

## بررسی مقایسه ای تیمار ویتامین D3 بر عملکرد و ارتباط متقابل رشد و سیستم ایمنی

### بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*

سجاد دهقانزاده<sup>1</sup>، عباسعلی زمینی<sup>2</sup>، حسین خارا<sup>3</sup>

1- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، لاهیجان، ایران.

Sajjad\_dehghanzadeh@yahoo.com

2- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، استادیار گروه شیلات، لاهیجان، ایران.

تاریخ دریافت: 92/1/26 تاریخ پذیرش: 93/2/27

#### چکیده

زمینه و هدف: رشد یکی از پیچیده ترین پدیده‌هایی است که کمیت، کیفیت و مواد تشکیل دهنده غذا در آن موثر می‌باشد. در این بین برای کاهش خطر بیماری‌ها، بایستی سطح مقاومت ماهیان به عفونت‌ها را از طریق تحریک‌های ایمنی بدن با بالا بردن کیفیت غذایی از جمله با استفاده از ویتامین‌ها افزایش داد. از آنجا که سطوح غیرعادی ویتامین D یک عامل تصادفی در بسیاری از بیماری‌هاست، هدف از این تحقیق، بررسی ارتباط هم جهت بین فاکتورهای رشد با سیستم ایمنی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان تیمار شده با این ویتامین می‌باشد.

روش کار: در طول 8 هفته این آزمایش بر روی 120 عدد بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان با میانگین وزنی 3 گرم در 12 تانک فایبرگلاس با تراکم 10 عدد انجام شد. این تحقیق در 3 تیمار غذایی و 1 گروه شاهد با 3 تکرار، در غلظت‌های 3000 و 4000 و 5000 ویتامین D3 صورت پذیرفت. هر 2 هفته یکبار شاخص رشد اندازه‌گیری و پس از اتمام دوره میزان گلبول‌های سفید خون، ویتامین D3 خون، ایمونوگلوبولین کل مورد اندازه‌گیری قرار گرفته شد.

یافته‌ها: تحقیق حاضر نشان داد که کلیه فاکتورهای رشد در پایان دوره، در تیمارهای 4000 و 5000 بیش از سایر تیمارها بوده و اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). همچنین در پایان دوره ویتامین D3 خون و ایمونوگلوبولین کل اختلاف آماری معناداری با سایر تیمارها داشت ( $P < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: تیمار ویتامین D3 موجب رشد بهینه هم‌سو با افزایش سیستم ایمنی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: قزل آلائی رنگین کمان، ویتامین D3، فاکتورهای رشد، سیستم ایمنی.

#### مقدمه

لازمه آن، انجام تحقیقات بیشتری در زمینه گونه‌های مختلف آبزیان است (15). پرورش آبزیان نه تنها نسبت به دامپروری دارای مزیت‌های بیشتری است، بلکه در بین بهره‌برداری‌های شیلاتی نیز فعالیتی ممتاز به شمار می‌رود زیرا در این کار نه تنها نظارت کامل انسان بر تاسیسات پرورشی آبزیان حاکم است بلکه تاسیسات مربوط به این گونه فعالیت‌ها به دلیل استقرار در آب‌های داخلی تحت تاثیر تجاوز سیاست‌های بیگانه قرار نمی‌گیرد (14). در حال حاضر صنعت آبزی پروری در زمینه ماهی قزل آلا رنگین کمان در سطوح مختلف توسعه پیدا کرده است اما

کشور ایران با داشتن آب و هوای مناسب، رودخانه‌ها، تالاب‌ها، دریاچه‌ها مناطقی مستعد و قابل استفاده برای پرورش آبزیان را دارد (15). از آنجا که تکثیر و پرورش آبزیان به منظور تولید و تامین بخشی از پروتئین جامعه، عامل خود کفایی اقتصادی است، صنعت آبزی پروری مورد توجه دولت‌ها و نهادهای مربوطه با هدف راه-اندازی سیستم‌های علمی و صنعتی می‌باشد (15). با توجه به این که روند صنعتی شدن در ایران بسیار سریع و در خور توجه است، پس امیدست در آینده روش‌های علمی تر جایگزین روش‌های سنتی و غیر علمی گردد که

