

## اثر آلفالیپوئیک اسید بر رشد، ترکیب بدن و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت عضله، کبد و روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حجت اله بی‌نیاز<sup>۱</sup>، علیرضا سالارزاده<sup>\*</sup>، شایان قبادی<sup>۲</sup>، فلورا محمدی زاده<sup>۱</sup>، امیر حسین اسماعیلی<sup>۲</sup>

\*reza1375bandar@yahoo.com

۱- گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران

۲- گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۸

### چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی مکمل آلفالیپوئیک اسید (ALA) به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی است. در این آزمایش ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن  $0.02 \pm 0.16/22$  گرم در چهار تیمار با سه تکرار به مدت هشت هفته مورد بررسی قرار گرفتند. جیره‌های آزمایشی شامل: شاهد (جیره تجاری فاقد مکمل)، ALA 500 mg/kg، ALA 1000 mg/kg و جیره حاوی ALA 1500 mg/kg بودند. پس از پایان هشت هفته، فاکتورهای رشد، ترکیب عضله ماهی، میزان آنزیم‌های گلوکوتاتیون-اس-ترانسفراز (GST)، گلوکوتاتیون (GSH) و فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در بافت عضله، کبد و روده اندازه‌گیری شدند. نتایج فاکتورهای رشد نشان داد که درصد افزایش وزن، افزایش طول و نرخ رشد ویژه بین تیمارهای مختلف معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ) و بیشترین میزان در تیمارهای حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA مشاهده شد. نتایج ترکیب لاشه قزل‌آلای تغذیه شده با ALA نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در پروتئین و ماده خشک بود ( $p < 0.05$ )، و تیمار حاوی غلظت ALA 1500 بیش‌ترین پروتئین و ماده خشک لاشه را نشان داد. علاوه بر این، اثر غلظت‌های مختلف آلفا لیپوئیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های GST، GSH و CAT در بافت‌های عضله، کبد و روده معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). در عضله، با افزایش غلظت ALA میزان آنزیم کاتالاز نیز افزایش یافت. همچنین، بیش‌ترین و کمترین مقدار آنزیم GSH و GST به ترتیب در تیمار حاوی غلظت 1000 و شاهد مشاهده شد. در بافت روده و کبد، فعالیت آنزیم‌های GSH، GST و CAT در تیمارهای حاوی ALA بیشتر از شاهد بود. با توجه به نتایج رشد، افزایش پروتئین لاشه و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بواسطه ALA، استفاده از این مکمل با غلظت 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم توصیه می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** آلفالیپوئیک اسید، *Oncorhynchus mykiss*، رشد، ترکیب لاشه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

در آبی‌پروری پایدار دستیابی به الگوها و عوامل موثری که افزایش راندمان رشد را به‌مراه داشته باشد، از اهداف مهم مدیریت پرورشی محسوب می‌شود. در سالیان اخیر استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی به دلیل خطرات کمتر برای محیط زیست و آبی‌رشد رو به رشدی در صنعت آبی‌پروری داشته است. این مکمل‌ها علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، منجر به افزایش مقاومت ماهی نسبت به استرس‌های محیطی، بیماری‌های عفونی مختلف و تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی آبی‌رشد می‌گردد که همه این عوامل در نهایت منجر به اقتصادی‌تر شدن این صنعت می‌شوند (Rao, 2006). آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق ترکیب شدن با رادیکال‌های آزاد اثر آنها را خنثی می‌کنند و موجب حفاظت سلول‌های بدن در مقابل آسیب‌های ناشی از فعالیت آنها می‌شوند. همچنین می‌توانند آسیب‌هایی که قبلاً در سلول‌ها، توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد شده است را بهبود بخشند. آلفا لیپوئیک اسید (ALA) یک ترکیب شیمیایی است که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (Longaray- Garcia et al., 2013). این ماده اثر آنتی‌اکسیدانی خود را از طریق پاکسازی مستقیم رادیکال‌های آزاد، یون‌های فلزی و همچنین اثر بر سایر آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش گلوکوتایون داخل سلولی اعمال می‌کند. آلفالیپوئیک اسید و دهیدروآلفا لیپوئیک اسید با عمل توأم خود و از طریق فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی و احیاء آنتی‌اکسیدان‌های اندروژن سبب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌شوند (Alian et al., 2015). برای حفظ مولکول‌های بیولوژیک بخصوص DNA، لیپید و پروتئین‌ها از آسیب‌های احتمالی، همه ارگانسیم‌های مصرف‌کننده اکسیژن دارای یک سیستم آنتی‌اکسیدانی جامع، شامل ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی هستند. گلوکوتایون-S- ترانسفراز (GST)، گلوکوتایون (GSH) و کاتالاز (CAT) از ترکیبات اصلی و مورد توجه است که برای مهار این تغییرات از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌شود (Kütter et al., 2012).

