



Effects of Different Levels of Dietary Vitamin C on Growth Performance, Digestive Enzymes Activity and Blood Stress Factors of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Under Sub-Lethal Toxicity of Malathion

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Salamroodi E.¹ MSc,
Rezaei Tavabe K.*¹ PhD,
Javanmardi S.¹ MSc

How to cite this article

Salamroodi E, Rezaei Tavabe K, Javanmardi S. Effects of Different Levels of Dietary Vitamin C on Growth Performance, Digestive Enzymes Activity and Blood Stress Factors of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Under Sub-Lethal Toxicity of Malathion. Journal of Fisheries Science and Technology. 2019;8(1):23-30.

¹Fisheries Department, Natural Resources Faculty, Agriculture & Natural Resources Campus, University of Tehran, Karaj, Iran

*Correspondence

Address: Fisheries Department, Natural Resources Faculty, Agriculture & Natural Resources Campus, University of Tehran, Karaj, Iran. Postal Code: 3158777878
Phone: +98 (26) 32223044
Fax: +98 (26) 32245909
krtavabe@ut.ac.ir

Article History

Received: November 24, 2017
Accepted: October 24, 2018
ePublished: March 19, 2019

ABSTRACT

Aims Malathion is one of the agricultural organophosphate pesticides used in agriculture that may be found in aquaculture centers. The aim of this study was to investigate the effects of different levels of dietary vitamin C on improving the situation of growth, digestive enzymes activity and blood stress factors of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) under sub-lethal toxicity of malathion.

Materials & Methods In this experimental study, 180 Nile tilapia with weight average of 12.5±5g were subjected to 25% concentrations of LC50 96h of malathion for 28 days and during this period, the fishes were fed with different levels of vitamin C (0, 300, 600, and 900mg/kg of feed). Data were analyzed by Duncan's new multiple range test and one-way analysis of variance through SPSS 24 software.

Findings The weight gain and specific growth rate of fish fed by the highest vitamin level (900mg/kg of feed) were significantly higher than other groups ($p < 0.05$), while the feed conversion ratio in the fish under mentioned treatment significantly decreased compared to other treatments. Trypsin and chymotrypsin digestive enzyme activities were significantly increased in treatments of 600 and 900mg/kg vitamin C in diet, respectively. The activity of other enzymes at different concentrations of vitamin C in the diet did not show a significant difference ($p > 0.05$). Blood glucose level was significantly higher in control treatment in comparison to the other treatments.

Conclusion Vitamin C as an anti-stress agent reduces the stress in Nile tilapia subjected by Malathion pesticides and improve the metabolic status and growth performance of Nile tilapia.

Keywords Tilapia; Ascorbic Acid; Digestive System; Malathion; Physiological Stress

CITATION LINKS

[1] Effect of ammonia toxicity on common ... [2] A study of effects of anionic detergent ... [3] Assess changes in hardness and alkalinity ... [4] Natural antibodies and their significance in ... [5] Combined effect of filtration method ... [6] Effects of diazinon on biochemical ... [7] Measurement of choline esterase activity in the Rutilus ... [8] Effects of malathion on DNA breakage in the liver and gill ... [9] Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus ... [10] Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response ... [11] Hematological, serum biochemical, and immunological responses ... [12] Influence of dietary vitamin C on the wound healing ... [13] The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed ... [14] Effects of dietary ascorbic acid on growth performance, body ... [15] Dynamics of collagen indicating amino ... [16] Tilapia culture in saline waters ... [17] Tilapia polyculture: A ... [18] Micrococcus luteus and Pseudomonas species as probiotics for promoting the growth performance and health ... [19] Toxicity of malathion to Nile tilapia ... [20] Fenvalerate induced stress mitigation by ... [21] Efficacy of Clove flower bud powder ... [22] Computation and interpretation ... [23] A modified spectrophotometric determination ... [24] Simplified turbidimetric assay for ... [25] Enzymes of starch degradation ... [26] Long-term effects and interactions ... [27] The effect of dietary vitamin ... [28] Dietary high protein and vitamin ... [29] The role of vitamin C as antioxidant ... [30] The effects of different dietary vitamin ... [31] Effects of different levels of ... [32] Haematological effects of stress on ... [33] Hematological, biochemical, and behavioral ... [34] Acute toxicity and haematological ... [35] Acute toxicity and effects of sub-lethal ... [36] Cortisol and glucose: Reliable indicators of ... [37] Encyclopedia of fish physiology: From genome ... [38] Impact of a short-term malathion exposure of Nile ... [39] Effect of vitamin C dietary supplementation in reducing ... [40] Sub-lethal effects of pesticide diazinon on some serum biochemical parameters of ... [41] Study of biochemical characteristics of blood and ...

