



Investigation of individual and combined extracts of *Curcuma longa*, *Teucrium polium*, and *Silybum marianum* extracts on biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to Aflatoxin B1

Nosratollah Dehghani¹ , Flora Mohammadizadeh^{2✉} , Amirhoushang Bahri³ 

1. Department of Fisheries, BA.C., Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran. n.dehghani194@iau.ac.ir

2. Corresponding author, Department of Fisheries, Marine and Fisheries Technologies Research Center, BA.C., Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran. Email: fmohammadi13@iau.ac.ir

3. Department of Fisheries, Marine and Fisheries Technologies Research Center, BA.C., Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran. Email: amirbahri52@iau.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 20 July 2025
Revised 24 August 2026
Accepted 29 August 2026

Keywords:
Aflatoxin B1,
Rainbow trout,
Herbal additives,
Protective compounds,
Biochemical parameters.

ABSTRACT

This study evaluated the individual and combined protective effects of *Curcuma longa*, *Teucrium polium*, and *Silybum marianum* extracts on the biochemical indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to aflatoxin B1. In a completely randomized design, 405 fish were fed for 28 days across nine groups (control, aflatoxin, and aflatoxin plus extracts) with three replicates. At the end of the experimental period, blood samples were collected from the caudal peduncle, and serum biochemical parameters, including enzymes, total protein, albumin, globulin, glucose, cholesterol, triglyceride, and creatinine, were measured. Results showed that aflatoxin exposure alone led to a significant increase in aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), creatine phosphokinase (CPK), glucose, cholesterol, triglyceride, and creatinine levels, along with a significant decrease in total protein, albumin, globulin, and gamma-glutamyl transferase (GGT) compared to the control group ($P < 0.05$). Individual administration of the extracts (particularly turmeric) did not significantly reduce most of these parameters; however, the synergistic combination of the extracts fully restored AST, CPK, ALP, serum proteins, cholesterol, triglycerides, and creatinine to normal ranges. Nevertheless, ALT, LDH, and glucose did not return to normal in any extract-treated group, and GGT, despite increasing, remained below the control level. In conclusion, the combined extracts exert synergistic hepatoprotective and nephroprotective effects and improve lipid and protein profiles.

Cite this article: Dehghani, N., Mohammadizadeh, F., & Bahri, A. (2026). Investigation of individual and combined extracts of *Curcuma longa*, *Teucrium polium*, and *Silybum marianum* extracts on biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to Aflatoxin B1. *Journal of Aquaculture Sciences*, 14(1), 115-133.



© Author(s) retain the copyright.

Publisher: Iranian Aquaculture Society.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

The aquaculture industry, particularly rainbow trout farming, plays a crucial role in supplying animal protein and ensuring food security. However, feed contamination with mycotoxins such as aflatoxin B1 (AFB1) poses a significant challenge, leading to hepatic damage, oxidative stress, immunosuppression, and severe biochemical disorders in fish. In recent years, Phyto-biotics have attracted attention as a natural, safe, and sustainable strategy to mitigate mycotoxin toxicity. Turmeric, felty germander, and milk thistle are medicinal plants with antioxidant, anti-inflammatory, and hepatoprotective properties. Given the need for novel dietary interventions, the present study aimed to investigate and compare the individual and combined protective effects of these three plant extracts on the blood biochemical indices of rainbow trout exposed to dietary AFB1.

Material and Methods

This experiment was conducted under laboratory conditions in full compliance with the ethical guidelines for the use of experimental animals. A total of 405 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings (average weight 30–40 g) were acclimated for two weeks and subsequently distributed into nine experimental groups (including a control group, an AFB1-toxicity group, and seven groups receiving AFB1 along with the plant extracts individually, in dual combinations, and as a triple combination) with three replicates each. The dietary AFB1 concentration was set at 0.01 mg per 100 g of feed. The fish were maintained under standard water quality conditions and fed daily for 28 days. At the end of the trial, blood samples were collected from the caudal vein of fish anesthetized with clove essential oil. Following centrifugation, the plasma was analyzed spectrophotometrically using commercial kits to determine hepatic and muscular enzymes (AST, ALT, ALP, GGT, LDH, CPK, CK), lipid metabolites (cholesterol and triglycerides), blood glucose, serum proteins (total protein, albumin, globulin), and the renal indicator (creatinine). Data were analyzed using one-way ANOVA and mean comparison tests at $P < 0.05$.

Results

The results showed that AFB1 toxicity significantly increased AST, ALT, ALP, LDH, and CPK activities and significantly decreased GGT compared with the control group. Furthermore, total protein, albumin, globulin, cholesterol, triglycerides, glucose, and creatinine levels were significantly altered in the toxic group (decreased proteins and increased other metabolites). Individual administration of the plant extracts had minimal effect on AST, CPK, and ALP activities; however, the triple combination of all three extracts restored these enzyme activities to normal levels. Nevertheless, ALT and LDH activities decreased but did not return to normal levels. Regarding serum proteins, felty germander, milk thistle, and combinations containing them successfully restored total protein, albumin, and globulin levels to normal. For lipid and renal profiles, only the triple extract combination regulated triglyceride levels. Additionally, milk thistle and felty germander extracts individually, as well as the triple combination, restored cholesterol and creatinine levels to the normal range. However, blood glucose levels failed to return to normal in any of the herbal treatment groups.

Discussion

The elevation of hepatic and muscular enzymes and the reduction of serum proteins in the toxic group indicate severe hepatotoxicity, cell membrane leakage, hepatic steatosis, and impaired plasma protein synthesis by the damaged liver. The decrease in GGT likely reflects enzyme suppression or acute biliary duct damage during acute toxicity. The limited efficacy of the individual extracts in modulating certain enzymes suggests the necessity for a synergistic mechanism to neutralize free radicals and activate

detoxification pathways. The triple combination of extracts, leveraging the antioxidant properties of curcumin, the stimulation of RNA polymerase and protein synthesis by silymarin, and the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of felty germander, repaired cell membranes, restored hepatic biosynthetic capacity, and protected renal tissue against nephrotoxicity. The regulation of triglycerides and cholesterol by the triple combination and effective individual extracts likely occurred through the activation of nuclear receptors and increased excretion of bile acids. The incomplete restoration of glucose to normal levels highlights the severity of metabolic disorders and AFB1-induced insulin resistance, which requires longer treatment periods or more comprehensive multi-targeted approaches for complete resolution.

Conclusion

Aflatoxin B1 toxicity induces extensive disorders in the metabolism and function of the liver, kidneys, and muscles in rainbow trout. The individual use of turmeric, felty germander, and milk thistle extracts has limited efficacy in counteracting this toxicity. Conversely, the synergistic combination of these three plant extracts, as a multi-targeted strategy, shows strong potential for tissue repair, restoration of protein synthesis, regulation of blood lipids, and renal protection. This combined herbal supplement can be used as a safe and efficient dietary additive in the aquaculture industry to mitigate the adverse effects of fungal feed contamination and ensure fish health and survival.

بررسی اثرات محافظتی منفرد و ترکیبی عصاره‌های زردچوبه (*Curcuma longa*)، کلپوره (*Teucrium polium*) و خارمریم (*Silybum marianum*) بر شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در معرض آفاتوکسین B1

نصرت‌الله دهقانی^۱، فلورا محمدی‌زاده^۲، امیر هوشنگ بحری^۳

۱. گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران. رایانامه: n.dehghani194@iau.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، مرکز تحقیقات فناوری‌های دریایی و شیلاتی، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران. رایانامه: fmohammadi13@iau.ac.ir
۳. گروه شیلات، مرکز تحقیقات فناوری‌های دریایی و شیلاتی، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران. رایانامه: amirbahri52@iau.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی،	این مطالعه اثرات محافظتی منفرد و ترکیبی عصاره‌های زردچوبه (<i>Curcuma longa</i>)، کلپوره (<i>Teucrium polium</i>) و خارمریم (<i>Silybum marianum</i>) را بر شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) در معرض آفاتوکسین B1 ارزیابی کرد. در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، ۴۰۵ قطعه ماهی به مدت ۲۸ روز در ۹ گروه (کنترل، آفاتوکسین و آفاتوکسین همراه با عصاره‌ها) با سه تکرار تغذیه شدند. در پایان دوره، پس از خون‌گیری از ساقه دمی، پارامترهای بیوشیمیایی سرم شامل آنزیم‌ها، پروتئین‌های تام، آلبومین، گلبولین و گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید و کراتینین، سنجش شدند. نتایج نشان داد که تغذیه با آفاتوکسین به تنهایی منجر به افزایش معنی‌دار آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید و کراتینین و کاهش معنی‌دار پروتئین تام، آلبومین، گلبولین و گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) نسبت به گروه کنترل گردید ($P < 0.05$). تجویز منفرد عصاره‌ها (به‌ویژه زردچوبه) تأثیر کاهشی معنی‌داری بر بسیاری از این شاخص‌ها نداشت؛ اما ترکیب هم‌افزای عصاره‌ها (به‌خصوص ترکیب سه‌گانه و ترکیب کلپوره با سیلی‌مارین) توانست سطوح AST، CPK، ALP، پروتئین‌های سرمی، کلسترول، تری‌گلیسیرید و کراتینین را به‌طور کامل به محدوده طبیعی بازگرداند. با این وجود، سطوح ALT، LDH و گلوکز در هیچ‌یک از گروه‌های تیمار شده با عصاره‌ها به سطح نرمال بازنگشتند و GGT نیز علی‌رغم افزایش، همچنان پایین‌تر از سطح گروه کنترل باقی ماند. ترکیب این عصاره‌ها با اثر هم‌افزایی، از کبد و کلیه محافظت کرده و شاخص‌های لیپیدی و پروتئینی را بهبود می‌بخشد.
تاریخچه مقاله: تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۹ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۶/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۰۷	
کلیدواژه‌ها: آفاتوکسین B1، قزل‌آلای رنگین‌کمان، افزودنی‌های گیاهی، ترکیبات حفاظتی، پارامترهای بیوشیمیایی.	

استناد: دهقانی، نصرت‌الله؛ محمدی‌زاده، فلورا؛ و بحری، امیر هوشنگ (۱۴۰۵). بررسی اثرات محافظتی منفرد و ترکیبی عصاره‌های زردچوبه (*Curcuma longa*)، کلپوره (*Teucrium polium*) و خارمریم (*Silybum marianum*) بر شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در معرض آفاتوکسین B1. *علوم آبی پروری*، ۱۴(۱)، ۱۱۵-۱۳۳.