GSH یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی است. همچنین برای آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی GPx و GST یک سوپراکسیدانت می‌باشد. کاتالاز یکی از موثرترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یافت شده در سلول‌ها است و آن دسته از واکنش‌هایی که در آن هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن تجزیه می‌شوند را کاتالیز می‌کنند. هیدروژن پراکسید به دلیل توانایی‌اش در عبور از غشاهای بیولوژیک و پایداری بالا بسیار خطرناک است. GST نیز GSH را با زنبوتیک‌ها یا گونه‌های اکسیژن واکنشی ترکیب می‌کند و آنها را برای متابولیسم و حذف منتقل می‌کند. از اینرو، یکی از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی اصلی در سلول محسوب می‌شود (Klein et al., 2017). مطالعات بیوشیمیایی اخیراً نشان داده است ALA اثرات ضد چاقی دارد و افزودن آن به جیره موجب کاهش تجمع چربی و اثر بر کارایی رشد حیوان می‌شود (Kim et al., 2005; Shen et al., 2004). مطالعات نشان داده که در موجودات تغذیه شده با ALA کاهش آشکار اکسیداسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپید در عضله و کبد و همچنین کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو مشاهده شد (Monserrat et al., 2008). ماهی قزل آلا جزء گونه‌های مهم پرورشی و با ارزش تجاری بالا در کشور محسوب می‌شود و کلید موفقیت در بخش پرورش مصنوعی آن شناسایی نیازمندی‌های غذایی و فرموله کردن یک جیره غذایی مناسب خواهد بود. علاوه بر این، به دلیل آلودگی‌های محتمل موجود در آبها و اکوسیستم‌های طبیعی و مورد استفاده برای پرورش ماهی و افزایش پتانسیل استرس‌های اکسیداتیو در آبی‌رشد، بکارگیری عوامل آنتی‌اکسیدانی مانند ALA در جیره‌های غذایی امری ضروری بنظر می‌رسد. شایان ذکر است، روش‌های بررسی اثر مکمل ALA بر پاسخ‌های بیوشیمیایی در آبی‌رشد و از آن جمله قزل آلا بسیار کمیاب هستند که نیاز به گسترش برنامه‌های کاربردی ALA در ماهیان خواهد داشت. بنابراین هدف این مطالعه، بررسی اثر غلظت‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی آلفالیپوئیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های GST، GSH و CAT در بافت عضله، کبد و

خشک برای بدست آوردن پلتی با قطر کوچک تر از ۲/۵ میلی متر خرد شده و پس از آن در ۲۰ - درجه سانتی گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

### بیومتری و زیست‌سنجی ماهیان

بیومتری و زیست‌سنجی بچه ماهیان به منظور محاسبه میزان غذای مورد نیاز در ابتدا و انتهای دوره پرورش و سپس هر دو هفته یک مرتبه در طول دوره تغذیه آزمایشی انجام شد. محاسبه شاخص‌های رشد بر اساس داده‌های بیومتری ابتدا و انتهای دوره و طبق فرمول‌های ذیل انجام شد (Wahli et al., 2003).

درصد افزایش وزن (Wg):

$$\text{Weight gain (Wg)} = [(W_f - W_i) / W_i] \times 100$$

درصد افزایش طول (Lg):

$$\text{Length gain (Lg)} = [(L_f - L_i) / L_i] \times 100$$

نرخ رشد ویژه (SGR):

$$\text{Specific growth rate (SGR)} = [(\ln W_f - \ln W_i) / T] \times 100$$

ضریب تبدیل غذایی:

$$\text{FCR} = \text{total feed intake (g)} / \text{total wet weight gain (g)}$$

$W_i$  = وزن اولیه (گرم)،  $W_f$  = وزن نهایی (گرم)،  $L_i$  = طول اولیه (میلی‌متر)،  $L_f$  = طول نهایی (میلی‌متر)،  $T$  = طول دوره آزمایش (روز)

### آنالیز لاشه

در پایان دوره ۸ هفته‌ای پرورش، پس از آخرین زیست‌سنجی جهت محاسبه شاخص‌های رشد، از هر تکرار ۱۰ قطعه ماهی در پایان آزمایش به طور تصادفی صید و با آزمایش‌های آنالیز تقریبی لاشه، مقادیر پروتئین، چربی، رطوبت، خاکستر و ماده خشک آنها محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری رطوبت از طریق قراردادن نمونه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و توزین آن پس از خنک شدن در دسیکاتور انجام شد. اندازه‌گیری پروتئین پس از هضم با سولفوریک اسید در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد

روده، پارامترهای رشد و نیز ترکیب لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) است.

### مواد و روش‌ها

#### جیره‌های آزمایشی

این تحقیق در مرکز تحقیقات رجه واقع در شهرستان بابل در استان مازندران با اختصاص ۷۲۰ عدد ماهی قزل‌آلا با میانگین وزن  $22/16 \pm 0/02$  گرم و میانگین طول  $135/73 \pm 6/26$  میلی‌متر از مرکز تکثیر آبزیان شمال واقع در شهرستان بابل و در نظر گرفتن ۱۲ تانک ۱۰۰۰ لیتری انجام گردید. قبل از شروع آزمایش به منظور سازگار شدن، ۲ هفته ماهیان به میزان ۲ درصد وزن بدن سه نوبت در روز (ساعت ۹، ۱۳ و ۱۷) با جیره تجاری (۴۲ درصد پروتئین و ۱۴ درصد چربی محصول شرکت تعاونی ۲۱ بیضاء شیراز) غذادهی شدند. پس از سازگاری، ماهیان به تانک‌های آزمایشی منتقل و به تعداد ۶۰ عدد در هر تانک به مدت ۸ هفته ذخیره‌سازی شدند. جیره‌های آزمایشی شامل ۴ جیره با ۳ تکرار، جیره شاهد (جیره تجاری فاقد مکمل)، جیره حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA، جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA و جیره حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA بودند. با استفاده از جدول غذادهی (Hardy, 2002) تغذیه ماهیان به میزان ۲-۲/۱ درصد توده زنده، تحت درجه حرارت آب میانگین  $12 \pm 0/2$  درجه سانتی‌گراد، میانگین pH  $7/3 \pm 0/1$ ، اکسیژن محلول  $8/22 \pm 0/02$  میلی‌گرم بر لیتر و جریان آب ۱۰-۱۲ لیتر بر دقیقه جهت هر تانک، ۳ وعده در روز در ساعات ۹ صبح، ۱۳ و ۱۷ انجام شد. مواد زائد موجود در تانک‌ها نیز روزانه سیفون گردید. ماهیان در گروه شاهد با جیره تجاری مخصوص پرورش قزل‌آلا محصول شرکت تعاونی تولیدی ۲۱ بیضاء تغذیه شدند. جهت تهیه جیره‌های آزمایشی غلظت‌های مورد نظر ALA به صورت مخلوط شده با آب مقطر (به میزان یک دهم مکمل، آب مقطر استفاده شد) به جیره تجاری اسپری شد تا خمیر سفت همگنی بدست آید. سپس، خمیر پلت شده و در آون در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک گردید. گلوله‌های

Abei (۱۹۷۴) و با اندک تغییراتی در روش لوک (Luck) ارزیابی شد (Kütter *et al.*, 2013).

### تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز آماری داده‌ها، نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون گلموگروف - اسمیرنوف بررسی شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تحلیل پارامترهای رشد و نیز آنزیم‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده گردید. مقایسه میانگین بین تیمارها نیز از طریق آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ صورت گرفت.

### نتایج

#### پارامترهای رشد

نتایج پارامترهای رشد طبق جدول ۱ نشان داد که وزن ثانویه، طول ثانویه، درصد افزایش وزن، افزایش طول، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای مختلف معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ) و بیش‌ترین میزان در تیمارهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA مشاهده شد، هر چند بین دو تیمار مذکور اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ). با افزایش سطح ALA به ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری در این پارامترها مشاهده شد بطوریکه کمترین مقادیر در ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA مشاهده شد.

#### اثر غلظت‌های مختلف آلفالیپوئیک اسید بر میزان فعالیت آنزیمی

نتایج این آزمایش نشان داد اثر غلظت‌های مختلف آلفالیپوئیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های CAT، GSH و GST در هر سه بافت عضله، کبد و روده معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ) (جدول‌های ۲ و ۳). آنزیم کاتالاز در عضله ماهیان تغذیه شده با غلظت ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم ALA بیشتر از سایر تیمارها بود ( $p < 0.05$ )، با افزایش غلظت ALA میزان آنزیم کاتالاز نیز افزایش یافت.

به روش کدال و اندازه‌گیری چربی با روش سوکسله و حلال اتر صورت گرفت. خاکستر نمونه‌ها از طریق سوزاندن نمونه در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت اندازه‌گیری شد (AOAC, 2005).

### نمونه‌برداری بافتی

در انتهای دوره پرورش تعداد ۱۰ قطعه ماهی به طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و جهت سنجش فعالیت گلوتاتیون-اس-ترانسفراز (GST)، گلوتاتیون (GSH) و سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)، در اندام‌های مختلف ارزیابی شد. جداسازی نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات در پایان دوره غذایی صورت گرفت (Francis *et al.*, 2012). بدین منظور ماهیان پس از بیهوشی با دوز بالای بنزوکائین (۴۰۰ میلی‌گرم / لیتر) کل کبد، روده و عضلات جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و تا زمان آنالیز در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای سنجش هر سه آنزیم از کیت شرکت ZellBio GmbH (Ulm, Germany) استفاده شد.

### روش هموزنیزه کردن بافت مورد مطالعه

ابتدا هر کدام از اندام‌های مجزا شده از ماهی پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک سرد و یخی (یا به کمک بافر کربس-رینگر بیکربنات) در لوله هموزنایزر حاوی بافر فسفات ۵۰ mM با pH ۴/۷ به کمک دستگاه هموزنایزر محلول همگن تهیه شد. سپس نمونه‌های همگن شده به لوله فالکون ۱۶ سانتی‌متر منتقل شده و در نهایت توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار در دور ۱۰۰۰۰ g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه مورد سانتریفیوژ قرار گرفت. سوپرناتانت حاصله در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش ذخیره شد. به منظور تعیین فعالیت گلوتاتیون بر مبنای روش المن (Ellman *et al.*, 1959) جهت تعیین فعالیت آنزیم GST بر مبنای روش Habig و Jakoby (۱۹۸۱) در نمونه‌های هموزنیت بافت حیوان مورد تحقیق ارزیابی شد. سنجش فعالیت آنزیم CAT در سوپرناتانت حاصل از هموزنیت بافت ماهی مورد مطالعه به روش

جدول ۱: میانگین آنالیز پارامترهای مختلف رشد ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف آلفالیپوئیک اسید ( میانگین  $\pm$  انحراف از معیار) پس از ۸ هفته تغذیه

**Table 1: Mean analysis of different growth parameters of rainbow trout fed different levels of alpha-lipoic acid (mean  $\pm$  SD) after 8 weeks of feeding**

غلظت ۱۵۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	غلظت ۱۰۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	غلظت ۵۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	شاهد (فاقد مکمل)	پارامتر
۲۲/۱۸ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۲۲/۱۵ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۲۲/۱۵ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۲۲/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	وزن اولیه (گرم)
۱۴۱/۰۰ $\pm$ ۰/۷۹ <sup>c</sup>	۱۷۶/۴۷ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۱۷۵/۳۷ $\pm$ ۰/۵۲ <sup>a</sup>	۱۴۵/۲۳ $\pm$ ۰/۵۲ <sup>b</sup>	وزن نهایی (گرم)
۱۳۱/۶۳ $\pm$ ۰/۳۲ <sup>a</sup>	۱۳۱/۵۰ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۱۳۱/۵۰ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱۳۱/۶۷ $\pm$ ۰/۱۹ <sup>a</sup>	طول اولیه (میلی متر)
۲۳۸/۰۷ $\pm$ ۰/۳۰ <sup>c</sup>	۲۶۰/۷۳ $\pm$ ۰/۶۲ <sup>a</sup>	۲۵۸/۰۳ $\pm$ ۰/۳۳ <sup>a</sup>	۲۴۵/۸۰ $\pm$ ۲/۱۸ <sup>b</sup>	طول نهایی (میل متر)
۵۳۵/۷۱ $\pm$ ۳/۶۴ <sup>c</sup>	۶۹۶/۶۹ $\pm$ ۰/۹۶ <sup>a</sup>	۶۹۱/۸۴ $\pm$ ۲/۶۶ <sup>a</sup>	۵۵۵/۲۸ $\pm$ ۲/۰۹ <sup>b</sup>	افزایش وزن (درصد)
۸۰/۸۶ $\pm$ ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۹۸/۲۸ $\pm$ ۰/۵۶ <sup>a</sup>	۹۶/۲۲ $\pm$ ۰/۳۷ <sup>a</sup>	۸۶/۶۹ $\pm$ ۱/۸۶ <sup>b</sup>	افزایش طول (درصد)
۴/۹۱ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۵/۱۴ $\pm$ ۰/۰۰ <sup>a</sup>	۵/۱۴ $\pm$ ۰/۰۰ <sup>a</sup>	۴/۹۴ $\pm$ ۰/۰۰ <sup>b</sup>	نرخ رشد ویژه
۱/۶۸ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۵۳ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۱/۵۵ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۶۷ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	ضریب تبدیل غذایی