با مشکلاتی هم چون تلفات در زمان شروع تغذیه فعال روبرو است (6). مشکلاتی از قبیل افت کیفیت آب جهت پرورش، تغذیه ناکافی، تراکم بیش از حد و پایین بودن اکسیژن محلول منجر به بروز استرس، کاهش رشد و بروز تلفات را در پی خواهد داشت (25). نیاز آبی پروری متراکم به غذاهای دارای ارزش غذایی مکمل، سبب تحقیقات گسترده در زمینه تغذیه آبزیان شده است. توسعه و تکامل غذاهای فرموله برای قزل آلا و ماهی آزاد، جایگاه مهمی در رشد صنعت تولید خوراک‌های آبزیان یافته است (10). ماهیان زندگیشان به محیط آبی وابسته بوده و مکانیسم‌های خاصی برای ادامه زندگی در این محیط حیاتی یافته‌اند و از آنجا که ارتباط ماهیان با این محیط از طریق پوست و آبشش برقرار می‌شود، کوچک‌ترین عدم تعادلی، منجر به استرس و مستعد شدن در بروز بیماری و تلفات می‌گردد (8). در این بین ویتامین‌ها اغلب موجب تسریع فعالیت‌های زیستی شده و برای رشد طبیعی، تولید مثل و حفظ شرایط طبیعی و متابولیسم صحیح بدن ضروری‌اند و فقدان هر کدام از ویتامین‌ها در جیره غذایی منجر به بروز بیماری خاصی می‌شود (20)، لذا برای کاهش خطر بیماری‌ها، بایستی سطح مقاومت ماهیان به عفونت‌ها افزایش یابد در این میان می‌توان از مواد محرک سیستم ایمنی بدن مثل ویتامین‌ها استفاده نمود (21). دلایل بهبود رشد به نقش ویتامین D در رشد و استحکام استخوان‌ها، کاهش بروز ناهنجاری‌های استخوانی، رشد و تغذیه بهتر آبزیان، سلامت ماهی، تغذیه و فعالیت آنزیمی مناسب‌تر، هضم بهتر مواد غذایی، نفوذپذیری بالای روده، افزایش جذب مواد مغذی بر می‌گردد. پس کمبود این ویتامین در بدن می‌تواند منجر به انواع بیماری‌ها، متوقف شدن رشد و یا حتی مرگ شود. هم‌چنین ویتامین‌ها نقش عمده‌ای در متابولیسم مواد غذایی و تقویت سیستم ایمنی ماهیان داشته و در شکل‌گیری بافت‌های بدن نقش دارند (24). معمولاً

رشد حیوانات بدین صورت تعریف می‌گردد: افزایش وزن بدن در فواصل معین زمانی بر اساس ویژگی‌های گونه‌ای این جمله نشان می‌دهد که میزان رشد در مراحل مختلف برای هر یک از گونه‌ها ویژگی‌های خاصی دارد. حداکثر رشد، از نقطه نظر افزایش وزن و اندازه، بر اساس میزان تغذیه و مطلوب بودن رژیم غذایی تعیین می‌شود. رشد واقعی در حقیقت به مفهوم افزایش بافت‌های ساختاری، نظیر عضلات و استخوان‌ها و سایر اندام‌ها است (20). ویتامین D تقریباً از 10 ترکیب استروئیدی متفاوت با فعالیت ویتامینی ساخته شده است، در حالی که از نظر عملکردی فقط دو ترکیب از آن‌ها دارای اهمیت می‌باشد: ارگوکلسیفرول یا D2 و کولکلسیفرول یا D3 که ماهیان تنها قادر به استفاده از ویتامین D3 می‌باشند (24). در چند دهه گذشته مشخص شده که ویتامین D نقش مهمی در فرآیندهای بیولوژیکی دیگر ایفا می‌کند که علاوه بر هموستازی کلسیم و فسفات، در عملکرد ماهیچه‌ها، بیماری‌های خود ایمنی و فیزیولوژی قلبی - عروقی مربوط می‌شود (16). در این تحقیق در نظر است با افزودن ویتامین D3 مازاد موجود در جیره غذایی، ارتباط متقابل بین رشد با سیستم ایمنی بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان در قیاس با تیمار شاهد مورد مقایسه و اثبات قرار داده شود.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق به مدت 8 هفته در تابستان 1391 در 12 تانک فایرگلاس با حجم 100 لیتر آب در سالن سرپوشیده مرکز تحقیقات شفق داروی پارسیان واقع در روستای خرف شهرستان صومعه سرا، با آب ورودی از چاه انتخاب شد. 120 عدد بچه ماهی قزل آلا رنگین کمان 3 گرمی از کارگاه تکثیر بچه‌ماهی قزل آلا دکتر جوادی واقع در روستای لادمخ شهرستان صومعه سرا تهیه و با تراکم 10 عدد در هر تانک رهاسازی شد. به منظور تغذیه از غذای خشک اکسترودر EXS4 تولیدی شرکت

