تأثیر سطوح مختلف ویتامین‌های C و E جیره بر میزان کلسترول پلاسما در ماهی استرلیاد بالغ پرورشی (*Acipenser ruthenus*)

مصطفی تاتینا[1*]، محمود بهمنی[2]، مهدی سلطانی[3] و مهتاب قریب‌خانی[1]

۱ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آستارا، گروه شیلات، آستارا، ایران

۲ـ دانشیار پژوهشی وزارت جهاد کشاورزی

۳ـ استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

مسئول مکاتبات: m.tatina@iau-astara.ac.ir

چکیده

این مطالعه به منظور تعیین تأثیر سطوح مختلف ویتامین‌های C و E جیره بر میزان کلسترول پلاسمای خون ماهی استرلیاد پرورشی (*Acipenser ruthenus*) در مرکز تکثیر انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام گرفت. ۹ جیره غذایی شامل ترکیبی از مقادیر ۰ ، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین C از نوع ال- اسکوربیل- ۲- پلی فسفات (APP) و ۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم ویتامین E از نوع دی- آلفا توکوفرول در کیلوگرم غذا در دو تکرار و به مدت ۱۵ هفته جهت پرورش ماهیان استرلیاد در نظر گرفته شد. پس از عادت‌دهی ماهیان با غذای مصنوعی، تعداد ۱۵ عدد ماهی استرلیاد با وزن متوسط ۱۴/۲۸ ±۳۵۰/۹۲ به هر یک از هجده تانک در نظر گرفته شده معرفی گردید. ماهیان روزانه به میزان ۲٪ از وزن تر بدنشان مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان هفته پنجم و پانزدهم آزمایش تعداد ۳ عدد ماهی از هر تانک به صورت تصادفی انتخاب شده و مورد خون‌گیری قرار گرفتند. نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌های خون نشان داد که بیشترین میزان کلسترول در پایان هفته‌های پنجم و پانزدهم به ترتیب مربوط به تیمارهای E۰ C۱۰۰ mg/kg و E۱۰۰ C۴۰۰mg/kg (جیره های۲و۶) و E۱۰۰ C۰mg/kg(جیره ۴) بود (P< ۰/۰۵). و کمترین میزان کلسترول در پایان هفته پنجم مربوط به تیمار mg/kg E۱۰۰ C۱۰۰ (جیره ۵) و در پایان هفته پانزدهم مربوط به تیمار E۴۰۰ C۱۰۰mg/kg (جیره ۸) بود (P< ۰/۰۵). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که سطوح مختلف ویتامین‌های C و E جیره می‌تواند بر نوسانات میزان کلسترول پلاسمای خون ماهی استرلیاد پرورشی تأثیرگذار باشد.

کلمات کلیدی: ویتامین C ، ویتامین E ، کلسترول، استرلیاد، *Acipenser ruthenus*

مقدمه

تاس‌ماهیان یا ماهیان خاویاری که ماهیان غضروفی- استخوانی یا استورژن (Sturgeon) نیز نامیده می‌شوند از دسته ماهیان غضروفی دوران اولیه هستندکه حدود ۲۵۰ میلیون سال قدمت دارند [۱۹]. به دلیل ارزش اقتصادی و غذایی بسیار بالای گوشت و خاویار از یک سو و کاهش میزان ذخایر این ماهیان درتمام زیستگاه‌های طبیعی آنها از سوی دیگر، تکثیر و پرورش آنها از سال‌ها پیش مورد توجه بسیاری از کشورهای جهان قرار گرفته و پیشرفت‌های چشمگیری به همراه داشته است [۱]. با وجود پیشرفت‌های خوبی که طی چند سال اخیر در مورد پرورش تاس‌ماهیان صورت گرفته است هنوز اطلاعات کافی درمورد نیازهای تغذیه‌ای، تکنولوژی ساخت و ترکیبات غذایی آنها وجود ندارد [۲۰]. یکی از اقلام غذایی که از نظر کمی جزء ناچیز اما از نظر کیفی جزء ضروری و مهم جیره آبزیان تلقی می‌گردد ویتامین‌ها هستند که خود به دو دسته