مقدمه

آبزی‌پروری یکی از صنایع پیشگام را در میان صنایع تولید پروتئین حیوانی در جهان دارد و نقش به‌سزایی در تأمین امنیت غذایی و اشتغال‌زایی ایفا می‌کند. در این میان، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در ایران و جهان شناخته می‌شود که به‌دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا، سرعت رشد مناسب و سازگاری با شرایط اقلیمی مختلف، جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبزی‌پروری کشور دارد (Bahabadi et al., 2014; Karadaş and Duman 2026). با این حال، گسترش و توسعه صنعت آبزی‌پروری، چالش‌های متعددی از جمله بیماری‌های عفونی، آلودگی‌های زیست‌محیطی و به‌ویژه آلودگی خوراک به سموم قارچی را به‌همراه داشته است (Zeng et al., 2016; Shahafve et al., 2017; Nazdar et al., 2026).

آفاتوکسین‌ها، به‌ویژه نوع B1 سموم قارچی سرطان‌زایی هستند که عمدتاً توسط کپک‌های متعلق به جنس *Aspergillus*، به‌ویژه *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus*، در مواد اولیه خوراک ماهی مانند ذرت، پنبه‌دانه و سویا شرایط نامطلوب محیطی، در محیط‌های تاریک، گرم و مرطوب تولید می‌شوند (Vaziriyan et al., 2018; Hoseyni et al., 2024) و شیوع آن در ایران، به‌دلیل استفاده گسترده از منابع گیاهی مانند کنجاله و پودر سویا، ذرت و سایر غلات در جیره ماهیان سردآبی و گرمابی بسیار است (Nazdar et al., 2026).

مصرف این خوراک آلوده باعث آسیب کبدی، کاهش رشد، استرس اکسیداتیو و سرکوب شدید سیستم ایمنی و افزایش حساسیت به بیماری‌ها (Taheri et al., 2017; Karimi et al., 2022)، تغییر در پارامترهای بیوشیمیایی خون، رنگ‌پریدگی آبشش‌ها، آسیب‌های بافتی (Shahafve et al., 2017; Bitsayah et al., 2018; Vaziriyan et al., 2018)، غیرفعال شدن ویتامین‌های مانند ویتامین A، ویتامین C و تیامین موجود در جیره غذایی (Oliveira and Vasconcelos, 2020) و ایجاد اختلال در سیگنال‌های ایمنی و سیتوکین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی، تعادل پاسخ‌های ایمنی را مختل می‌کنند و منجر به التهاب، سرکوب سیستم ایمنی یا واکنش‌های خودایمنی می‌شوند (Rodríguez-Cervantes et al., 2010; Jiao et al., 2025).

سرکوب سیستم ایمنی در ماهیان استخوانی از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان کپور هندی (*Labeo rohita*) و کپور علفخوار به‌خوبی تأیید شده است (Sahoo and Mukherjee 2001; Ghafarifarsani et al., 2021a,b,c; He et al., 2022; Yousuf et al., 2026). همچنین بقایای آفاتوکسین تجمع‌یافته در کبد و بافت خوراکی ماهیان می‌تواند تهدیدی جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان باشد (Hussain et al., 2017; Michelin et al., 2017). با وجود روش‌های رایج سم‌زدایی، نگهداری نامناسب خوراک اغلب منجر به آلودگی مجدد می‌شود و یافتن راهکارهای پایدار برای مقابله با آفاتوکسیکوزیس در ماهیان پرورشی ضروری است. در این راستا، فیتوبیوتیک‌ها (مکمل‌های گیاهی) به‌عنوان راهبردی نوین و امیدوارکننده مطرح شده‌اند. این ترکیبات زیست‌فعال با خواص آنتی‌اکسیدانی و محافظت کبدی، ضمن خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و تقویت مسیرهای سم‌زدایی کبدی، پاسخ‌های التهابی را مهار و سیستم ایمنی را تقویت می‌کنند (Zhang et al., 2022; Nazdar et al., 2026). امروزه فیتوبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزینی طبیعی و ایمن برای افزودنی‌های شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری توجه فزاینده‌ای را به‌خود جلب کرده‌اند (Abdel-Latif et al., 2023; Banaee et al., 2025).

زردچوبه (*Curcuma longa*) گیاهی از خانواده زنجبیلیان است که ماده مؤثر اصلی آن، کورکومین، یک ترکیب پلی‌فنولی و آب‌گریز با خواص فارماکولوژیک و زیستی گسترده شامل آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد میکروبی، محافظت کبدی، ضد سرطان و تعدیل‌کنندگی ایمنی است (Sahu et al., 2008; Abdel-Tawwab and Abbass, 2017; Alagawany et al., 2021; Kusi et al., 2025). مطالعات نشان داده‌اند که تجویز پودر زردچوبه در جیره غذایی ماهیان موجب بهبود رشد، تقویت ایمنی ذاتی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شود (Sahu et al., 2008; Abdel-Tawwab and Abbass 2017; Kusi et al., 2025). همچنین کورکومین می‌تواند با کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، شدت آسیب‌های کبدی ناشی از آفاتوکسین را کاهش دهد (Manal, 2018; Bhatt et al., 2024).

خارمریم (*Silybum marianum*) گیاهی دارویی است که ماده مؤثر اصلی آن، سیلیمارین (مخلوطی از فلاونولیگنان‌ها)، به دلیل اثرات محافظت کبدی قوی شناخته شده است. تحقیقات نشان داده‌اند که مکمل خارمریم در جیره غذایی ماهیان از جمله تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) و ماهی پنگوسی (*Pangasianodon hypophthalmus*)، قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*)، ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) و خرچنگ میتن چینی (*Eriocheir sinensis*) موجب بهبود عملکرد رشد، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، کاهش سطح آنزیم‌های کبدی، آسیب‌رسانی آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز، تقویت پاسخ‌های ایمنی و بهبود ساختار بافتی کبد و روده می‌شود (Xiao et al., 2017; Wei et al., 2020; Banaee et al., 2023; El-Alim et al., 2025; Fang et al., 2025; Jia et al., 2026). با از بین بردن رادیکال‌های آزاد و بهبود عملکرد کبد، در برابر سمیت کبدی ناشی از آفاتوکسین محافظت ایجاد می‌کند (Haggag et al., 2025).

کلپوره (*Teucrium polium*) گیاهی دارویی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که در طب سنتی ایران برای درمان اختلالات کبدی، گوارشی و التهابی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی شناسایی‌شده در این گیاه شامل ترپنوئیدها (مانند سسکی ترپنوئیدها، دی‌ترپن‌ها و تری‌ترپن‌ها)، ایریدوئیدها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی هستند (Ljubuncic et al., 2006; Bahramikia and Yazdanparast, 2012; Benali et al., 2021; Sadeghi et al., 2022; Abdel-Aziz et al., 2026). اسانس *T. polium* دارای ویژگی‌های ضدباکتریایی و ضدقارچی نیز هست (Abdollahi et al., 2003; Ljubuncic et al., 2021). اگرچه مطالعات محدودی در خصوص اثرات کلپوره بر ماهیان انجام شده، اما شواهد موجود حاکی از پتانسیل این گیاه در کاهش استرس اکسیداتیو و محافظت از بافت کبد در شرایط تنش‌زا است. با وجود مطالعاتی بر اثرات جداگانه زردچوبه و خارمریم بر سلامت ماهیان، بررسی مقایسه‌ای و جامعی درباره اثرات محافظتی این دو مکمل به همراه کلپوره در برابر سمیت آفاتوکسین خوراکی بر پارامترهای بیوشیمیایی خون قزل‌آلای رنگین کمان انجام نشده است. همچنین، دوز مطلوب و تأثیر عواملی نظیر فرمولاسیون خوراک و شرایط محیطی بر اثربخشی این مکمل‌ها نامشخص است. بنابراین پژوهش حاضر با هدف مقایسه اثرات مکمل‌های گیاهی زردچوبه (*Curcuma longa*)، خارمریم (*Silybum marianum*) و کلپوره (*Teucrium polium*) بر پارامترهای بیوشیمیایی خون *Oncorhynchus mykiss* در معرض آفاتوکسین خوراکی انجام شد تا راهبردهای طبیعی کاهش سمیت آفاتوکسین در آبی‌پروزی را بررسی نماید.

مواد و روش‌ها

محل اجرای آزمایش و ملاحظات اخلاقی: این پژوهش در شرایط آزمایشگاهی و با رعایت کامل اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. ماهیان در مخازن استاندارد ۱۰۰۰ لیتری، در آبی با کیفیت مطلوب در دمای آب بین ۱۲ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول بالای ۶ میلی‌گرم در لیتر و pH بین ۶/۵ تا ۷/۵، غلظت آمونیاک کمتر از ۰/۳ و نیتريت کمتر از ۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر و نرخ تعویض روزانه ۶۰ درصد آب نگهداری شدند. کلیه مراحل نگهداری، تیمار و نمونه‌برداری از ماهیان مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی مصوب کمیته اخلاق در دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرعباس، شامل فراهم کردن شرایط نگهداری استاندارد (دما، اکسیژن و کیفیت آب مطلوب)، تغذیه مناسب، و استفاده از بیهوشی‌کننده‌های مجاز و استاندارد مانند اسانس میخک، هنگام هرگونه دستکاری تهاجم یا نمونه‌برداری، صورت گرفت. در پایان آزمایش یا در صورت بروز علائم بیماری غیرقابل درمان، نیز ماهیان آسان‌کشی شدند تا کمترین استرس را متحمل شوند.

ماهیان آزمایشی و دوره سازگاری: در این تحقیق از تعداد ۴۰۵ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با دامنه وزنی ۳۰ تا ۴۰ گرم از یک مزرعه پرورش ماهی معتبر تهیه شد. ماهیان پس از انتقال به محل آزمایشگاه، به مدت دو هفته در مخازن نگهداری تحت شرایط کنترل‌شده سازگاری داده می‌شوند. در طول دوره سازگاری، ماهیان با جیره غذایی تجاری معمولی

(بدون افزودنی) تغذیه شده و وضعیت سلامت عمومی آنها به صورت روزانه پایش می‌گردد. ماهیان بیمار، آسیب‌دیده یا دارای ناهنجاری ظاهری از چرخه آزمایش حذف می‌شوند.