کیمیاگران تغذیه شهرکرد مطابق با جدول 1 در طول 8 هفته برای تغذیه روزانه 3 بار در روز ماهیان مورد استفاده قرار گرفت.

جدول 1- جدول مشخصات فیزیکی و آنالیز خوراک اکسترودر EXS4

نام محصول	میزان پروتئین	میزان چربی	میزان فیبر	میزان رطوبت	سایز خوراک	وزن ماهی
EXS4	46%	15%	2%	10%	1/5 میلی متر	3-5 گرم

دستکاری‌های فیزیکی، اقدام به زیست سنجی با فواصل زمانی دو هفته‌ای گردید. بدین منظور برای اندازه‌گیری وزن کل بچه ماهیان هر تانک صید و به ظرف‌هایی حاوی آب منتقل و در نهایت پس از کسر وزن مقادیر اندازه‌گیری شده از وزن ظرف و آب، وزن بچه ماهیان محاسبه شد. وزن زیست توده زنده مبنایی برای محاسبه مقدار غذای دو هفته آینده بود. لازم به ذکر است که محاسبه طول بچه ماهیان بر اساس میانگین وزن 5 عدد بچه ماهی و بر اساس صید تصادفی از هر تانک صورت پذیرفت و پس از انجام مراحل بیهوشی با عصاره پودر گل میخک با غلظت 0/5 گرم در لیتر و خشک کردن بدن آن‌ها با کمک پارچه تمپف، طول کل آن‌ها بر روی تخته بیومتری اندازه‌گیری شد (6). هم‌چنین میزان غذای پلت مورد نیاز روزانه برای تمامی تیمارها بر اساس نتایج زیست سنجی و میانگین وزنی بچه ماهیان هر یک از تانک‌های پرورش و متناسب با دمای آب و اشتهای ماهیان مطابق 3 درصد وزن بدن برای هر روز محاسبه گردید. فاکتورهای رشد که در این تحقیق انجام گرفت شامل موارد ذیل می‌باشد (19):

اندازه‌گیری درصد بقا، اندازه‌گیری افزایش وزن بدن، اندازه‌گیری نرخ رشد ویژه، اندازه‌گیری میانگین رشد روزانه، اندازه‌گیری درصد افزایش وزن، اندازه‌گیری طول نهایی بدن، اندازه‌گیری وزن نهایی. به منظور خونگیری، در پایان دوره، 2 ماهی از هر تکرار در ساعت 8 صبح که از قبل 24 ساعت قطع غذا شده بودند به طور تصادفی صید و پس از خشک کردن توسط پارچه تمپف، از طریق قطع ساقه دم، یک میلی‌لیتر خون از

برای انجام این تحقیق حدود 100 گرم ویتامین D3 پودری با درجه خلوص 100 درصد با مارک DSM (رشد سوئیس) از شرکت خوراک آبریان کیمیاگران تغذیه شهرکرد تهیه شد. برای آماده‌سازی تیمارها پس از محاسبات انجام شده، مقدار ویتامین D3 برای هر تیمار توسط ترازوی A&D دیجیتالی سری GH با دقت یک صد هزارم گرم اندازه‌گیری گردید. مقادیر ویتامین D3 برای هر تیمار، در 100 سی سی الکل اتیلیک طبی 96 درصد (ساخت شرکت کیمیا الکل زنجان) حل و با 900 سی سی آب مقطر مورد رقیق‌سازی قرار گرفت و بر روی یک کیلوگرم غذا در فضای باز و در معرض جریان هوا و در سایه مورد اسپری قرار گرفت تا آب مخلوط شده به غذا به آرامی تبخیر گردد. این آزمایشات در تیمارهای 3000، 4000، 5000 واحد بین المللی ویتامین D3 و گروه شاهد در 3 تکرار صورت پذیرفت. دلیل استفاده از ویتامین D3 در این تحقیق، به نقش کارکردهای دیگری مثل بیماری‌های خود ایمنی و کارکرد سیستم ایمنی که موثر در رشد اند بر می‌گردد و از آن جا که نیاز این ماهی به این ویتامین در حدود 2400 واحد بین المللی است (24) و در گذشته بر روی این ماهی غلظت‌های 200 تا 2400 واحد بین المللی مورد بررسی قرار گرفته است (5، 4)، سعی شده با افزایش غلظت ویتامینی، اثرات احتمالی بر رشد و هم‌چنین در صورت امکان، محدوده مناسب برای ماهی قزل‌آلا به این ویتامین با شرایط آب و هوایی ایران سنجیده شود. برای آگاهی از میزان رشد بچه ماهیان در طول دوره پرورش، برای کاهش استرس احتمالی و اثرات منفی ناشی از

