

اثر سطوح مختلف سرکه سیب موجود در جیره غذایی، بر عملکرد رشد و بیان برخی ژن‌های آنتی‌اکسیدانی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مبتلا به کبد چرب غیر الکلی

نوع مقاله : مقاله پژوهشی

نویسندگان
1. سلیمه اسدی ، 2. حمیدرضا احمدنای مطلق ، 3. امید صفری ، 4. حامد وردست زاده سر درود ، 5. یاسمن زراعت پیشه ، 1. علی جوادمش

1. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، خراسان رضوی، ایران
2. استادیار دانشگاه فردوسی مشهد
3. گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه فردوسی مشهد
4. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد
5. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

این وب سایت از کوکی ها برای اطمینان از ارائه بهترین خدمات استفاده می کند.

1:29 PM
3/5/2025

۲	اثر سطوح مختلف سرکه سیب موجود در جیره غذایی، بر عملکرد رشد و بیان برخی ژن‌های
۳	آنتی‌اکسیدانی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) مبتلا به کبد چرب
۴	غیرالکلی

۵

چکیده ۶

۷	این مطالعه برای نخستین بار باهدف مقایسه اثرات سطوح مختلف سرکه سیب بر عملکرد رشد و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی
۸	(کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز) در کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) طراحی شد. برای این منظور
۹	یک گله ۳۰۰ قطعه‌ای ($14/24 \pm 73/35$ گرم) با جیره مخصوص القاکننده کبد چرب که برای اولین بار تنظیم‌شده بود به مدت
۱۰	یک ماه تغذیه شدند؛ سپس از گله موردنظر، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی ($5/40 \pm 74/20$) مبتلا شده انتخاب و به قفس‌های
۱۱	مربوطه منتقل شدند. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل:
۱۲	تیمار ۱: ماهیان سالم بدون سرکه سیب، تیمار ۲: ماهیان سالم با چهار درصد سرکه سیب، تیمار ۳: ماهیان مبتلا شده بدون
۱۳	سرکه سیب، تیمار ۴: ماهیان مبتلا شده با یک درصد سرکه سیب، تیمار ۵: ماهیان مبتلا شده با دو درصد سرکه سیب و تیمار
۱۴	۶: ماهیان مبتلا شده با چهار درصد سرکه سیب. غذایی به صورت روزانه به میزان دو درصد وزن بدن به مدت ۶۰ روز صورت
۱۵	پذیرفت. سرکه سیب مورد استفاده حاوی ۵ درصد اسیداستیک بود. بر اساس نتایج، از نظر وزن نهایی و شاخص وزن کبدی
۱۶	تفاوتی بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P>0.05$). همچنین نتایج حاصل از بیان ژن نشان داد که سرکه سیب تأثیر
۱۷	معنی‌داری بر بیان ژن‌های گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز ندارد ($P>0.05$). به‌طورکلی افزودن سرکه سیب تأثیری بر روند
۱۸	فعالیت آنتی‌اکسیدانی کبد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مبتلا شده به بیماری کبد چرب نداشت اما سبب بهبود عملکرد
۱۹	رشد شد.

۲۰ کلمات کلیدی: اسید استیک، کبد چرب، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز

