

بررسی اثر سطوح مختلف ویتامین D جیره بر شاخص های تیروئیدی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

یاسمن محمدی چمپیری^۱، مژده چله مال دزفول نژاد^۲، مهرزاد مصباح^۳

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۰۱

تاریخ تصویب: ۹۵/۰۹/۲۲

چکیده

آزمایشی به منظور بررسی هورمونهای T^3 و T^4 به دنبال تجویز خوراکی ویتامین D در سه دوز متفاوت ($IU1000$ ، $IU3000$ و IU) به ازای هر کیلوگرم وزن زنده) انجام شد. تعداد ۱۸۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به وزن 25 ± 1 گرم، به چهار تیمار و سه تکرار تقسیم شدند و تعداد ۱۵ عدد بچه ماهی به صورت تصادفی در هر واحد آزمایشی قرار گرفت. ماهی ها به مدت ۶۰ روز با جیره های غنی شده با ویتامین D تغذیه شدند. در روز ۳۰ و روز ۶۰، از ماهی ها خونگیری بعمل آمد و سرم حاصله از نمونه های خونی جهت بررسی و مطالعه هورمون های T^3 و T^4 به آزمایشگاه منتقل شدند تا از روش تست الایزای رقابتی سطوح این هورمون ها اندازه گیری شود. نتایج این مطالعه نشان داد که هورمون های تیروئیدی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، تقریباً تحت تاثیر تجویز خوراکی ویتامین D افزوده شده به جیره قرار گرفته اند؛ به طوری که میزان T^3 در تیمار ($IU3000$) و تیمار ($IU5000$)، در روز ۳۰ تحقیق کاهش معنی داری ($>0P/05$) را نسبت به گروه کنترل نشان داد. هر چند میزان T^3 در پایان دوره اختلاف معنی داری نسبت به تیمار کنترل

۱- دانشجوی ارشد گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز

۲- استادیار، گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز

(نویسنده مسئول: m_chelemal@yahoo.com)

۳- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

و سایر تیمارها نداشت اما، با تداوم مصرف ویتامین D، افزایش سطح آنرا در تیمارهای (IU3000 و IU5000) در روز ۶۰ تحقیق شاهد بودیم و بالاترین میزان آن در تیمار (IU5000) مشاهده شد، اما هورمون T_4 چه در وسط دوره و چه در پایان دوره، تحت تاثیر ویتامین D افزوده شده به خوراک قرار نگرفت.

واژه های کلیدی: ویتامین D، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، هورمون های تیروئیدی (T_3 و T_4).

مقدمه

استخوان صورت می گیرد و همچنین در رابطه با متابولیسم فسفات و کلسیم تاثیر ویژه ای دارد و کمبود آن موجب اختلال در متابولیسم مواد معدنی می شود (Barnett et al, 1982). ویتامین D معمولاً نقش جذب کلسیم از روده آبزیان را بر عهده دارد. این ویتامین برای سنتز پروتئین های حاوی کلسیم در بدن مورد نیاز است. بعضی از متابولیت های ویتامین D به طور فعال در تنظیم هورمونی جذب کلسیم و متابولیسم آن دخالت دارند ویتامین D3 (کولکسیفرول) کارآمدترین شکل ویتامین D است، که از ۷-د-هیدروکسی کلسیترول (پیش ویتامین D3) مشتق شده است، که به عنوان فاکتوری محلول در چربی محسوب می شود (Afshar, 2002). ویتامین D3 را ویتامین طبیعی نیز می نامند. در بدن آنزیمی به نام کلسیترول دهیدروژناز وجود دارد که کلسیترول را به ۷-د-هیدروکسی کلسیترول تبدیل می کند و ترکیب اخیر در زیر پوست بدن در اثر اشعه ماوراء بنفش نور آفتاب به