\* حروف غیر همنام در هر ستون نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود (P<0.05)

جدول ۲: میزان آنزیم‌های CAT، GSH و GST در تیمارهای مختلف تغذیه‌ای آلفالیپوئیک اسید در بافت عضله ماهی قزل‌آلا (میانگین  $\pm$  انحراف از معیار) پس از ۸ هفته تغذیه

**Table 2: The amount of CAT, GSH and GST enzymes in different nutritional treatments of alpha-lipoic acid in muscle of rainbow trout (mean  $\pm$  SD) after 8 weeks of feeding**

غلظت ۱۵۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	غلظت ۱۰۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	غلظت ۵۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	شاهد (فاقد مکمل)	پارامتر
۱۲/۸۴ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>b</sup>	۱۸/۱۲ $\pm$ ۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۱/۵۶ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>c</sup>	۹/۸۴ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>d</sup>	GST (nmol/mg protein)
۰/۰۹ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۱۰ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۰۷ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>d</sup>	GSH (nmol/mg protein)
۵/۳۲ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۵/۵۵ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۲/۴۱ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۴۴ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>c</sup>	CAT (nmol/mg protein)

\* حروف غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود (P<0.05)

جدول ۳: میزان آنزیم‌های CAT، GSH و GST در تیمارهای مختلف تغذیه‌ای آلفالیپوئیک اسید در بافت کبد و روده ماهی قزل‌آلا (میانگین  $\pm$  انحراف از معیار) پس از ۸ هفته تغذیه

**Table 3: The amount of CAT, GSH and GST enzymes in different nutritional treatments of alpha-lipoic acid in liver and intestine of rainbow trout (mean  $\pm$  SD) after 8 weeks of feeding.**

غلظت ۱۵۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	غلظت ۱۰۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	غلظت ۵۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم)	شاهد (فاقد مکمل)	پارامتر	بافت
۷۴/۵۹ $\pm$ ۲/۲۳ <sup>a</sup>	۷۳/۲۴ $\pm$ ۱/۰۹ <sup>a</sup>	۶۴/۲۷ $\pm$ ۱/۶۶ <sup>b</sup>	۵۶/۵۶ $\pm$ ۰/۹۴ <sup>c</sup>	GST (nmol/mg protein)	کبد
۸۲/۵۱ $\pm$ ۲/۳۷ <sup>a</sup>	۸۳/۱۷ $\pm$ ۱/۴۹ <sup>a</sup>	۷۶/۰۳ $\pm$ ۱/۲۹ <sup>b</sup>	۶۸/۷۷ $\pm$ ۲/۴۵ <sup>c</sup>	GSH (nmol/mg protein)	
۳۲/۴۶ $\pm$ ۱/۴۵ <sup>a</sup>	۳۴/۴۰ $\pm$ ۱/۱۹ <sup>a</sup>	۳۲/۰۸ $\pm$ ۲/۳۰ <sup>a</sup>	۲۴/۶۳ $\pm$ ۱/۲۷ <sup>b</sup>	CAT (nmol/mg protein)	
۷۵/۸۵ $\pm$ ۱/۶۴ <sup>a</sup>	۷۸/۹۰ $\pm$ ۱/۴۵ <sup>a</sup>	۶۴/۸۶ $\pm$ ۲/۳۰ <sup>b</sup>	۶۲/۳۳ $\pm$ ۱/۶۴ <sup>b</sup>	GST (nmol/mg protein)	روده
۲۲/۳۶ $\pm$ ۱/۱۶ <sup>a</sup>	۲۲/۶۹ $\pm$ ۰/۸۱ <sup>a</sup>	۱۷/۳۷ $\pm$ ۰/۶۶ <sup>b</sup>	۱۴/۴۸ $\pm$ ۰/۷۹ <sup>c</sup>	GSH (nmol/mg protein)	
۳۴/۸۱ $\pm$ ۱/۱۵ <sup>ab</sup>	۳۷/۸۱ $\pm$ ۱/۲۱ <sup>a</sup>	۳۶/۷۱ $\pm$ ۰/۹۵ <sup>ab</sup>	۳۴/۲۲ $\pm$ ۰/۵۹ <sup>b</sup>	CAT (nmol/mg protein)	

\* حروف غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود (P<0.05)

۱۵۰۰ میلی‌گرم بوده است و با افزایش سطح ALA فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یافته است. اما در مورد آنزیم CAT بیشترین و کمترین میزان آن بترتیب در تیمارهای با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم و شاهد اندازه‌گیری گردید. نتایج ترکیب لاشه قزل‌آلا تغذیه‌شده با ALA طبق جدول ۴ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در پروتئین بود ( $p < 0.05$ ) و غلظت ۱۵۰۰ ALA بیشترین پروتئین عضله را بخود اختصاص داده است، هر چند از نظر پروتئین لاشه بین غلظت‌های مختلف ALA در جیره اختلاف معنی‌داری از نظر آماری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). در حالیکه چربی، رطوبت و خاکستر عضله تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف آزمایشی نشان ندادند ( $p > 0.05$ ).