ویلک و رسم نمودار هیستوگرام استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (Oneway ANOVA) و پس از انجام آزمون تست آزمون واریانس هموزنی جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. در صورت نرمال نبودن داده‌ها جهت مقایسه تیمارها از آزمون کروسکال والیس و به منظور مقایسه بین گروه‌ها از آزمون من ویتنی استفاده گردید. لازم به ذکر است که تمامی داده‌ها پارامتریک بوده‌اند، به‌جز داده‌های ائوزونوفیل که از آزمون کروسکال والیس برای بررسی آن استفاده گردید. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 17 و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2003 استفاده شد.

### نتایج

در مقایسه میانگین میزان وزن نهایی، طول نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، رشد روزانه، درصد افزایش وزن بدن در شاهد و تیمارهای مختلف در پایان دوره به منظور مقایسه دو به دو گروه‌ها با یکدیگر نشان داد که در تیمار 1 و تیمار 2 بیش از شاهد و تیمار 3 بوده و به لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ).

هر تیمار درون لوله ویال اپندورف آغشته به ماده ضد انعقاد خون هپارین ریخته شد. نمونه‌ها در یک کلمن حاوی یخ خشک به آزمایشگاه هماتولوژی دکتر فدایی در رشت منتقل و گلبول‌های سفید خون، ویتامین D3 خون، ایمونوگلوبین کل مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. اندازه‌گیری ویتامین D3 خون نیز توسط کیت تجاری Euroimmin به روش الایزا (25-OH Vitamin D ELISA Test instruction) بر اساس نانوگرم ویتامین D3 در میلی‌لیتر انجام شد (7). ایمونوگلوبین کل در این آزمایش بر اساس روش سیویکی و اندرسون (1993) محاسبه شده است. 0/1 میلی‌لیتر از هر سرم نمونه با 0/1 میلی‌لیتر از پلی اتیلن گلیکول 12٪ ترکیب و مخلوط حاصل پس از 2 ساعت انکوباسیون در دور 5000 در 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ استخراج شدند. پروتئین کل مانده در سطح، حجم پروتئین آن از روش Biuret به-دست آمد. در نهایت مقدار ایمونوگلوبین کل از کسر پروتئین ترکیب شده با PEG سانتریفوژ شده و بر حسب (mg/ml) حاصل شد (23). در تشخیص افتراقی، پس از تهیه گسترش خونی شناسایی انواع گلبول‌های سفید، تعداد و درصدشان اندازه‌گیری گردید (2). در نهایت، به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیرو

جدول 2- اثر ویتامین D3 بر روی میانگین شاخص‌های رشد

تیمار (IU)	وزن نهایی	طول نهایی	افزایش وزن بدن	نرخ رشد ویژه	میانگین رشد روزانه	% افزایش وزن
تیمار 1 5000IU	15/46 ± 0/53 b	13/23 ± 0/23 b	12/46 ± 0/53b	2/93 ± 0/06b	7/41 ± 0/32b	415/44 ± 17/86b
تیمار 2 4000IU	14/83 ± 0/44b	13/33 ± 0/33 b	11/83 ± 0/44b	2/85 ± 0/05b	7/04 ± 0/26b	394/22 ± 14/53b
تیمار 3 3000IU	13/08 ± 0/46 a	11/6 ± 0/30 a	10/25 ± 0/38a	2/73 ± 0/03a	6/46 ± 0/12a	361/75 ± 6/89a
شاهد	13/88 ± 0/12ab	11/75 ± 0/75a	10/92 ± 0/18ab	2/77 ± 0/04a	6/61 ± 0/22a	370/54 ± 12/21ab

