lepidoptera: Lymantriidae). *Folia Biologica-Krakow*, 52: 105-112.

Lempinen, M., Puolakkainen, P. and Kemppainen, E. 2005. Clinical Value of Severity Markers in Acute Pancreatitis. *Scandinavian Journal of Surgery*, 94(2): 118–123. DOI:10.1177/ 145749690509400207

Liu, G., Ye, Z., Liu, D. and Zhu, S., 2018. Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activity, immunity, and cortisol levels of subadult half-smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* in a recirculating aquaculture system. *North American Journal of Aquaculture* (in Press). DOI:10.1175/JCLI-D-17-0439.1

Lovell, R. T. 2003. Diet and Fish Husbandry, In: Halver, JE Hardy, RW (eds) Fish Nutrition, 3rd edn. Academic Press Inc., New York, USA, pp 703–754.

Marchioro, A., Mallmann, A.O., Diel, A., Dilkin, P., Rauber, R.H., Blazquez, F.J.H., Oliveira, M.G.A. and Mallmann, C.A., 2013. Effects of aflatoxins on performance and exocrine pancreas of broiler chickens. *Avian Disease*, 57(2): 280-284. DOI:10.1637/10426-101712-Reg.1

Matur, E., Ergul, E., Akyazi, I., Eraslan, E. and Cirakli., ZT., 2010. The effects of Saccharomyces cerevisiae extract on the weight of some organs,liver, and pancreatic digestive enzyme activity in breeder hens fed diets contaminated with aflatoxins. *Poultry Science*, 89: 2213–2220. DOI:10.3382/ps.2010-00821

Nazdar, N., Imani, A., Noori, F. and Moghanlou, K.S., 2018. Effect of silymarin supplementation on nickel oxide nanoparticle toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings: pancreas tissue histopathology and alkaline protease activity. *Iranian Journal of*

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

Science and Technology, Transactions A: Science: 42(2): 353-361. DOI: 10.1007/s40995-016-0052-5

Oledo, E. M., Moyano-López, F. J., Tovar-Ramírez, D., Strüssmann, C. A., Al varez-González, C. A., Martínez-Chávez, C. C. and Martínez-Palacios, C. A. 2011. Development of digestive biochemistry in the initial stages of three cultured Atherinopsids. *Aquaculture Research*, 42: 776-786. DOI:10.1111/j.1365-2109.2011.02853.x

Osborne, D.J. and Hamilton, P.B., 1981. Decreased pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis. *Poultry Science*, 60: 1818–1821. DOI:10.3382/ps.0601818

Rafatnezhad, S., Falahatkar B. and Tolouei Gilani M.H. 2008. Effects of stocking density on haematological parameters, growth and fin erosion of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Aquaculture Research*, 39: 1506–1513. DOI:10.1111/j.1365-2109.2008.02020.x

Richardson, K. E. and Hamilton P. B., 1987. Enhanced production of pancreatic digestive enzymes during aflatoxicosis in egg-type chickens. *Poultry Science*, 66: 640–644. DOI:10.3382/ps.0660640

Rungraungsak-Torrisen, K., Moss, R., Andrew, L. H., Berg, A. and Waagbo, R., 2006. Different expression of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 32: 7-23. DOI: 10.1007/s10695-005-0630-5

Saekhow, S., Thongprajukaew, K., Phromkunthong, W. and Sae-khoo, H., 2018. Minimal water volume for intensively producing male Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910). *Fish Physiology and Biochemistry*, 1-11. DOI:10.1007/s10695-018-0495-z

Sahoo, P.K., 2000. Histological distribution and ultrastructure of exocrine pancreas in Indian major carp (*Labeo rohita* Ham.) and its alteration in aflatoxicosis. *Bangladesh Journal of Fisheries Research*, 4(1): 1–6.

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

Yúfera, M. and Darias, M.J. 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture*, 268: 53-63. DOI: 10.12691/jas-1-1-1

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

Simultaneous effect of stocking density, dietary aflatoxin B1 and medicinal plant multi-blend on digestive physiology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mahmoudikia Z.[1]; Imani A.[1*]; Sarvi Moghanlou K.[1]; Razi M.[2]

[*]a.imani@urmia.ac.ir

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
2- Department of Comparative Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University Urmia, Iran

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-12]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.1.15.6]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118888]

Abstract

The effect of stocking density and dietary aflatoxin B1 along with including rosemary and thyme powders on digestive enzymes activity of rainbow trout was evaluated. 600 fish with an average weight of 90±3 were randomly allotted into six experimental groups consisted of (1) stocking at 15 kg.m^{-3}- feeding diet devoid of aflatoxin, (2) stocking at 45 kg.m^{-3}-feeding diet devoid of aflatoxin, (3) stocking at 15 kg.m^{-3}-feeding diet containing 50 ppb aflatoxin, (4) stocking at 45 kg.m^{-3}-feeding diet containing 50 ppb aflatoxin, (5) stocking at 15 kg.m^{-3}-feeding diet containing 4% rosemary and thyme powder and 50 ppb aflatoxin and (6) stocking at 45 kg.m^{-3}-feeding diet containing 4% rosemary and thyme powder and 50 ppb aflatoxin. Activity of alkaline protease, lipase and amylase was only affected by fish stocking density to the extent that those fish were reared in higher density showed increased digestive enzymes activity ($p<0.05$). Interactive effect of two studied factors (stocking density and dietary supplementation of medicinal plants) significantly affected activity of amylase and alkaline protease. However, lipase was only affected by dietary supplementation of medicinal plants. The highest amylase and alkaline protease activity were recorded in those fish received diet devoid on medicinal plants and stocked at 45 kg.m^{-3} ($p<0.05$). Those fish received diet containing medicinal plant powder significantly had lower activity ($p<0.05$). Proximal intestine histological examinations revealed that those fish stocked at higher density and received aflatoxin contaminated diet had villi detachments. Nevertheless, dietary inclusion of herbal blend consisted of rosemary and thyme powder could retrieve such tissue abnormality. It seemed that intestine could resist tension from higher stocking density or dietary aflatoxin contamination; however, their combination was not endurable for fish. Meanwhile, further complementary researches such as assaying antioxidant enzymes activity are warranted to precisely elucidate the underlying mechanism behind such alterations.

Keywords: Histology, Proximal intestine, Rosemary, Thyme, Rainbow trout

[*]Corresponding author