ویتامین‌های محلول در آب و ویتامین‌های محلول در چربی تقسیم‌بندی می‌شوند [۲۸]. یکی از ویتامین-های بسیار مهم محلول در آب ویتامین C ($C_6H_8O_6$) است که به نام اسید اسکوربیک نیز شناخته می‌شود. ویتامین C توسط گیاهان و بسیاری از گونه‌های جانوری از گلوکز و سایر قندهای ساده سنتز می‌شود. این ویتامین در طبیعت فراوان بوده و اغلب جانداران و گیاهان قادرند این ترکیب شیمیایی را از اسید گلوکورونیک بیوسنتز کنند [۱۷ و ۲۳]. ویتامین E را دسته‌ای ازترکیبات تحت عنوان آلفا توکوفرول‌ها تشکیل داده‌اند که آلفا توکروفرول مهم-ترین آنهاست. ویتامین E به فرمول ($C_{22}H_{50}O_2$) یک ترکیب آلی هتروسیکلیک مشتق از هسته کرومان (Chromane) می‌باشد. به طور کلی ویتامین E به گروهی از ترکیبات فعال که به یکدیگر شباهت زیادی دارند اطلاق می‌شود [۲۷]. لذا داشتن اطلاعات در مورد نیازهای ویتامینی خصوصاً ویتامین‌های مهم و ضروری مانند ویتامین C و E در جیره غذایی ماهیان که تاثیر زیادی در فرآیندهای رشد، متابولیسم، تولیدمثل و شاخص‌های خونی دارند ضروری به نظر می‌رسد. شاخص‌های خونی پارامترهای بسیار مهمی جهت ارزیابی خصوصیات فیزیولوژیکی ماهی هستند. تغییرات آنها بستگی به گونه ماهی، سن، دوره رسیدگی جنسی، تغذیه و بیماری‌ها دارد [۱۴، ۱۵ و ۲۵]. کلسترول (Cholesterol) در حقیقت نوعی از لیپیدها است که غیرقابل صابونی شدن است. کلسترول فراوان-ترین نوع استرول در بافت‌های حیوانی است که به صورت آزاد و استریفیه دیده می‌شود. کلسترول به طور گسترده در بدن حیوانات، به خصوص در مغز و بافت عصبی، خون، صفرا، جگر و پوست وجود دارد. حدود دو سوم کلسترول که در خون وجود دارد به صورت استریفیه با یک اسید چرب اشباع نشده و بقیه‌ی آن به صورت آزاد است. کلسترول با ویتامین D در بقاء سیستم‌های غشایی برای انتقال لیپیدها نقش داشته و به عنوان پیش‌ساز ویتامین D3، اسیدهای صفراوی و هورمون‌های استروئیدی نظیر پروژسترون، استروژن و کورتیکواستروئیدها عمل می‌نماید [۴ و ۶]. کلسترول پیش‌ساز هورمون‌های استروئیدی نظیر کورتیزول محسوب می‌گردد که در خون توسط لیپوپروتئین‌ها به بافت هدف انتقال می یابد [۲ و ۱۲]. همچنین کلسترول نقش مهمی در جذب اسیدهای چرب از روده و متعاقب آن انتقال در خون یا لنف به عهده دارد [۶]. مطالعاتی توسط محققین مختلف به منظور اندازه‌گیری شاخص کلسترول سرم خون در شرایط محیطی طبیعی، شرایط استرس‌زا، مرحله رسیدگی جنسی، جنسیت و هورمون‌های جنسی در گونه‌های مختلف ماهیان انجام شده است. نتایج این مطالعات در برخی موارد نشان دهنده تأثیر مثبت و در بعضی موارد بی‌تأثیر بودن این عوامل بر روی شاخص کلسترول سرم خون است. به طوری که شاهسونی و همکاران (۱۳۸۵) مقادیر کلسترول در ماهی قره‌برون را مورد بررسی قرار دادند. حقی(۱۳۸۶) در بررسی تأثیرسطوح مختلف اسید آمینه متیونین بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون، مقادیر کلسترول در فیل‌ماهیان پرورشی را مورد بررسی قرار داد. تغییرات سطوح کلسترول در فرآیند تولیدمثل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفته است [۲۴]. فعالیت آنتی-اکسیدانی ویتامین C بر مبنای توانایی آن به واکنش نشان دادن با رادیکال‌های آزاد است [۱۱]. احتمالاً این واکنش در همه سلول‌های هوازی اهمیت اساسی دارد و از عملکردهای بیولوژیکی ضروری ویتامین

C است. همچنین ویتامین C عمل محافظت آنتی-اکسیدانی بخش‌های آبگریز سلول‌ها را به عهده دارد. ثابت شده است که ویتامین C توانایی کاهش رادیکال‌های کرومانوکسیل نیمه‌پایدار را دارد بنابر این توانایی احیاء شکل فعال متابولیکی و آنتی-اکسیدانی چربی ویتامین E را دارد. ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی عمل کرده و می‌تواند غشاهای بیولوژیکی و ذخایر چربی بدن را از اکسید شدن محافظت نماید [۸]. ویتامین C ممکن است غشاهای سلولی را در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو توسط اکسیداسیون کمتر چربی‌ها محافظت کند [۲۱ و ۲۹]. ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری است که در بافت بدن وجود دارد و به عنوان اولین خط دفاعی بر علیه اکسیداسیون چربی‌ها است زیرا فعالیت آن غشاهای سلول‌های محافظتی را از ضربه به رادیکال‌های آزاد دور می‌کند [۲۶ و ۳۳]. ویتامین‌های C و E به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های بیولوژیکی و برای حفاظت ماکرومولکول‌های سلولی (DNA، چربی و پروتئین) و دیگر مولکول‌های آنتی‌اکسیدان در مقابل اکسیداسیون غیرکنترل شده توسط رادیکال‌های آزاد در طول متابولیسم طبیعی یا قرارگیری در معرض اکسیدشدگی مانند عفونت، استرس و آلودگی عمل می‌کنند [۱۰]. استرلیاد *Acipenser ruthenus* (Linnaeus, 1758) به عنوان یکی از گونه‌های با ارزش خانواده تاس‌ماهیان (Acipenseriformes) کوچک‌ترین گونه از این ماهیان محسوب می‌شود. این ماهی یک گونه آب شیرین و پوتامودروموس است و در آب‌های شیرین مناطق سردسیری در رودخانه‌هایی که به دریای سیاه، آزوف و دریاچه خزر (ولگا و کورا) می‌ریزند زندگی می‌کند [۳۰]. تا کنون مطالعه‌ای به منظور بررسی تأثیر ویتامین‌های C و E بر روی شاخص کلسترول در گونه‌های مختلف ماهیان انجام نشده است. لذا این مطالعه برای اولین بار و به منظور بررسی تأثیر وجود این ویتامین‌ها در جیره‌های غذایی بر روی میزان کلسترول پلاسمای خون ماهی استرلیاد پرورشی انجام شده است.