اثرات سطوح مختلف ویتامین C در جیره غذایی بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های هضمی و برخی فاکتورهای استرسی خون ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) تحت سمیت کشنده مالاتیون

عرفان سلمردی MSc

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

کامران رضایی توابع* PhD

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

سینا جوانمردی MSc

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

چکیده

اهداف: مالاتیون یکی از سموم آفت‌کش ارگانوفسفره مورد استفاده در کشاورزی است که ممکن است به مراکز پرورش آبزیان وارد شود. این پژوهش با هدف بررسی اثرات تغذیه‌ای ویتامین C بر بهبود وضعیت رشد، فعالیت آنزیم‌های هضمی و فاکتورهای استرسی خون ماهی تیلاپیای نیل تحت استرس ناشی از سمیت کشنده سم مالاتیون انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، ۱۸۰ قطعه ماهی تیلاپیای نیل با میانگین وزن 12.5 ± 2 گرم به مدت ۲۸ روز در معرض ۲۵٪ غلظت LC_{50} ۹۶ ساعته سم مالاتیون قرار گرفتند و طی این مدت با سطوح مختلف ویتامین C (صفر، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی) تغذیه شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه، آزمون چند دامنه‌ای دانکن و نرم‌افزار SPSS 24 انجام شد.

یافته‌ها: میزان افزایش وزن و ضریب رشد ویژه ماهیان تغذیه‌شده با بیشترین سطح ویتامینی (۹۰۰ میلی‌گرم) به شکل معنی‌داری از سایر گروه‌ها بیشتر بود ($p < 0.05$). اما ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تحت تیمار مذکور، کاهش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت. فعالیت آنزیم‌های هضمی تریپسین و کیموتریپسین در تیمارهای ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم ویتامین C به ترتیب به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. فعالیت سایر آنزیم‌ها تحت غلظت‌های متفاوت ویتامین C در جیره تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). همچنین سطح گلوکز خون گروه شاهد در مقایسه با سایر تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: ویتامین C به عنوان یک عامل ضد استرس، استرس وارد شده به ماهی تیلاپیای نیل قرار گرفته در معرض آفت‌کش مالاتیون را کاهش می‌دهد و سبب بهبود وضعیت متابولیسمی و عملکرد رشد ماهی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تیلاپیا، اسیدآسکوربیک، دستگاه گوارش، مالاتیون، استرس فیزیولوژیک

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۲

* نویسنده مسئول: krtavabe@ut.ac.ir

مقدمه

امروزه یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های زیست‌محیطی به خصوص در محیط‌های آبی مساله افزایش مواد آلاینده است که به صورت

فاضلاب، نشت نفت، پساب‌های مواد آلی و معدنی کارخانجات، مواد شیمیایی گوناگون از جمله فلزات و شبه‌فلزات بوده که موجب آلودگی آب‌های جهان به شکل‌های مختلف می‌شوند و این آلودگی‌ها می‌توانند اثرات مستقیم یا غیرمستقیم بر حیات موجودات زنده از جمله آبزیان داشته باشند[1].

فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن ماهیان تابع عوامل شیمیایی و همچنین مواد غذایی موجود در محیط زیست آنها است و می‌تواند بر عملکرد رشد و تولید مثل آنها موثر باشد[2,3]. بخش آبی‌پروری در کنار رشد قابل توجهی که داشته، همواره با مشکلاتی مانند تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای روبه‌رو بوده است[4]. ماهی‌ها از جمله موجودات آبی هستند که وابستگی بسیار زیادی به آب اطراف خود دارند، به طوری که هر گونه تغییری در آب، به طور مستقیم و غیرمستقیم وضعیت تغذیه‌ای، متابولیسمی و دفعی آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. کیفیت آب در پرورش ماهی نقش تعیین‌کننده‌ای ایفا می‌کند و در این زمینه معمولاً آبی کیفیت مطلوب دارد که بازماندگی و رشد ماهیان را به بهترین صورت تامین کند[5].

در حال حاضر سموم شیمیایی دفع آفات نباتی یکی از آلاینده‌های محیط زیست، به ویژه بوم‌سازگان‌های آبی محسوب می‌شوند[6]. این ترکیبات در آب حل شده و سپس مزارع با این آب آبیاری یا سم‌پاشی می‌شوند. بسیاری از این سموم با روش‌های گوناگونی به منابع آب‌های سطحی راه پیدا می‌کنند و به موجودات آبی از جمله ماهی‌ها می‌رسند[7]. مالاتیون یکی از سموم ارگانوفسفره‌ای است که به عنوان حشره‌کش، برای مبارزه با آفات نباتی مورد استفاده قرار گرفته و مشکلاتی برای محیط زیست در سراسر دنیا به وجود آورده است. این سم در ایران نیز یکی از حشره‌کش‌های پرمصرف است[8]. بیشترین موارد استفاده از این سم مربوط به سم‌پاشی باغ‌ها، مرکبات و کشاورزی زراعی است[9]. اثرات منفی مالاتیون بر پارامترهای رشد، پارامترهای خونی، توانایی شنا و کاهش برخی پارامترهای بیوشیمیایی (گلیکوژن، کلسترول و پروتئین خون) و همچنین آسیب اکسیداتیوی آن گزارش شده است[10].

