تأثیرات اضافه نمودن ویتامین D در جیره غذایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss* با تأکید بر متابولیسم کلسیم

*سجاد دهقان‌زاده[۱]، عباسعلی زمینی[۲] و حسین خارا[۲]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران،

[۲]استادیار و عضو هیأت علمی گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۷

چکیده

ویتامین D با متابولیسم کلسیم و فسفر در ارتباط بوده و در جذب و رسوب مواد معدنی در استخوان مؤثر است. ماهیان تنها قادر به استفاده از ویتامین D_3 می‌باشند و کول کلسیفرول شکلی است که به جیره غذایی ماهی‌ها اضافه می‌شود. این پژوهش روی ۱۲۰ عدد بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی۳ گرم به‌مدت ۸ هفته در ۱۲ تانک فایبرگلاس با تراکم ۱۰ عدد بچه‌ماهی در هر تانک برای تعیین تأثیرات سطوح مختلف ویتامین D در متابولیسم کلسیم در ۹ تیمار غذایی و تیمار شاهد صورت گرفت. نتایج نشان داد که افزایش مقادیر ویتامین D_3 به جیره غذایی باعث افزایش فسفر و کلسیم پلاسما خون و کلسیم استخوان و کلسیم بافت عضله و آلکالین فسفاتاز می‌شود. در این پژوهش، ویتامین D منجر به رشد و استحکام استخوان‌ها، کاهش بروز ناهنجاری‌های استخوانی، رشد و تغذیه بهتر آبزی و در نهایت تولید یک ماده غذایی بسیار مناسب در زندگی انسان می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، ویتامین D، متابولسیم کلسیم، کول‌کلسیفرول، آلکالین فسفاتاز

مقدمه

رشد فزاینده جمعیت جهان، تامین غذا و دست‌یابی به منابع غذایی جدید، یکی از مهم‌ترین مشغله‌های بشر امروزی است. یکی از راه‌کارهای انتخابی برای برآوردن نیازهای غذایی و به‌ویژه پروتئینی انسان، پرورش ماهی از جمله ماهیان سردآبی مانند قزل‌آلا است. در این‌حال این ماهی سهم با ارزشی در تأمین غذای انسان دارد و می‌توان گفت جزو نخستین گونه از خانواده آزادماهیان است که به‌عنوان غذای اصلی انسان، اهلی و پرورش‌یافته است. با توجه به ملزومات مورد نیاز برای پرورش این ماهی شامل؛ آب مناسب با دما و کیفیت مطلوب و به‌میزان کافی، زمین و شرایط اقلیمی موردنظر، مناطق و مکان‌های طبیعی مستعد برای این کار بسیار محدود می‌باشد. نظر به وجود محدودیت‌های خاص، ناگزیر به افزایش بهره‌برداری از منابع مساعد موجود آب و خاک هستیم که نیازمند شناخت از نیازهای زیستی این ماهی و شناخت عوامل مؤثر در افزایش رشد، وزن، بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن و به‌دنبال آن تولید بیش‌تر در واحد سطح می‌باشد. این مهم جز دست‌یابی به جدیدترین یافته‌ها و آخرین اطلاعات به‌دست آمده در زمینه این صنعت میسر نخواهد بود (دروموند سدویک، ۱۳۸٦). مراحل ابتدایی رشد ماهی قزل‌آلا در طول دوره تکثیر و پرورش ممکن است شرایطی ویژه و بحرانی از نظر تغذیه‌ای در شرایط پرورشی را تجربه کند و با تلفات

* مسئول مکاتبه: sajjad_dehghanzadeh@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