هورمون تیروئید با اعمال اثر بر روی دامنه وسیعی از بافت های بدن، از مهم ترین عوامل تنظیم کننده متابولیسم پایه به شمار می آید (Greco, 2007). این هورمون ها بر روی میزان مصرف اکسیژن، تحریک گوانین برای تجمع در پوست و تغییر میزان سوخت و ساز مواد قندی و نیتروژن اثر می گذارند. تاثیر بر روی تنظیم اسمزی مایعات بدن مورد شک و تردید است ولی بر اساس تحقیقات تجویز تیروکسین، تمایل ماهیان آزاد جوان را برای مهاجرت به آب شور افزایش می دهد (Sattari, 2000). بسیاری از عوامل شیمیایی و تغذیه ای می توانند اثرات مثبت یا سوئی را بر متابولیت های بدن بجا بگذارند؛ در این بین، ویتامین D در جیره غذایی آبزیان پرورشی بسیار حائز اهمیت می باشد و معمولاً نقش جذب کلسیم از روده آبزیان را به عهده دارد. به عنوان مثال رشد اسکلتی در ماهی قزل آلابی رنگین کمان از طریق مواد معدنی

گندم بدون سبوس، روغن آفتاب گردان، پودر زئولیت با نسبت های ذکر شده و بصورت جداگانه، تهیه شد (Kazemi, 2009) (جدول ۱ و ۲). جیره تنظیم شده حاوی ۹۳٫۷ درصد ماده خشک، ۲۵٫۰۸ پروتئین، ۱۲٫۲ چربی، ۷٫۲ خاکستر و ۶٫۷۵ فیبر اندازه گیری شد. ویتامین D خالص و جامد از شرکت داروسازی ارس از بازار تهیه شد و از روغن زیتون به عنوان حلال آن استفاده گردید. میزان دقیق ویتامین دی به مواد خشک جیره اضافه شده سپس در میکسر قرار گرفته اند. خوراک ها پس از خشک شدن با روغن گیاهی بدون ویتامین D آغشته شده تا پیوند ویتامین به غذا در صورت ورد به آب حفظ شود. سپس مخلوط حاصله دوبار از چرخ گوشت صنعتی با قطر خروجی ۲ میلیمتر گذارنده شده و در پایان توسط خشک کن خشک و بسته بندی گردید و تا زمان مصرف آنها توسط ماهی در فریزر با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. خوراک گروه کنترل به همین روش اما بدون اضافه کردن ویتامین D به جیره پایه تهیه شد (Leatherl and Hilton, 1988). آب مورد استفاده در این تحقیق آب رودخانه کارون است که جهت پرورش در مزارع ماهی استفاده می شود و میزان کلسیم آن برابر با ۱۴۰-۱۵۰ میلی گرم در لیتر در طول دوره پرورش بوده است.

ویتامین D3 تبدیل می شود (Salek Yusefi, 2000). کمبود ویتامین D به کاهش اشتها و به دنبال آن کاهش وزن گیری، کاهش خاکستر و فسفات های موجود در بدن و پریشانی می انجامد (Ramesh, 2007). مصرف مقادیر بیش از اندازه این ویتامین نیز در رشد آبزیان پرورشی اختلال ایجاد کرده و موجب پریشانی و سیاه شدن رنگ بدن می شود. همچنین ویتامین D3 بسته به دوز مورد استفاده، موجب کاهش هورمون TSH می شود (Tornquist al, 1990). باتوجه به نیاز تغذیه ای و متابولیسمی آبزیان پرورشی به ویتامین D، و از طرفی دیگر اثرات سوئی که این ویتامین بدنبال تجویز نادرست از خود بجای می گذارد، شناخت و مطالعه مکانیسم این ویتامین در متابولیسم بدن بسیار حائز اهمیت می باشد. بنابراین مطالعه مذکور با هدف بدست آوردن دوز مناسبی از ویتامین D3 در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تاثیر آن بر شاخص های تیروئیدی انجام پذیرفت.

۲. مواد و روش ها

۲.۱. آماده سازی جیره های غذایی

طبق آنالیزی که از جیره پایه به عمل آمد اقلام غذایی بدون ویتامین D انتخاب گردید. به صورت دستی و با استفاده از آرد ذرت بدون سبوس، آرد جو بدون سبوس، آرد

جدول ۱: اجزای غذایی و ترکیبات آن ها در جیره

۲۳	آرد ماهی
۴۵	آرد سویا
۲۵	آرد گندم
۳	روغن ماهی
۳	روغن آفتاب گردان
۱	پودر زئولیت

جدول ۲ آنالیز تقریبی اجزای غذایی و درصد ترکیبات آن ها در جیره را نشان می دهد

جدول ۲: آنالیز تقریبی اجزای غذایی و درصد ترکیبات آن ها در جیره

۳۶-۳۸	پروتئین خام
۹-۱۰	چربی خام
۵	فیبر
کمتر از ۸	رطوبت
۱۱-۱۲	خاکستر
کمتر از ۴۰	TVN (mg/100gr)
۳۵۰۰	انرژی خام (Kcal/kg)