پارامترهای هماتولوژی و خصوصیات بیوشیمیایی سرم از شاخص‌های مهم وضعیت محیط درونی ماهیان محسوب می‌شوند و تغییر این پارامترها نشان‌دهنده تغییر در متابولیسم و فرآیندهای بیوشیمیایی موجود زنده است که می‌تواند ناشی از اثرات آلاینده‌های مختلف باشد. درواقع این تغییرات امکان مطالعه مکانیسم‌های اثرات این مواد را فراهم می‌کند. بنابراین شاخص‌های خون‌شناسی ماهی می‌تواند در مدیریت پرورش و تحقیقات مربوط به بیماری به عنوان یک شاخص بالقوه تغییرات فیزیولوژیک و آسیب‌شناسی مورد استفاده قرار گیرد[11]. از طرفی استفاده از ویتامین C در جیره غذایی یا آب مخازن نگهداری باعث ایجاد ایمنی غیراختصاصی در آبزیان شده و اثرات مخرب حاصل از استرس را در آنها کاهش می‌دهد[12]. همچنین این ویتامین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان نقش بسیار مهمی در حفاظت از دیواره سلولی دارد[13]. استفاده از ویتامین

اسیدآسکوربیک (پوشش داده شده) با خلوص ۹۶% (Merck؛ آلمان) تهیه شد.

آماده‌سازی جیره

به‌منظور تهیه جیره آزمایشی، ویتامین C در سطوح ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به جیره افزوده شد. پس از مخلوط‌شدن اولیه ویتامین C با جیره، این مواد به مدت ۳۰ دقیقه با همزن با هم مخلوط و سپس به جیره غذایی، آب اضافه شد و کلیه مواد مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه دیگر مخلوط شدند. سپس جیره‌های آزمایشی پس از عبور از چرخ گوشت، درون خشک‌کن در دمای ۵۵°C خشک و در نهایت پس از بسته‌بندی در دمای ۱۸°C نگهداری شدند.

طرح آزمایش

غلظت تحت‌کشنده انتخابی برای انجام آزمایش براساس مقدار غلظت کشنده ۵۰% از ماهیان در ۹۶ ساعت (LC₅₀ 96h) سم مالاتیون برای ماهی تیلاپیای نیل بود. براساس گزارش پاتیراتن و جورج^[19]، میزان LC₅₀ ۹۶ ساعته سم مالاتیون در دمای ۱۶±۱°C برای ماهی تیلاپیای نیل ۲ میلی‌گرم بر لیتر ذکر شده است. بنابراین ماهی‌ها در معرض ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر (۲۵% مقدار LC₅₀ ۹۶ ساعته) از سم مالاتیون به مدت ۲۸ روز قرار گرفتند^[20]. در مدت آزمایش مخازن مدام هوادهی شده و آزمایش‌ها براساس راهنمای استاندارد سازمان همکاری و توسعه اقتصادی (OECD) به صورت نیمه‌استاتیک (تعویض روزانه ۲۰% آب) انجام شد. پس از هر بار تعویض آب غلظت سم موجود در آن به مقدار اولیه تنظیم شد. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب نیز روزانه مورد سنجش قرار گرفت و به‌طور میانگین میزان اسیدیته ۷/۳، اکسیژن محلول ۸/۶ میلی‌گرم بر لیتر، دما ۱۴/۵°C و سختی کل ۱۸۵ میلی‌گرم بر لیتر کربنات کلسیم بود. به‌طور کلی آزمایش دارای ۴ تیمار آزمایشی در قالب ۳ تکرار بود و ۱۲ مخزن داشت که درون هر کدام، ۱۵ قطعه ماهی تیلاپیای نیل قرار گرفت. ماهی‌ها به ۴ گروه تیماری زیر تقسیم شدند:

گروه صفر (کنترل): جیره تجاری بدون هیچ گونه افزودنی، ماهی در معرض آب حاوی ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر مالاتیون
گروه یک: جیره غذایی حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C، ماهی در معرض آب حاوی ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر مالاتیون
گروه دو: جیره غذایی حاوی ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C، ماهی در معرض آب حاوی ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر مالاتیون
گروه سه: جیره غذایی حاوی ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C، ماهی در معرض آب حاوی ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر مالاتیون

روش‌های سنجش

۱- **عملکرد رشد و بازماندگی:** در پایان دوره ۲۸ روزه آزمایش، غذادهی به مدت ۲۴ ساعت متوقف شد. سپس تمام ماهیان هر مخزن برداشت شدند و برای آرام‌سازی به مدت ۵ دقیقه در محلول ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک قرار گرفتند^[21]. در نهایت وزن و طول همه ماهی‌ها اندازه‌گیری و عملکردهای رشد و بازماندگی طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد^[22].

C در تغذیه آبزیان زینتی و پرورشی با اهدافی چون افزایش رشد، افزایش ضریب ایمنی بدن، افزایش قابلیت تنظیم اسمزی و افزایش کیفیت و کمیت هم‌آوری انجام می‌شود و نقش مهمی در بهبود پارامترهای ایمنی، افزایش مقاومت در برابر استرس و بیماری‌ها، تنظیم برخی توانایی‌های رفتاری ماهی مانند حرکت گله‌ای ایفا می‌کند^[14]. همچنین این ویتامین نقش مهمی نیز در ساختن کلاژن که مهم‌ترین پروتئین در ساختار بافت‌های متنوع پیوندی موجودات است، دارد^[15].