بیش‌تری همراه باشد که علاوه‌بر شرایط مناسب رشد ماهی، استفاده از افزودنی‌هایی هم‌چون ویتامین‌ها به جیره می‌تواند سبب افزایش سلامتی و موفقیت در پرورش شود. ویتامین‌ها بیش‌تر به‌صورت ترکیبات کوآنزیمی یا آنزیمی موجب تسریع فعالیت‌های زیستی می‌گردند که در مواد غذایی مختلف به مقادیر کم وجود دارند و ماهیت آن‌ها از عناصر غذایی ریز تا درشت متفاوت بوده که برای رشد طبیعی، تولیدمثل و حفظ شرایط طبیعی و متابولیسم صحیح بدن ضروری هستند. نبود هر کدام از ویتامین‌ها در جیره غذایی منجر به بروز بیماری خاصی می‌شود (شفرد و برومیج، ۱۳۸۱). ویتامین‌ها ترکیباتی فعال‌اند که به محیط فیزیکی و شیمیایی اطراف‌شان حساس‌ند و عواملی مثل دما، فشار، رطوبت، اصطکاک، شرایط زمانی و نور می‌تواند روی تثبیت‌شان در طول فرآوری و ذخیره غذا اثر بگذارد (گدارد، ۱۳۸۰). همچنین نقش عمده‌ای در متابولیسم مواد غذایی و تقویت سیستم ایمنی ماهیان داشته و در شکل‌گیری بافت‌های بدن نیز ضروری هستند. ویتامین D تقریباً از ۱۰ ترکیب استرولی متفاوت با فعالیت ویتامینی ساخته شده است، در حالی‌که از نظر عملکردی فقط دو ترکیب از آن‌ها دارای اهمیت می‌باشد: ارگوکلسیفرول (D_2) و کول‌کلسیفرول (D_3) که ماهیان تنها قادر به استفاده از ویتامین D_3 می‌باشند. کول‌کلسیفرول شکلی است که به جیره غذایی ماهی‌ها اضافه می‌شود و توسط یک ناقل پروتئینی اختصاصی به کبد منتقل شده و در کبد به ۲۵- هیدروکسی کول‌کلسیفرول یا D_3-OH-۲۵ و در نهایت به D_3-OH_2-۲۵ ,۱ تبدیل می‌گردد. این ترکیب به بافت‌های چربی، ماهیچه‌های اسکلتی و استخوان‌ها انتقال و ذخیره می‌گردد (وبستر و لیم، ۱۳۸۵). ویتامین D موجب افزایش جذب کلسیم و فسفر در روده‌ها شده و هنگامی‌که کمبود ویتامین D ایجاد شده باشد، تجویز آن باعث کاهش مقدار دفع کلسیم و فسفر از طریق مدفوع و به‌میزان کم‌تری سبب افزایش دفع ادراری این عناصر می‌گردد. نتیجه این عمل، افزایش جذب و ذخیره کلسیم و فسفر در بدن است، همچنین نبود ویتامین D موجب پیدایش اختلالاتی در عمل استخوان‌سازی می‌شود (مخیر، ۱۳۷٤). از اهداف این پژوهش، بررسی اثرات ویتامین D در جذب کلسیم اشاره کرد چرا که در ایران کم‌تر به اهمیت این ویتامین در تغذیه آبزیان پژوهشی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌مدت ۸ هفته در تابستان ۱۳۹۱ در ۱۲ تانک فایبرگلاس در سالن سرپوشیده مرکز تحقیقات شفق داروی پارسیان واقع در روستای خرف شهرستان صومعه‌سرا، با آب ورودی از چاه انتخاب شدند. ۱۲۰ عدد بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۳ گرمی با تراکم ۱۰ عدد در هر تانک رهاسازی شد. به‌منظور تغذیه لاروها، یک نوع غذای خشک اکسترودر $EXS_{٤}$ شرکت کیمیاگران تغذیه برای تغذیه ۳ بار در روز مورد استفاده قرار گرفت. همچنین حدود ۱۰۰ گرم ویتامین D_3 پودری با درجه خلوص ۱۰۰ درصد با مارک DSM (سوئیس) از این شرکت تهیه گردید. برای آماده‌سازی تیمارها پس از محاسبه‌ها انجام شده، مقدار ویتامین D_3 برای هر تیمار توسط ترازوی A&D دیجیتال سری GH با دقت یک‌صد هزارم گرم اندازه‌گیری و در ۱۰۰ سی‌سی الکل اتیلیک طبی ۹٦ درصد شرکت کیمیا الکل زنجان با فرمول C_2H_5OH حل و با ۹۰۰ سی‌سی آب مقطر مورد رقیق‌سازی گرفت و روی یک کیلوگرم غذا اسپری شد. این آزمایش‌ها در تیمارهای ۳۰۰۰، ٤۰۰۰ و ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 و گروه شاهد در ۳ تکرار صورت پذیرفت. همچنین با فواصل زمانی یک‌هفته‌ای، در ۳ نوبت (صبح، ظهر و عصر)، میانگین