کپسول اکسیژن به کارگاه ماهی شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند. بچه ماهی ها به مدت سه روز با محیط آزمایشگاه و آکواریوم های پرورش مراحل سازگاری را سپری و توسط خوراک پلت ماهی کپور ساخت

طراحی تحقیق و شیوه غذایی تعداد ۱۸۰ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با وزن متوسط 25 ± 1 گرم، از مرکز تکثیر ماهیان گرمابی شهید ملکی اهواز خریداری گردید و سپس توسط مخزن حمل ماهی و مجهز به

۷-۹، NH_2 کمتر از ۱ ppm / ۰.۱. همچنین میزان تعویض روزانه آب ۱۰٪ حجم کل آب آکواریوم ها در نظر گرفته شد (Burel, 2000). جیره غذایی حاوی ویتامین D در آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی اهواز تهیه شد که شامل ۳ جیره حاوی ویتامین D در دوزهای: ۱۰۰۰ IU، ۳۰۰۰ IU و ۵۰۰۰ ویتامین D به ازای هر کیلوگرم وزن زنده و یک جیره بدون افزودن ویتامین D به عنوان جیره شاهد بود. غذاهای روزانه در حد سیری و در سه نوبت ساعت های ۸، ۱۲ و ۱۶ برای تمام تیمارها صورت می گرفت و در حد امکان از اتلاف غذایی جلوگیری می شد. غذا دهی در طول دوره پرورش بدون وقفه ادامه داشت و تنها یک روز قبل از نمونه برداری قطع شد.

۲,۳. تیمار بندی ماهی ها

تیمار اول: تیمار تغذیه شده با جیره پایه صفر درصد ویتامین D (تیمار شاهد)
تیمار دوم: تیمار تغذیه شده با جیره پایه با افزودن ویتامین D با غلظت ۱۰۰۰ IU
تیمار سوم: تیمار تغذیه شده با جیره پایه با افزودن ویتامین D با غلظت ۳۰۰۰ IU
تیمار چهارم: تیمار تغذیه شده با جیره پایه با افزودن ویتامین D با غلظت ۵۰۰۰ IU

۲,۴. نمونه گیری و سنجش هورمونی

نمونه گیری در روزهای ۳۰ و ۶۰ انجام شد و از هر تکرار تعداد ۶ قطعه ماهی انتخاب و پس از بیهوشی توسط ماده بیهوشی MS

شرکت فرادانه ایران تغذیه شدند. پس از اتمام مراحل سازگاری، ماهی ها به صورت کاملاً تصادفی به ۱۲ آکواریوم (چهار تیمار و هر کدام در سه تکرار) و در ابعاد ۱۲۰ سانتی متر طول، ۷۰ سانتی متر عرض و ۷۰ سانتی متر ارتفاع قرار گرفتند، و در هر تکرار تعداد ۱۵ قطعه بچه ماهی قرار گرفت. مخازن درون اتاقی مسقف که بواسطه باز بودن یک طرف، دارای نورگیری طبیعی بوده قرار داشتند و میزان نورگیری آکواریوم ها مطابق شرایط طبیعی شبانه روز در زمان انجام آزمایش تنظیم گردید اما به منظور روشنایی بهتر و جلوگیری از کمبود احتمالی نور در محیط آزمایشگاه، از لامپ های فلورسنت استفاده گردید. که همگی در شرایط فیزیکی شیمیایی یکسانی قرار داشتند. تمامی ادوات مورد استفاده و محیط آزمایشگاه، قبل از ماهیدار کردن، توسط ۶۰ میلی لیتر از محلول فرمالین ۳۵ تا ۴۰ درصد در ۲۰ لیتر آب به مدت ۲ ساعت ضد عفونی و سپس با آب فراوان شستشو گردیدند. در ضد عفونی با فرمالین باید بسیار دقت داشت زیرا این ماده ماده ای بسیار سمی می باشد؛ به همین دلیل، کار با فرمالین در هوای آزاد برای پیشگیری از تنفس بخار آن و نیز با استفاده از دستکش صورت گرفت. شرایط فیزیکی شیمیایی آب محیط پرورش بدین شرح اندازه گیری شد: دما: 25 ± 1 درجه سانتی گراد، اکسیژن محلول: ppm

میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح معنی دار ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

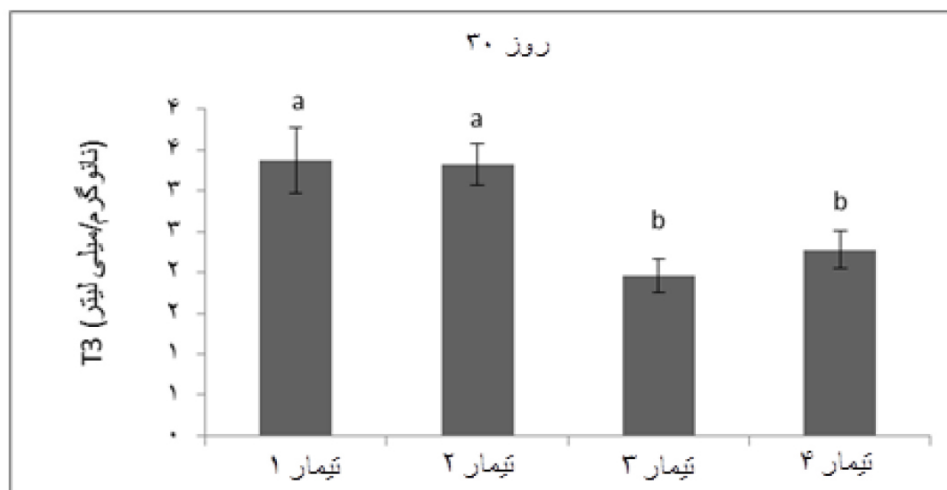
نتایج

۳،۱. T₃ (تری یدو تیروئین) روز ۳۰ میزان T₃ سرم خون ماهی کپور پرورشی در روز ۳۰ تحقیق با جیره غذایی حاوی ویتامین D در نمودار ۱ آمده است. T₃ کپور در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۳/۳۷، ۳/۳۲، ۱/۹۶ و ۲/۲۸ نانوگرم بر میلی لیتر بود. میزان T₃ در روز ۳۰ تحقیق بین تیمارهای شاهد و تیمارهای ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی داری بود ($P < 0.05$).

۲۲، از هر کدام آنها توسط سرنگ نمونه خون تهیه گردید. پس از سانتریفیوژ کردن نمونه های خون میزان هورمون های T₃ و T₄ در سرم، با استفاده از روش تست الایزای رقابتی اندازه گیری شد.