آماده‌سازی جیره‌های غذایی آزمایشی: برای تهیه جیره‌های غذایی آزمایشی، غلظت‌های مورد نظر از مکمل‌های گیاهی (پودر زردچوبه، پودر خارمریم و پودر کلپوره) و آفلاتوکسین B1 با خوراک آسیاب‌شده قزل‌آلای رنگین‌کمان مخلوط گردید. پس از اطمینان از همگن شدن کامل مخلوط حاصل، خمیر غذایی به وسیله چرخ‌گشت به پلت‌هایی با قطر تقریبی ۳ میلی‌متر تبدیل شد. پلت‌های حاصل در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند تا رطوبت نهایی به حدود ۱۰ درصد برسد. سپس جیره‌های آماده‌شده در بسته‌های مجزا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد (فریزر) تا زمان استفاده نگهداری گردیدند (Yilmaz et al., 2012). آفلاتوکسین B1 مورد استفاده در این آزمایش از شرکت سیگما آلدריך (Sigma-Aldrich، آمریکا) تأمین شد. براساس استاندارد FDA حد مجاز آفلاتوکسین در گوشت و جیره غذایی ماهیان ۲۰ میکروگرم در هر کیلوگرم گزارش شده است (Ebrahimi and Razavilar, 2011). بنابراین غلظت آفلاتوکسین در جیره ماهیان در این آزمایش ۰/۰۱ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم غذا در نظر گرفته شد. غلظت عصاره زردچوبه (Akdemir et al., 2017) و سیلی مارین (Banaee et al., 2011) نیز براساس مطالعات پیشین تعیین شد. غلظت کلپوره نیز به‌طور تخمینی و براساس خلوص عصاره محاسبه گردید.

طراحی آزمایشی و تیمارها: پس از پایان دوره سازگاری، ماهیان با تراکم ۱۵ قطعه در هر مخزن در ۲۷ مخزن ۳۰۰ لیتری مجهز به سیستم هوادهی مداوم توزیع شدند. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی شامل یک گروه کنترل و ۸ گروه آزمایشی، هر یک با سه تکرار، به مدت ۲۸ روز اجرا گردید. نرخ تعویض آب روزانه ۶۰ درصد تنظیم شد. گروه‌های آزمایشی به شرح زیر تعریف شدند:

در این آزمایش، ماهیان به مدت ۲۸ روز در ۹ گروه تیمار مختلف قرار گرفتند. گروه اول به‌عنوان شاهد، صرفاً با جیره پایه و بدون آفلاتوکسین و مکمل‌های گیاهی تغذیه شدند و گروه دوم تحت تیمار آفلاتوکسین B1 با غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم غذا قرار گرفتند. گروه‌های سوم تا نهم نیز علاوه بر دریافت ۰/۰۱ میلی‌گرم آفلاتوکسین B1 در هر ۱۰۰ گرم غذا، با مکمل‌های گیاهی پودر زردچوبه (۲/۸ میلی‌گرم)، کلپوره (۵/۸ میلی‌گرم) و خارمریم (۲۱/۶ میلی‌گرم) به صورت تکی یا ترکیبی تغذیه شدند؛ به‌طوری که گروه‌های سوم، چهارم و پنجم به ترتیب جیره‌های حاوی زردچوبه، کلپوره و خارمریم را دریافت کردند، گروه‌های ششم، هفتم و هشتم تیمارهای ترکیبی دوگانه (زردچوبه+کلپوره؛ زردچوبه+خارمریم؛ و خارمریم+کلپوره) را تجربه نمودند و در نهایت گروه نهم جیره‌ای حاوی آفلاتوکسین و ترکیب سه‌گانه هر سه گیاه دارویی را با همان غلظت‌ها در هر ۱۰۰ گرم غذا به مدت ۲۸ روز مصرف کردند.

تغذیه و نگهداری: ماهیان در طول دوره آزمایش ۲۸ روزه، روزانه به میزان ۳ درصد وزن زنده بدن با جیره‌های غذایی مربوطه تغذیه شدند. میزان غذای مصرفی روزانه براساس وزن‌کشی‌های دوره‌ای ماهیان تنظیم گردید. در طول مدت آزمایش، پارامترهای فیزیوشیمیایی آب شامل دما، pH، اکسیژن محلول، آمونیاک و نیتريت به صورت منظم پایش و در محدوده مطلوب برای گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان حفظ شد.

نمونه‌برداری و تهیه نمونه‌های خونی: در پایان دوره آزمایش ۲۸ روزه، از هر مخزن ۱۰ قطعه ماهی (در مجموع ۳۰ ماهی از هر تیمار) به‌طور تصادفی صید شدند. ماهیان پس از بیهوشی (با استفاده از اسانس میخک ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، مورد ریخت‌سنجی (اندازه‌گیری وزن و طول) قرار گرفتند و سپس خون‌گیری از آنها انجام شد. خون‌گیری با استفاده از سرنگ استریل از ساقه دمی (عصب خونی دمی) ماهیان صورت گرفت. نمونه‌های خونی بلافاصله به میکروتیوپ‌های آغشته‌شده به هپارین (به‌عنوان ضد انعقاد) انتقال داده شدند. یک قطره خون کامل برای تهیه گسترش خونی (اسمیر) برداشته شد. سپس نمونه‌های خونی باقیمانده جهت جداسازی پلاسما، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و سپس با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پلاسمای جداسازی شده در میکروتیوپ‌های استریل ریخته و تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (Banaee et al. 2023).

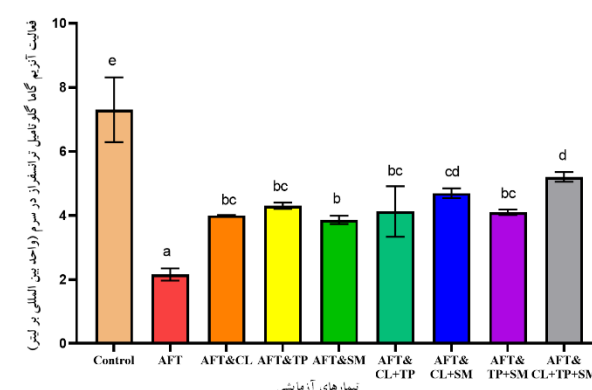
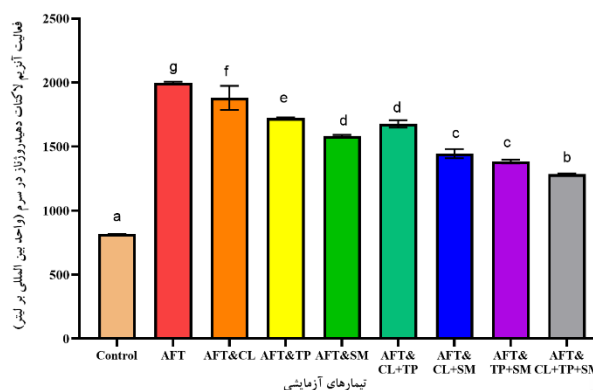
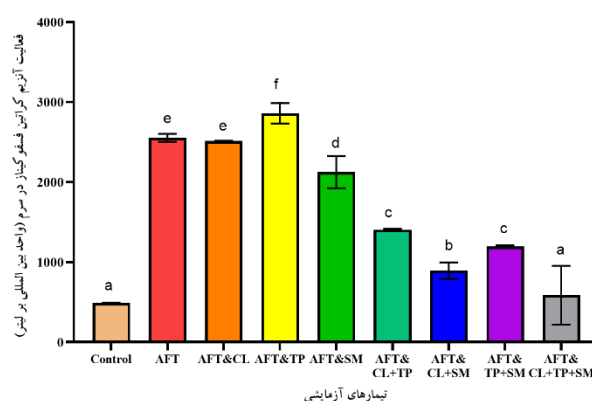
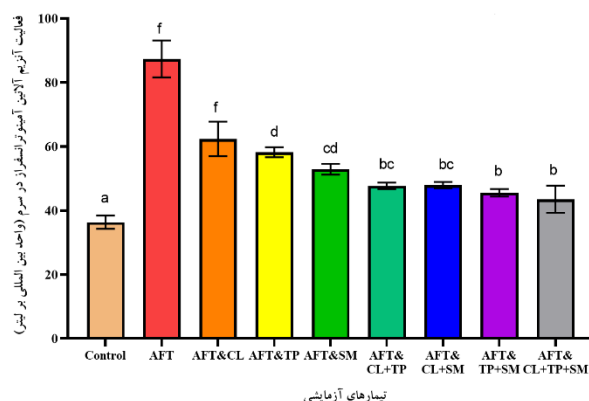
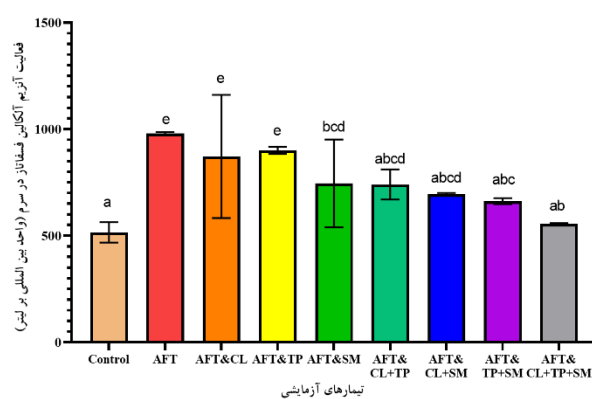
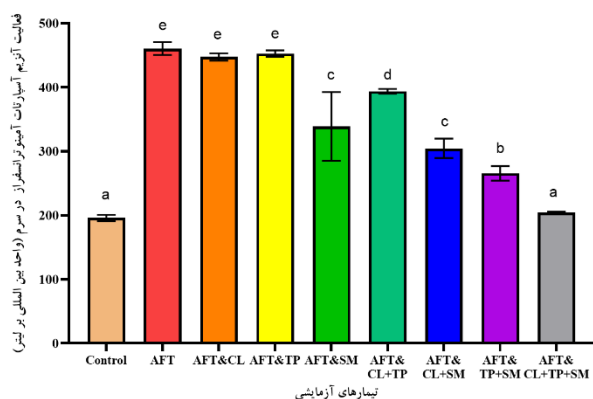
سنجش پارامترهای بیوشیمیایی خون: در این مطالعه، کلیه فاکتورهای بیوشیمیایی سرم با استفاده از کیت‌های تجاری بیورکس فارس و توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شدند؛ به‌طوری‌که فعالیت آنزیم AST با انتقال گروه آمینو از آسپاراتات به آلفا-کتوگلوکوتارات، تولید اگزالواسات و گلوتامات، و سپس کاهش اگزالواسات به ملات توسط ملات دهیدروژناز (MDH) و اکسیداسیون NADH در طول موج ۳۴۰ نانومتر، و فعالیت آنزیم ALT با انتقال آمینو از آلانین به آلفا-کتوگلوکوتارات، تولید پیرووات و گلوتامات، و سپس تبدیل پیرووات به لاکتات توسط لاکتات دهیدروژناز (LDH) و اکسیداسیون NADH در همان طول موج ارزیابی گردید. فعالیت آنزیم ALP براساس هیدرولیز پارا-نیتروفنیل فسفات (PNPP) در بافر قلیایی ($\text{pH} \approx 10/4$) و تولید پارا-نیتروفنول زرد رنگ در طول موج ۴۰۵ نانومتر، و فعالیت آنزیم GGT براساس انتقال گروه گاما-گلوتامیل از سوبسترای گاما-گلوتامیل-۳-کربوکسی-۴-نیتروآنیلید به گیرنده گلیسیل گلیسین و آزادسازی محصول ۵-آمینو-۲-نیتروبنزوات در طول موج ۴۰۵ نانومتر سنجیده شد. همچنین فعالیت آنزیم LDH از طریق کاتالیز تبدیل پیرووات به لاکتات و اکسیداسیون NADH (روش کینتیک معکوس)، و فعالیت آنزیم CK براساس فسفریلاسیون کراتین و تولید ADP و سپس فعالیت آنزیم‌های جفت‌شده هگزوکیناز و گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز (G6PD) و تولید NADPH، هر دو در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند (Moss et al., 1971). غلظت گلوکز با روش GOD-PAP (اکسیداسیون گلوکز توسط گلوکز اکسیداز به گلوکونولاکتون و واکنش پراکسید هیدروژن حاصل با فنل و ۴-آمینوفنازون در حضور پراکسیداز) سنجش شد (Nagaraja et al., 2012). کلسترول تام با روش CHOD-PAP (هیدرولیز استرهای کلسترول توسط کلسترول استراز، اکسیداسیون کلسترول آزاد توسط کلسترول اکسیداز و واکنش رنگ‌زایی مشابه) و تری‌گلیسیرید با روش GPO-PAP (هیدرولیز توسط لیپاز، فسفریلاسیون گلیسرول توسط گلیسرول کیناز و اکسیداسیون گلیسرول-۳-فسفات توسط گلیسرول فسفات اکسیداز) همگی با تشکیل کمپلکس کینوئیمین قرمز رنگ در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شدند (Ramakrishnan et al., 2001). پروتئین تام با روش بیوره و تشکیل کمپلکس بنفش رنگ بین یون‌های مس دوظرفیتی (Cu^{2+}) و پیوندهای پپتیدی در محیط قلیایی (۵۴۶ نانومتر)، و آلبومین با روش رنگ‌سنجی سبز برم‌کرزول (BCG) در بافر اسیدی ($\text{pH} \approx 4/2$) و تشکیل کمپلکس آبی-سبز در طول موج ۶۳۰ نانومتر تعیین گردیدند؛ ضمن آنکه غلظت گلوبولین از تفریق آلبومین از پروتئین تام و نسبت A/G از تقسیم مقدار آلبومین بر گلوبولین به‌صورت محاسباتی به‌دست آمدند (Buzanovskii, 2017). در نهایت، غلظت کراتینین نیز با روش ژافه اصلاح‌شده و واکنش کراتینین با پیکریک اسید در محیط قلیایی (سدیم هیدروکسید) و تشکیل کمپلکس نارنجی-قرمز کراتینین-پیکرات در طول موج ۵۲۰-۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Moore and Sharer, 2017) و کلیه نتایج بر حسب واحدهای استاندارد (U/L برای آنزیم‌ها، mg/dL برای گلوکز، لیپیدها و کراتینین، و g/dL برای پروتئین‌ها) گزارش گردیدند.