Archive of SID
www.SID.ir

درجه حرارت آب و سختی آب (توسط دستگاه HM Digital)، اکسیژن محلول (توسط دستگاه AZ model 8403)، pH (توسط دستگاه AZ model 8658) اندازه‌گیری شد. به‌منظور خون‌گیری، ماهی‌ها در هر تکرار به‌طور تصادفی صید و پس از خشک شدن با پارچه تنظیف، از طریق قطع ساقه دمی، ۱ میلی‌لیتر خون از هر تیمار درون لوله ویال اپندورف آغشته به ماده ضدانعقاد خون هپارین ریخته شد. نمونه‌ها در یک کلمن شامل یخ خشک به آزمایشگاه هماتولوژی دکتر فدایی در رشت منتقل شد و بلافاصله کلسیم و فسفر خون، ویتامین D_3 خون، آلکالین فسفاتاز خون مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین از هر یک از تیمارها، تعداد یک عدد بچه‌ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و پس از خشک کردن، خالی نمودن محتویات شکم، قطع سر و دم و تفکیک استخوان و بافت هر نمونه، به آزمایشگاه دکتر علوی در رشت منتقل و به روش خاکستر خشک مطابق با استاندارد AOAC-1996 مقادیر کلسیم بافت عضله و استخوان به‌دست آمد. نمونه‌ها با از دست دادن آب خود در دمای ۱۳۵ درجه سانتی‌گراد، در دمای ۵۵۰-۴۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ ساعت خشک شدند و با اضافه کردن ۲ مول اسید نیتریک به کوره سرد منتقل شدند. در پایان، به خاکستر به‌دست آمده ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلراید اضافه و با دستگاه جذب اتمی مقدار کلسیم اندازه‌گیری شد (Perkin-Elmer Corporation، ۱۹۹۶). کلسیم خون براساس میلی‌گرم کلسیم در دسی‌لیتر به روش کلریمیتریک (متیل تیمول بلو) و روش دو محلوله با دستگاه اتوآنالایزر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، فسفر خون براساس میلی‌گرم فسفات در دسی‌لیتر پلاسما به روش فسفومولیبدات (فوتومتریک) با طول موج ۳۴۰ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با دستگاه اتوآنالایزر، آلکالین فسفاتاز خون براساس ۳ واحد بین‌المللی در لیتر به روش فوتومتریک (آنزیمیت) به روش دو محلوله براساس استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان (DGKC) با طول موج ۴۰۵ نانومتر و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند (Thomas، ۱۹۹۸؛ Fischbach و Zawta، ۱۹۹۲). اندازه‌گیری ویتامین D خون نیز توسط کیت تجاری EUROIMMIN به روش الایزا[1] (25-OH Vitamin D ELISA Test instruction) براساس نانوگرم ویتامین D در میلی‌لیتر به‌دست آمد (Euroimmun و همکاران، ۲۰۰۷). به‌منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک[2] استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها به‌منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس از انجام آزمون تست آزمون واریانس هموژنی[3] برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. در صورت نرمال نبودن داده‌ها برای مقایسه تیمارها از آزمون کروسکال والیس[4] و به‌منظور مقایسه بین دو گروه از آزمون من- ویتنی[5] استفاده شد. همه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel ۲۰۰۳ استفاده شد.

نتایج

در مقایسه میانگین میزان ویتامین D خون، نتایج نشان داد که ویتامین D خون بچه‌ماهیان در شاهد و تیمار ۳ کم‌تر از سایر تیمارها بوده است و در تیمار ۱ از بیش‌ترین مقدار برخوردار بوده است و از نظر آماری اختلاف معنی‌دار بین شاهد و تیمار۳ با تیمار ۱ و ۲ مشاهده گردید ($P<0/05$).

1- ELISA
2- Shapiro-Wilk
3- Test of Homogeneity of Variances
4- Kruskal-Walis
5- Mann-Whitney

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- میانگین (و خطای معیار) پارامترهای خون در جیره غذایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان.