۲۱

۲۲	مقدمه
۲۳	کبد چرب غیرالکلی به عنوان یک اختلال متابولیکی در نظر گرفته می‌شود که از تعامل پیچیده بین عوامل ژنتیکی، هورمونی و
۲۴	تغذیه‌ای ناشی می‌شود (۱۲) این بیماری یکی از رایج‌ترین انواع بیماری‌های کبدی در جهان است و شامل طیف وسیعی از
۲۵	آسیب‌های کبدی است و در صورت عدم توجه می‌تواند منجر به استئاتوهپاتیت غیرالکلی، فیروز و سیروز کبدی شود (۶).
۲۶	سلول‌های بدن به طور طبیعی دارای یک مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند و در شرایطی که تعادل بین ترکیبات
۲۷	اکسیدکننده و آنتی‌اکسیدان‌ها از بین رود دچار استرس اکسیداتیو می‌شود (۲۶). در چنین شرایطی بدن با استفاده از آنزیم-
۲۸	هایی مانند کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز مبارزه می‌کند. کاتالاز آنزیمی متعلق به کلاس اکسیدوردوکتازها است که تجزیه
۲۹	پراکسید هیدروژن به اکسیژن توسط آب را کاتالیز می‌کند. کاتالاز در تمام بافت‌های حیوانی و گیاهی و همچنین در
۳۰	میکروارگانیسم‌های هوازی وجود دارد. زمانی که اسیدهای چرب آزاد در کبد افزایش می‌یابند، منجر به اکسیداسیون ناقص در
۳۱	میتوکندری‌ها، پراکسی زوم‌ها و میکروزوم‌ها می‌شود و گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌شوند. در میان گونه‌های اکسیژن فعال
۳۲	تولیدشده، آب اکسیژنه عمدتاً در پراکسی زوم‌ها تولید می‌شود و توسط کاتالاز تجزیه می‌شود. با این حال، هنگامی که غلظت
۳۳	آب اکسیژنه به دلیل کاهش بیان یا فعالیت کاتالاز افزایش می‌یابد، به سیتوزول و سایر اندامک‌ها مهاجرت می‌کند و باعث
۳۴	آسیب سلولی و استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۹). گلوکاتیون پراکسیداز نیز یکی از کلیدی‌ترین آنزیم‌های کبدی در شرایط
۳۵	استرس اکسیداتیو و ایجاد آسیب‌های کبدی است (۹). گلوکاتیون پراکسیداز، تجزیه هیدروپراکسید را به شکل پایدار
۳۶	هیدروکسیدها کاتالیز می‌کند. در این زمینه، گلوکاتیون در انواع فرآیندهای متابولیکی، انتقال و سم زدایی شرکت می‌کند که از
۳۷	آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند (۱۳).
۳۸	سرکه سیب، یک محصول کاملاً طبیعی است که از تخمیر سیب به دست می‌آید. این ماده غذایی حاوی فلاونوئیدها، پلی
۳۹	فنولیک، اسیدهای آلی دیگر، ویتامین‌ها و عناصر معدنی هست که این مواد عملکرد دارویی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش
۴۰	فشارخون و کاهش میزان کلسترول، بدون اثرات جانبی دارند (۴). معمولاً اسیدهای آلی به عنوان تقویت‌کننده‌های ایمنی و
۴۱	آنتی‌اکسیدان‌های بالقوه در تغذیه طیور و دام‌های پرورشی در نظر گرفته می‌شوند (۳ و ۲۴).
۴۲	در مطالعات مختلفی سرکه سیب سبب تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و آسیب‌های سلولی ناشی از استرس
۴۳	اکسیداتیو را کاهش داده است. گزارش شده است که اسیداستیک به عنوان یکی از اجزای اصلی سرکه سیب که در مطالعات
۴۴	آبزی‌پروری و حیوانات مزرع‌های به طور گسترده استفاده می‌گردد، دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی است، از طرفی بررسی‌ها
۴۵	نشان داده است که افزایش تجمع چربی در هپاتوسیت‌های کبدی باعث افزایش آسیب‌پذیری این بافت نسبت به ترکیبات
۴۶	اکسیداتیو شده و این تنش‌های اکسیداتیو در پیشرفت آسیب‌های کبدی تأثیرگذار می‌باشد (۸). افزودن سطوح صفر، ۱/۵، ۳ و

۴/۵ درصد سرکه سیب در جیره غذایی گوره خر ماهی (<i>Danio rerio</i>) نشان داد که سطح ۴/۵ درصد سرکه سیب بهبود فعالیت	۴۷
سیستم آنتی‌اکسیدانی و عملکرد رشد می‌شود (۱). در تغذیه میگو نیز استفاده از سرکه سیب سبب بهبود رشد و بیان ژن‌های	۴۸
مرتبط با سیستم ایمنی شد (۲۲). در مطالعه دیگری نیز استفاده از سطوح صفر، ۱، ۲ و ۴ درصد سرکه سیب در جیره غذایی	۴۹
ترور سبز (<i>Andinoacara rivulatus</i>) سبب افزایش فعالیت آنزیم گوارشی، عملکرد رشد، پاسخ‌های ایمنی و خواص ایمنی	۵۰
مخاط پوست این ماهی شد (۲). به همین جهت این مطالعه برای نخستین بار باهدف مقایسه اثرات استفاده از سطوح مختلف	۵۱
سرکه سیب در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) بر رشد و بیان دو ژن آنتی‌اکسیدانی	۵۲
کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز در ماهیان سالم و مبتلا شده به کبد چرب غیرالکلی طراحی شد.	۵۳

۵۴ مواد و روش‌ها

۵۵ جیره‌های آزمایشی، طراحی آزمایش و پرورش ماهیان

جهت ابتلای ماهیان به بیماری کبد چرب، یک گله ۳۰۰ قطعه‌ای ($14/24 \pm 73/35$ گرم) با جیره مخصوص القاکننده کبد	۵۶
چرب که برای اولین بار تنظیم شده بود به مدت یک ماه تغذیه شدند؛ سپس از گله موردنظر، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی ($5/40 \pm$	۵۷
$74/20$) مبتلا شده انتخاب و به قفس‌های مربوطه (با ابعاد ۱×۱، در کانال آبراهه) منتقل شدند. جهت مقایسه تأثیر سرکه سیب	۵۸
در ماهیان سالم و مبتلا شده، تعداد ۶۰ قطعه ماهی سالم نیز به تیمارها اضافه شدند در نتیجه این آزمایش با شش تیمار	۵۹
(هرکدام در سه تکرار) طراحی گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار ۱: ماهیان سالم بدون سرکه سیب، تیمار ۲: ماهیان	۶۰
سالم با ۴ درصد سرکه سیب، تیمار ۳: ماهیان مبتلا شده بدون سرکه سیب، تیمار ۴: ماهیان مبتلا شده با ۱ درصد سرکه	۶۱
سیب، تیمار ۵: ماهیان مبتلا شده با ۲ درصد سرکه سیب و تیمار ۶: ماهیان مبتلا شده با ۴ درصد سرکه سیب. به ازای هر	۶۲
تیمار ۳ قفس تعبیه شد که در هر قفس ۱۰ ماهی قرار داده شد. پیش از شروع تیمار با سرکه سیب به منظور حصول اطمینان	۶۳
از القای بیماری، از ماهیان مبتلا شده نمونه‌برداری شد و با توجه به شواهد بالینی مانند رنگ و اندازه کبد، تجمع چربی در	۶۴
بافت کبد مورد تأیید قرار گرفت.	۶۵
سرکه سیب (۵ درصد اسیداستیک) در مقادیر معین به جیره‌های آزمایشی اضافه و کاملاً مخلوط گردید. جهت جلوگیری از	۶۶
آبشویی سرکه سیب، محلول ژلاتین هشت درصد نیز به صورت مساوی روی سطح غذا اسپری شد. جیره‌های آماده شده به مدت	۶۷
۳ ساعت در معرض جریان هوا قرار گرفته و خشک شدند (۲ و ۳). غذادهی به میزان دو درصد وزن بدن و سه بار در روز صورت	۶۸
گرفت. مواد تشکیل دهنده و آنالیز اجزای رژیم غذایی به ترتیب در جدول های ۱ و ۲ گزارش شده است.	۶۹