ماهی تیلاپیا یک ماهی گرمابی و متعلق به منابع آب شیرین و لب‌شور است که عمدتاً ساکن نهرهای کم‌عمق، آبگیرها، رودخانه‌ها و دریاچه‌ها بوده و به‌صورت محدود در آب‌های لب‌شور نیز دیده می‌شود^[16]. محبوبیت این ماهی به‌دلیل قیمت ارزان، آماده‌سازی و پخت آسان و داشتن طعم ملایم ایجاد شده است. تیلاپیا دومین ماهی از نظر میزان پرورش در سراسر جهان است که تولید آن طی دهه گذشته به‌دلیل استفاده از آن در سیستم‌های گوناگون آبی‌پروری، قابلیت فروش و قیمت بازار پایدار رشد چشم‌گیری داشته است^[17]. بین گونه‌های مختلف، تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) به‌دلیل رشد بهتر و مقاومت بیشتر به بیماری‌ها، گونه مهم‌تری محسوب می‌شود و میزان پرورش آن در منابع آبی مختلف نیز بیشتر است^[18].

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات سمیت تحت‌کشنده حشره‌کش ارگانوفسفره مالاتیون و نقش محافظتی ویتامین C بر وضعیت رشد، فعالیت آنزیم‌های هضمی و فاکتورهای خونی ماهی تیلاپیای نیل انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط نگهداری

۱۸۰ قطعه ماهی تیلاپیای نیل با میانگین وزنی ۱۲/۵±۲ گرم از مرکز پرورش ماهی تیلاپیا واقع در استان البرز تهیه شد. ماهی‌ها به کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج انتقال و پس از بررسی‌های ظاهری و اطمینان از سلامت ظاهری به‌منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید، به مدت یک هفته در مخازن ۱۰۰۰ لیتری فایبرگلاس در فضای آزاد با دوره نورانی طبیعی و تعویض آب روزانه ۲۰% نگهداری شدند که طی این مدت با غذای تجاری ماهیان گرمابی (فردانه؛ ایران) حاوی ۲۵% پروتئین، ۹% چربی و ۱۵% کربوهیدرات طی دو نوبت در روز در ساعت‌های ۷ و ۱۹ به میزان ۲% وزن بدن تغذیه شدند. پس از پایان دوره سازگاری، برای شروع آزمایش ماهی‌ها به‌طور تصادفی در ۱۲ مخزن فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری (در هر مخزن ۱۵ قطعه ماهی) توزیع و در تیمارهای مختلف قرار گرفتند.

تهیه مواد شیمیایی

سم مالاتیون استفاده‌شده (آگرواکسیر) به‌صورت مایع امولسیون‌شونده با خلوص ۵۷% (اکسیر کشاورزی؛ ایران) و

$$100 \times \frac{\text{میانگین وزن اولیه} - \text{میانگین وزن نهایی}}{\text{میانگین وزن اولیه}} = \text{درصد افزایش وزن (گرم)} - 1$$

= ضریب رشد ویژه (درصد در روز) -

$$100 \times \frac{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی}}{\text{تعداد روزها}} - 2$$

$$\text{نرخ تبدیل غذایی} - 3 = \frac{\text{افزایش وزن بر حسب گرم}}{\text{غذای مصرف شده بر حسب گرم}}$$

$$\text{نرخ کارایی پروتئین} - 4 = \frac{\text{پروتئین دریافتی بر حسب گرم}}{\text{افزایش وزن بر حسب گرم}}$$

$$100 \times \frac{\text{تعداد اولیه ماهیان}}{\text{تعداد نهایی ماهیان}} = \text{درصد بازماندگی} - 5$$

۲) **میزان فعالیت آنزیم‌های هضمی روده:** برای سنجش میزان فعالیت آنزیم‌های هضمی روده در انتهای دوره آزمایش، ۴ قطعه ماهی از هر مخزن انتخاب شد. طبق قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی با قراردادن ماهی‌ها در محلول ۷۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک و بیهوشی کامل، عمل تشریح آغاز و بخشی از روده میانی هر کدام از آنها جداسازی شد. نمونه‌ها با مقدار کافی محلول نمکی ۰/۸٪ برای به‌دست‌آوردن ترکیب ۱۰٪ وزنی همگن شدند. ترکیب حاصل با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شد. سپس میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین به روش هوملی^[23] با افزودن محلول حاصل به بستری از کارژین و بررسی میزان هضم کارژین انجام شد. میزان فعالیت آنزیم لپاز به روش شهبابی و بیشاپ^[24] با استفاده از روغن زیتون خالص به‌عنوان بستر و سنجش میزان هضم روغن زیتون توسط محلول حاصل از بافت روده انجام گرفت. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز نیز به روش برنفلد^[25] با استفاده از بستر نشاسته‌ای محاسبه شد.