آنالیز آماری: داده‌های به‌دست‌آمده ابتدا با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک از نظر نرمال بودن توزیع و با آزمون لون (Levene) از نظر همگنی واریانس‌ها بررسی شد. سپس مقایسه میانگین پارامترهای بیوشیمیایی بین تیمارهای مختلف با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و در صورت معنی‌دار بودن اختلافات، آزمون مقایسه میانگین‌های چندگانه (مانند توکی یا دانکن) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ($P < 0/05$) انجام شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار GraphPad Prism انجام گرفت. نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش می‌شوند.

نتایج

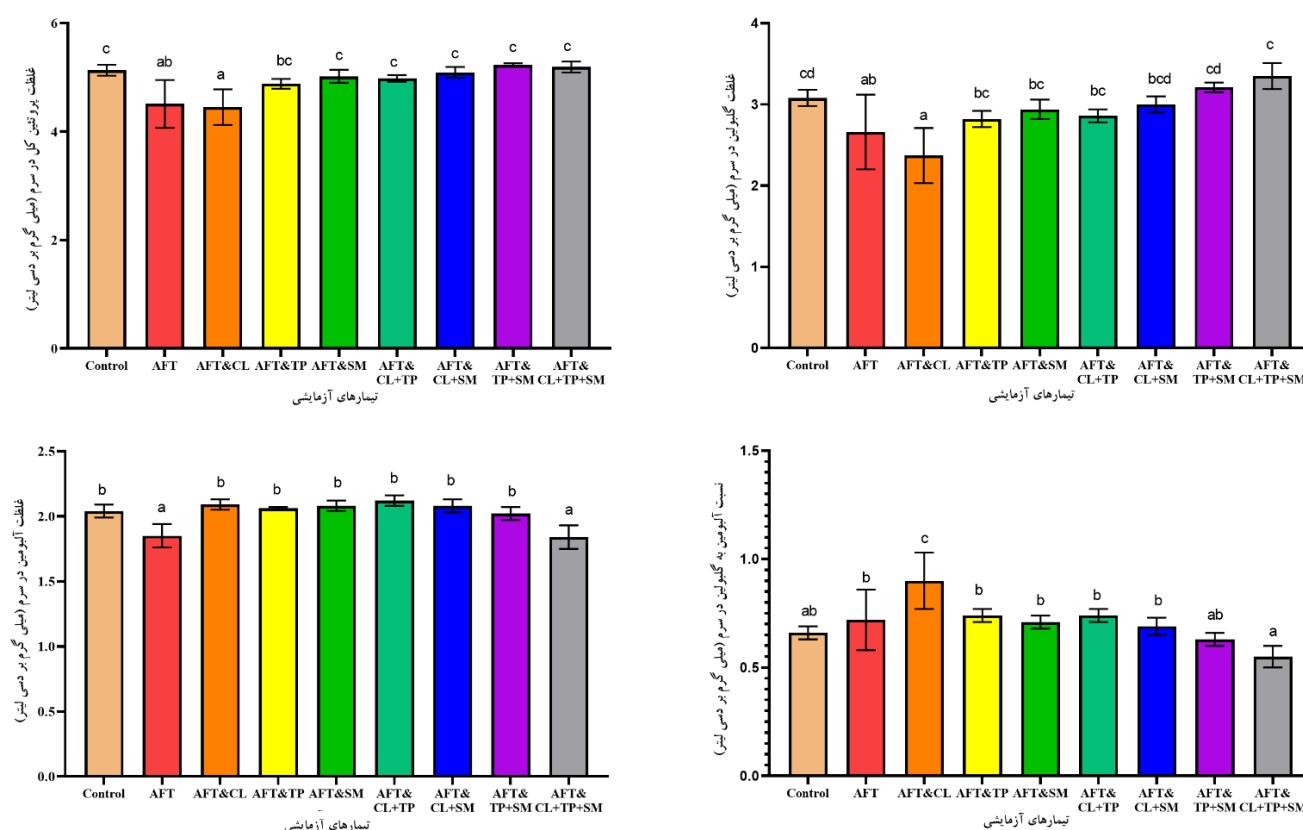
تغییرات سطح فعالیت آنزیم‌های سرم در ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین به‌تنهایی و توأم با عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین در شکل ۱ نشان داده شده است. تغذیه ماهیان با جیره غذایی حاوی آفاتوکسین منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت AST، CPK و ALP گردید. تجویز عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین به‌تنهایی تأثیر در تعدیل افزایش فعالیت AST و CPK در سرم ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین نداشت، در حالی‌که تجویز ترکیب عصاره این گیاهان منجر به کاهش فعالیت AST و CPK شد. با این‌وجود، تجویز ترکیبی از عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین منجر به بازگشت سطح فعالیت AST و CPK به سطح نرمال

شد. نتایج نشان داد که ترکیب این عصاره‌ها موجب تعدیل فعالیت ALP و بازگشت سطح فعالیت آنها به سطح مشابه گروه کنترل گردید. تغذیه ماهیان با جیره حاوی آفلاتوکسین منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت ALT و LDH در مقایسه با گروه کنترل گردید. هرچند تجویز عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین به ماهیان تحت تیمار آفلاتوکسین سطح فعالیت آنزیم‌های ALT و LDH را کاهش داد، اما همچنان سطح فعالیت این آنزیم‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود. تیمار ماهیان با جیره غذایی حاوی آفلاتوکسین منجر به کاهش معنی‌دار GGT گردید؛ در حالی که تغذیه ماهیان با ترکیب عصاره‌های زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین، به تنهایی و به‌صورت توأم موجب افزایش سطح GGT شد. با این حال، تجویز این عصاره‌های گیاهی نتوانست سطح فعالیت GGT را به سطح نرمال بازگرداند.



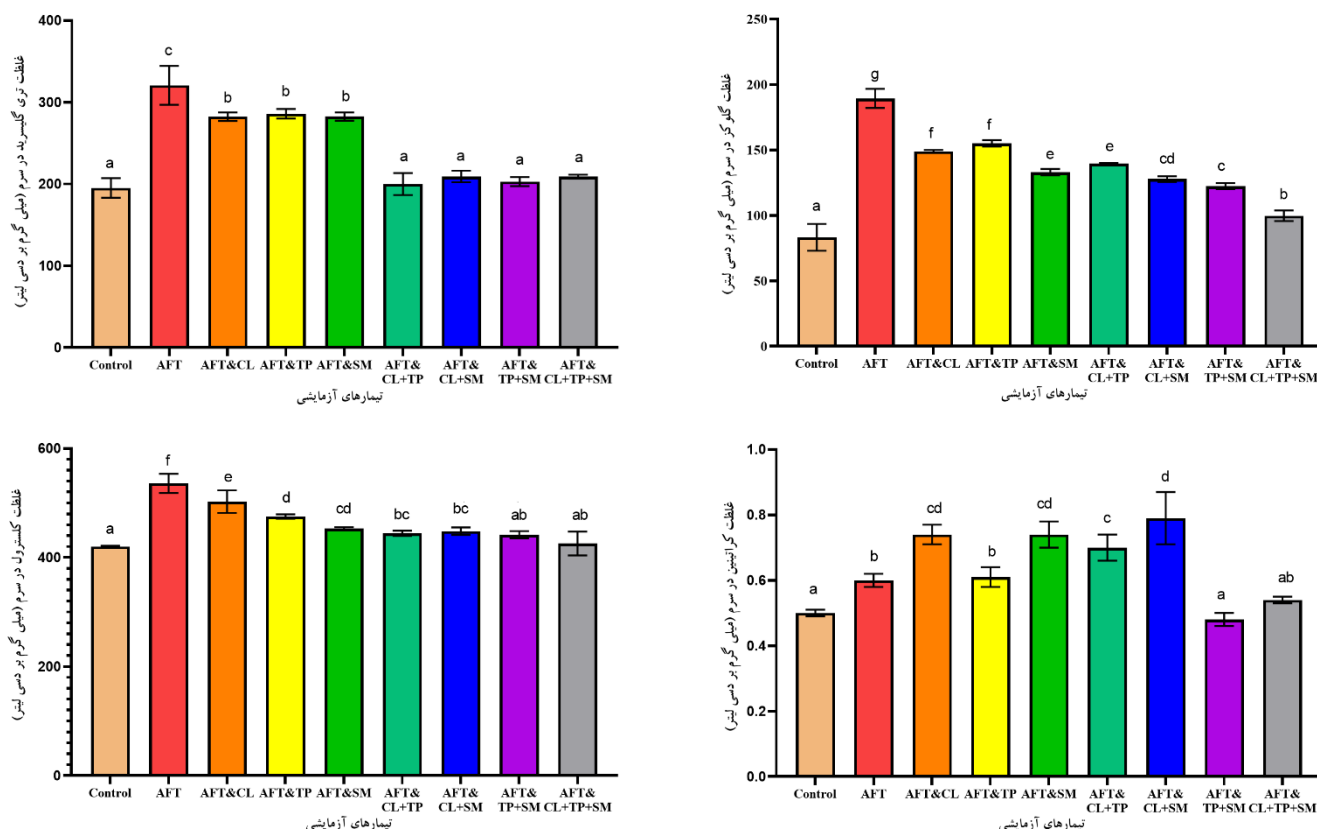
شکل ۱- تغییرات در فعالیت آنزیم‌های سرم در ماهیان تحت تیمار آفلاتوکسین به‌تنهایی و توأم با عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین (AFT)، سیلی‌مارین (SM)، کلپوره (TP) و زردچوبه (CL))