۷۰

۷۱

جدول ۱- اجزاء تشکیل دهنده جیره غذایی معمول و پرچرب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

اجزاء تشکیل دهنده	جیره پرچرب (درصد)	جیره نرمال مزرعه (درصد)
پودر ماهی	۳۰	۳۰
پودر گوشت	۱۳	۱۳
گلو تن گندم	۶	۶
آرد گندم	۱۰/۵	۱۴
آرد ذرت	۱۰/۵	۱۴
کنجاله سویا	۱۵	۱۵
روغن ماهی	۵/۵	۲
روغن سویا	۵/۵	۲
ویتامین C	۰/۵	۰/۵
پرمیکس ویتامینه	۱/۵	۱/۵
پرمیکس معدنی	۱/۵	۱/۵
نمک	۰/۵	۰/۵

پرمیکس معدنی حاوی (میلی گرم بر کیلوگرم) منیزیم، ۱۰۰؛ روی، ۶۰؛ آهن، ۴۰؛ مس، ۵؛ کبالت، ۰/۱؛ ید، ۰/۱؛ آنتی اکسیدان، ۱۰۰/۲. پرمیکس ویتامینه حاوی (میلی گرم بر کیلوگرم) ویتامین E، ۳۰؛ پتاسیم، ۳؛ ریبولوین، ۷؛ پیریدوکسین، ۲؛ اسید پانتوتنیک، ۱۸؛ نیاسین، ۴۰؛ فولاسین، ۱/۵؛ کولین، ۶۰۰؛ بیوتین، ۰/۷ و سیانوکوبالامین، ۲/۰۲.

۷۲

۷۳

جدول ۲- آنالیز اجزای جیره معمولی و الفاکننده کبد چرب غیرالکلی

ترکیبات	جیره پرچرب (درصد)	جیره نرمال مزرعه (درصد)
پروتئین خام	۴۲/۹	۴۲/۹
چربی خام	۲۰/۸	۱۲/۳۸
فیبر خام	۰/۹۸	۱
عصاره عاری از ازت	۲۹/۴۱	۳۷/۶
خاکستر	۵/۹۱	۵/۹۱
مواد آلی	۹۴/۰۹	۹۴/۰۹

۷۴

۷۵

شاخص‌های رشد

۷۶

جهت پایش اثر سرکه سیب بر رشد بچه ماهیان سالم و مبتلا شده، زیست‌سنجی در سه مرحله (اول، وسط و آخر دوره) با

۷۷

ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم و خط کش با دقت ۰/۱ سانتی‌متر انجام شد. شاخص‌های رشد شامل وزن ابتدایی و نهایی،

۷۸

میزان افزایش وزن روزانه و شاخص وزن کبدی در طول دوره آزمایش و با استفاده از فرمول‌های زیر به دست آمد.

۷۹

وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم) = افزایش وزن بدن (گرم)

۸۰

نمونه‌برداری

۸۱

ماهیان ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی نشدند. از هر تکرار شش قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از

۸۲

پودر گل میخک (نیم گرم در لیتر) بی‌هوش شده و وزن گیری صورت پذیرفت. بعد از وزن گیری جهت استخراج RNA از بافت