۳) **شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون:** برای اندازه‌گیری میزان پروتئین کل، گلوکز و کورتیزول از هر تیمار ۳ ماهی به‌طور تصادفی برداشته شد و پس از بیهوشی کامل از طریق قرارگیری در محلول ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک، خون‌گیری از ساقه دمی آنها با سرنگ‌های استریل ۲ میلی‌لیتری انجام شد. نمونه‌ها پس از ۶ ساعت نگهداری در دمای ۴°C و لخته‌شدن کامل، با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۷ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شده، سپس لایه سرم توسط سمپلر از روی نمونه‌ها جدا شد و توسط دستگاه سنجشگر خودکار شاخص‌های بیوشیمیایی (هیتاچی؛ ژاپن) و کیت‌های ضمیمه‌ای (پارس‌آزمون؛ ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان کورتیزول نیز به روش الایزا توسط کیت‌های تجاری (IBL؛ آلمان) اندازه‌گیری شد.

تحلیل‌های آماری

برای تعیین نرمال‌بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف استفاده شد و سپس با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)

مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای مقایسه میانگین بین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. همه داده‌های مطالعه حاضر به‌صورت میانگین آماری آرایه و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 24 تجزیه و تحلیل شدند. نمودارها نیز از طریق نرم‌افزار Excel 2016 رسم شدند.

یافته‌ها

عملکرد رشد و بازماندگی

در پایان دوره ۲۸ روزه آزمایش، عملکرد رشد ماهی تیلاپپای نیل بررسی شد (جدول ۱). وزن نهایی و درصد افزایش وزن در ماهیان تحت تیمار گروه‌های دو و سه به‌ترتیب به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کردند (۰/۰۵ < p)، در حالی که در تیمارهای شاهد و گروه یک اختلاف معنی‌داری از نظر وزن نهایی مشاهده نشد (۰/۰۵ > p). به همین شکل نرخ رشد ویژه در تیمارهای گروه‌های صفر و یک از نظر آماری برابر بود، اما با افزایش سطوح ویتامین C جیره در تیمارهای گروه‌های دو و سه به‌ترتیب افزایش پیدا کرد. کمترین میزان نرخ تبدیل غذایی، مربوط به تیمار گروه سه بود. همچنین ضریب کارایی پروتئین در تیمارهای شاهد و یک در کمترین میزان بود و در تیمارهای دو و سه به‌ترتیب افزایش داشت. ماهی‌ها از نظر درصد بازماندگی طی دوره ۲۸ روزه آزمایش هیچ گونه اختلاف معنی‌داری را در هیچ یک از تیمارها نشان ندادند (۰/۰۵ > p).

جدول ۱) میانگین آماری سطوح مختلف ویتامین C در جیره ماهیان بر شاخص‌های عملکرد رشد ماهی تیلاپپای نیل قرارگرفته در معرض سم ملاتیون (حروف لاتین متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵٪ هستند).

شاخص‌ها	شاهد	گروه یک	گروه دو	گروه سه
وزن اولیه (گرم)	۱۲/۴۴±۰/۰۱	۱۲/۶۱±۰/۰۵	۱۲/۳۹±۰/۰۲	۱۲/۶۹±۰/۰۱
وزن نهایی (گرم)	۱۹/۶۶±۰/۰۸ ^a	۱۹/۵۳±۰/۰۶ ^a	۲۱/۴۱±۱/۴۱ ^b	۲۲/۸۹±۰/۷۲ ^c
افزایش وزن (درصد)	۳۶/۴۶±۴/۲۱ ^a	۳۶/۴۱±۱/۶۷ ^a	۳۸/۰۳±۳/۴۱ ^b	۳۹/۹۱±۴/۲۱ ^c
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۴۶±۰/۰۵ ^a	۰/۴۵±۰/۰۵ ^a	۰/۶±۰/۱۳ ^{ab}	۰/۷۴±۰/۰۹ ^b
نرخ تبدیل غذایی	۱/۳۵±۰/۱۳ ^b	۱/۳۷±۰/۱۷ ^b	۱/۳۲±۰/۰۴ ^{ab}	۱/۲۱±۰/۱۱ ^a
نرخ کارایی پروتئین	۱/۸۹±۰/۲۶ ^a	۱/۸۶±۰/۱۴ ^a	۱/۹۳±۰/۰۵ ^b	۲/۰۶±۰/۲ ^c
میزان بازماندگی (درصد)	۹۶/۶۶±۵/۷	۹۶/۶۶±۵/۷	۱۰۰	۹۸/۳۳±۲/۸۸

فعالیت آنزیم‌های هضمی

دوره ۲۸ روزه تغذیه ماهیان توسط جیره حاوی سطوح مختلف ویتامین C تغییراتی را در میزان فعالیت برخی از آنزیم‌های هضمی روده ایجاد کرد (نمودار ۱). میزان فعالیت آنزیم‌های لپاز و آمیلاز در

شاخص‌های استرسی خون

در پایان دوره ۲۸ روزه آزمایش برخی از شاخص‌های سرم خون که به نوعی بیانگر میزان استرس ناشی از قرارگیری ماهی در معرض سم مالاتیون بود، بررسی و اندازه‌گیری شد (جدول ۲). پروتئین کل سرم خون هیچ تغییر معنی‌داری را در هیچ یک از تیمارها نشان نداد ($p > 0.05$). میزان گلوکز خون در تیمارهای دو و سه نسبت به سایر تیمارها کمتر بود ($p < 0.05$). میزان کورتیزول خون در سه تیمار صفر، یک و دو تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$), اما در تیمار سه به شکل معنی‌داری از سایر تیمارها کمتر بود ($p < 0.05$).