مواد و روش کار

مراحل اجرایی این پروژه از اسفندماه سال ۱۳۸۶ تا تیرماه سال۱۳۸۷ در بخش‌های تکثیر و پرورش و فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان در مجاورت سد سنگر انجام شد. جهت انجام عملیات پرورش از ۱۸ عدد وان ۲ تنی فایبرگلاس به حجم آبی ۲۰۰۰ لیتر در کنار یکدیگر و در یک محیط سرپوشیده استفاده شد. سطح آب در این مخازن ۵۰ سانتی‌متر بود. آب مورد نیاز وانها از آب رودخانه سفید رود تأمین می-شد. در ابتدا تعداد ۲۷۰ عدد ماهی استرلیاد با وزن متوسط ۱۴/۲۸ ±۳۵۰/۹۲ گرم که از نظر شرایط ظاهری سالم بودند از بین ماهیان موجود در مخازن بتونی بخش تکثیر و پرورش انستیتو تحقیقات بین-المللی ماهیان خاویاری انتخاب شده و به محل آزمایش و تانک‌های فایبرگلاس مستقر شده در بخش سرپوشیده و طراحی شده به منظور انجام این آزمایش منتقل گردید. تعداد ۱۸ عدد وان ۲ تنی فایبرگلاس برای انجام این آزمایشات درنظر گرفته شد و در هر وان ۱۵ عدد ماهی رهاسازی گردید. با انجام محاسبات آماری پس از انجام بیومتری مشخص شد که هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر وزن و طول در این ماهیان در تمامی وان‌ها وجود ندارد. در زمان انجام بیومتری به ماهیان تگ زده شد. بعد از سورت‌بندی، ماهیان جهت سازگاری با شرایط جدید

محیطی (اکسیژن، دما و pH) به مدت ۱۵ روز با غذای کنسانتره متداول مورد استفاده برای تغذیه ماهیان خاویاری، تغذیه گردیدند.

این آزمایش بصورت طرح فاکتوریل(۳×۳) در قالب کاملا تصادفی (Completely Randomized Design) انجام گردید. بدین صورت که ترکیبی از سه سطح از ویتامین C (۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از غذا) و سه سطح از ویتامین E (۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم از غذا) برای تهیه ۹ جیره شامل یک جیره پایه (فاقد ویتامین‌های C و E) و ۸ جیره آزمایشی (جدول ۱) مورد استفاده قرار گرفت و هر یک از جیره‌های آزمایشی برای غذادهی ماهیان ۲ تانک به کار گرفته شد. طول مدت آزمایش نیز ۱۵هفته در نظر گرفته شد. ترکیبات و نتایج آنالیز تقریبی جیره در جدول ۲ آورده شده است.

جدول۱ـ ترکیبات جیره‌های غذایی مورد استفاده در آزمایش

	جیره								
ترکیبات جیره	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
آرد ماهی(٪)	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰
آرد گندم (٪)	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰
شیر خشک (٪)	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰
کنجاله سویا (٪)	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰
گلوتن ذرت (٪)	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰
روغن ماهی(٪)	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰
مخمر (٪)	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰
مخلوط مواد معدنی۱ (٪)	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳
مخلوط مواد ویتامینی۲ (٪)	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷
ویتامین۳E (میلی‌گرم در کیلوگرم غذا)	۰	۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۴۰۰	۴۰۰	۴۰۰
ویتامین۴C (میلی‌گرم در کیلوگرم غذا)	۰	۱۰۰	۴۰۰	۰	۱۰۰	۴۰۰	۰	۱۰۰	۴۰۰

۱ـ مخلوط مواد معدنی (گرم در کیلوگرم مکمل):

calcium lactate, 327; K_2PO_4, 239.8; $CaHPO_4$. $2H_20$, 135.8; $MgSO_4$. $7H_20$, 132; Na_2HPO_4. $2H_2O$, 87.2; NaCl, 43.5; ferric citrate, 29.7; $ZnSO_4$. $7H_20$, 3; $CoCl_2$. $6H_2O$, 1; $MnSO_4$. H_2O, 0.8, KI, 0.15; $AlCl_3.6H_2O$, 0.15; $CuCl_2$, 0.1.