۸۳

- ۸۴ کبد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، قسمتی از بافت کبد برش داده شد و در میکروتیوب حاوی محلول تثبیت‌کننده RNA
- ۸۵ (RNA Shield)(دنا زیست آسیا، ایران) منتقل شده و تا زمان استخراج در فریزر ۸۰- نگه‌داری شد.
- ۸۶
- ۸۷ **استخراج RNA و بیان ژن**
- ۸۸ طبق دستورالعمل‌های سازنده، از کیت استخراج RNA (Total RNA Extraction Kit، پارس توس، ایران) برای استخراج
- ۸۹ RNA کامل از پنجاه میلی گرم از بافت کبد قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شد. برای تعیین خلوص و کیفیت RNA استخراج
- ۹۰ شده از دستگاه اسپکتروفتومتر مایکروپلیت ریدر (Biotec-Epoch, USA) استفاده شد. DNA ژنومی با استفاده از کیت
- ۹۱ ترموفیشتر ساخت آمریکا (DNase I Thermo Fisher Scientific, USA) حذف شد. به‌منظور سنتز cDNA به میزان دو
- ۹۲ میکرولیتر RNA (معادل یک میکروگرم) استفاده شد و طبق دستور کیت ساخت cDNA (Easy cDNA Synthesis Kit،
- ۹۳ پارس توس، ایران) صورت گرفت.
- ۹۴ بیان سه ژن مرجع GAPDH, EF1 α و بتا‌اکتین (B-Actin) و دو ژن هدف کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) با
- ۹۵ استفاده از ریل تایم پی‌سی‌آر (quantitative real-time PCR) انجام شد. راندمان بیان ژن توسط منحنی استاندارد محاسبه شد
- ۹۶ و بیان ژنهای هدف توسط میانگین هندسی بیان ژن های مرجع نرمال سازی شد (۲۵ و ۲۳). میزان حجم واکنش ۲۰
- ۹۷ مایکرولیتر بود و به ازای هر نمونه دو تکرار در نظر گرفته شد. برای این منظور از مستر میکس ریل تایم پی سی آر شرکت یکتا
- ۹۸ تجهیز آزما (ایران) استفاده شد. لیست آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۳ و برنامه حرارتی جهت تکثیر قطعات موردنظر در
- ۹۹ جدول ۴ آورده شده است. در این مطالعه به علت وجود دو جایگاه برای ژن کاتالاز در سایت داده NCBI در مجموعه ژنی ماهی
- ۱۰۰ قزل‌آلای رنگین‌کمان، دو سری پرایمر طراحی شد با عنوان کاتالاز و کاتالاز N که با توجه به نتایج حاصل از آزمایش PCR،
- ۱۰۱ پرایمر کاتالاز به‌عنوان پرایمر مورد استفاده در qPCR مورد استفاده قرار گرفت.
- ۱۰۲

جدول ۳- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در برنامه ریل تایم پی سی آر

نام ژن	توالی	طول قطعه (bp)	شماره دسترسی
CAT	AAGAGGGCAACTGGGACCTTACT TTAGGTGAGTCTGGGGGTTGC	۱۱۴	XM_021564302.2
GPX	AAGGGGCTAGTTGATTCTGGGG CGGACGGAACCTTAAGGACA	۱۰۰	NM_001124525.1
B-Actin	GATGGGCCA GAAA GACA GCTA TCGTCCCA GTTGGTGA CGAT	۱۰۵	NM_001124235.1
EF1	ACCCGAGGGA CCTGTG TCCTCTGGTTCGTTTCGCTG	۱۵۹	NM_001124339.1

جدول ۴- برنامه ریل تایم مورد استفاده جهت تکثیر قطعات ژن های مورد نظر

مراحل	تکرار	زمان (ثانیه)	دما (°C)
Initial Denaturation		۳۰۰	۹۴
Denaturation		۳۰	۹۴
Annealing	۴۰	۲۰	۶۰
extention		۱۵	۷۲

آنالیز استیک اسید موجود در سرکه سیب

به منظور اندازه گیری غلظت استیک اسید در سرکه سیب، چهار میلی لیتر سرکه سیب به همراه یک میلی لیتر اسید

متاسفربیک (۲۵ درصد) مخلوط شد و با دور ۲۸۰۰g و مدت پنج دقیقه و دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. مایع

روی توسط GC-FID (Varian, Model CP-3800). با استفاده از یک ستون Teknokroma TRB-FFAP با زیر مورد تحلیل

قرار گرفت: $30m \times 0.32mm \times 0.5\mu m$. هلیوم به عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفت، دمای ورودی برابر ۲۲۰ درجه

سانتی گراد بود، دمای فر از ۱۰۰ درجه سانتی گراد به ۱۶۰ درجه سانتی گراد با سرعت پنج دقیقه سانتی گراد در دقیقه افزایش

یافت (به مدت دو دقیقه نگه داشته شود) و دمای آشکارساز در ۲۵۰ درجه تنظیم شد. برای تهیه منحنی های کالیبراسیون از

استانداردهای اسید استیک با غلظت های ۵۰۰۰، ۲۵۰۰، ۱۲۵۰ و ۶۲۵ میلی گرم در لیتر استفاده شده است (۲). در نهایت میزان

اسید استیک موجود در سرکه سیب ۵ درصد محاسبه گردید.

آنالیز آماری

نرمال و همگن بودن واریانس به ترتیب با استفاده از آزمون های Shapiro-Wilk^۱ و Levene^۲ مورد آزمایش قرار گرفتند (۲۳)

(Saliani et al., 2022). از آزمون های تجزیه واریانس یک طرفه و توکی^۳ به منظور مقایسه میانگین ها با سطح معنی داری ۰.۰۵٪

استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار SAS نسخه 9.4 انجام شد.