بیشترین و کمترین مقدار آنزیم GSH و GST در عضله بترتیب در غلظت ۱۰۰۰ ALA و شاهد مشاهده شد. همچنین در کبد بین تیمارها بیشترین میزان آنزیم‌های GSH و GST در تیمار با غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است ( $p < 0.05$ ), هر چند بین این دو تیمار اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ) در حالیکه، آنزیم CAT در کبد، اختلاف معنی‌داری غلظت‌های مختلف ALA مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). ولی بین تیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). کمترین مقدار نیز در شاهد مشاهده شد. علاوه بر این، در بافت روده بیشترین میزان آنزیم‌های GSH و GST در تیمار با غلظت‌های ۱۰۰۰ و

جدول ۴: میانگین آنالیز پارامترهای مختلف لاشه ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف آلفالیپوئیک اسید ( میانگین  $\pm$  انحراف از معیار) پس از ۸ هفته تغذیه

Table 4: Mean analysis of different parameters of rainbow trout carcass fed with different levels of alpha-lipoic acid (mean  $\pm$  SD) after 8 weeks of feeding.

پارامتر	شاهد ( فاقد مکمل )	غلظت ۵۰۰ ( میلی گرم بر کیلوگرم )	غلظت ۱۰۰۰ ( میلی گرم بر کیلوگرم )	غلظت ۱۵۰۰ ( میلی گرم بر کیلوگرم )
پروتئین (%)	۱۶/۶۳ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۱۶/۸۷ $\pm$ ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۱۷/۰۱ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>ab</sup>	۱۷/۲۶ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>a</sup>
چربی (%)	۷/۸۴ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۷/۸۱ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۷/۸۶ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۷/۷۹ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>
رطوبت (%)	۷۲/۶۴ $\pm$ ۰/۳۰ <sup>a</sup>	۷۲/۴۲ $\pm$ ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۷۲/۶۹ $\pm$ ۰/۲۱ <sup>a</sup>	۷۲/۵۲ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>a</sup>
خاکستر (%)	۲/۰۲ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۹۷ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۱/۹۰ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۲/۰۰ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>a</sup>

\* حروف غیر همنام در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود ( $P < 0.05$ )

پیشنهاد نمودند که از دوزهای بیشتر و کمتر به دلیل تداخل در متابولیسم چربی و پروتئین نمی‌توان استفاده نمود، زیرا در نهایت تأثیر نامطلوبی بر رشد خواهد داشت. به طور مشابه، در تحقیق Santos و همکاران (۲۰۱۶) افزودن ALA به جیره‌های حاوی کربوهیدرات و گلوکز موجب افزایش معنی‌دار در وزن‌گیری کپور معمولی شد. همچنین در سایر تحقیقات از جمله Trenzado و همکاران (۲۰۰۹)، Roztamzad و همکاران (۲۰۱۰) و Celada و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در جیره آبزیان اثر خوبی بر برخی متغیرها مانند رشد، بازماندگی و افزایش ارزش تغذیه‌ای ماهی داشته است که با تحقیق حاضر همسو بودند. طبق تحقیق

## بحث

در تحقیق حاضر اثر ALA بر پارامترهای رشد از جمله افزایش وزن، افزایش طول، نرخ رشد ویژه مورد مطالعه قرار گرفته است که نتایج، اثرات معنی‌داری را در تیمارهای مختلف تغذیه شده با ALA نشان می‌دهد. افزودن ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA به جیره موجب افزایش وزن‌گیری، طول و نرخ رشد ویژه ماهیان شده در حالیکه با افزایش سطح ALA به ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم درصد این مقادیر کاهش یافته و حتی به کمتر از مقدار شاهد رسیده است. Kutter و همکاران (۲۰۱۲) دوز ۳۱۶/۴ و ۵۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA را برای ماهی *Trachinotus marginatus*



GST در تحقیق حاضر نشان داد با افزودن ALA به جیره، افزایش مقدار GST نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. به طور مشابه در تحقیق Kutter و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی سطوح مختلف ALA بر *Trachinotus marginatus* مشاهده کردند، هنگامی که دوزهای ۳۱۶/۴ و ۵۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد، فعالیت GST در مغز افزایش یافت. Kutter و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیق دیگری بر *Trachinotus marginatus* اثر سطوح مختلف ALA را به صورت تزریقی بر فعالیت GST بررسی نموده و گزارش کردند پاسخ اندام‌های مختلف متفاوت است. علاوه بر این، دوز مورد استفاده ALA دارای اهمیت است و برخی از این دوزها پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را کاهش می‌دهند و ممکن است نتیجه عکس داشته باشد (Longaray-garcia et al., 2013). طبق نتایج مشاهده شده در تحقیق حاضر افزودن ALA به جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب افزایش فعالیت GSH شد. این امر می‌تواند به دلیل افزایش سنتز GSH باشد که توسط ALA فراهم می‌گردد. بنابراین، موجب افزایش GSH در سلول می‌گردد (Khanna et al., 1999). به طور مشابه، در تحقیق Zhang و همکاران (۲۰۱۰) که بر صدف آبالون انجام گرفت، استفاده از مکمل ALA، سطح GSH هیپوتوپانکراس را افزایش داد. همچنین در مطالعه‌ای بر میگوی وانامی با افزودن ALA به جیره فعالیت GSH افزایش یافت که با تحقیق حاضر همسو بود (Lobato et al., 2013). این امر تاییدکننده استفاده از ALA برای افزایش ظرفیت سمیت‌زدایی و مقاومت در برابر سموم می‌باشد (Lobato et al., 2013). در تحقیق حاضر میزان GST در عضله، کبد و روده با افزودن ALA افزایش یافت. افزایش GST از طریق کاتالیز ۴-هیدروکسی نونئال مزدوج با GSH، سطح LPO را کاهش می‌دهد (Pharm et al., 2002). علاوه بر این، مالون‌دی‌آلدهید (MDA) یک محصول اکسیداسیون چربی است و برای اندازه‌گیری آسیب اکسیداتیو موجودات مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تحقیقی با افزودن ALA به جیره موش تحت شرایط استرسی، MDA در بافت