جدول ۲ میانگین آماری سطوح مختلف ویتامین C در جیره بر شاخص‌های خونی ماهی تیلاپپای نیل قرارگرفته در معرض سم مالاتیون (حروف لاتین متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵٪ است).

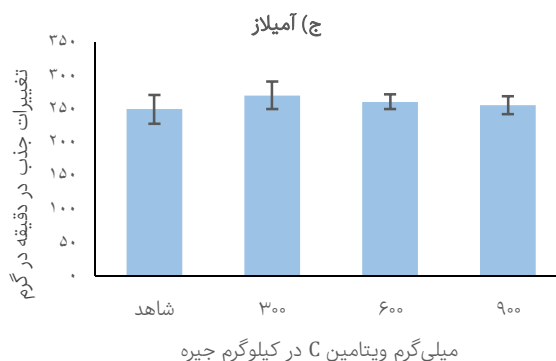
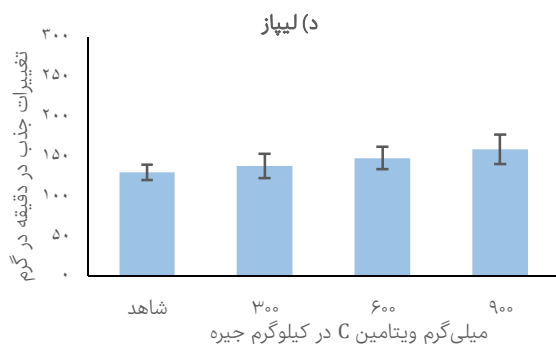
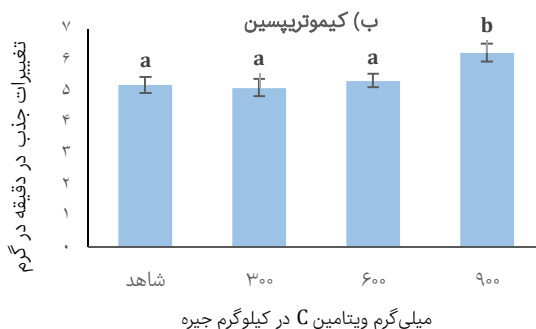
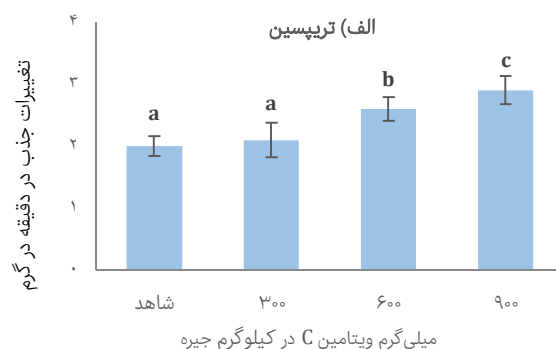
تیمارها	پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر)	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کورتیزول (میکروگرم بر دسی‌لیتر)
شاهد	۳/۷۵±۰/۸۷	۶۶/۵۳±۳/۷۴	۲۷۸/۴۸±۴۲/۴۵
گروه یک	۳/۴۹±۱/۰۴	۶۴/۹۷±۷/۹۴	۲۹۰/۰۷±۱۳/۹۹
گروه دو	۳/۶۵±۱/۱	۵۷/۷۸±۶/۶۵	۲۸۵/۵۵±۱۷/۷۴
گروه سه	۳/۶۹±۰/۴۴	۵۰/۴۲±۹/۱۵	۲۱۷±۷/۲۵

بحث

ویتامین C یا اسیدآسکوربیک یکی از ویتامین‌های محلول در آب بوده که دارای نقش‌های متابولیک متعددی از جمله اثر بر رشد، بازماندگی بیشتر و جلوگیری از مرگ‌ومیر، بهبود زخم، کاهش اثرات استرس، مقاومت در برابر عوامل پاتوژن و بهبود عملکرد تولید مثل است [26, 27]. فعالیت ضد استرسی ویتامین C به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، به‌خوبی شناخته شده است. اغلب گونه‌های ماهی نمی‌توانند ویتامین C را سنتز کنند و برای تامین نیاز خود به منابع خارجی از طریق تغذیه نیاز دارند. اگرچه ماهی برای رشد طبیعی و بازماندگی به میزان نسبتاً کمی ویتامین C نیاز دارد، اما تحت شرایط استرس سطح بالایی از این ویتامین مورد نیاز است [28].