۱ تست Shapiro-Wilk یک تست نرمال بودن است که در سال ۱۹۶۵ توسط ساموئل سانفورد شاپیرو و مارتین ویلک منتشر شد.

۲ در آمار، آزمون لوین یک آمار استنباطی است که برای ارزیابی برابری واریانس ها برای یک متغیر محاسبه شده برای دو یا چند گروه استفاده می شود.

۳ Tukey

نتایج ۱۲۱

شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱۲۲

نتایج حاصل از استفاده از سطوح مختلف سرکه سیب بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مبتلا به کبد چرب در ۱۲۳

جدول ۵ آورده شده است. نتایج نشان داد که کاربرد این افزودنی غذایی تأثیری بر وزن اولیه، وزن نهایی، افزایش وزن و ۱۲۴

شاخص وزن کبدی^۱ ماهیان نداشت ($P>0.05$). ۱۲۵

۱۲۶

۱۲۷

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سرکه سیب (گرم)

تیماها	تیما ۱	تیما ۲	تیما ۳	تیما ۴	تیما ۵	تیما ۶
وزن اولیه	۷۷/۷۱±۳/۴۱	۷۸/۳۳±۱/۱۳	۷۵/۹۶±۵/۰۵	۷۸/۱۶±۲/۰۴	۶۷/۷۷±۱/۰۵	۶۷/۵۳±۱/۶۲
وزن نهایی	۱۰۰/۱۶±۱۷/۳۶	۱۰۵/۷±۱۵/۴	۱۰۶/۱۹±۱۰/۱۷	۱۰۵/۹۶±۱۷/۰۳۷	۱۰۴/۲۳±۱۸/۲۵	۹۶/۰۴±۱۸/۲۴
افزایش وزن	۲۲/۴۵±۱۰/۰۶	۲۷/۳۷±۱۰/۵۳	۳۰/۲۴±۷/۰۴	۲۷/۷۳±۱۰/۷۵	۳۶/۴۸±۱۵/۱۳	۲۸/۵۱±۱۱/۲۸
شاخص وزن کبدی	۱/۶۵±۰/۲۵	۱/۹±۰/۷۵	۱/۵۱±۰/۳۸	۱/۶۵±۰/۳۱	۱/۱۰±۰/۲۹	۱/۴۹±۰/۲۸

تیما ۱: ماهیان سالم بدون سرکه سیب، تیمار ۲: ماهیان سالم با ۴ درصد سرکه سیب، تیمار ۳: ماهیان مبتلا شده بدون سرکه سیب، تیمار ۴: ماهیان مبتلا شده با ۱ درصد سرکه سیب، تیمار ۵: ماهیان مبتلا شده با ۲ درصد سرکه سیب و تیمار ۶: ماهیان مبتلا شده با ۴ درصد سرکه سیب.

۱۲۸

۱۲۹

۱۳۰

۱۳۱

بیان ژن‌های کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز ۱۳۲

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف سرکه سیب بر بیان دو ژن آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز در ماهی قزل‌آلای ۱۳۳

رنگین‌کمان در جدول ۶ گزارش شده است. با توجه به نتایج سرکه سیب دارای تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن‌های کاتالاز و ۱۳۴

گلوکاتیون پراکسیداز نداشت است ($P>0.05$). ۱۳۵

۱۳۶

۱۳۷

¹ Interest of hepatic steatosis index

جدول ۶- جدول تأثیر سطوح مختلف سرکه سیب بر بیان ژن کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز در کبد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

تیمارها	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	تیمار ۶
کاتالاز	۱/۹۸±۱/۰۷	۱/۷۴±۰/۴۲	۲/۶۱±۲/۶۶	۲/۰۷±۰/۸۲	۱/۵۰±۰/۸۱	۱/۸۰±۰/۳۵
گلوکاتایون پراکسیداز	۱۳/۸۷±۱۱/۱۹	۲۳/۵۹±۱۷/۲۸	۲۲/۳۳±۳۱/۰۷	۳۰۰/۰۴±۲۲۸/۳۳	۵/۵۵±۸/۵۶	۱۱/۵۳±۱۰/۷۳

از ژن‌های GAPDH, EF1 α و بتا‌کتین به‌عنوان ژن مرجع استفاده شد.