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد

شاهد مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ) (جدول 3). مقایسه میانگین ایمونوگلوبین کل خون در شاهد و تیمارهای مختلف در پایان دوره به منظور مقایسه دو به دو گروهها با یکدیگر نشان داد که میزان ایمونوگلوبین کل خون بچه ماهیان به ترتیب در تیمار 1، تیمار 2 و تیمار 3 بیشتر از شاهد بوده است و به لحاظ آماری اختلاف معنی دار مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ) (جدول 3). مقایسه میانگین تعداد نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل خون در شاهد و تیمارهای مختلف در پایان دوره به منظور مقایسه دو به دو گروهها با یکدیگر نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی دار مشاهده نمی-شود ( $P > 0/05$ ) (جدول 4).

مقایسه میانگین میزان ویتامین D3 خون در شاهد و تیمارهای مختلف در پایان دوره به منظور مقایسه دو به دو گروهها با یکدیگر نشان داد که ویتامین D3 خون بچه ماهیان در شاهد و تیمار 3 کمتر از سایر تیمارها بوده است و در تیمار 1 از بیشترین مقدار برخوردار بوده و به لحاظ آماری اختلاف معنی دار بین شاهد و تیمار 3 با تیمار 1 و 2 مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ) (جدول 3). مقایسه میانگین تعداد گلبولهای سفید خون در شاهد و تیمارهای مختلف در پایان دوره به منظور مقایسه دو به دو گروهها با یکدیگر نشان داد که تعداد گلبولهای سفید خون بچه ماهیان در تیمار 2 و 3 بیش از سایر تیمارها و شاهد بوده است و به لحاظ آماری اختلاف معنی دار با تیمار 1 (که از کمترین مقدار برخوردار بوده است) و

جدول 3- اثر تیمار D3 در غلظت‌های مختلف بر روی شاخص‌های خونی

فاکتور تیمار	ویتامین D3 خون	گلبول‌های سفید	ایمونوگلوبین	درصد زنده مانی	کلسیم استخوان
1	9/13 ± 0/75 <sup>c</sup>	6500 ± 288/67 <sup>a</sup>	25 ± 0/57 <sup>b</sup>	80 ± 5/77 <sup>a</sup>	4 ± 0/097 <sup>b</sup>
2	4/27 ± 0/99 <sup>b</sup>	9333/33 ± 712/58 <sup>b</sup>	22/33 ± 0/88 <sup>b</sup>	96/66 ± 3/33 <sup>b</sup>	3/83 ± 0/34 <sup>b</sup>
3	2/6 ± 0/15 <sup>a</sup>	9566/67 ± 753/51 <sup>b</sup>	22/33 ± 0/88 <sup>b</sup>	86/66 ± 3/33 <sup>ab</sup>	2/67 ± 0/12 <sup>a</sup>
شاهد	2 ± 0/2 <sup>a</sup>	8150 ± 50 <sup>ab</sup>	17 ± 1 <sup>a</sup>	85 ± 5 <sup>ab</sup>	2/39 ± 0/59 <sup>a</sup>

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار می باشد

جدول 4- اثر تیمار D3 در غلظت‌های مختلف بر روی نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل خون

فاکتور تیمار	نوتروفیل	لنفوسیت	مونوسیت	ائوزینوفیل
5000IU	20/33 ± 1/20	76/33 ± 0/88	2 ± 0/57	1/33 ± 0/33
4000IU	23/33 ± 2/60	74/633 ± 2/60	1/67 ± 0/33	0/66 ± 0/33
3000IU	24/67 ± 2/73	72/33 ± 3/84	2 ± 0/58	1 ± 0/58
شاهد	21 ± 1	78 ± 1	1/5 ± 0/5	0/5 ± 0/5

### بحث و نتیجه گیری

سال 1982 که با غلظت‌های 800، 200، 1600 و 2400 واحد بین المللی ویتامین D3 بر روی قزل‌آلای رنگین کمان انجام شد مطابقت دارد (4، 5). بررسی کلسیم استخوان در بچه ماهیان مورد آزمایش در تحقیق حاضر نشان داد که در تیمارهای 5000 و 4000 واحد بین المللی