در شکل ۲، تغییرات در سطح پروتئین کل، آلبومین و گلبولین سرم در ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین به‌تنهایی و توأم با عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین نشان داده شده است. تغذیه ماهیان با جیره حاوی آفاتوکسین منجر به کاهش معنی‌دار سطح پروتئین کل، آلبومین و گلبولین گردید. تجویز عصاره زردچوبه به‌تنهایی نیز تأثیر معنی‌داری در تنظیم سطح پروتئین کل و گلبولین در سرم ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین نداشت، در حالی که تجویز کلپوره و سیلی‌مارین و ترکیبی از عصاره‌های مختلف منجر به بهبود سطح پروتئین کل، آلبومین و گلبولین و بازگشت آن به سطح نرمال گردید. نسبت آلبومین به گلبولین تنها در گروه تحت تیمار آفاتوکسین و زردچوبه گردید.



شکل ۲- تغییرات در سطح پروتئین کل، آلبومین و گلبولین سرم در ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین به‌تنهایی و توأم با عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین ((آفاتوکسین (AFT)، سیلی‌مارین (SM)، کلپوره (TP) و زردچوبه (CL))

تغییرات در سطح کلسترول، تری‌گلیسیرید، گلوکز و کراتینین سرم در ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین به‌تنهایی و توأم با عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین در شکل ۳ نشان داده شده است. تغذیه ماهیان با جیره حاوی آفاتوکسین منجر به افزایش معنی‌دار سطح تری‌گلیسیرید، کلسترول، گلوکز و کراتینین گردید. تجویز عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین به‌تنهایی، به ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین تأثیر معنی‌داری در تنظیم و کاهش سطح تری‌گلیسیرید، کلسترول، گلوکز و کراتینین در مقایسه با گروه کنترل نداشت. در حالی که تجویز ترکیب عصاره این گیاهان منجر به تنظیم سطح تری‌گلیسیرید در ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین شد. تجویز عصاره سیلی‌مارین و کلپوره و همچنین ترکیب هر سه عصاره منجر به تنظیم سطح کلسترول و کراتینین در سرم ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین و بازگشت آنها به سطح نرمال گردید. در حالی که در هیچ یک گروه‌های تحت تیمار عصاره‌های گیاهی، سطح گلوکز به سطح نرمال بازنگشت.



شکل ۳- تغییرات در سطح کلاسترول، تری‌گلیسیرید، گلوکز و کراتینین سرم در ماهیان تحت تیمار آفلاتوکسین به‌تنهایی و توأم با عصاره زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین (آفلاتوکسین (AFT)، سیلی‌مارین (SM)، کلپوره (TP) و زردچوبه (CL))

بحث

تغذیه ماهیان با آفلاتوکسین منجر به اختلال شدید در عملکرد کبد و بافت‌های دیگر شده است که این امر از طریق افزایش معنی‌دار آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH به‌عنوان نشانگرهای نفوذپذیری غشای سلولی و نشت آنزیمی ناشی از هپاتوتوکسیسیته، و همچنین افزایش CPK که احتمالاً نشان‌دهنده آسیب عضلانی است، مشهود می‌باشد؛ در مقابل، کاهش معنی‌دار آنزیم GGT نتیجه‌ای تأمل‌برانگیز است که می‌تواند ناشی از سرکوب آنزیمی توسط سم، آسیب حاد به مجاری صفراوی و یا اختلال در سنتز پروتئین‌های کبدی در اثر مسمومیت حاد باشد (Vaziriyan *et al.*, 2018; Ghafarifarsani *et al.*, 2021b). تجویز جداگانه عصاره‌های زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین تأثیر محافظتی چشمگیری در تعدیل افزایش فعالیت AST و CPK نشان داد که این عدم کارایی می‌تواند به عواملی نظیر ناکافی بودن دوز مصرفی، محدود بودن مکانیسم اثر هر گیاه به‌تنهایی و یا نیاز مبرم به هم‌افزایی (سینرژیسم) میان ترکیبات فعال این گیاهان برای خنثی‌سازی مؤثر استرس اکسیداتیو و آسیب‌های بافتی نسبت داده شود. در نقطه مقابل، ترکیب سه‌گانه این عصاره‌ها اثرات هم‌افزایی و معنی‌داری از خود نشان داد، به‌طوری که منجر به بازگشت کامل سطوح AST و CPK به حد نرمال و تعدیل قابل‌توجه ALP گردید که این امر نشان‌دهنده ترمیم غشای سلولی کبد و عضله، توقف نشت آنزیمی و بهبود عملکرد صفراوی است؛ هرچند سطوح ALT و LDH با وجود کاهش چشمگیر ناشی از حفظ نسبی ساختار کبد و کاهش نکرور سلولی، به سطح نرمال گروه کنترل نرسیدند که احتمالاً به‌دلیل آسیب‌های پایدار بافتی یا زمان ناکافی برای بازسازی کامل سلول‌های کبدی در طول دوره آزمایش است.

واکنش آنزیم GGT به تیمارهای گیاهی که با افزایش سطح آن چه به‌صورت منفرد و چه به‌صورت ترکیبی همراه بود، احتمالاً ناشی از القا و تحریک مکانیسم‌های سم‌زدایی کبد و فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی است؛ از آنجا که GGT در متابولیسم

گلوکاتایون نقش کلیدی دارد، افزایش آن می‌تواند نشان‌دهنده تلاش فیزیولوژیک کبد برای مقابله با استرس اکسیداتیو ناشی از آفاتوکسین باشد، اما عدم بازگشت این آنزیم به سطح نرمال نیازمند بررسی‌های بیشتر برای تمایز میان یک واکنش دفاعی مفید و آسیب پایدار مجاری صفراوی است.

تجویز عصاره‌هایی گیاهی نظیر سیلی‌مارین، کلپوره، سیر و زردچوبه، افزایش غیرطبیعی آنزیم‌های کبدی نظیر ALT و AST ناشی از قرار گرفتن در معرض سمومی نظیر آفاتوکسین را کاهش داده و به سطح طبیعی بازمی‌گرداند (El-Barbary, 2016; Rahmouni *et al.*, 2022b; Imbabi *et al.*, 2024; Jindal *et al.*, 2024; El-Gogary *et al.*, 2025; El-Said *et al.*, 2026). مکانیسم محافظتی این گیاهان بر هم‌افزایی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی زردچوبه، تقویت ایمنی توسط کلپوره و پایدارسازی سلولی توسط خارمریم استوار است. این ترکیبات با فعال‌سازی مسیرهای سم‌زدایی مانند Nrf2، خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، و جلوگیری از اکسیداسیون چربی کبد، به‌طور مؤثری از سلول‌های کبدی در برابر سمیت آفاتوکسین محافظت می‌کنند (Ljubuncic *et al.*, 2006). همچنین، این گیاه با افزایش سطح گلوکاتایون (GSH) در سلول‌های کبدی، به محافظت بهتر از سلول‌ها در برابر استرس و آسیب‌های اکسیداتیو کمک می‌کند (Ljubuncic *et al.*, 2006; Bahramikia and Yazdanparast, 2012).

سیلی‌مارین نیز با کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی آسیب‌دیده (مانند ALT، AST و LDH) و افزایش سطح پروتئین کل و آلبومین خون، به بهبود عملکرد کبد کمک می‌کند (Banaee *et al.*, 2011; Jia *et al.*, 2013). همچنین، سیلی‌مارین (Jia *et al.*, 2026; al., 2013) و کورکومین (D'souza and Prabhu, 2006; Abdel-Tawwab and Abbass 2017; Güneri, 2021; Wei *et al.*, 2024) با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (مانند SOD، CAT و GPx) و سطح گلوکاتایون، و همزمان با کاهش تشکیل مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان نشانه‌ای از آسیب چربی‌ها، از کبد در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند. سیلی‌مارین همچنین توانایی قابل‌توجهی در خنثی‌کردن سمومی نظیر آفاتوکسین (AFB1) دارد، و مصرف سیلی‌مارین باعث کاهش باقیمانده این سم در بافت کبد، بهبود رشد، اصلاح فاکتورهای خونی و بازگرداندن توانایی ماهی برای مقابله با عفونت‌های باکتریایی و پاسخ به درمان‌های آنتی‌بیوتیکی می‌شود (Haggag *et al.*, 2025). پژوهش‌ها همچنین نشان می‌دهند که کورکومین اثرات محافظتی قوی در برابر سموم محیطی و شیمیایی، مانند تتراکلرید کربن، آفاتوکسین B1، کلرپیرفوس و مس دارد. این ماده با مهار مسیرهای التهابی و مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی (مانند مسیرهای NF- κ B و NRF2-KEAP1) و کاهش آنزیم‌های کبدی آسیب‌دیده (ALT، AST و LDH)، سلامت کبد و کلیه را حفظ کرده و آسیب‌های بافتی را کاهش می‌دهد (Manju *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2016; Alagawany *et al.*, 2021; Giri *et al.*, 2021; Trivedi *et al.*, 2025).