۱۳۸ بحث

- ۱۳۹ در این مطالعه، از سرکه سیب به‌عنوان مکمل غذایی برای ارزیابی نرخ رشد بالقوه و اثرات آنتی‌اکسیدانی روی ماهی قزل‌آلای
- ۱۴۰ رنگین‌کمان استفاده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از سرکه سیب در تمامی سطوح مورد مطالعه (صفر، ۱، ۲ و
- ۱۴۱ ۴ درصد جیره) در جیره‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن و شاخص کبدی پس از ۶۰ روز
- ۱۴۲ نداشت؛ هرچند وزن نهایی در تیمارهای آزمایشی بیشتر از گروه شاهد بود اما این اختلاف معنی‌دار نبود. هم‌راستا با این نتایج،
- ۱۴۳ محققین نشان دادند که استفاده از اسید آلی در جیره تأثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد در ماهی سرخ دریایی (*Pagrus majo*)
- ۱۴۴ (۱۵)، تیلاپپای قرمز (*Coptodon zillii*) (۲۰)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۱۲)، گربه‌ماهی (*Clarias*)
- ۱۴۵ (*garipepinus*) (۸) ندارد. نتایج حاصل از یک پژوهش که تاثیر سطوح ۰، ۱، ۲ و ۴ درصد سرکه سیب در جیره بچه ماهیان کپور
- ۱۴۶ بر عملکرد رشد و پارامترهای ایمنی غیراختصاصی مخاط پوست طی یک دوره ۶۰ روزه پرداخته بود نشان داد که بین تیمارها
- ۱۴۷ تفاوت معنی‌داری در افزایش وزن بدن وجود نداشت (۲۱). در تضاد با نتایج مطالعه حاضر، برخی پژوهشگران گزارش کردند که
- ۱۴۸ استفاده از اسیدهای آلی می‌توانند سبب افزایش رشد و بهبود کارایی تغذیه در آبزیانی مانند تیلاپپای نیل (*Oreochromis*
- ۱۴۹ *niloticus*) (۱۱) شوند. استفاده از سرکه سیب در جیره ماهی قرمز (*Carassius auratus*) نیز به طور معنی‌داری سبب افزایش
- ۱۵۰ وزن در سطح ۴ درصد نسبت به تیمار شاهد شد (۳). همچنین در بررسی دیگری افزودن ۲ درصد سرکه سیب به جیره ماهی گرین
- ۱۵۱ ترور (*Andinoacara rivulatus*) به طور معنی‌داری سبب افزایش وزن نسبت به تیمار شاهد شد (۲). استفاده از چهار درصد
- ۱۵۲ سرکه سیب در جیره *Carassius auratus* باعث افزایش معنی‌دار در شاخص رشد شد. محققان اعلام کردند اسیدهای آلی از
- ۱۵۳ طریق تأثیر بر باکتری‌های روده، کاهش pH دستگاه گوارش و افزایش میزان ترشحات روده، تأثیرگذاری بر فعالیت آنزیم‌های
- ۱۵۴ گوارشی و مورفولوژی روده، افزایش حلالیت مواد معدنی، اسیدهای آمینه برای موجودات مفید هستند. همه این نتایج از طریق
- ۱۵۵ افزایش رشد آشکار می‌شود (۲ و ۳). در مطالعه حاضر با اینکه شاهد اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد در تیمارهای
- ۱۵۶ مختلف نبودیم اما تیمارهای حاوی سرکه سیب نسبتاً دارای میانگین افزایش وزن بیشتری بودند. به‌طور کلی دلایل نتایج

- ۱۵۷ متناقض در مطالعات مختلف را می‌توان به متفاوت بودن روش انجام آزمایش (طول دوره‌ی آزمایش، سن حیوان و درصد
- ۱۵۸ استفاده از سرکه، میزان درصد اسید استیک و ترکیبات فنولیک سرکه سیب) و نوع گونه‌ی انتخابی (نژاد و جنسیت) نسبت داد.
- ۱۵۹ رادیکال‌های آزاد تولیدشده در بافت ماهی توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی دفاع آنزیمی (مانند گلوکاتاتیون پراکسیداز، گلوکاتاتیون
- ۱۶۰ ردوکتاز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) و دفاع غیر آنزیمی (مانند ویتامین E، ویتامین C و کاروتنوئیدها) از بین می‌روند (۱۴).
- ۱۶۱ هنگامی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیستم دفاعی کاهش می‌یابد، تولید ROS افزایش می‌یابد و باعث استرس اکسیداتیو می‌شود
- ۱۶۲ (۱۷)؛ بنابراین، سلامت ماهی با تولید ROS و مکانیسم‌های دفاعی سیستم آنتی‌اکسیدانی که مسئول حذف و محافظت از
- ۱۶۳ غشای سلولی در برابر این گونه‌های فعال است، مرتبط است (۱۰). در مطالعه‌ی حاضر مشخص شد، هیچ‌کدام از سطوح مصرفی
- ۱۶۴ سرکه سیب بر بیان ژن‌های گلوکاتاتیون پراکسیداز و کاتالاز تأثیر نداشتند. در تضاد با نتایج مطالعه‌ی حاضر، نشان داده شد که
- ۱۶۵ استفاده از اسیدهای آلی در آب آشامیدنی خوک‌های از شیر گرفته شده منجر به بهبود فعالیت کاتالاز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی
- ۱۶۶ کل شد (۲۷). همچنین مشخص شد استفاده از سطوح ۳ و ۴/۵ درصد سرکه سیب در جیره گوره خر ماهی به طور معنی‌داری
- ۱۶۷ سبب افزایش بیان ژن کاتالاز نسبت به تیمار شاهد شد اما تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن گلوکاتاتیون پراکسیداز نداشت (۱). در
- ۱۶۸ یک پژوهش به منظور افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش محتوای MDA در روده *Scophthalmus maximus* افزودن
- ۱۶۹ سرکه سیب در جیره با ۱۵ و ۳۰ گرم در کیلوگرم اسید سیتریک حاوی پروتئین سویا پیشنهاد شده است (۷). در یک پژوهش
- ۱۷۰ کاهش سطح ROS را در *Pelteobagrus fulvidraco* هنگام تغذیه با رژیم‌های غذایی حاوی اسیدهای آلی مشاهده کردند (۱۸).
- ۱۷۱ مشخص شده است که ترکیبات فنلی موجود در سرکه سیب در بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی تأثیر مثبت دارد (۱).