تیمار	شاهد	۳۰۰۰IU (تیمار ۳)	٤۰۰۰IU (تیمار ۲)	٥۰۰۰IU (تیمار ۱)
ویتامین D خون	۲ ± ۰/۲^{a}	۲/٦ ± ۰/۱٥^{a}	٤/۲۷ ± ۰/۹۹^{b}	۹/۱۳ ± ۰/۷٥^{c}
کلسیم خون	۸/۱٥ ± ۰/۲٥^{a}	۹/٤۷ ± ۰/۰۹^{b}	۹/۷ ± ۰/۰٦^{b}	۱۰/۸۳ ± ۰/۰٦۷^{c}
فسفر خون	۱۸/۷٥ ± ۰/٤٥^{a}	۱۹/٦۷ ± ۰/۰۹^{ab}	۲۰/٤۳ ± ۰/٦۹^{b}	۲۲/۱٦ ± ۰/۱۲^{c}
آلکالین فسفاتاز خون	۳٥۷/٥ ± ۲/٥^{a}	٦۳۰/٦۷ ± ۳۳/۰٤^{b}	٦٦۲±۳۳/۳۰^{b}	۹۰٥ ± ۳۲/٥۳^{c}
کلسیم استخوان	۲/۳۹ ± ۰/٥۹^{a}	۲/٦۷ ± ۰/۱۲^{a}	۳/۸۳ ± ۰/۳٤^{b}	٤ ± ۰/۰۹۷^{b}
کلسیم بافت عضله	۰/٤٤ ± ۰/۰٤^{a}	۰/٥٤ ± ۰/۰۳^{ab}	۰/٦۰ ± ۰/۰۲^{bc}	۰/۷۱ ± ۰/۰٤^{c}

کلسیم خون بچه‌ماهیان در شاهد کم‌تر از سایر تیمارها بوده است و بیش‌ترین میزان کلسیم به‌ترتیب در تیمار ۱، ۲ و ۳ مشاهده شده است و از نظر آماری اختلاف معنی‌دار بین شاهد با تیمارها مشاهده گردید (P<۰/۰٥). فسفر خون بچه‌ماهیان در شاهد کم‌تر از سایر تیمارها بوده است و در تیمارهای ۱ و ۲ از بیش‌ترین مقدار برخوردار بوده است و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین شاهد با تیمارهای ۱ و ۲ مشاهده گردید (P<۰/۰٥). میزان آلکالین فسفاتاز خون در خون بچه‌ماهیان در تیمار ۱ بیش‌تر از سایر تیمارها بوده است و تیمارهای ۲ و ۳ در رتبه‌های بعدی قرار داشته‌اند و کم‌ترین میزان آلکالین فسفاتاز خون در خون بچه‌ماهیان در شاهد مشاهده شده است و از نظر آماری اختلاف معنی‌دار بین تیمار ۱ با شاهد و سایر تیمارها مشاهده گردید (P<۰/۰٥). میزان کلسیم استخوان ماهیان در تیمارهای ۱ و ۲ بیش از تیمار ۳ و شاهد بوده است و از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (P<۰/۰٥). همچنین کلسیم بافت عضله ماهیان در تیمارهای ۱ و ۲ بیش از تیمار ۳ و شاهد بوده است و از نظر آماری اختلاف معنی‌دار بین شاهد با تیمارها مشاهده گردید (P<۰/۰٥).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به محدودیت‌های پژوهش‌های انجام گرفته در خصوص ویتامین D و با توجه به این‌که از ویتامین‌های محلول در چربی (A-D-E-K)، تنها در مورد نیاز قزل‌آلای رنگین‌کمان به ویتامین E، مطالعات زیادی صورت پذیرفته است، بنابراین مقایسه نتایج این پژوهش با نتایج سایر پژوهش‌ها تا حد امکان و براساس منابع موجود صورت پذیرفته است. در بررسی فسفر پلاسما خون بچه‌ماهیان مورد آزمایش، نتایج این پژوهش با نتایج بارنت[1] و همکاران (۱۹۸۲) که بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد، اختلاف داشت که با افزایش مقدار ویتامین D_3 به جیره، فسفر خون چندان تغییر نکرده بود، دلایل این اختلاف می‌تواند موارد زیر باشد:

در این پژوهش فسفر مازاد نسبت به کلسیم در جیره غذایی کم‌تر بوده و باعث افزایش جذب فسفر شده است. همچنین شاید مقادیر آهن، آلومینیوم و منیزیم در آب در پژوهش‌های گذشته، بیش از حد مطلوب بوده که از طریق پیوند با فسفر تشکیل نمک‌های نامحلول داده و باعث توقف جذب فسفر شده است (وبستر و لیم، ۱۳۸٥). نتایج این پژوهش در مورد کلسیم پلاسما خون در بچه‌ماهیان با نتایج بارنت و همکاران (۱۹۸۲) که بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد، اختلاف داشت که با افزایش مقدار ویتامین D_3 به جیره، کلسیم خون چندان تغییر نکرده بود که شاید دلیل آن، کمبود ویتامین D یا