۲ـ مخلوط مواد ویتامینی (گرم در کیلوگرم مکمل):

thiamin hydrochloride, 2.5; riboflavin, 10; calcium pantothenate, 25; nicotinic acid, 37.5; pyridoxine by hydrochloride, 2.5; folic acid, 0.75; inositol, 100; ascorbic acid, 50; chlorine chloride, 250; menadione, 2; retinol acetate, 1; cholecalciferol, 0.0025; biotin, 0.25; vitamin B_{12}, 0.05.

۳ـ ویتامینE : دی آلفا- توکوفرول

ال- اسکوربیل- ۲- پلی فسفات

۴ـ ویتامین C

جدول۲ـ ترکیبات تقریبی جیره‌ی پایه

	رطوبت	خاکستر	پروتئین	چربی	فیبر
ترکیب تقریبی (٪)	۱۴/۲± ۰/۲	۲۰/۷± ۱۰/۰	۴۹/۰± ۰/۸	۱۴/۱± ۰/۲	۲/۰± ۰/۱

با توجه به اندازه‌ی ماهیان غذادهی به میزان ۲ ٪ وزن بیومس، به صورت دستی و در سه نوبت (در ساعات ۷، ۱۵ و ۲۳) انجام می‌شد. غذای ماهیان بر اساس شماره هر تیمار در ظروف جداگانه و مخصوص نگهداری می‌شد و هنگام غذادهی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و در سطح وان‌ها توزیع می‌گردید. آب تانک‌ها هر روز قبل از غذادهی سیفون گردیده تا غذای احتمالی مصرف نشده و فضولات از محیط پرورش خارج گردد. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از جمله اکسیژن محلول، pH و دما در طول دوره پرورش به منظور کنترل شرایط محیطی پرورش به دقت اندازه‌گیری شد (جدول۳). اکسیژن محلول و دما دوبار در روز و pH یک بار در روز اندازه‌گیری شدند. همچنین هر ۲۱ روز یکبار وان‌ها کاملاً خشک شده و سپس با مواد ضدعفونی کننده شستشو شده و ضدعفونی می‌شدند.

جدول ۳ـ فاکتورهای فیزیکوشیمیایی اندازه‌گیری شده در طول مدت پرورش

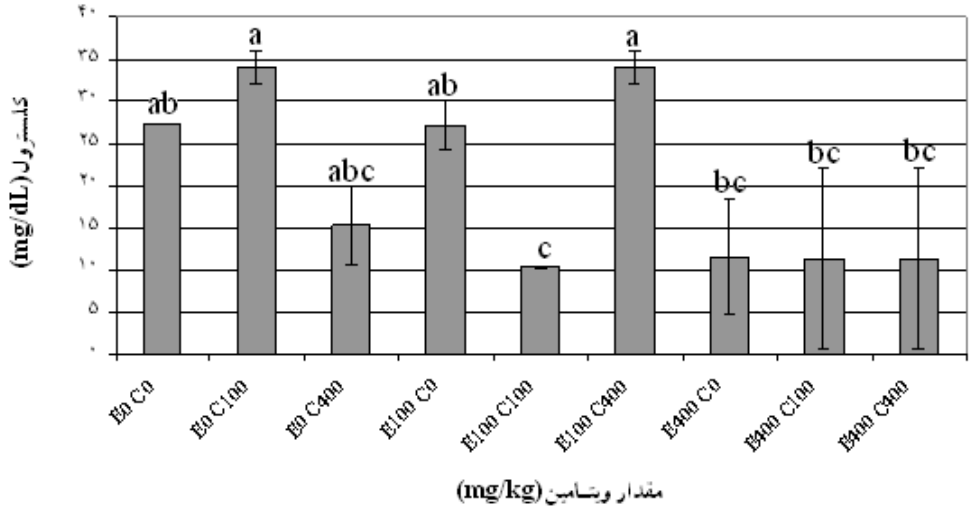
فصل	دما	اکسیژن محلول	pH
زمستان	۹/۵ ± ۰/۲	۹/۴ ± ۰/۶	۷/۳ ± ۰/۳
بهار	۱۶/۳ ± ۰/۲	۶/۹ ± ۰//۵	۷/۴ ± ۰//۱
تابستان	۱۷/۲ ± ۰/۱	۶/۷ ± ۰/۳	۷/۵ ± ۰/۱