۱۷۳ نتیجه‌گیری

- ۱۷۴ با توجه به نتایج، در این مطالعه افزودن سطوح مختلف سرکه سیب به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مبتلا شده به کبد
- ۱۷۵ چرب، تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و بیان ژن گلوکاتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در کبد نداشت. به طور کلی استفاده از
- ۱۷۶ سرکه سیب در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مبتلا شده به کبد چرب غیر الکلی می‌تواند سبب بهبود عملکرد رشد شد اما
- ۱۷۷ فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارتقا نیافت.

۱۷۸ سپاسگزاری

- ۱۷۹ این تحقیق با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد، گرنت شماره ۳/۴۹۳۲۸ انجام شد. از همه کسانی که ما را در انجام این پژوهش
- ۱۸۰ یاری نمودند به ویژه آقای منصوریان، کمال تشکر را داریم.

References

1. Ahmadifar, E., Dawood, M. A., Moghadam, M. S., Sheikhzadeh, N., Hoseinifar, S. H., & Musthafa, M. S. (2019). Modulation of immune parameters and antioxidant defense in zebrafish (*Danio rerio*) using dietary apple cider vinegar. *Aquaculture*, 513, 734412.
2. Ahmadniaye Motlagh. H., Sarkheil. M. Safari. O., Paolucci. M., 2020. Supplementation of dietary apple cider vinegar as an organic acidifier on the growth performance, digestive enzymes and mucosal immunity of green terror (*Andinoacara rivulatus*). *Aquaculture Research*. 51(1): 197-205.
3. Ahmadniaye Motlagh. H., Javadmanesh. A. Safari. O., 2020. Improvement of non-specific immunity, growth, and activity of digestive enzymes in *Carassius auratus* as a result of apple cider vinegar administration to diet. *Fish physiology and biochemistry*.46 (4):1387-1395.
4. Asadi. S., Ahmadniaye Motlagh. H., Safari. O., Javadmanesh. A., 2020. Effect of apple cider vinegar on growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) suffering from non-alcoholic fatty liver disease. In: The 7th Iranian National Fisheries Conference. Khoramabad. 30 October. Iran.106-113. (In Farsi)
5. Barbuio. R., Milanski. M., Bertolo. M. B., Saad. M. J., Velloso L. A., 2007. Infliximab reverses steatosis and improves insulin signal transduction in liver of rats fed a high-fat diet. *J Endocrinol*. 194:539-50.
6. Chan, D., Li. A., Chu. W., Chan. M., Wong. E., Liu. E. Fok. T., 2004. Hepatic steatosis in obese Chinese children. *International journal of obesity*. 28(10): 1257-1263.
7. Chen. Z., Zhao. S., Liu. Y., Yang. P. Ai. Q., Zhang. W., Mai. K., 2018. Dietary citric acid supplementation alleviates soybean meal-induced intestinal oxidative damage and micro-ecological imbalance in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture Research*. 49(12):3804-3816.
8. Day CP. From fat to inflammation. *Gastroenterology*, 2006; 130(1):207-10.
9. Deneke. S. M., Fanburg. B. L., 1989. Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol*. 257:L163-L173.
10. Dong. G. F., Yang. Y. O., Song. X. M., Yu. L., Zhao. T. T., Huang. G. L., Zhang. J. L., 2013. Comparative effects of dietary supplementation with maggot meal and soybean meal in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and darkbarbel fish (*Pelteobagrus vachelli*): growth performance and antioxidant responses. *Aquaculture Nutrition*, 19(4): 543-554.
11. Elala. N. M. A., Ragaa. N. M., 2015. Eubiotic effect of a dietary acidifier (potassium diformate) on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. *Journal of Advanced Research*. 6(4): 621-629.
12. Gao. Y., Storebakken. T., Shearer. K. D., 2011. In-based diets for rainbow trout with a mixture of sodium formate and butyrate. *Aquaculture*. 240-233.
13. Hassan. L., 2005. Time course of antioxidant enzyme activities in liver transplant recipients." *Transplantation proceedings*. Vol. 37. 9.
14. Hong. Y., Jiang. W., Kuang. S., Hu. K., Tang. L., Liu. Y. Feng. L., 2015. Growth, digestive and absorptive capacity and antioxidant status in intestine and hepatopancreas of sub-adult grass carp