در بررسی سطوح ویتامین D3 خون در بچه ماهیان قزل‌آلا در تحقیق حاضر، با افزایش مقادیر ویتامین D3 جیره غذایی، ویتامین D3 موجود در پلاسما خون افزایش یافت. نتایج این تحقیق با نتایج Barnett و همکاران در

ویتامین D3 بیش از سایر تیمارها بوده است. نتایج این تحقیق با نتایج Barnett و همکاران در سال 1982 که بر روی قزل آلائی رنگین کمان انجام شد اختلاف داشته است که در آن زمان با افزایش مقادیر ویتامین D3 تغییر معناداری در کلسیم استخوان مشاهده نشد (5، 4) که شاید دلیل آن را پس از گذشت چندین سال بتوان در پیشرفت ابزارهای اندازه گیری و درصد خطای پایین جیره های غذایی و ترکیبات غذایی در زمان حال دانست. در تحقیق حاضر، افزودن سطوح مختلف ویتامین D3 به جیره غذایی تیمارهای آزمایشی بچه ماهیان قزل آلا، گلبول سفید خون را در پایان دوره با اختلاف معنادار با روند افزایشی مثبت مواجه ساخت که با توجه به درصد بازماندگی بالاتر در تیمار 4000 واحد بین المللی ویتامین D3 و هم چنین افزایش ایمونوگلوبین کل خون در سایر تیمارها در قیاس با شاهد، می توان گفت ویتامین D3 در بهبود سیستم ایمنی نقشی موثر داشته است. بدن هر موجود زنده زمانی که با کمبود ویتامین D مواجه شود معمولاً ضعیف شده و بدنشان قدرت کافی برای دفاع در مقابل باکتری ها و ویروس ها را نخواهد داشت (17). اگر چه در تحقیق حاضر، اختلاف معناداری در انواع گلبول های سفید خون در بین تیمارهای آزمایشی در پایان دور دیده نشد ولی سطوح برخی از آنها بیشتر از گروه شاهد بوده که بیانگر افزایش ایمنی غیر اختصاصی (فاگوسیتوزی) در قیاس با شاهد می باشد. گلبول های سفید در سیستم دفاعی و ایمنی بدن دخالت داشته و در برابر عوامل گوناگون بیماری زا در بدن ماهی مقاومت کرده و پاسخ ایمنی مختلفی بوجود می آورند. وظیفه اصلی شان تولید پادتن بوده و تمامی گرانولوسیت ها و مونوسیت ها با بیگانه خواری ذرات خارجی به مبارزه با عوامل بیماری زا می پردازند (2) که به طبع افزایش این سلول ها اثرات مثبت در فاکتورهای رشد خواهد گذاشت. لازم به ذکر است که در زمینه تاثیرات

ویتامین D روی گلبول های سفید خون در ماهیان تحقیق مشابهی مشاهده نگردید. بررسی سطوح ایمونوگلوبین ماهیان در تحقیق انجام شده در بچه ماهیان قزل آلا نشان داد که با افزایش مقادیر ویتامین D3 جیره غذایی، با افزایش ایمونوگلوبین خون بچه ماهیان که بیانگر افزایش سیستم ایمنی و به طبع افزایش گلبول های سفید خون و ایمنی زایی است. به طور کلی اساس سیستم ایمنی اختصاصی بر این است که ماهیان را به طور انفرادی قادر به بقا و حفظ تعادل داخلی خودشان در محیط می نماید (13). از آن جا که ماهی بدون مصرف غذای مناسب، سلامت خود را از دست می دهد، جیره های نامناسب باعث کاهش تولید و نهایتاً بروز بیماری می گردد (20). هم چنین چون سطوح غیرعادی ویتامین D3 یک عامل تصادفی در بسیاری از بیماری ها است (11). پس چرخه غذا، رشد و سیستم ایمنی، چرخه ای زنجیروار می باشد که کاهش یا افزایش در یکی از این موارد نتیجه مستقیم در دیگر عوامل برجا می گذارد. بچه ماهیان در پایان دوره آزمایش در این تحقیق، بیشترین اوزان را در تیمار 5000 و 4000 واحد بین المللی ویتامین D3 داشته اند و نتایج یافته ها حکایت از افزایش وزن نهایی دارد. نتایج تحقیق حاضر با نتایجی که در سال 1993 روی تیلاپیا (22) و سال 1980 توسط Andrews و همکاران روی گربه ماهی (3) انجام شد مطابقت دارد. هم چنین تحقیق توسط Gatlin و O'Connel در سال 1994 روی تیلاپای آبی از ترکیب مقادیر جیره های کلسیمی و ویتامین D3 صورت پذیرفت، اثبات کرد جیره های فاقد ویتامین D3 از وزن نهایی کمتری برخوردار می شوند که با نتایج تحقیق حاضر یکسان است (18). با عنایت به دستیابی مناسب ترین راندمان از نظر افزایش توده زنده نهایی، طول کل، وزن نهایی، میانگین افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، درصد افزایش وزن بدن، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه در پایان دوره در غلظت 5000