حاضر افزایش ALA به ۱۵۰۰ میلی‌گرم موجب کاهش رشد شد و مطابق تحقیقات Terjesen و همکاران (۲۰۰۴) و Kütter و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزایش سطح ALA بیش از سطح بهینه موجب کاهش رشد گردید. طبق سایر گزارش‌ها لیپوئیک اسید موجب کاهش دریافت غذا و افزایش مصرف انرژی می‌گردد (Kim et al., 2004; Shen et al., 2005; Trattner et al., 2007; Wang et al., 2010)، دلیل این کاهش مربوط به کاهش فعالیت پروتئین کیناز فعال‌کننده AMP هیپوتالاموس گزارش شد که مسئول ارتباط سلول با مصرف انرژی می‌باشد. بعلاوه، برخی مطالعات افزایش مصرف انرژی را گزارش کردند که تصدیق بر این امر است (Kim et al., 2004; Wang et al., 2010).

CAT به عنوان یک نشانگر زیستی حساس به استرس اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Gul et al., 2004; Sanchez et al., 2005). مقدار CAT در اندام‌های مختلف ماهیانی که در معرض استرس اکسیداتیو مانند فلزات سنگین قرار گرفتند، بیشترین میزان آن در بافت کبد مشاهده شده است (Hidalgo et al., 2002; Sanchez et al., 2005; Mani et al., 2014). علت بالاتر بودن فعالیت CAT در کبد این گونه عنوان شد که کبد محل واکنش‌های چندگانه اکسیداتیو است و بیشینه تولید رادیکال‌های آزاد در کبد اتفاق می‌افتد (Mani et al., 2014). در تحقیق حاضر بیشترین میزان آنزیم CAT در روده مشاهده شد که با تحقیق Hidalgo و همکاران (۲۰۰۲)، Sanchez و همکاران (۲۰۰۵) و Mani و همکاران (۲۰۱۴) مغایرت داشت. دلیل مغایرت را می‌توان به استرس اکسیداتیو تحت فلزات سنگین در تحقیقات مذکور مرتبط دانست که عملاً سبب اثر منفی بر بافت کبد شده، ولی در تحقیق حاضر هیچ نوع ماده با اثر منفی در جیره یا آب وجود نداشته است. کمترین مقدار CAT یافت شده در تحقیق حاضر در بافت ماهیچه مشاهده شد که مشابه سایر تحقیقات بود. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان‌دهنده اثر مثبت مکمل ALA بر افزایش فعالیت آنزیم CAT در قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. بررسی

ALA در گونه‌های مختلف پرورشی و استفاده از سطح مورد نظر در جیره بنظر می‌رسد می‌توان از ALA به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مناسب در جیره استفاده نمود. از اینرو، انجام آزمایش‌های مشابه در گونه‌های مختلف برای تعیین سطح مناسب پیشنهاد می‌شود.

### منابع

- Abei, H., 1974.** Catalase methods enzymatic analysis. Verlog. Chemi Weinheim. pp. 673-678. DOI:10.1016/b978-0-12-091302-2.50032-3
- Alian, D., Enamorad, O., Atila, C., Martin, S., Juliana, A., Flore, S., Macelo Borges, T., Sergiane, S., Caldas., Ednei, G., Primel., and Monserrat, J.M., 2015.** Biochemical responses over time in common carp *Cyprinus carpio* (Teleostei, Cyprinidae) during fed supplementation with  $\alpha$ -lipoic acid. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 188:9-16. DOI:10.1016/j.cbpa.2015.05.023
- AOAC, 2005.** *Official Methods of Analysis*. (16<sup>th</sup> ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. DOI:10.1016/0924-2244(95)90022-5
- Caylaka, E., Aytakin, M. and Halifeoglu, I., 2008.** Antioxidant effects of methionine,  $\alpha$ -lipoic acid, N-acetylcysteine and homocysteine on lead-induced oxidative stress to erythrocytes in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60:289-294. DOI:10.1016/j.etp.2007.11.004
- Sahin *et al.*, 2006; Caylaka *et al.*, (2008) که اثباتی بر کاهش اکسیداسیون چربی می‌باشد. در تحقیق Santos و همکاران (۲۰۱۶) لیپوئیک اسید، در جیره حاوی کربوهیدرات موجب تغییر ذخیره چربی شد و مقدار کلسترول و تری‌گلیسرید را افزایش داد که نشان‌دهنده افزایش سنتز چربی به واسطه لیپوئیک اسید بود. دلیل این امر تنظیم هورمونی کلسترول و تری‌گلیسرید بیان شد. این موارد نقش مهم لیپوئیک اسید را نه تنها به عنوان آنتی‌اکسیدان بلکه به عنوان تنظیم‌کننده متابولیسم در ماهی نشان می‌دهد (Santos *et al.*, 2016). نتایج پروتئین لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با غلظت‌های مختلف ALA نشان داد، با افزودن غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل ALA به جیره بیش‌ترین مقدار پروتئین در عضله مشاهده شد و به طور معنی‌داری از گروه شاهد بیشتر بود. در تحقیق Monserrat و همکاران (۲۰۰۸) با افزودن ALA به جیره، پروتئین‌های اکسید شده در عضله کاهش و ظرفیت اکسیدانی افزایش یافت. Lobato و همکاران (۲۰۱۳) نیز دریافتند ALA در جیره موجب کاهش معنی‌دار مواد واکنش دهنده اسید تیوباربیتوریک (TBARS) در عضله میگو شد و اکسیداسیون پروتئین کاهش یافت. دلیل افزایش پروتئین لاشه در جیره‌های دارای مکمل ALA می‌تواند به علت کاهش اکسیداسیون پروتئین در عضله باشد که این امر بخصوص در کیفیت لاشه بسیار حائز اهمیت است. بنابراین، یافتن درصد مناسب ALA و استفاده از آن در جیره می‌تواند به کاهش تجمع چربی بدون اثر بر پروتئین عضله کمک کند و در نهایت روشی برای بهبود ترکیب لاشه محسوب می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ALA قادر خواهد بود بدون تاثیر منفی بر رشد، باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گردد. بنابراین، با تعیین سطح بهینه