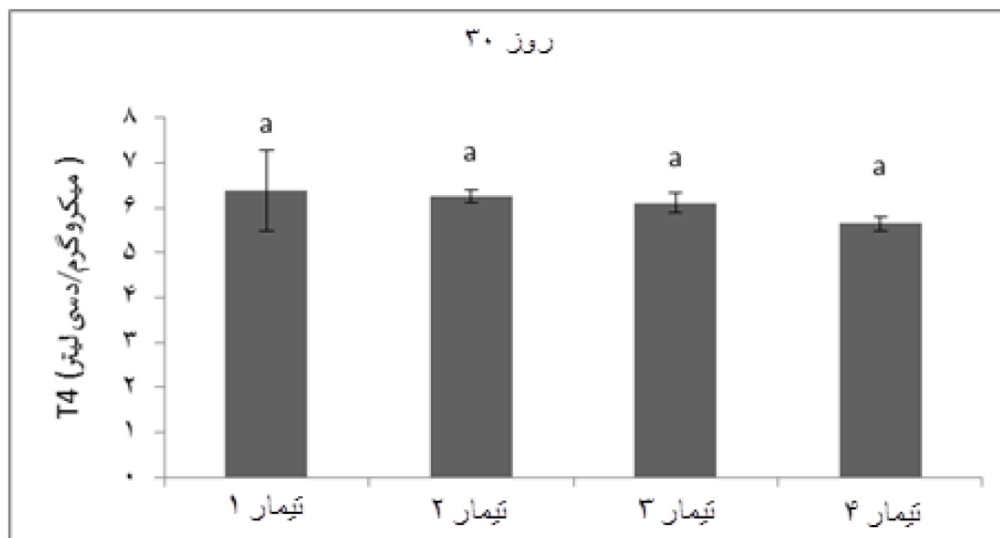
۲،۵. آنالیز آماری

در این تحقیق هر واحد به منزله یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و داده های آماری به صورت میانگین \pm انحراف از معیار گزارش شدند. محاسبات آماری در دو نرم افزار SPSS ۲۱ و Excel ۲۰۱۰ صورت گرفتند. به منظور مقایسه میانگین گروه های آزمایشی مختلف باهم، از آنالیز یک طرفه مقایسه واریانس ها (ANOVA) و برای بررسی اختلاف معنی دار میان



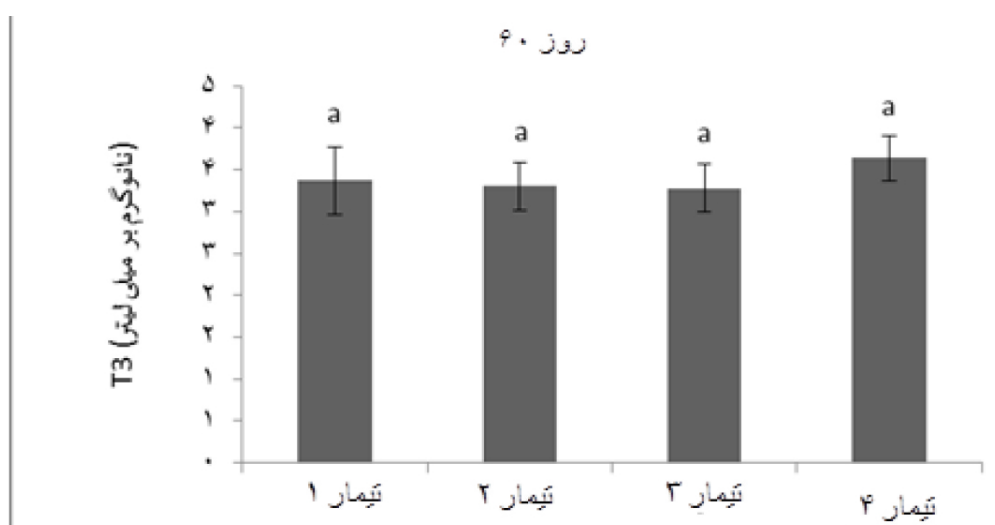
نمودار ۱: غلظت هورمون T₃ به دنبال تجویز خوراکی ویتامین D در ماهی کپور معمولی، روز ۳۰. حروف همنام لاتین از نظر آماری فاقد تفاوت معنی دارند ($P < 0.05$).

T4 (تیروکسین) در روز ۳۰ تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۶/۳۷، ۶/۲۶، ۶/۱۱ و ۵/۶۵ میکروگرم بر دسی لیتر میزان T4 در سرم خون ماهی کپور پرورشی با جیره غذایی حاوی ویتامین D در روز ۳۰ تحقیق در نمودار ۲ آمده است. میزان T4 در تیمار شاهد (تیمار ۱)، نداشت ($P < 0.05$).



نمودار ۲: غلظت هورمون T4 بدنبال تجویز خوراکی ویتامین D در ماهی کپور معمولی، روز ۳۰. حروف همنام لاتین از نظر آماری فاقد تفاوت معنی دارند ($P < 0.05$).