در پایان آزمایشات، عملیات خون‌گیری از سیاهرگ دمی (Caudal vein) واقع در پشت باله-ی مخرجی ماهیان استرلیاد پرورشی صورت گرفت. لازم به ذکر است در هنگام خون‌گیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تأثیر بر روی سطوح شاخص‌های خونی استفاده نگردید. جهت انجام مطالعات خون‌شناسی از سرنگ‌هایی با حجم ۵ cc استفاده گردید. بعد از گرفتن ۴ cc خون توسط سرنگ از ساقه دمی این ماهیان خون به داخل تیوب‌های اپندرف شماره‌گذاری شده منتقل و جهت انجام مطالعات هماتولوژیک به آزمایشگاه فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انتقال داده شد. جداسازی سرم از سلول‌های خونی توسط سانتریفیوژ (مدل Labofuge 200 شرکت Heraeus sepatch ساخت کشور آلمان) به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور انجام گرفت. سپس با استفاده از پیپت پاستور سرم مربوطه به اپندرف های شماره گذاری شده منتقل و تا زمان سنجش پارامتر مورد نظر در درمای ۲۰°C- نگهداری شده [۳۱] و بررسی‌های

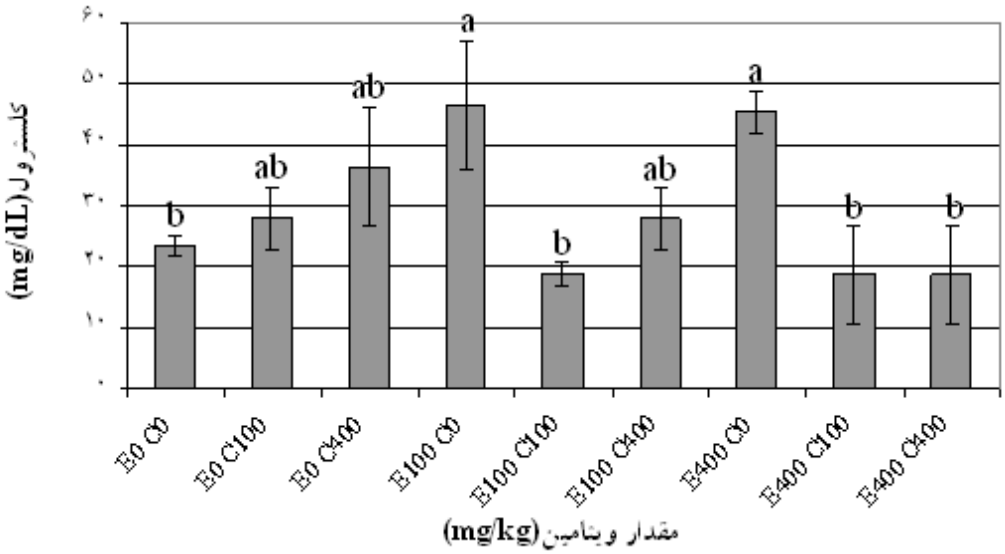
سرولوژیک در آزمایشگاه دکتر فدایی (رشت) صورت پذیرفت. تعیین مقادیر کلسترول با روش آنزیماتیک صورت پذیرفت. به این منظور از دستگاه اکسپکتروفتومتر (مدل ۱۰۰۰ – RA ، شرکت Technicon، ساخت آمریکا) و به کارگیری کیت‌های من (Man, Iran) میزان کلسترول بر حسب mg/dL محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزارهای SPSS 17 انجام پذیرفت و اختلاف بین میانگین‌ها در کلیه موارد در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ۰/۰۵ P > تعیین گردید. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel 2007 انجام شد.

نتایج

نتایج سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در هفته پنجم و پانزدهم نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج بیشترین میزان کلسترول در هفته پنجم در تیمارهای mg/kg E۰ C۱۰۰ و E۱۰۰ C۴۰۰mg/kg و کمترین مقدارآن در تیمار E۱۰۰ C۱۰۰mg/kg مشاهده گردید. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که در هفته پنجم اختلاف معنی‌دار آماری در تیمارهای مختلف از نظر مقدار کلسترول وجود دارد (۰/۰۵ > P). از سوی دیگر بیشترین میزان کلسترول در هفته پانزدهم در تیمار E۱۰۰ C۰ mg/kg مشاهده گردید. این در حالی است کمترین مقدار کلسترول در تیمار E۴۰۰ C۱۰۰ mg/kg مشاهده گردید. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که در هفته پانزدهم اختلاف معنی‌دار آماری در تیمارهای مختلف از نظر مقدار کلسترول وجود دارد (۰/۰۵ > P).



نمودار ۱ـ مقدار کلسترول در ماهی استرلیاد پرورشی تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف از ویتامین‌های C و E در هفته پنجم (n=۵۴) (وجود حروف مختلف در ستون‌ها نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلافات می‌باشد)



نمودار ۲ـ مقدار کلسترول در ماهی استرلیاد پرورشی تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف از ویتامین‌های C و E در هفته پانزدهم (n=۵۴) (وجود حروف مختلف در ستون‌ها نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلافات می‌باشد)