در قیاس با تیمار شاهد شرایط بهتری از این موارد را دارا بوده‌اند و هیچ گونه ناهنجاری در ماهیان مشاهده نگردید. لذا می‌توان نتیجه گرفت بین عملکرد رشد و سیستم ایمنی ارتباطی مستقیم پدید آمده است که زمانی که سیستم ایمنی افزایش یافته به طبع رشد بهتر حاصل شده است. در پایان با توجه به این که کمبود ویتامین D3 در سراسر جهان یک مشکل با اثرات بهداشتی جدی است (12)، لذا حفظ منابع تامین کننده این ویتامین حائز اهمیت دارد. در این بین ماهی ماده غذایی مهمی در این زمینه بوده و بایستی تولید بهتری با نرخ تلفات کمتر در لارو بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان در جهت بهینه سازی وضعیت تغذیه با استفاده از ویتامین D3 در جیره روزانه و انتقال به بدن در مراکز تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با غلظت 4000 واحد بین المللی ویتامین D3 صورت گیرد.

### تشکر و قدردانی

از دکتر گلپایگانی به دلیل در اختیار قرار دادن محل اجرای آزمایشات و مزرعه تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای و هم‌چنین دکتر جوادی به دلیل تامین بچه ماهی قزل‌آلای این پروژه و در اختیار قرار دادن تجربیات چندین ساله خود سپاسگزاری می‌نمایم.

واحد بین المللی ویتامین D3، از نقطه نظر اقتصادی اضافه کردن این غلظت به جیره منطقی خواهد بود. لذا نتایج حاصله از این تحقیق مشخص نموده است که کلیه فاکتورهای رشد با اضافه نمودن مقادیر ویتامین D3، رشد را بهبود بخشیده است. بررسی درصد بازماندگی در بچه ماهیان در این تحقیق، حکایت از وجود درصد زنده ماننی بالاتری در تیمار 4000 واحد بین المللی ویتامین D3 (96/66%) در قیاس با سایر تیمارها دارد. بنابراین افزایش ویتامین D3 در جیره غذایی، درصد زنده ماننی را افزایش داده و استدلالی بر نقش آن بر سلامت موجود زنده می‌باشد. اگرچه در تحقیق حاضر در بالاترین غلظت با کاهش درصد زنده ماننی مواجه شده‌ایم که می‌تواند به دلیل دستکاری‌ها و آسیب‌های فیزیکی و شرایط کارگاهی باشد. در پایان می‌توان اذعان نمود که رشد یکی از پیچیده‌ترین پدیده‌هایی است که نمی‌توان تنها با پیگیری یک فاکتور به چگونگی آن پی برد، بلکه عواملی مثل کمیت و کیفیت غذا و مواد تشکیل دهنده غذا، در زمره عوامل موثر در رشد هستند (9). هم‌چنین بهبود افزایش مقادیر کلیسم استخوان، ایمونوگلوبولین کل، گلبول‌های سفید نهایتاً می‌تواند شرایط رشد بهتر را در آبری سبب گردد که در تحقیق حاضر، سایر تیمارها

### منابع

1. Afshar Mazandaran, N. (2002). Scientific Guide of nutrition and food and drug aquaculture inputs in Iran. Publication by Nourbakhsh, 216.
2. Abdollah Mashae, M. (2007). Physiological functions in aquaculture of fish. First Edition. Publication by Daryasar, 128.
3. Andrews, J.W., Takeshi, M., Page, J.W. (1980). Effects of dietary cholecalciferol and ergocalciferol on catfish. *Aquaculture*, 19; 49-54.
4. Barnett, B.J., Jones, G., Young Cho, C., Slinger, S.J. (1982). The Biological activity of 25-Hydroxycholecalciferol and 1,25-Di hydroxyl cholecalciferol for Rainbow Trout. Department of Nutrition, College of biological Science. University of Guelphv Canada. 112. PP: 2020-2026.
5. Barnett, B.J., Young Cho, C., 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. University of Guelph Canada, 112; 2011-2019.
6. Drummond Sedgwick, E. (2007). Trout farming handbook. translated by: a. mashae. Publication by daryasar, 208.