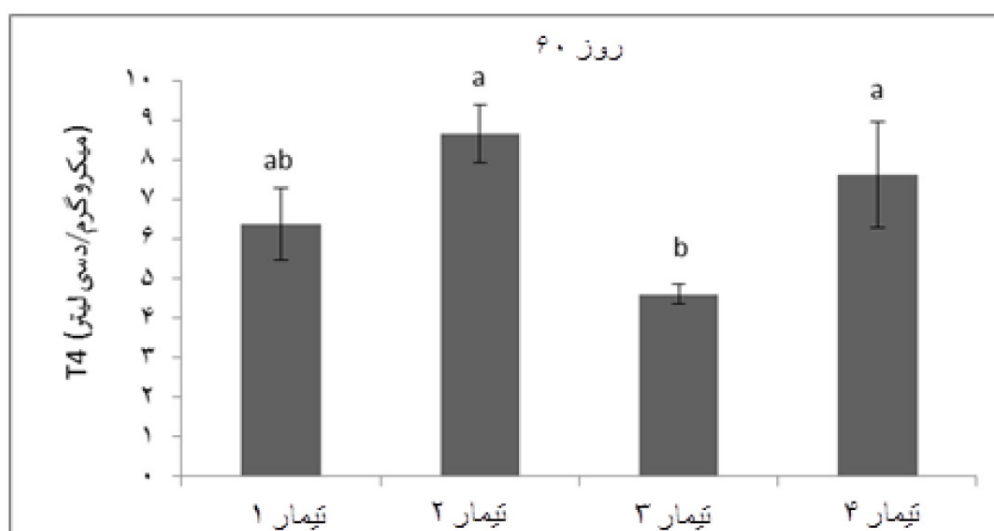
T3 (تری یدو تیرونین) در روز ۶۰ تیمار ۴ به ترتیب ۳/۳۷، ۳/۳۰، ۳/۲۸ و ۳/۶۴ نانوگرم بر میلی لیتر بود. میزان T3 در دوره ۶۰ روز پرورش بین تیمارهای شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۳/۳۷، ۳/۳۰، ۳/۲۸ و ۳/۶۴ نانوگرم بر میلی لیتر بود. میزان T3 در دوره ۶۰ روز پرورش بین تیمارهای شاهد، ۲، ۳ و ۴ اختلاف معنی داری نداشت ($P < 0.05$).



نمودار ۳: غلظت هورمون T۳ بدنبال تجویز خوراکی ویتامین D در ماهی کپور معمولی، روز ۶۰. حروف همنام لاتین از نظر آماری فاقد تفاوت معنی دارند ($P/0.05$).

T۴ (تیروکسین) در روز ۶۰ میکرو گرم بر دسی لیتر بود. بالاترین مقایسه میزان T۴ در خون ماهی کپور پرورشی با جیره غذایی حاوی ویتامین D در روز ۶۰ تحقیق در نمودار ۴ آمده است. میزان T۴ خون ماهی کپور معمولی در تیمار شاهد (تیمار ۱)، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ به ترتیب ۶/۳۷، ۸/۶۶، ۴/۶۱ و ۷/۶۳

میزان T۴ در دوره ۶۰ روز پرورش در تیمار ۲ مشاهده گردید که با تیمار ۳ دارای اختلاف معنی بود ($P/0.05$). اما با تیمار ۴ از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشت ($P/0.05$).



نمودار ۴: غلظت هورمون T۴ بدنبال تجویز خوراکی ویتامین D در ماهی کپور معمولی، روز ۶۰. حروف همنام لاتین از نظر آماری فاقد تفاوت معنی دارند ($P/0.05$).

جدول ۳: آنالیز واریانس سطوح T_3 و T_4 بدنبال تجویز خوراکی ویتامین D بر روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

روز	شاخصهای هورمونی	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
۳۰	T_3 (ng/ml)	۳/۳۷±۰/۴۰a	۳/۳۲±۰/۲۵a	۱/۹۶±۰/۲۰b	۲/۲۸±۰/۲۳b
	T_4 (ug/dl)	۶/۳۷±۰/۹۰a	۶/۲۶±۰/۱۴a	۶/۱۱±۰/۲۱a	۵/۶۵±۰/۱۶a
۶۰	T_3 (ng/ml)	۳/۳۷±۰/۴۰a	۳/۳۰±۰/۲۹a	۳/۲۸±۰/۲۹a	۳/۶۴±۰/۲۷a
	T_4 (ug/dl)	۶/۳۷±۰/۹۰ab	۸/۶۶±۰/۷۳a	۴/۶۱±۰/۲۴b	۷/۶۳±۱/۳۴a

حروف همنام لاتین از نظر آماری فاقد تفاوت معنی دارند ($P > 0.05$).