بحث

سطوح داخلی و محدوده‌ی طبیعی کلسترول که نوعی لیپید است نشان دهنده‌ی یک وضعیت تغذیه‌ای خوب در ماهی است. در ماهیان نیز ثابت شده است که ترکیبات جیره‌ی غذایی و نحوه تغذیه می‌تواند بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون از جمله شاخص کلسترول تأثیرگذار باشند [۲۲]. از سوی دیگر سطوح لیپیدهای سرم و از جمله مقادیر کلسترول تحت تأثیر چندین عامل مانند تولیدمثل، فعالیت تغذیه‌ای، ترکیب جیره و عوامل محیطی هستند [۲۴]. مطالعاتی توسط محققین مختلف به منظور اندازه‌گیری شاخص پروتئین کل سرم خون در شرایط محیطی طبیعی، شرایط استرس‌زا، مرحله رسیدگی جنسی، جنسیت، هورمون‌های جنسی و ترکیبات جیره غذایی در گونه‌های مختلف ماهیان انجام شده است. نتایج این مطالعات در برخی موارد نشان دهنده تأثیر مثبت و در بعضی موارد بی‌تأثیر بودن این عوامل بر روی شاخص پروتئین کل سرم خون است. به طوری که Barannikova (۲۰۰۰) بیان نمود که کلسترول ماده پیش‌ساز همه هورمون‌های استروئیدی است وقتی بر اثر استرس کورتیزول افزایش می‌یابد در واقع مقادیر زیادی از کلسترول صرف ساخت کورتیزول گردیده است. لذا ساخت سایر هورمون‌های استروئیدی (از جمله استروئیدهای جنسی) کاهش می‌یابد. بنابراین هنگامی که شرایط برای زیست ماهی نامناسب باشد به علت افزایش ساخت هورمون کورتیزول جهت تنظیم فیزیولوژی داخلی ماهی مقدار تستسترون کاهش می‌یابد. دانشمندان زیادی میزان کلسترول سرم خون را در گونه‌های مختلف ماهی و تحت شرایط متفاوت مورد بررسی قرار دادند، به طوری که شاهسونی و همکاران (۱۳۸۵) مقادیر کلسترول در ماهی قره‌برون را اندازه‌گیری نمودند. تروپ و همکاران (۲۰۰۰) میزان کلسترول را در اردک‌ماهی شمالی در شرایط محیطی طبیعی ارزیابی نمودند

[۳۵]. بنتیک و همکاران (۲۰۰۱) میزان کلسترول سرم خون گربه‌ماهی روگاهی را در شرایط طبیعی مورد بررسی قرار دادند [۹]. Kocaman و همکاران (۲۰۰۵) تغییرات سطوح کلسترول در فرآیند تولیدمثل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار دادند [۲۴]. از طرفی نقش‌های مؤثر آنتی‌اکسیدانی این دو ویتامین توسط محققین مختلف نیز بیان شده است. ولی تا کنون مطالعه‌ای در ارتباط با تأثیر ویتامین‌های C و E موجود در جیره غذایی بر میزان کلسترول پلاسمای ماهیان انجام نشده است. با توجه به نقش اثبات شده آنتی‌اکسیدانی ویتامین‌های C و Eجیره، آنها می‌توانند با مهار اکسیداسیون اسیدهای چرب بر روی میزان کلسترول سرم خون تأثیرگذار باشند. مشخص شده است که غلظت‌های بالای ویتامین E موجب کاهش کلسترول سرم خون می‌شود [۱۶]. ویتامین C در متابولیسم لیپیدها و از جمله کلسترول اهمیت داشته و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در محافظت از ویتامین‌های E و اسیدهای چرب بسیار غیر اشباع دارای اهمیت است [۳۲]. فقدان ویتامین C در جیره غذایی آبزیان پرورشی موجب بالا رفتن سطح کلسترول موجود در پلاسمای خون می‌شود [۲۸ و ۳۶]. نتایج حاصل از بررسی حاضر در یک دوره ۱۵ هفته‌ای بر روی ماهیان استرلیاد پرورشی نشان داد که میزان کلسترول سرم خون ماهیانی که تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین‌های C و E جیره قرار گرفته‌اند تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف دارد. این نتایج بیانگر این مطلب است که تغذیه با سطوح مختلف ویتامین‌های C و E جیره باعث بروز تأثیر این ویتامین‌ها بر روی این شاخص در هفته‌های پنجم و پانزدهم پرورش شده است. بیشترین میزان کلسترول در هفته پنجم در تیمارهای E۰ C۱۰۰ mg/kg و E۱۰۰ C۴۰۰mg/kg و کمترین میزان آن نیز در تیمار E۱۰۰ C۱۰۰ mg/kg مشاهده شد. بیشترین میزان کلسترول در هفته پانزدهم در تیمارهای E۱۰۰ C۰mg/kg و E۴۰۰ C۰mg/kg و کمترین میزان آن در تیمارهای ۱۰۰ mg/kg E۱۰۰C، E۴۰۰ C۱۰۰ mg/kg و ۴۰۰mg/kg E۴۰۰C مشاهده شد. نتایج حاصل بیانگر این مطلب است که جیره های فاقد یا حاوی سطوح پایین ویتامین E در صورت وجود حداقل سطوح و حتی سطوح بالای ویتامین C تأثیری در کاهش میزان کلسترول سرم خون در اوایل دوره پرورش نداشته است. ولی وجود سطوح پایین هر دو ویتامین C و E توانسته اثر مناسبی در کاهش میزان کلسترول خون داشته باشد. در انتهای هفته پانزدهم نیز وجود هر دو ویتامین با یکدیگر تأثیر بیشتری داشته است. این امر نشان دهنده تأثیر مثبت حتی در سطوح پایین این ویتامین‌ها در بروز اثرات مثبت کنترل و کاهش میزان کلسترول خون است. در هفته پانزدهم نیز مشابه هفته پنجم حداکثر میزان کلسترول در ماهیانی که از جیره‌های حاوی سطوح پایین یک ویتامین و فاقد ویتامین دیگر و همچنین دارای سطوح بالای یک ویتامین و فاقد ویتامین دیگر تغذیه شده بودند مشاهده گردید. نتایج مشابه نشان دهنده اثرات مثبت وجود هر دو ویتامین با یکدیگر حتی در سطوح پایین است و سطوح بالای یک ویتامین نمی‌تواند نقش مثبت وجود سطوح پایین ویتامین دیگر را جبران نماید. مطالعه مکانیسم عکس‌العمل متقابل ویتامین‌های C و E نشان داده است که دو مکانیسم عکس العمل متقابل بین ویتامین‌های C و E وجود دارند یک اثر همزمان همکاری کننده که ویتامین C از چربی و فاز محلول در آب بر علیه اکسید