کاهش معنی‌دار سطح پروتئین کل، آلبومین و گلبولین در ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین نشان‌دهنده اختلال جدی در عملکرد سنتز پروتئین کبد است. کبد به‌عنوان اصلی‌ترین محل سنتز پروتئین‌های پلاسما، در مواجهه با آفاتوکسین دچار آسیب سلولی شده و توانایی تولید آلبومین (به‌عنوان پروتئین اصلی حفظ فشار اسمزی) و گلبولین‌ها (شامل ایمونوگلوبولین‌های دخیل در سیستم ایمنی) را از دست می‌دهد. این یافته با افزایش آنزیم‌های کبدی در شکل ۱ همخوانی داشته و تأیید می‌کند که آفاتوکسین نه تنها باعث نشت آنزیمی بلکه مهار سنتز پروتئین‌های حیاتی نیز می‌شود که می‌تواند منجر به اِدم، تضعیف سیستم ایمنی و افزایش حساسیت به بیماری‌های ثانویه گردد (Bitsayah *et al.*, 2018; He *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023). تجویز عصاره زردچوبه به‌تنهایی تأثیر معنی‌داری در تنظیم سطح پروتئین کل و گلبولین نشان نداد که این امر می‌تواند به محدودیت کورکومین در تحریک سنتز پروتئین یا نیاز به ترکیبات کمکی برای فعال‌سازی کامل مسیرهای بیوسنتزی نسبت داده شود. با این حال، تغییر در نسبت آلبومین به گلبولین در این گروه نتیجه قابل‌توجهی است که احتمالاً نشان‌دهنده تغییر در الگوی سنتز پروتئین‌ها یا افزایش نسبی آلبومین نسبت به گلبولین است، هرچند که این تغییر به‌تنهایی برای بازگشت کامل سطوح مطلق پروتئین‌ها کافی نبوده است. در مقابل، کلپوره و سیلی‌مارین به‌تنهایی و همچنین ترکیب عصاره‌ها توانستند سطح پروتئین کل، آلبومین و گلبولین را به حد نرمال بازگردانند که این امر نشان‌دهنده بازسازی عملکرد کبد و احیای توانایی سنتز پروتئین است. سیلی‌مارین با تحریک RNA پلی‌مراز و افزایش سنتز پروتئین‌های ریبوزومی، بیوسنتز پروتئین را تقویت می‌کند، در حالی که کلپوره از طریق تقویت ایمنی و کاهش

التهاب، محیط بازسازی سلول‌های کبدی را فراهم می‌سازد. اثر سینرژیستیک این دو عصاره، بازگرداندن تعادل پروتئینی سرم را به‌طور مؤثری بهبود بخشید که اهمیت درمان چند-هدفی را تأیید می‌کند. مطالعات همچنین نشان داد که مصرف عصاره سیلی‌مارین، کلپوره و زردچوبه از کاهش سطح پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین خون جلوگیری کرده و وضعیت تغذیه‌ای و ایمنی را حفظ یا بازیابی می‌کند (El-Barbary, 2016; El-Gogary *et al.*, 2025; El-Said *et al.*, 2026).

نسبت آلبومین به گلوبولین (A/G ratio) یک شاخص بالینی مهم برای ارزیابی عملکرد کبد و وضعیت ایمنی است. کاهش این نسبت معمولاً نشان‌دهنده آسیب کبدی مزمن یا فعال شدن سیستم ایمنی (افزایش گلوبولین‌ها در پاسخ به التهاب) است. تغییر این نسبت در گروه آفاتوکسین و زردچوبه می‌تواند نشان‌دهنده تلاش بدن برای جبران آسیب از طریق افزایش نسبی آلبومین یا کاهش گلوبولین‌ها باشد، اما عدم مشاهده این تغییر در سایر گروه‌های درمانی موفق (کلپوره، سیلی‌مارین و ترکیبی) نشان می‌دهد که این عصاره‌ها توانسته‌اند تعادل طبیعی بین سنتز آلبومین و گلوبولین را بدون نیاز به تغییر نسبت، بازسازی کنند. این نتایج با بهبود آنزیم‌های کبدی (شکل ۱) همخوانی دارد؛ عصاره‌ها علاوه بر نرمال سازی و بهبود سطح فعالیت این آنزیم‌ها، عملکرد سنتز پروتئین کبد را نیز احیا کردند. این همبستگی نشان‌دهنده اثر محافظتی جامع عصاره‌هاست که هم از نشت آنزیمی جلوگیری کرده و هم توان بیوسنتزی کبد را بازمی‌گرداند. مکانیسم محافظتی کلپوره و سیلی‌مارین در بهبود پروتئین‌های سرم شامل فعال‌سازی مسیر سنتز پروتئین mTOR، کاهش استرس اکسیداتیو، تحریک تکثیر هپاتوسیت‌ها و مهار سیتوکین‌های التهابی مانند تومور نکروز فاکتور آلفا و اینترلوکین ۶ که همگی به بازگرداندن تعادل پروتئینی کمک می‌کنند (Liu *et al.*, 2018; Lastra *et al.*, 2026).

تغذیه ماهیان با جیره حاوی آفاتوکسین منجر به افزایش معنی‌دار سطوح تری‌گلیسیرید، کلسترول، گلوکز و کراتینین سرم گردید که نشان‌دهنده اختلال گسترده در متابولیسم لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و عملکرد کلیوی است. افزایش تری‌گلیسیرید و کلسترول احتمالاً ناشی از استاتوز کبدی (کبد چرب) و اختلال در سنتز، متابولیسم و دفع لیپوپروتئین‌ها توسط کبد آسیب‌دیده است (Rotimi *et al.*, 2017). افزایش گلوکز می‌تواند نتیجه فعال شدن گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز در پاسخ به استرس اکسیداتیو، یا مقاومت به انسولین ناشی از التهاب سیستمیک باشد. افزایش کراتینین نیز به‌عنوان یک نشانگر کلیدی، احتمالاً نشان‌دهنده نفروتوکسیسیته (آسیب کلیوی) ناشی از آفاتوکسین یا کاهش پرفیوژن و فیلتراسیون گلومرولی است که نشان می‌دهد این سم علاوه بر کبد، بر عملکرد کلیه‌ها نیز تأثیر مخرب گذاشته است (Taheri *et al.*, 2017; Vaziriyani *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2023; Nazdar *et al.*, 2026).

مطالعات نشان می‌دهد که تجویز عصاره آبی گیاه *Teucrium polium* (Esmaeili and Yazdanparast, 2004; Bahramikia and Yazdanparast, 2012) و *Silybum marianum* (Banaee *et al.*, 2011; Shehata *et al.*, 2025)، می‌تواند از طریق افزایش سطح انسولین و تنظیم فعالیت هورمون‌های پانکراس، سطح گلوکز خون را تنظیم کند. با این حال، تجویز انفرادی و ترکیبی این عصاره‌ها تأثیر کاهشی معنی‌داری بر هاپیرگلیسمی ناشی از آفاتوکسین نداشت. این یافته بیانگر آن است که اختلالات متابولیک القا شده توسط آفاتوکسین بسیار شدید بوده و تنظیم گلوکز در این شرایط، نیازمند یک رویکرد درمانی سینرژیستیک و چندهدفی برای مهار همزمان گلوکونئوژنز و استرس اکسیداتیو است.

نتایج نشان داد که تجویز انفرادی عصاره‌های گیاهی تأثیر معنی‌داری بر کاهش تری‌گلیسیرید و کلسترول ناشی از آفاتوکسین نداشت. در حالی که، تنها ترکیب سه‌گانه عصاره‌ها توانست سطح تری‌گلیسیرید را در ماهیان تحت تیمار آفاتوکسین تنظیم کند که این امر نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی قوی در مهار لیپوژنز و تحریک اکسیداسیون اسیدهای چرب است. این ترکیب احتمالاً از طریق فعال‌سازی گیرنده‌های هسته‌ای مانند PPAR- α و تنظیم بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم لیپیدها، از تجمع تری‌گلیسیرید در کبد و سرم جلوگیری کرده و به بهبود استاتوز کبدی کمک می‌کند (Mansour *et al.*, 2024; Marina *et al.*, 2025). نکته قابل‌توجه این است که عصاره‌های سیلی‌مارین و کلپوره به‌تنهایی و همچنین ترکیب هر سه عصاره، توانستند سطوح کلسترول را به حد نرمال بازگردانند. این یافته نشان می‌دهد که سیلی‌مارین و کلپوره دارای مکانیسم‌های اختصاصی‌تری در تنظیم متابولیسم کلسترول (احتمالاً از طریق افزایش تبدیل کلسترول به اسیدهای صفاوی و دفع آن) هستند (Bahramikia *et al.*, 2022).

(Mohamed Kamel *et al.*, 2022). تجویز عصاره‌هایی مانند کلپوره *Teucrium polium*، سیلی‌مارین، سیر و کورکومین، به گونه‌های مختلف جانوری با کاهش کلسترول کل، تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) و همزمان افزایش کلسترول مفید (HDL)، و بهبود متابولیسم چربی‌ها همراه بوده است (Imbabi *et al.*, 2024; El-Gogary *et al.*, 2025). اگرچه تجویز انفرادی عصاره‌های گیاهی تأثیر معنی‌داری بر کاهش سطح کراتینین ناشی از آفاتوکسین نداشت. تنظیم سطح کراتینین در گروه‌های تحت تیمار دو یا هر سه عصاره نشان‌دهنده اثر محافظتی ترکیبی از این عصاره‌ها (سیلی‌مارین، کلپوره، و زردچوبه) بر کلیه ماهیان در معرض آفاتوکسین است، که این امر ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی قوی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد توبولی، بهبود جریان خون و حفظ یکپارچگی غشای گلومرولی است. این ترکیبات فیتوشیمیایی با کاهش نشانگرهای آسیب کلیوی (کراتینین و اسید اوریک)، به‌طور مؤثری عملکرد کلیه را احیا و به حالت طبیعی بازمی‌گردانند (El-Barbary, 2016; Rahmouni *et al.*, 2022a; Imbabi *et al.*, 2024; El-Gogary *et al.*, 2025).