بحث

باقیمانده از طریق رژیم غذایی تامین می گردد (Medicine Institute, 2010). اثرات بیولوژیکی و مکانیزم های موثر بر ارتباط بین ۲۵ هیدروکسی کولکسیفرول و هورمون T_3 به روشنی معلوم نیست، و یک مطالعه در مقیاس بزرگ برای تایید این ارتباط مورد نیاز است.

در این تحقیق میزان T_3 در تیمارهای ۳ و ۴، (۱۷۳۰۰۰ IU) و (۱۷۵۰۰۰ IU) ویتامین D، در روز ۳۰ آزمایش، کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. میزان T_3 در روز ۶۰ تحقیق نسبت به روز ۳۰، کمی متفاوت بود. به طوریکه با تداوم مصرف ویتامین D_3 در تیمارهای ۳ و ۴، تغییر سطح T_3 مشاهده شد. این تغییر سطوح به صورت افزایش مشاهده شد اما فاقد اختلاف معنی داری با تیمار شاهد بود و در تیمار ۴ (۱۷۵۰۰۰ IU) بیشترین سطح هورمون T_3 مشاهده گردید. Hilton و Ferguson در سال ۱۹۸۲ تأثیر کولکسیفرول (D_3) را

تاکنون پژوهش های زیادی در رابطه با نقش ویتامین D در تنظیم هموستاز کلسیم و نگهداری سلامتی استخوان صورت گرفته است ولی مطالعه بر تاثیر ویتامین D بر میزان ترشح هورمون های تیروئیدی آبیژان محدود است. بر همین اساس Hilton و Ferguson در سال ۱۹۸۰ تأثیر کولکسیفرول (D_3) را بر هورمونهای تیروئید پلاسمای ماهی قزل آلا رنگین کمان مورد بررسی قرار دادند؛ نتایج مطالعه آن ها نشان داد که رژیمهای غذایی با کمبود ویتامین D، باعث افزایش چشمگیر میزان هورمونهای تیروئیدی ماهی ها می شود. آن ها تغییرات کمبود ویتامین D را بر میزان ترشح هورمون های تیروئیدی ماهی قزل آلا معکوس پذیر دانستند. بهترین منبع ویتامین D سنتز پوستی از طریق قرار گرفتن در معرض نور خورشید است، که در حدود ۹۵٪ از طریق این فرایند و ۵٪

تبدیل به T₃ میشود و بنابراین میتواناظهار نمود که فعالیت اصلی به عهده T₃ است. بر همین اساس، عدم تأثیر ویتامین D موجود در جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی، بر سطح هورمون T₄ موجود در سرم خون این ماهی را می توان به همین موضوع مرتبط ساخت که فعالیت اصلی تیروئید بر عهده هورمون T₃ می باشد (Kazemi, 2009).

Barnett در سال ۱۹۸۲، گزارش داد که ویتامین D₃ و D₂ و همچنین اشکال فعال D₃ [(D₃-25 OH), (D₃-25 (OH)₂)]، بر پایین آمدن هورمون های تیروئید ماهی قزل آلائی رنگین کمان تأثیر گذار بودند. آنها همچنین بیان کردند تأثیر گذاری ویتامین D₃ بر TH بیشتر از ویتامین D₂ می باشد. به نظر می رسد که بین وزن بدست آمده و میزان سطح T₃ در گروه های مختلف که همگی با مکمل ویتامین D تغذیه شده بودند، ارتباطی وجود داشت که به موجب افزایش T₃ در ماهی ها، وزن آن ها با کمبود ویتامین D کاهش می یابد، اما کمبود ویتامین D بر روی سطح T₄ سرم تأثیری نداشت.

نتیجه گیری

به عنوان نتیجه گیری کلی و بر اساس نتایج حاصله از این تحقیق، در مورد هورمون های تیروئیدی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، میتوان این موضوع را بیان کرد که: هورمون T₃