شدن محافظت می‌کند و عمل ویتامین C در احیاء ویتامین E در بافت (ایجاد ویتامین E از رادیکال-های ویتامین E توسط ویتامین C [۱۳، ۱۸ و ۳۴] که نتایج فوق این نظریه را تایید می‌کند. نتایج هفته پانزدهم و افزایش مقدار کلسترول در جیره‌های فاقد ویتامین C ومقایسه با گروه شاهد نشان می‌دهد که عدم وجود ویتامین C در صورت وجود ویتامین Eدر هر دو سطح پایین و بالا تأثیری در کاهش کلسترول نداشته است که این امر نشان دهنده‌ی اثر مثبت آنتی اکسیدانی ویتامین C و بیانگر این مطلب است که احتمالاً به دلیل وجود آنزیم GLO در ماهیان خاویاری و از جمله گونه استرلیاد سنتز آن در کلیه این ماهیان جوابگوی نیاز ماهی برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی نبوده و نیاز به جبران یا تامین مقدار مورد نیاز بیشتر از طریق جیره می‌باشد و اضافه کردن حداقل سطوح آن به جیره نیز می‌تواند پاسخگوی نیاز ماهی بوده، بر متابولیسم موجود تأثیر گذاشته و اثرات سودمندی داشته باشد.

منابع

۱- ابراهیمی، ع.، پور رضا، ج.، پاناماریوف، س.، کمالی، الف. و حسینی، ع.۱۳۸۳. اثر مقادیر مختلف پروتئین و چربی بر شاخص‌های رشد و ترکیب شیمیایی لاشه بچه ماهیان انگشت قد فیل-ماهی (*Huso huso*)، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ۸، شماره ۲، صفحات ۲۴۲-۲۲۹.

۲- بهمنی، م.، عریان، ش.، پور کاظمی، م. و وثوقی، غ. ۱۳۷۸. اثرات اکوفیزیولوژیک استرس بر سیستم ایمنی یاخته‌ای در تاس‌ماهی ایران (*Acipenser persicus*)، چهار دهمین کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران، تهران.

۳- حقی، ن. ۱۳۸۶. بررسی اثر سطوح اسید آمینه متیونین بر روند رشد و شاخص‌های خونی و کبدی بچه فیل‌ماهیان پرورشی(*Huso huso*). پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشگاه علوم وفنون دریایی خرمشهر. ۷۲ صفحه.

۴- دانیال‌زاده، الف. ۱۳۷۳. اصول بیوشیمی. انتشارات مرکز نشر دانشگاهی. جلد اول. صفحات ۷۳-۷۲ و ۹۰- ۸۹ .

۵- شاهسونی، د.، مهری، م. و مازندرانی، م. ۱۳۸۵. تعیین مقادیر مرجع برخی از غیر الکترولیت‌های سرم خون ماهی قره برون. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۷۱، صفحات ۵۱-۴۸.

۶- ملک‌نیا، ن.، و شهبازی، پ. ۱۳۷۴. بیوشیمی عمومی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ چهاردهم، جلد دوم. صفحات ۱۷۲-۱۷۱ و ۲۳۷.

7- Barannikova, I. A., Bayunova, L. V., Dyubin, V. P., Saenko, I. I. and semenkove, T. B. (2000), Serum cortisol levels and function of interrenalgland during life cycle of sturgeon, *Acipencer guldenstaedi*. Voprosy Ichtiologii, 40: 379 – 388.

8- Bender, D.A. (1995), Nutritional Biochemistry of the Vitamins. Cambaridge University Press, New York, 87– 105 pp.