نتیجه‌گیری

نتایج کلی این پژوهش به‌وضوح نشان می‌دهد که اگرچه مسمومیت با آفاتوکسین آسیب‌های گسترده و چندجانبه‌ای به بافت‌های کبد، کلیه و عضله ماهیان وارد کرده و متابولیسم لیپیدها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها را به‌شدت مختل می‌سازد، اما استفاده منفرد از عصاره‌های زردچوبه، کلپوره و سیلی‌مارین کارایی محدودی در مقابله با این سمیت دارد؛ در مقابل، ترکیب هم‌افزای (سینرژستیک) این سه عصاره گیاهی به‌عنوان یک راهبرد چند-هدفه، توانسته است با ترمیم غشای سلولی، احیای قدرت سنتز پروتئین و محافظت از بافت کلیه، سطوح آنزیم‌های AST، CPK و ALP و همچنین پروتئین‌های تام، آلبومین، گلبولین، کلسترول و کراتینین را به‌طور کامل به حد نرمال بازگرداند و تری‌گلیسیرید را تنظیم نماید. با این وجود، عدم بازگشت کامل سطح گلوکز، ALT، LDH و GGT به محدوده طبیعی نشان‌دهنده پایداری استرس‌های متابولیک، گلیسمیک و آسیب‌های نسبی بافتی است که برای رفع کامل آنها احتمالاً به دوره‌های درمانی طولانی‌تر یا افزودن ترکیبات تخصصی‌تر تنظیم‌کننده قند خون نیاز است؛ در نهایت، این فرمولاسیون ترکیبی پتانسیل بسیار بالایی به‌عنوان یک مکمل خوراکی محافظت‌کننده کبد و کلیه در صنعت آبی‌زی‌پروری دارد تا از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، سلامت عمومی و بازماندگی ماهیان را در مواجهه با خوراک‌های آلوده به آفاتوکسین تضمین نماید.

ملاحظات اخلاقی

حامی مالی

مقاله حاضر با حمایت مالی و معنوی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرعباس انجام شد.

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید آنهاست.

بیانیه دسترسی به داده‌ها

داده‌های پژوهش حاضر از طریق درخواست از نویسندگان قابل دسترسی است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات کلیه اساتید و پرسنل محترم مزرعه پرورش ماهی نیسایه (ماهی قزل آلا ی رنگین کمان) تشکرو قدردانی می‌گردد.

References

- Abdel-Aziz M., Mohammady E.Y., Abdelmaksoud N., Elshabrawy M., Marzouk M.M. 2026. Potential of phytochemical Constituents of *Teucrium polium* L. in Biological Assessments, Aquaculture, and Pest Management. *Egyptian Journal of Chemistry* 69(9), 635-652.
- Abdel-Latif H.M., Shukry M., Noreldin A.E., Ahmed H.A., El-Bahrawy A., Ghetas H.A., Khalifa E. 2023. Milk thistle (*Silybum marianum*) extract improves growth, immunity, serum biochemical indices, antioxidant state, hepatic histoarchitecture, and intestinal histomorphometry of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquaculture* 562, 738761.
- Abdel-Tawwab M., Abbass F.E. 2017. Turmeric powder, *Curcuma longa* L., in common carp, *Cyprinus carpio* L., diets: growth performance, innate immunity, and challenge against pathogenic *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society* 48(2), 303-312.
- Abdollahi M., Karimpour H., Monsef-Esfehani H.R. 2003. Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharmacological Research* 48(1), 31-35.
- Akdemir F., Orhan C., Tuzcu M., Sahin N., Juturu V., Sahin K. 2017. The efficacy of dietary curcumin on growth performance, lipid peroxidation and hepatic transcription factors in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) reared under different stocking densities. *Aquaculture Research* 48(8), 4012-4021.
- Alagawany M., Farag M.R., Abdelnour S.A., Dawood M.A., Elnesr S.S., Dhama K. 2021. Curcumin and its different forms: A review on fish nutrition. *Aquaculture* 532, 736030.
- Bahabadi M.N., Banaee M., Taghiyan M., Haghi B.N. 2014. Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Aquatic Biology* 2(5), 275-285.
- Bahramkia S., Gavyar P.H.H., Yazdanparast R. 2022. *Teucrium polium* L: An updated review of phytochemicals and biological activities. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 12(3), 224.
- Bahramkia S., Yazdanparast R. 2012. Phytochemistry and medicinal properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). *Phytotherapy Research* 26(11), 1581-1593.
- Banaee M., Impellitteri F., Multisanti C.R., Sureda A., Arfuso F., Piccione G., Faggio C. 2023. Evaluating silymarin extract as a potent antioxidant supplement in diazinon-exposed rainbow trout: oxidative stress and biochemical parameter analysis. *Toxics* 11(9), 737.
- Banaee M., Sharma D., Sinha R., Mikušková N., Velišek J., Faggio C. 2025. Herbal remedies in aquaculture: efficacy, risks, and the need for quality assurance. *Aquaculture International* 33(6), 492.
- Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A.R., Rafei G.R. 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 37(4), 885-896.
- Benali T., Habbadi K., Bouyahya A., Khabbach A., Marmouzi I., Aanniz T., Chtibi H., Mrabti H.N., Achbani E.H., Hammani K. 2021. Phytochemical analysis and study of antioxidant, anticandidal, and antibacterial activities of *Teucrium polium* subsp. *polium* and *Micromeria graeca* (Lamiaceae) essential oils from Northern Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2021(1), 6641720.
- Bhatt D., Holeyappa S.A., Pandey A., Bansal N., Hundal J.S., Khairnar S.O. 2024. Growth performance, physiological response, and tissue microarchitecture of the carp *Labeo rohita* challenged with AFB1 are improved by supplementing with turmeric. *Spanish Journal of Agricultural Research* 22(2), e0501.
- Bitsayah A., Banaei M., Nematdoost H.B. 2018. Effects of aflatoxin-contaminated feed on immunological parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Toxicology* 12(1), 7-12.
- Buzanovskii V. 2017. Determination of proteins in blood. Part 1: Determination of total protein and albumin. *Review Journal of Chemistry* 7(1), 79-124.
- D'Souza H.P., Prabhu H.R. 2006. In vitro inhibition of lipid peroxidation in fish by turmeric (*Curcuma longa*). *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 21(2), 138-141.

- Ebrahimi M.K., Razavilar V. 2011.** A survey on prevalence rate of Aflatoxigenic species of *Aspergillus* and residues of aflatoxins by ELISA method in Rainbow Trout feeds in Tehran and West Azarbayjan provinces - Iran. *Comparative Pathology* 8(1), 385-394.
- El-Alim A., Abd El-Alim F., El-Murr A., Hasan T. 2025.** Benefits of silymarin as an immune and growth enhancer in farmed fish. *Zagazig Veterinary Journal* 53(2), 127-142.
- El-Barbary M.I. 2016.** Detoxification and antioxidant effects of garlic and curcumin in *Oreochromis niloticus* injected with aflatoxin B1 with reference to gene expression of glutathione peroxidase (GPx) by RT-PCR. *Fish Physiology and Biochemistry* 42(2), 617-629.
- El-Gogary M., Dorra T.M., El-Sayed I. 2025.** Impact of dietary supplementation levels of turmeric powder (*Curcuma longa*) on performance, carcass characteristics, blood biochemical, jejunum histological and gut microflora in broiler chickens. *Journal of Animal & Poultry Production* 16(1), 7.
- El-Said E.A., Elattar K.M., El-Khateeb A.Y., Hamed S.E. 2026.** Effect of oral silymarin on liver function, antioxidants activity and blood lipid profile of induced hepatic injury growing rabbits. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences* 57(4), 1-11.
- Esmaili M.A., Yazdanparast R. 2004.** Hypoglycaemic effect of Teucrium polium: studies with rat pancreatic islets. *Journal of Ethnopharmacology* 95(1), 27-30.
- Fang Z., Zhu H., Gao J., Cao L., Yao Y., Li Q., Dai F., Yang X., Du J., Xu G. 2025.** Regulatory effects of silymarin on hepatopancreatic injury induced by deltamethrin in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) via the P53 signaling pathway. *3 Biotech* 15(12), 412.
- Ghafariarsani H., Imani A., Niewold T., Pietsch-Schmied C., Sarvi Moghanlou K. 2021a.** Histopathological effects of aflatoxin B1 and zearalenone on liver tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries* 74(1), 97-106.
- Ghafariarsani H., Imani A., Niewold T.A., Pietsch-Schmied C., Moghanlou K.S. 2021b.** Synergistic toxicity of dietary aflatoxin B1 (AFB1) and zearalenone (ZEN) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is attenuated by anabolic effects. *Aquaculture* 541, 736793.
- Ghafariarsani H., Kachuei R., Imani A. 2021c.** 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.
- Giri S.S., Kim M.J., Kim S.G., Kim S.W., Kang J.W., Kwon J., Lee S.B., Jung W.J., Sukumaran V., Park S.C. 2021.** Role of dietary curcumin against waterborne lead toxicity in common carp *Cyprinus carpio*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 219, 112318.
- Güneri N. 2021.** A review on turmeric (*Curcuma longa* L.) and usage in seafood. *Marine Science and Technology Bulletin* 10(1), 71-84.
- Haggag N.A., Elbadawy M., ElKomy A., Sherif A.H. 2025.** Silymarin enhances the performance of Nile tilapia fed an aflatoxin B1-contaminated diet. *Aquaculture International* 33(7), 679.
- He X.N., Zeng Z.Z., Wu P., Jiang W.D., Liu Y., Jiang J., Kuang S.Y., Tang L., Feng L., Zhou X.Q. 2022.** Dietary Aflatoxin B1 attenuates immune function of immune organs in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by modulating NF-κB and the TOR signaling pathway. *Frontiers in Immunology* 13, 1027064.
- Hoseyni S.Z., Imani A., Vazirzadeh A., Moghanlou K.S., Farhadi A., Razi M. 2024.** Dietary aflatoxin B1 and zearalenone contamination affected growth performance, intestinal and hepatopancreas gene expression profiles and histology of the intestine and gill in goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture Reports* 34, 101887.
- Hussain D., Mateen A., Gatlin D.M. 2017.** Alleviation of aflatoxin B1 (AFB1) toxicity by calcium bentonite clay: Effects on growth performance, condition indices and bioaccumulation of AFB1 residues in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 475, 8-15.
- Imbabi T.A., El-Sayed A.I., El-Habbak M.H., Nasr M.A., Halawa E.H. 2024.** Ameliorative effects of silymarin on aflatoxin B1 toxicity in weaned rabbits: impact on growth, blood profile, and oxidative stress. *Scientific Reports* 14(1), 21666.
- Jia F., Wei L., Jiang W.D., Wu P., Liu Y., Ma Y.B., Zhang H.Y., Jin X.W., Ren H.M., Zhou X.Q. 2026.** Dietary silymarin improves gut–liver health by enhancing intestinal barrier integrity and