بر هورمون های تیروئید سرم خون ماهی قزل آلا مورد بررسی قرار دادند و اعلام کردند، رژیم های غذایی که در آنها کمبود ویتامین D وجود دارد، میزان هورمون های تیروئیدی آنها به صورت چشمگیری افزایش می یابد بنابراین تغییرات کمبود ویتامین D را بر روی تیروئید ماهی قزل آلا معکوس پذیر ارزیابی نمودند. سطح T₄ تیمارهای موجود در روز ۳۰ تحقیق فاقد هر گونه تفاوت معنی داری با گروه کنترل و همچنین با سایر تیمار ها بود. میزان T₄ در روز ۶۰، تنها در تیمار ۳ دارای اختلاف معنی داری با گروه کنترل و سایر تیمارها شد. بطوریکه سطح آن در تیمار ۳ (IU۳۰۰۰)، نسبت به روز ۳۰ کمی کاهش یافته بود و بیشترین سطح آن در تیمار ۲ (IU۱۰۰۰) مشاهده گردید، که نسبت به میزان آن در روز ۳۰ افزایش داشت اما فاقد اختلاف معنی دار بود. عملکرد هورمون های تیروئیدی با اتصال به رسپتور های هورمون تیروئید (TRS) صورت می گیرد. مطالعات بسیاری بیشتر بودن تمایل T₃ برای اتصال به گیرنده ها، نسبت به T₄ بیان نموده اند، که این مسئله می تواند بیشتر بودن قدرت T₃ را نسبت به T₄ توجیح کند. بطور کلی فرم اصلی هورمون تیروئیدی که در خون ترشح می شود تیروکسین است، به طوریکه نسبت T₃/T₄ = ۱/۲۰ می باشد اما قسمت اعظم T₄ در خون طی واکنش های دیونیزاسیون

موجود در سرم خون ماهی، تقریباً خوبی تحت تأثیر ویتامین D افزوده شده به خوراک قرار می گیرد. و رابطه معکوسی را نسبت ویتامین D افزوده شده به خوراک نشان می دهد؛ هورمون T₄ آن چنان تحت تاثیر تجویز خوراکی ویتامین D قرار نمی گیرد؛ البته این تغییرات ممکن است طی یک روند فیزیولوژیک در ماهیان که می تواند ناشی از غلظت کلسیم و آب و غذا نیز باشد اتفاق افتد، که در این پژوهش با توجه به اندازه گیری میزان کلسیم آب مورد استفاده و در نظر گرفتن نتایج گروه کنترل این امر مختص به میزان کلسیم آب و خوراک نمی باشد. با این وجود با استفاده از نتایج حاصله از این تحقیق محققان دیگر می توانند از نتایج آن در پژوهش های مرتبط با تحقیق حاضر استفاده نمایند.

منابع

- Afshar, N.A. (2002) Practical Guide to Nutrition, and Food and Pharmaceutical Inputs in Aquaculture, Mazandaran printing: Publications Noor.101 pp.
- Barnett.B. J; Jones, G; Cho,C. Y; and Slinger, S. J. (1982) The Biological Activity of 25-Hydroxycholecalciferol and 1,25-Dihydroxycholecalciferol for Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*) Journal Nutrition 112: 2020-2026.
- Burel, C; Boujard, T; Escaffre, A; Kaushik, M., S. J; Boeuf, G; Mol, K.A; Van der Geyten, S; and Kuhn, E. R.(2000) Dietary Low-Glucosinolate Rapeseed Meal Affects Thyroid Status and Nutrient Utilization in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). British Journal Nutrition 83: 653-64.
- Greco, D., Stabenfeld, G. (2007) Endocrinology, In: Textbook of Veterinary Physiology 425pp., London.
- Hilton, J; and Ferguson, H.W. (1980) Effect of Excess Vitamin D3 on Calcium Metabolism in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri* Richardson) Journal Fish Biology 21: 373-379.
- Medicine Institute. (2010) Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D.
- Kazemi, F. (2009) Effect of Dietary Fat to Carbohydrate Ratio on Growth, Master Thesis.
- Leatherland, J. F. Hilton, J. W. (1988) Thyroidal Compensation in Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*) Effects of canola meal on physiological and biochemical 58: 199-207.

- Ramesh, C. (2007) Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles, Academic press 1438 pp.
- Salek Yusefi, M.(2000) Feeding of Farmed Fish (Fish Seller, Fish and Shrimp Hydrothermal). Aslani publications, 320 pp, Tehran.
- Sattari, M.(2000) Fish Biology (1), Anatomy and Physiology,865 pp, Tehran.
- Tornquist, K.(1990) Effect of Vitamin D3 Metabolites on Thyrotropin Secretion from Rat Pituitary Cells in Culture. Journal Endocrinology Investigation 13: 65-69.