9- Benetick, J., Beleau, M.H .and Waterstart .P.R. (2001), Biochemical reference ranges for commercially reared channel eat fish. J. Fish Boil., 49: 108 114

10- Chen, R., R. Lochmann, A. Goodwin, K. Praveen, K. Dabrowski and K. J. Lee (2004), Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response

to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). *Aquaculture*, 242: 553–569.
11- Combs Jr., G.F. (1992), The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health. Academic Press, San Diego. 525 pp.
12- Donaldson, E.M.1981.the pituitary – interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: Pickering, A.D (Ed), stress and fish. Academic press, London, pp: 11-47.
13- Garcia, F., F. Pilarski, E.M. Onaka, F. R. Moraes and M.L. Martins, 2007. Hematology of Piaractus mesopotamicus fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture, 271: 39–46.
14- Golovina, N.A, trombicky I.D. (1989), Hematology of pond fish. Kishinev. Shtiinca, 158 pp. (in Russian).
15- Golovina, N.A. (1996), Morphofunctional characteristics of the blood of fish as objects of aquaculture- doctoral thesis, Moscow, 53 pp (in Russian)
16- Haglund, O., R. Luostarinen, R. Wallin, L. Wibell and T. Saldeen, 1991. The Effects of Fish Oil on Triglycerides, Cholesterol, Fibrinogen and Malondialdehyde in Humans Supplemented with Vitamin E. *Journal of Nutrition*, 121(2): 165-169.
17- Halver, J.E. (2002), The vitamins. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, CA, 61–141 pp.
18- Hamre, K., Waagbo, R., Berge, R.K., Lie, O., 1997. Vitamins C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar, L.*). Free Radic. Biol. Med., 22: 137–149.
19- Hung .S.S.O. (1991), Hand book of nutrition requirement of finfish. CRS Press. 153- 160.
20- Hung, S. S. O. and Deng, D. F. (2002), Sturgeon, *Acipenser* spp, in: Webster, C. D., and Lim, C. (Eds.), Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. CABI Publishing, 344 – 357.
21- Hwang, D. F., Lim, T. K., (2002), Effect of temperature on dietary vitamin C requirement and lipid in common carp. Comparative Biochemistry and Physiology, Biochemistry and Molecular Biology, 131B: 1-7. Invanovaon. T .1983 .Atlas of fish blood cell. Moskva izd, legkahai piscevaja promyselennost 75 p (in Russian).
22- Kaushik, S.J. (1995), Nutrient requirements, supply and utilization in the context of carp culture. Aquaculture, 129: 225-241.
23- Keefe, T. (2001), Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in Aquaculture Feeds .ASA Technical Bulletin, AQ 48: 1-9.
24- Kocaman, E. M., Yanik, T., Erdogan, O., Ciltas, A.K. (2005), Alteration in Cholesterol, Glucose and Triglyceride Levels in Reproduction of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal and Veterinary Advances, 4(9): 801-804.
25- Luskova, V. (1997), Annual cycles and normal values of hematological parameters in fishes. Acta Sc. Nat. Brno., 31(5): 70.
26- Miyasaki, T., Sato, M., Yoshinaka, R., Sakaguchi, M. (1995), Effect of vitamin on lipid and carnitine metabolism in rainbow trout. Fisheries (Tokyo), 61: 501 -506.
27- Nakagawa, H., Sato, M., Gatlin, D. M. (2007), Dietary

supplements for the health and quality of cultured fish. CRC Press. USA, 220pp.
28- National Research Council (NRC) (1993), Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC, 114 pp.
29- Parihar, M.S., Dubey, A.K., Faveri, T., Prakash, P. (1996), Changes in lipid peroxidation, superoxide dismutase activity, ascorbic acid and phospholipid content in liver of freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* exposed to elevated temperature. *J. Therm. Biol.*, 21: 323- 330.
30- Peterson, D., P. Vecsei and M. Hochleithner (2006), Threatened fishes of the world: *Acipenser ruthenus Linnaeus*, 1758 (Acipenseridae) Environ. Biol. Fishes. 2P.
31- Pottinger, T.G. and carrick, T.R. (1999), A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress responsiveness in female rain bow trout. *Aquaculture*, 175: 351-363.
32- Sandens, K. (1991), Vitamin C in fish Nutrition - a review. Fisk. Dir., Skr. Ser. Emaring, (4): 3-32.
33- Sealey, W.M., Gatlin, D.M. (2002), Dietary vitamin C and E interact to influence growth and tissue composition of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* female × *M. saxatilis male*) but have limited effect on immune responses. *Journal of Nutrition*, 132: 748 -755.
34- Tappel, A. L. (1962), Vitamin E as the biological lipid antioxidant. *Vitamin Hormone*, 20: 493–510.
35- Thrope, A. and Ince, B.W. (2000), the effect of pancreatic hormones catecholamines and glucose bading on blood metabolites in the northern pike (*Esox lucius*) Comparative Endocrinology, 23-44.
36- Verlhac, V., Gabaudan, J., Obach, A., Schuep, W. and Hole, R. (1996), Influence of dietary glucans and vitamin C on nonspecific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 143: 123–133.