- Celada, J.D., Fuertes, J.B., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., González, Á. and González-Rodríguez, A., 2013.** Effects of vitamin C in practical diets on survival and growth of juvenile crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana, Astacidae) from the onset of exogenous feeding. *Aquaculture Nutrition*, 19:110-116. DOI:10.1016/j.aquaculture.2013.01.028
- Ellman, G.L., 1959.** Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 82:70-77.
- Francis, S., Delgoda, R. and Young, R., 2012.** Effects of embryonic exposure to  $\alpha$ -lipoic acid or ascorbic acid on hatching rate and development of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture Research*, 43: 777-788. DOI:10.1111/j.1365-2109.2011.02889.x
- Gul, S., Belge-Kurutas, E., Yıldız, E., Sahan, A. and Doran, F., 2004.** Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. *Environment International*, 30:605-609. DOI:10.1016/s0160-4120(03)00059-x
- Habig, W.H. and Jakoby, W.B., 1981.** Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology*, 77:398-405. DOI:10.1016/s0076-6879(81)77053-8
- Hardy, R.W., 2002.** Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In: Webster, C.D., Lim, C. (Eds.), Nutrient Requirements and Feeding of Aquaculture Fish. Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI) Publishers, New York, pp. 184-202. DOI:10.1079/9780851995199.0184
- Hidalgo, M.C., Exposito, A., Palma, J.M. and Higuera, M., 2002.** Oxidative stress generated by dietary Zn-deficiency: studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 34:183-193. DOI:10.1016/s1357-2725(01) 00105-4
- Khanna, S., Atalay, M., Leaksonen, D.E., Gul, M., Roy, S. and Sen, C.K., 1999.**  $\alpha$ -Lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. *Journal of Applied Physiology*, 86:1191-1196. DOI:10.1152/jap.1999.86.4.1191
- Kim, M.S., Park, J.Y., Namkoong, C., Jang, P.G., Ryu, J.W., Song, H.S., Yun, J.Y., Namgoong, I.S., Ha, J., Park, I.S., Lee, I.K., Viollet, B., Youn, J.H., Lee, H.K. and Lee, K.U., 2004.** Anti-obesity effects of alpha-lipoic acid mediated by suppression of hypothalamic AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine*, 10:727-733. DOI:10.1038/nm1061
- Klein, R.D., Borgesa, V.D., Rosaa, C.E., Colaresa, E.P., Robaldoc, R.B., Martinez, P.E. and Bianchinia, A., 2017.** Effects of increasing temperature on antioxidant defense system and oxidative stress parameters in the Antarctic fish *Notothenia coriiceps* and *Notothenia rossii*.

- Journal of Thermal Biology, 68(Pt A),110-118. DOI:10.1016/j.jtherbio.2017.02.016
- Kütter, M.T., Monserrat, J.M., Primel, E.G., Caldas, S.S. and Tesser, M.B., 2012.** Effects of dietary  $\alpha$ -lipoic acid on growth, body composition and antioxidant status in the Plata pompano *Trachinotus marginatus* (Pisces, Carangidae). *Aquaculture*, 368:29-35. DOI:10.1016/j.aquaculture.2012.09.010
- Kütter, M.T., Monserrat, J.M., Santos, R.A. and Tesser, M.B., 2013.** Dose-response effects of the antioxidant  $\alpha$ -lipoic acid in the liver and brain of pompano *Trachinotus marginatus* (Pisces, Carangidae). *Journal of Applied Ichthyology*, 29:1123-1128. DOI:10.1111/jai.12137
- Lobato, R.O., Manske, S.N., Wasielesky, W., Fattorini, D., Regoli, F., Monserrat, J.M. and Ventura-Lima, J., 2013.** The role of lipoic acid in the protection against of metallic pollutant effects in the shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 165:491-497. DOI:10.1016/j.cbpa.2013.03.015
- Longaray-garcia, M., Flores, J.A., Külkamp-Guerreiro, I.C., Guterres, S.S., Pereira, T.C.B., Bogo, M.R. and Monserrat, J.M., 2013.** Modulation of antioxidant and detoxifying capacity in fish *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) after treatment with nanocapsules containing lipoic acid. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 165:468-475. DOI:10.1016/j.cbpa.2013.02.004
- Mani, R., Meena, B., Valivittan, K. and Suresh, A., 2014.** Glutathione-S-transferase and catalase activity in different tissues of marine catfish *Arius arius* on exposure to cadmium. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6:326-332.
- Monserrat, J.M., Ventura, J.L., Ribas Ferreira, J.L., Acosta, D., Garcia, M.L., Ramos, P.B., Moraes, T.B., dos Santos, L.C. and Amado, L.L., 2008.** Modulation of antioxidant and detoxification responses mediated by lipoic acid in the fish *Corydoras paleatus* (Callychthyidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148:287-292. DOI:10.1016/j.cbpc.2008.06.011
- Pharm, R.T. Gardner, J.L. and Gallagher, E.P., 2002.** Conjugation of 4-hydroxynonenal by largemouth bass (*Micropterus salmoides*) glutathione S-transferases. *Marine Environmental Research*, 54:291-295. DOI:10.1016/s0141-1136(02)00179-4
- Rao, V.J., 2006.** Sublethal effects of an organophosphorus insecticide (RPR-II) on biochemical parameters of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(4):492-498. DOI:10.1016/j.cbpc.2006.05.001
- Roztamzad, H., Shabanpour, B., Kashaninejad, M. and Shabani, A., 2010.**