7. Euroimmun, AG., Stocker, W., Schlumberger, W. (2007). All ebeitrang zum thema auto immune dia gnostic in: gressner a, arndt t (hrsg.) springer lexikon klinische chemie. Medizinische Labordiagnostik von A-Z. Springer Medizin Verlag, Heidelberg 1.
8. Farahani, R. (2001). Diseases of rainbow trout. First Edition. Publication by naghsh mehr. pp: 35.
9. Forouzanfar, A. (2005). Reproduction and aquaculture of salmon. First Edition. Iranian Fisheries Research Institute, pp: 175.
10. Goddard, S. (2001). Feed management in intensive aquaculture. translated by: alizadeh and dadgar. deputy of reproduction and aquaculture- general directorate of training and promotion, pp: 190.
11. Heaney, RP., Davies, KM., Chen, TC., Holick, MF., Barger, MJ. (2003). Human serum 25-hydroxy cholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. AM J Clin Nutr, 77; 201-210.
12. Holick, MF., Chen, TC. (2008). Vitamin D deficiency: A worldwide problem with health consequences. AM J Clin Nutr, 87; 1080-1086.
13. Jalali, J. (1998). Parasites and diseases of freshwater fish. Iranian Fisheries Company, 576.
14. Keyvan, A. (2002). An introduction to biotechnology of strudeons propagation. first editon. Publication by Islamic Azad University Of Lahijan, 270.
15. Moeinian, M.T. (2006). Carp and pond fish Culture. First Editon. Puplication by University of Jahad Branch of Isfahan, pp: 126.
16. Lock, EJ., Waagb, R., Wendlaar Bonga, S., Flik, G. (2010). The significance of vitamin D for fish: a review. Aquaculture Nutrition, 16; 100-116.
17. Niknam, A. (1381). Immune system and vitamin D. Articles on vitamin D disorders. Endocrinology and Metabolism Research Center, Tehran University of Medical Sciences, pp: 6.
18. O'Connel, JP., Gatlin, DM. (1994). Effect of dietary calcium and vitamin D3 on weight gain mineral composition of the blue tilapia (*Oreochromis aureus*) in low calcium water. Department of wild life and fisheries Sciences texas A&M University system, College Station, USA. 125; 107-117.
19. Bisvas, S.P. (2000). Methods of studying the biology of fish. Translated by: A. valipoor and S.A Bdolmaleki. Fisheries Research Centre of Guilan, 138.
20. Shepherd, J., Bromage, N. (2002). Intensive fish farming-Voll. Translated by: Sattari and motamed. Secend Edition. Publication by University of Guilan, pp: 194.
21. Sobhana, K.S., Mohan, C.V., Shankar, K.M. (2002). Effect of dietary vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) to experimental infection of *Aeromonas hydrophila*. J. Aquaculture, 207; 255-238.
22. Shiau, S.Y., Hwang, J.Y. (1993). Vitamin D requeriment of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Soc. Sci. Fish, 59(3); 553-558.
23. Siwicki, A. K., Anderson, D.P., Rumsey, G. K. (1993). Nonspecific defense mechanisms and disease resistance are enhanced in rainbow trout fed immunostimulants. In: Modulators of Fish Immune Responses. Models for Environmental Toxicology, Biomarkers, Immunostimulators, 1; 93-113.
24. Webster, K. D., Lim, K. (2006). Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. Translated by Ebrahimi, E., beyraghdar, O. The University of Industry Isfahan, jahad branch - center publication. 292.
25. Winton, J.R. (2001). Fish health management. In: Wedemeyer, G. (ed). Fish hatchery management. 2nd edition. Bethesda, MD: American Fisheries Society, 1; 559-639.