1- Barnett

Archive of SID
www.SID.ir

افزایش لیپید یا افزایش فیبر در جیره غذایی و یا حتی حضور اسید فایتیک که عاملی در جهت تشکیل فیتات کلسیم است شده و مانع از جذب کلسیم شده باشد. در بررسی کلسیم و فسفر پلاسمای خون که توسط Miranda de Oliveira و همکاران (۱۹۸۹) بر روی گونه ماهی منطقه آمازون در جنوب آمریکا به نام تامباکویی (*Colossoma macropomum*) انجام شد، اختلاف معنی‌داری در فسفر و کلسیم پلاسمای خون نشان داد که با نتایج این پژوهش بر روی قزل‌آلا مطابقت دارد. همچنین در بررسی کلسیم و فسفر پلاسمای خون گربه‌ماهی آب شیرین (*Heteropneustes fossilis*) اختلاف معنی‌داری در کلسیم و فسفر خون در پایان دوره ۱۰ روزه آزمایش به‌دست آمده از ویتامین D و متابولیسم‌های آن دیده شد که با نتایج این پژوهش بر روی بچه‌ماهی قزل‌آلا مطابقت دارد (Srivastav و همکاران، ۱۹۹۷). بررسی کلسیم استخوان و کلسیم بافت عضله در بچه‌ماهیان، نتایج این پژوهش با نتایج بارنت و همکاران (۱۹۸۲) که بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد، اختلاف داشت که در آن زمان با افزایش مقادیر ویتامین D تغییر معنی‌داری در کلسیم استخوان مشاهده نشد که شاید دلیل آن را پس از گذشت چندین سال بتوان در پیشرفت ابزارهای اندازه‌گیری با درصد خطای پایین و جیره‌های غذایی و ترکیبات غذایی در زمان حال دانست. نتایج به‌دست آمده از بررسی آلکالین فسفاتاز پلاسما خون در بچه‌ماهیان با یافته‌های Shiau و Hwang (۱۹۹٤) روی میگوی ببری سیاه انجام دادند، یکسان بود که افزایش ویتامین D جیره غذایی، آلکالین فسفاتاز خون را در قیاس با شاهد افزایش داد. این پژوهش که بر روی بچه‌ماهیان قزل‌آلا انجام شد با نتایج Gupta (۲۰۰٤) که روی بچه‌ماهی انگشت‌قد کپور هندی انجام شد، اختلاف داشته است که با افزایش غلظت ویتامین D با کاهش این آنزیم مواجه شده بود. شاید یکی از دلایل کاهش این آنزیم در پژوهش گوپتا را بتوان کمبود ویتامین D جیره غذایی دانست. در بررسی دیگری که بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط بارنت و همکاران (۱۹۸۲) انجام شد، سطوح آلکالین فسفاتاز پلاسمای خون در قیاس با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت که شاید دلیل این اختلاف با این پژوهش را بتوان در غلظت‌های آن آزمایش دانست که سطوح ویتامین D_3، ۲۵۰ و ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 طراحی شده بود که حتی از غلظت استاندارد ۲٤۰۰-۱٦۰۰ واحد بین‌المللی برای ماهی قزل‌آلا کم‌تر بوده است. نتایج سطح ویتامین D خون در این پژوهش با نتایج بارنت و همکاران (۱۹۸۲) بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان مطابقت دارد.

از نتایج بارز و بسیار مهم این پژوهش می‌توان به افزایش مقادیر کلسیم استخوان در سایر تیمارها در قیاس با تیمار شاهد که منجر به رشد و استحکام استخوان‌ها، کاهش بروز ناهنجاری‌های استخوانی، رشد و تغذیه بهتر آبزی و در نهایت تولید یک ماده غذایی بسیار مناسب در زندگی انسان اشاره نمود. همچنین از نتایج مهم‌تر دیگر، افزایش میزان کلسیم بافت عضله ماهی در سایر تیمارها در قیاس با تیمار شاهد است که این مطلب در تغذیه انسان به‌دلیل این‌که همواره در سال‌های اخیر اثبات شده که کمبود ویتامین D در انسان مشهودتر شده است، بسیار مهم می‌باشد. بنابراین توجه به استفاده از مواد غذایی هم‌چون ماهی که تامین‌کننده بسیاری از ریزمغذی‌ها و مواد معدنی است، در این راه نقشی مؤثر دارد اما امروزه با توجه به کاهش صید و افزایش نرخ جمعیت انسانی نیاز است منابع جایگزین برای

Archive of SID
www.SID.ir

مصرف در نظر گرفته شود، پس نقش آبزی‌پروری بارزتر می‌گردد. نتایج این پژوهش تأیید می‌کند که اضافه کردن ویتامین D در جیره غذایی، ارتباطی بسیار ارزشمند با افزایش سطوح کلسیم استخوان، بافت ماهی و افزایش کلسیم پلاسمای خون شده که در نهایت محصولی با کیفیت بالا در اختیار انسان قرار می‌دهد تا در زندگی استفاده کند.