- Ctenopharyngodon idella* fed graded levels of dietary threonine. Journal of Animal Science and Biotechnology.6:1. 1-11. ۲۲۳
15. Hossain. M. A., Pandey. A., Satoh. S., 2007. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream *Pagrus major*. Fisheries science. 73:6. 1309-1317. ۲۲۴
16. Li. X., Q. Cui., W. O., Leng, X. J., 2017. Citric acid substituted the inclusion of inorganic phosphorus in diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research, 48(3): 1089-1098. ۲۲۵
17. Martínez-Álvarez. R., M. Morales. A. E., Sanz, A., 2005. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. Reviews in Fish Biology and fisheries, 15(1):75-88. ۲۲۶
18. Mdegela. R., Myburgh. J., Correia. D., Braathen, M., Ejobi, F., Botha, C. Skaare, J. U., 2006. Evaluation of the gill filament-based EROD assay in African sharp-tooth fish (*Clarias gariepinus*) as a monitoring tool for waterborne PAH-type contaminants. Ecotoxicology, 15(1): 51-59. ۲۲۷
19. Mirhamidova. P., Karimbayeva. M., Toychiyeva. D., 2021. Determination of activity of catalase enzyme during the growth period of grain and legume plants. Norwegian Journal of Development of the International Science. 69(1):13-15. ۲۲۸
20. Ng. W. K., Koh. C. B., Sudesh. K., Siti-Zahrah. A., 2009. Red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp. and subsequent survival during a challenge test with *Streptococcus agalactiae*. Aquaculture Research, 40(13): 1490-1500. ۲۲۹
21. Nekoubin. H., Hajimoradloo. A., Hoseinifar. S. H., 2020. Effects of apple cider vinegar on growth performance and non-specific immune parameters of skin mucus in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. International Journal of Aquatic Biology, 8(5). 311-316. ۲۳۰
22. Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A., Paknejad, H., & Rameshi, H. (2019). Effect of dietary supplementation with apple cider vinegar and propionic acid on hemolymph chemistry, intestinal microbiota and histological structure of hepatopancreas in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish & shellfish immunology, 86, 900-905. ۲۳۱
23. Riasi, M., Mozaffari Jovin, S., Javadmanesh, A., 2022. Effect of Intramuscular and Intraperitoneal Injections of conjugated MSTN-siRNA-cholesterol on Inhibition of Myostatin Gene expression. Journal of Cell and Molecular Research: 14(1): 20-27. ۲۳۲
24. Safari. R., Hoseinifar. S. H., Nejadmoghadam. S., Khalili. M., 2017. Apple cider vinegar boosted immunomodulatory and health promoting effects of *Lactobacillus casei* in common carp (*Cyprinus carpio*). Fish and Shellfish Immunology. 67: 441-448. ۲۳۳
25. Saliyani, M., Jalal, R., Javadmanesh, A., 2022. Differential expression analysis of genes and long non-coding RNAs associated with KRAS mutation in colorectal cancer cells. Scientific Reports. 12:7965. ۲۳۴
26. Shahidi. F., McDonald. J., Chandrasekara. A., Zhong, Y., 2008. Phytochemicals of foods, beverages and fruit vinegars: chemistry and health effects. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 17. ۲۳۵
27. Zhu. Y., Qiu. X., Ding. Q., Duan. M., Wang. C., 2014. Combined effects of dietary phytase and organic acid on growth and phosphorus utilization of juvenile yellow Cat fish *Pelteobagrus fulvidraco*. Aquaculture. 430. 1-8. ۲۳۶

۲۶۳
۲۶۴
۲۶۵
۲۶۶
۲۶۷
۲۶۸
۲۶۹
۲۷۰
۲۷۱

Effects of different levels of apple cider vinegar on growth performance and expression of some antioxidant genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with nonalcoholic fatty liver disease

۲۷۲
۲۷۳
۲۷۴
۲۷۵
۲۷۶
۲۷۷
۲۷۸
۲۷۹

Abstract

This study was designed for the first time to compare the effects of different levels of apple cider vinegar on the growth performance and expression of antioxidant genes (catalase and glutathione peroxidase) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). For this purpose, a herd of 300 animals (73.35 ± 14.24 g) was fed with a special ration for inducing fatty liver, which was adjusted for the first time, for one month; Then, 120 infected fish (74.20 ± 5.40) were selected from the intended flock and transferred to the respective cages. This experiment was conducted as a completely randomized design with six treatments and three replications. Experimental treatments include: treatment 1: healthy fish without apple cider vinegar, treatment 2: healthy fish with four percent apple vinegar, treatment 3: infected fish without apple vinegar, treatment 4: infected fish with one percent apple vinegar, treatment 5: infected fish with Two percent apple vinegar and treatment 6: infected fish with four percent apple vinegar. Feeding was done daily at the rate of two percent of body weight for 60 days. Based on the results, no difference was observed between different treatments in terms of final weight. Also, the results of gene expression showed that apple cider vinegar had no significant effect on catalase and glutathione peroxidase genes. In conclusion, ACV administration showed no significant effect on the antioxidant activity of rainbowtrout with non-alcoholic fatty liver disease, but improved growth function of treated fish.

۲۸۰
۲۸۱
۲۸۲
۲۸۳
۲۸۴
۲۸۵
۲۸۶
۲۸۷
۲۸۸
۲۸۹
۲۹۰
۲۹۱
۲۹۲
۲۹۳

Key words: Acetic acid, Catalase, Fatty liver, Glutathione peroxidase.

۲۹۴
۲۹۵
۲۹۶