- modulating TLR4/NF- κ B and NLRP3-mediated inflammatory responses in *Aeromonas hydrophila*-infected grass carp. *Fish & Shellfish Immunology*, 111135.
- Jia R., Cao L., Du J., Xu P., Jeney G., Yin G. 2013.** The protective effect of silymarin on the carbon tetrachloride (CCl₄)-induced liver injury in common carp (*Cyprinus carpio*). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal* 49(3), 155-161.
- Jiao S., Shen Z., Fang Q., Liu X., Hao Y., Kong Y., Peng S., Li M., Wang G. 2025.** Dietary aflatoxin B1 exposure induced the inflammation and apoptosis in freshwater fish (*Channa argus*) via disturbing ROS/ERS signaling axis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 296, 110227.
- Jindal R., Sharma R., Kaur P., Kaur S., Multisanti C.R., Faggio C. 2024.** Mitigation of haemato-genotoxic and stress response effects in *Cyprinus carpio* via silymarin dietary supplementation following deltamethrin exposure. *Heliyon* 10(7), E28419.
- Karadaş N.F., Duman H. 2026.** Quantitative global typologies of rainbow trout production from FAO statistics. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 26(9), TRJFAS29306.
- Karimi M., Gholamhosseini A., Banaee M., Zeidi A., Shakeri R., Nematollahi A. 2022.** Evaluation of the pathology and food poisoning of fish with mycotoxins. *Aquaculture Sciences* 9(2), 10-29.
- Kusi I.O., Obirikorang K.A., Adjei-Boateng D. 2025.** Effects of phytobiotic *Curcuma longa*, *Allium sativum* and *Zingiber officinale*- supplemented diets on growth, utilisation of feed and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) resistance against *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture Research* 1(2025), 9911375.
- Lastra J.M.P., Curieses Andrés C.M., Munguira E.B., Juan C.A., Pérez Lebeña E. 2026.** Silymarin as a Redox-Signalling and Proteostasis Modulator. *Nutraceuticals* 6(2), 25.
- Liu F., Gao S., Yang Y., Zhao X., Fan Y., Ma W., Yang D., Yang A., Yu Y. 2018.** Antitumor activity of curcumin by modulation of apoptosis and autophagy in human lung cancer A549 cells through inhibiting PI3K/Akt/mTOR pathway. *Oncology Reports* 39(3), 1523-1531.
- Liu H., Xie R., Huang W., Yang Y., Zhou M., Lu B., Li B., Tan B., Dong X. 2023.** Negative effects of aflatoxin B1 (AFB1) in the diet on growth performance, protein and lipid metabolism, and liver health of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *Epinephelus lanceolatus*♂). *Aquaculture Reports* 33, 101779.
- Ljubuncic P., Dakwar S., Portnaya I., Cogan U., Azaizeh H., Bomzon A. 2006.** Aqueous extracts of *Teucrium polium* possess remarkable antioxidant activity in vitro. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 3(3), 329-338.
- Manal I. 2018.** Impact of garlic and curcumin on the hepatic histology and cytochrome P450 gene expression of aflatoxicosis *Oreochromis niloticus* using RT-PCR. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 18(3), 405-415.
- Manju M., Akbarsha M.A., Oommen O.V. 2012.** In vivo protective effect of dietary curcumin in fish *Anabas testudineus* (Bloch). *Fish Physiology and Biochemistry* 38(2), 309-318.
- Mansour M.F., Radwan Z.Z., Khamis T., Fawzy M. 2024.** Silymarin-loaded chitosan nanoparticles alleviate dyslipidemia, oxidative stress, metabolic disturbance and histopathological injury associated with high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Journal of Advanced Veterinary Research* 14(3), 439-444.
- Marina C.D., Puscasiu D., Flangea C., Vlad T., Cimporescu A., Popescu R., Moatar A.E., Vlad D.C. 2025.** Adipo-Modulation by Turmeric Bioactive Phenolic Components: From Curcuma Plant to Effects. *International Journal of Molecular Sciences* 26(14), 6880.
- Michelin E.C., Massocco M.M., Godoy S.H., Baldin J.C., Yasui G.S., Lima C.G., Rottinghaus G.E., Sousa R.L., Fernandes A.M. 2017.** Carryover of aflatoxins from feed to lambari fish (*Astyanax altiparanae*) tissues. *Food Additives & Contaminants: Part A* 34(2), 265-271.
- Mohamed Kamel G.A., Harahsheh E., Hussein S. 2022.** Mechanisms underlying the hepatoprotective effect of silymarin on fluoxetine-induced liver injury in rats: the implication of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR- γ). *Comparative Clinical Pathology* 31(4), 689-698.
- Moore J.F., Sharer J.D. 2017.** Methods for quantitative creatinine determination. *Current Protocols in Human Genetics* 93(1), A.30.1-A.30.7.

- Moss D., Baron D., Walker P., Wilkinson J. 1971.** Standardization of clinical enzyme assays. *Journal of Clinical Pathology* 24(8), 740.
- Nagaraja P., Krishna H., Shivakumar A., Shrestha A.K. 2012.** Development of quantitative enzymatic method and its validation for the assay of glucose in human serum. *Clinical Biochemistry* 45(1-2), 139-143.
- Nazdar N., Imani A., Froushani S.M.A., Farzaneh M., Moghanlou K.S. 2026.** Aflatoxin B1 detoxification in rainbow trout via dietary inclusion of turmeric and Shirazi thyme extracts: Implications for feed efficiency, hepatic health, and oxidative stress management. *Aquaculture Reports* 47, 103466.
- Oliveira M., Vasconcelos V. 2020.** Occurrence of mycotoxins in fish feed and its effects: A review. *Toxins* 12(3), 160.
- Rahmouni F., Badraoui R., Ben-Nasr H., Bardakci F., Elkahoui S., Siddiqui A.J., Saeed M., Snoussi M., Saoudi M., Rebai T. 2022a.** Pharmacokinetics and therapeutic potential of *Teucrium polium* against liver damage associated hepatotoxicity and oxidative injury in rats: computational, biochemical and histological studies. *Life* 12(7), 1092.
- Rahmouni F., Badraoui R., Ben-Nasr H., Bardakci F., Elkahoui S., Siddiqui A.J., Saeed M., Snoussi M., Saoudi M., Rebai T. 2022b.** Pharmacokinetics and therapeutic potential of *Teucrium polium*, a medicinal and endangered species in Ha'il region, against liver damage associated hepatotoxicity and oxidative injury in rats: computational, biochemical and histological studies. *Life* 12(2), 1092.
- Ramakrishnan L., Reddy K.S., Jailkhani B.L. 2001.** Measurement of cholesterol and triglycerides in dried serum and the effect of storage. *Clinical Chemistry* 47, 1113-1115.
- Rodríguez-Cervantes C., Girón-Pérez M., Robledo-Marengo M., Marín S., Velázquez-Fernández J., Medina-Díaz I., Rojas-García A., Ramos A. 2010.** Aflatoxin B1 and its toxic effects on immune response of teleost fishes: a review. *World Mycotoxin Journal* 3(2), 193-199.
- Rotimi O.A., Rotimi S.O., Duru C.U., Ebebeinwe O.J., Abiodun A.O., Oyeniyi B.O., Faduyile F.A. 2017.** Acute aflatoxin B1-Induced hepatotoxicity alters gene expression and disrupts lipid and lipoprotein metabolism in rats. *Toxicology Reports* 4, 408-414.
- Sadeghi Z., Yang J.L., Venditti A., Moridi Farimani M. 2022.** A review of the phytochemistry, ethnopharmacology and biological activities of *Teucrium* genus (Germander). *Natural Product Research* 36(21), 5647-5664.
- Sahoo P.K., Mukherjee S.C. 2001.** Immunosuppressive effects of aflatoxin B1 in Indian major carp (*Labeo rohita*). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 24(3), 143-149.
- Sahu S., Das B.K., Mishra B.K., Pradhan J., Samal S.K., Sarangi N. 2008.** Effect of dietary Curcuma longa on enzymatic and immunological profiles of rohu, *Labeo rohita* (Ham.), infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research* 39(16), 1720-1730.
- Shahafve S., Banaee M., Haghi B.N., Mohiseni M. 2017.** Histopathological study of common carp (*Cyprinus carpio*) fed aflatoxin-contaminated diets. *International Journal of Aquatic Biology* 5(2), 63-70.
- Shehata A.I., Tefal E., Elmaghraby A.M., Amer A.A., Teiba I.I., Alhoshy M., Gewaily M.S., Guo Z., Li S., El Basuini M.F. 2025.** Evaluation of Silymarin-L-Carnitine as a dietary supplement on growth performance, antioxidants and immunity, gut/liver health, and gene expression in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fishes* 10(11), 580.
- Taheri S., Banaee M., Nematdoost Haghi B., Mohiseni M. 2017.** Evaluation of Nephrotoxic Effects of Aflatoxins on Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Toxicology* 11(2), 51-58.
- Trivedi A., Saxena V., Bakhasha J., Arya N., Yadav K.K., Srivastava A., Trivedi S.P., Banaee M., Sopjani M., Faggio C. 2025.** Curcumin's role in reshaping the redox dynamics of fish kidneys: NRF2 activation as a strategy against copper-induced nephropathy. *Fish Physiology and Biochemistry* 51(3), 94.
- Vaziriyani M., Banaee M., Nematdoost Haghi B., Mohiseni M. 2018.** Effects of dietary exposure to aflatoxins on some plasma biochemical indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 17(3), 487-502.

- Wei L., Wu P., Zhou X.Q., Jiang W.D., Liu Y., Kuang S.Y., Tang L., Feng L. 2020.** Dietary silymarin supplementation enhanced growth performance and improved intestinal apical junctional complex on juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture* 525, 735311.
- Wei L.S., Hooi K.Y., Khoo M.I., Wee W. 2024.** Effect of dietary supplementation of turmeric, *Curcuma longa* leaf on growth and health status of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Veterinary Integrative Sciences* 22(3), 907–920.
- Xiao P., Ji H., Ye Y., Zhang B., Chen Y., Tian J., Liu P., Chen L., Du Z. 2017.** Dietary silymarin supplementation promotes growth performance and improves lipid metabolism and health status in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fed diets with elevated lipid levels. *Fish Physiology and Biochemistry* 43(1), 245-263.
- Yousuf G.O., Farooq U., Jyotirmayee Verma M., Shukla S., Pandey S., Gupta M., Arshad M. 2026.** Mechanistic insights into Aflatoxin B1- induced histopathology in the gill, liver, and kidney tissues and immune dysregulation by altering the expression of cytokine genes in *Channa punctata*. *Journal of Applied Toxicology*. In Press.
- Yu Y.Y., Chen S.J., Chen M., Tian L.X., Niu J., Liu Y.J., Xu D.H. 2016.** Effect of cadmium-polluted diet on growth, salinity stress, hepatotoxicity of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Protective effect of Zn (II)–curcumin. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 125(2016), 176-183.
- Zeng S., Long W., Tian L., Xie S., Chen Y., Yang H., Liang G., Liu Y. 2016.** Effects of dietary aflatoxin B1 on growth performance, body composition, haematological parameters and histopathology of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Nutrition* 22(5), 1152-1159.
- Zhang Y., Rossi W.Jr., Yamamoto F.Y., Velasquez A.M., Wang A., Gatlin D.M. 2022.** Effects of Dietary Aflatoxin B1 on Hybrid Striped Bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) and Assessment of Supplemental Arginine as a Potential Aflatoxicosis Alleviator. *Aquaculture Nutrition* 2022(1), 5161222.