سپاسگزاری

از دکتر گلپایگانی به‌دلیل در اختیار قرار دادن محل اجرای آزمایش‌ها و مزرعه تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلا و همچنین دکتر جوادی به‌دلیل تامین بچه‌ماهی قزل‌آلای این پروژه و در اختیار قرار دادن تجربیات چندین ساله خود سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

۱- دروموند سدویک، ا.، ۱۳۸٦. راهنمای پرورش و تکثیر ماهی قزل‌آلا. ترجمه عبدا... مشائی. چاپ سوم. انتشارات دریاسر. ۲۰۸ ص.

۲- شفرد، ج.، و برومیج، ن.، ۱۳۸۱. پرورش متراکم ماهی- جلد اول. ترجمه ستاری و معتمد. چاپ دوم. انتشارات دانشگاه گیلان. ۱۹٤ ص.

۳- گدارد، ا.، ۱۳۸۰. مدیریت تغذیه در پرورش متراکم آبزیان. ترجمه: علیزاده، م.، دادگر، ش. چاپ اول. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان- اداره کل آموزش و ترویج. ۱۹۰ ص.

٤- مخیر، ب.، ۱۳۷٤. بیماری‌های ماهیان پرورشی- چاپ سوم. انتشارات دانشگاه تهران. ۳٦۹ ص.

۵- وبستر، ک.د.، و لیم، ک.، ۱۳۸۵. تغذیه و نیازهای غذایی ماهیان در آبزی‌پروری (با تأکید بر گونه‌های قابل پرورش در ایران). ترجمه ابراهیمی، ع.، بیرقدار، ا. چاپ اول. مرکز انتشارات جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان. ۲۹۲ ص.

6.Barnett, B.J., Young Cho, C., and Slinger, S.J., 1982. Relative biopotency of dietary Ergocalciferol and Cholecalciferol and the role of and requirement for vitamin D in rainbow trout. Department of Nutrition. College of biological Science. 112, 2011-2019.

7.Barnett, B.J., Jones, G., Young Cho, C., and Slinger, S.J., 1982. The Biological activity of 25-Hydroxycholecalciferol and 1, 25- Dihydroxycholecalciferol for Rainbow Trout. Department of Nutrition. College of biological Science. 112, 2020-2026.

8.Euroimmun, A.G., Stocker, W., and Schlumberger, W., 2007. Alle Beitrang zum Thema Autoimmundiagnostik. In: Gressner A., Arndt T. (Hrsg.) Springer Lexikon Klinische Chemie. Medizinische Lbordiagnostik von A-Z.Springer Medizin Verlang, Heidelberg 1.

9.Fischbach, F., and Zawta, B., 1992. Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures. Klim Lab. 38, 61-555.

10.Gupta, A.K., 2004. Effect of vitamin D diets on certain biological and biochemical profiles in the fingerling of *Catla catla*. Department of Limnology and Fisheries. 38 (2), 97-100.

11.Miranda de Oliveira, A., de Assis Mendes, F., Cristina Leite Menezes, and Adalberto Luis Val, A., 1989. Effect of vitamin D supplementation on haematoligical parameters and weight gain of Tambaqui (*Colossoma macropomum*). Instituto Nacinal de Pesquisas da Amazonia.

12.Perkin-Elmer Corporation, 1996. Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy. 310P. Copyright ©. The Perkin-Elmer Corporation. All rights reserved. Printed in the United States of America.

13.Shiau, Sh.Y., and Hwang, J.Y., 1994. The dietary requirement of juvenile grass shrimp (*Penaeus Monodon*) for vitamin D. Department of Marine Food Science, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan 202, Republic of China. pp. 2445-2450.

14.Srivastav, A.K., Srivastav, S.K., Sasamaya, Y., Suzuki, N., and Norman, A.W., 1997. Vitamin D metabolism affect serum Calcium and Phosphate in freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. Zoological Science. 14, 743-746.

15.Thomas, L., 1998. Clinical Laboratory Diagnostic 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, pp. 136-46.

Archive of SID

www.SID.ir