- Inhibitory impact of natural antioxidant (ascorbic acid and citric acid) and vacuum packaging on lipid oxidation in frozen Persian sturgeon fillets, *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9:279-292.
- Sahin, M., Sagfildic, G., Elmas, O., Akpinar D., Derin, N., Aslan, M., Agar, A., Alicigzel, Y. and Yargicogfilu, P., 2006.** Effect of chronic restraint stress and alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in rat peripheral organs. *Pharmacological Research*, 54:247-252. DOI:10.1016/j.phrs.2006.05.007
- Sanchez, W., Palluel, O., Meunier, L., Coquery, M., Porcher, J.M. and Ait-Aissa, S., 2005.** Copper-induced oxidative stress in three-spined stickleback: relationship with hepatic metal levels. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19:177-183. DOI:10.1016/j.etap.2004.07.003
- Santos, R.A., Caldas, S., Primel, E.G., Tesser, M.B. and Monserrat, J.M., 2016.** Effects of lipoic acid on growth and biochemical responses of common carp fed with carbohydrate diets. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42:1699-1707. DOI:10.1007/s10695-016-0250-2. <https://doi.org/10.1007/s10695-016-0250-2>
- Shen, Q.W., Jones, C.S., Kalchayanand, N., Zhu, M.J. and Du, M., 2005.** Effect of dietary  $\alpha$ -lipoic acid on growth, body composition, muscle pH, and AMP-activated protein kinase phosphorylation in mice. *Journal of Animal Science*, 83:2611-2617. DOI:10.2527/2005.83112611x
- Terjesen, B.F., Park, K., Tesser, M.B., Portella, M.C., Zhang, Y. and Dabrowski, K., 2004.** Lipoic acid and ascorbic acid affect plasma free amino acids selectively in the teleost fish Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *The Journal of Nutrition*, 134:2930-2934. DOI:10.1093/jn/134.11.2930
- Trattner, S., Pickova, J., Park, K.H., Rinchard, J. and Dabrowski, K., 2007.** Effects of  $\alpha$ -lipoic and ascorbic acid on the muscle and brain fatty acids and antioxidant profile of the South American pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture*, 273:158-164. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.09.025
- Trenzado, C.E., Morales, A.E., Palma, J.M. and De la higuera, M., 2009.** Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded/uncrowded rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 149:440-447. DOI:10.1016/j.cbpc.2008.10.105
- Wahli, T., Verlhac, V., Girling, P., Gabaudan, J. and Aebischer, C., 2003.** Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 225: 371-386. DOI:10.1016/s0044-8486(03)00302-8

**Wang, Y., Xiaojie, L., Yuming, G., Lawrence, C. and Xinfu, G., 2010.**  $\alpha$ -lipoic acid increase energy expenditure by enhancing adenosine monophosphate-activated protein kinase-peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1- $\alpha$  signaling in skeletal muscle of aged mice. *Metabolism-Clinical and*

*Experimental*, 59: 967-976.

**DOI:**10.1016/j.metabol.2009.10.018

**Zhang, W., Chen, Q., Mai, K., Xu, W., Wang, X. and Liufu, Z., 2010.** Effects of dietary  $\alpha$ -lipoic acid on the growth and antioxidative responses of juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino. *Aquaculture Research*, 41:781-787.  
**DOI:**10.1111/j.1365-2109.2010.02592.x

## Effect of alpha-lipoic acid on growth, body composition and activity of some antioxidant enzymes in muscle, liver and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Biniiaz H.<sup>1</sup>; Salarzadeh A.R.<sup>1\*</sup>; Ghobadi Sh.<sup>2</sup>; Mohammadi Zadeh F.<sup>1</sup>; Hossein Esmaeili A.<sup>2</sup>

\*reza1375bandar@yahoo.com

1- Department of Fishery, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran

2- Department of Fishery, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

### Abstract

The aim of the present study was to evaluate alpha lipoic acid (ALA) supplementation as an antioxidant source. In this experiment, rainbow trout with average weight of  $22.16 \pm 0.02$  g were studied in four treatments with three replications for eight weeks. Experimental diets included control (non-supplemented commercial diet), 500 mg/ kg ALA, 1000mg/ kg ALA and diets containing 1500 mg/ kg ALA. After eight weeks, growth parameters, fish muscle composition, levels of glutathione-S-transferase (GST), glutathione (GSH) and catalase (CAT) activity were measured in muscle, liver and intestine. The results of growth factors showed that percentage of weight gain, length increase and specific growth rate were significantly ( $p < 0.05$ ) different between treatments and highest in 500 and 1000 mg/ kg ALA. Results of rainbow trout carcass fed with ALA showed a significant difference in protein and dry matter ( $p < 0.05$ ), and treatment containing 1500 ALA concentration showed the highest carcass protein and dry matter. In addition, the effect of different concentrations of alpha lipoic acid on the activity of GST, GSH and CAT enzymes in muscle, liver and intestinal tissues was significant ( $p < 0.05$ ). In muscle, CAT increased with increasing ALA concentration. Also, the highest and lowest amounts of GSH and GST were observed at 1000 and control concentrations, respectively. In the intestinal and liver tissues, the activity of GSH, GST and CAT enzymes was higher in treatments containing ALA. Considering the results of growth, increase of carcass protein and improvement of antioxidant enzymes activity by ALA, it is recommended to use this supplement at a concentration of 1000 mg/ kg.

**Keywords:** Alpha-lipoic acid, *Oncorhynchus mykiss*, Growth, Carcass composition, Antioxidant activity

---

\*Corresponding author