مطالعه حاضر برای شناخت اثرات سمیت تحت کشنده آفت‌کش ارگانوفسفره مالاتیون و نقش محافظتی ویتامین C روی وضعیت رشدی، فعالیت آنزیم‌های هضمی و فاکتورهای خونی ماهی تیلاپپای نیل انجام شد. با افزایش سطوح ویتامین C، افزایش قابل توجهی در فاکتورهای رشدی ماهی تیلاپپای نیل قرارگرفته در معرض سم مالاتیون مشاهده شد و این افزایش در بعضی از تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود. با توجه به اینکه میزان افزایش وزن با افزایش سطح ویتامین رابطه مستقیمی نشان داد، می‌توان چنین نتیجه گرفت که سطوح مورد نیاز این ویتامین برای رشد طبیعی تحت شرایط استرس در ماهی افزایش می‌یابد که با نتایج مطالعه *سارما* و همکاران [28] هم‌خوانی دارد. این نتایج با مطالعه *نارو* و همکاران [29] نیز هم‌خوانی داشت، چراکه در مطالعه آنها مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ویتامین C در جیره خوراکی گریه‌ماهی راه‌رونده (*Clarias batrachus*) تحت سمیت

روده ماهی تیلاپپای نیل تحت تاثیر هیچ کدام از تیمارهای ویتامین C در جیره، تغییرات معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$). میزان فعالیت آنزیم تریپسین در دو تیمار صفر و یک از نظر آماری برابر بود، اما در تیمارهای دو و سه افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). از نظر آماری، فعالیت آنزیم کیموتريپسین در تیمار سه از سایر تیمارها بیشتر بود.



نمودار ۱ تاثیر سطوح مختلف ویتامین C در جیره بر فعالیت آنزیم‌های هضمی روده ماهی تیلاپپای نیل قرارگرفته در معرض سم مالاتیون (حروف لاتین متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵٪ است).

کلرپریفوس می‌تواند رشد و بازماندگی را به‌صورت قابل توجهی بهبود دهد. عادل و خا[30] نشان دادند که افزودن ویتامین C به همراه آهن به رژیم غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) باعث بهبود عملکرد رشد این ماهی می‌شود.

یکی از فاکتورهای مهم و تاثیرگذار بر صنعت آبی‌پروری به‌ویژه از نظر اقتصاد پرورش، ضریب تبدیل غذایی است که در این مطالعه با توجه به این که تیمار سه با داشتن بیشترین سطح ویتامین، کاهش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها نشان داد، می‌توان نتیجه گرفت که حضور این ویتامین در سطوح مناسب در جیره ماهی علاوه‌بر کاهش هزینه، سبب کاهش آلودگی آب محیط پرورش از نظر کاهش میزان غذادهی نیز خواهد شد که این موضوع در ماهیان تحت استرس به‌دلیل اختلال در وضعیت متابولیسمی آنها اهمیت بیشتری دارد. در مطالعه‌ای مشابه که توسط جوانمردی و همکاران[31] انجام شد، استفاده از ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان قرارگرفته در معرض ۵/۰ میلی‌گرم بر لیتر سم مالاتیون، باعث بهبود شاخص‌های رشد، کاهش اثرات ناشی از استرس و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

فاکتور دیگری که در مطالعه حاضر ارزیابی شد، میزان بازماندگی بود که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد، چراکه این میزان از غلظت سم در آب محیط پرورش ماهی طی مدت‌زمان آزمایش در محدوده تحمل ماهی بود و در نتیجه میزان مرگ‌ومیر معنی‌داری رخ نداد که با نتایج مطالعه مهاپاتر[20] و همکاران[20] هم‌خوانی داشت، به‌طوری که ۳۳٪ غلظت LC50 ۹۶ ساعته سم ارگانوفسفره فنوالرات به‌مدت ۲۸ روز برای ماهی کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) مرگ‌ومیری به دنبال نداشت.

در مطالعه حاضر نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های هضمی روده شامل تریپسین، کیموتریپسین، لیپاز و آمیلاز پس از یک دوره ۲۸ روزه تغذیه ماهی تیلاپیای نیل با جیره حاوی سطوح مختلف ویتامین C تحت سمیت تحت کشنده مالاتیون نشان داد که میزان فعالیت آنزیم تریپسین در تیمارهای دو و سه به‌ترتیب افزایش پیدا کرد و فعالیت آنزیم کیموتریپسین در تیمار سه از سایر تیمارها بیشتر بود، اما فعالیت سایر آنزیم‌ها تحت غلظت‌های متفاوت ویتامین، تفاوت معنی‌داری نشان نداد. همچنین تغییرات بیوشیمیایی خون نشان‌دهنده تغییرات در متابولیسم و فرآیندهای بیوشیمیایی موجودات زنده است که اثرات آلاینده‌های مختلف را آشکار می‌کند. پارامترهای خونی ماهیان به‌منظور توصیف سلامت آنها در پاسخ به عوامل تنش‌زا به کار برده می‌شوند و در واقع رابطه سیستماتیک و سازگاری فیزیولوژیک موجودات را در برابر این عوامل پیش‌بینی می‌کند[32]. بنابراین پروفایل خون می‌تواند اطلاعات مهمی را در مورد وضعیت فیزیولوژیکی ماهی ارایه داده و به‌منظور ارزیابی اثرات مضر آفت‌کش‌ها استفاده شود[33]. در مطالعه حاضر سطح گلوکز خون در تیمار شاهد با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری

بیشتر بود که نشان‌دهنده این موضوع است که سم مالاتیون به‌عنوان یک عامل استرس‌زا عمل کرده و از طرف دیگر ویتامین C به‌عنوان یک عامل ضد استرس توانسته است استرس وارد شده به ماهی را کاهش دهد. یکی از دلایل افزایش گلوکز در مطالعات سم‌شناسی و ورود استرس محیطی، احتمالاً کاهش انسولین و افزایش گلوکوکورتیکوئیدها است که به دنبال افزایش کورتیزول تحت تاثیر استرس اتفاق می‌افتد[34]. این هورمون‌ها به همراه کورتیزول باعث تحریک و افزایش تولید گلوکز از طریق فرآیند گلیکوژنز می‌شود تا انرژی مورد نیاز سلول‌های تحت استرس فراهم شود[35]. افزایش گلوکز خون در زمان استرس به موجود کمک می‌کند تا با رساندن انرژی به اندام‌های حیاتی پاسخگوی این افزایش تقاضای انرژی باشد. بنابراین سم به‌عنوان یک عامل استرس‌زا موجب افزایش گلوکز در خون شده، اما ویتامین C به‌عنوان عامل ضد استرس، استرس وارد شده به ماهی را کاهش داده و از این طریق منجر به کاهش گلوکز در خون می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر میزان ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره غذایی به‌طور معنی‌داری سطح گلوکز خون را در زمان قرارگیری در معرض سم کلرپریفوس کاهش داد[29].

هورمون کورتیزول یک هورمون عمومی در بدن ماهیان است که در پاسخ به استرس، تنظیم اسمزی، متابولیسم، رشد و سیستم ایمنی نقش دارد[36]. بنابراین مطالعه و بررسی میزان این هورمون در بدن ماهیان در شرایط مختلف محیطی اهمیت دارد[37]. در مطالعه حاضر با افزایش سطوح ویتامین میزان کورتیزول خون روند نزولی داشت و در تیمار سه، سطح کورتیزول خون با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. این نتایج با نتایج مطالعه حامد[38] هم‌خوانی داشت که در آن سطح کورتیزول پلاسمای ماهی تیلاپیای نیل تحت سمیت مالاتیون افزایش پیدا کرد.

در مطالعه عبدالجواد و عبدالحمید[39] نیز ویتامین C میزان کورتیزول پلاسمای ماهیان تیلاپیای تحت سمیت فنیتروتیون به میزان قابل توجهی کاهش داد. همچنین تغییر در میزان پروتئین کل پلاسمای نسبت به محدوده پایه، به‌عنوان یک شاخص در سنجش میزان سلامت، استرس و وضعیت بدنی آبی‌زی به کار برده می‌شود[40] که در این مورد تغییر معنی‌داری بین تیمارها دیده نشد. اما در مطالعه نار[29] و همکاران[29] ویتامین C توانست میزان پروتئین خون گربه‌ماهی گونه *Clarias batrachus* را تحت سمیت کلرپریفوس به‌طور قابل توجهی افزایش دهد تا در واقع از تجزیه آنزیمی آن برای تامین انرژی بکاهد. میرواقفی و همکاران[41] بیان کردند که سم دیازینون می‌تواند با گذاشتن اثر مخرب بر بافت‌های اندام گوارشی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغییراتی منفی در میزان فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی به وجود آورد که با نتایج مطالعه حاضر کاملاً هم‌خوانی دارد، زیرا در این مطالعه نیز اثر مخرب سم مالاتیون باعث پایین‌آمدن میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین در روده ماهی شد.

استفاده از ۹۰۰-۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی تیلاپپای نیل که در معرض استرس ناشی از سمیت تحت کشنده مالاتیون قرار گرفته، به‌منظور بهبود عملکرد رشد، وضعیت متابولیک ماهی، فعالیت آنزیم‌های هضمی روده و کاهش ضریب تبدیل غذایی موثر است.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از آقای ماهان معتمدیان به‌دلیل استفاده از نظرات ایشان در مبحث تجزیه و تحلیل آماری صمیمانه تقدیر و تشکر می‌کنند.

تأییدیه اخلاقی: نویسندگان این مقاله متعهد می‌شوند که تا زمان مشخص شدن وضعیت نهایی این مقاله در مجله علوم و فنون شیلات، از ارسال آن به مجلات دیگر خودداری کنند.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: عرفان سلمردی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۴۰٪)؛ کامران رضایی توابع (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۴۰٪)؛ سینا جوانمردی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۲۰٪)

منابع مالی: این مطالعه با حمایت مالی گروه شیلات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران با شماره گرنت ۲۶۷۱۳ انجام شد.

منابع

- 1- Naji T, Khara H, Rostami M, Nasiri Parman E. Effect of ammonia toxicity on common carp liver (Cyprinus carpio). J Environ Sci Technol. 2009;11(1):131-48. [Persian]
- 2- Shahsavani D, Mohri M, Nazeri K. A study of effects of anionic detergent (shampoo) on blood parameters of gold fish (Carassius auratus). Pajouhesh Va Sazandegi. 2003;16(4):99-103. [Persian]
- 3- Ghovati N, Mohammadi S, Mohammadi V. Assess changes in hardness and alkalinity on the toxicity of zinc poisoning in common carp (Cyprinus carpio). J Wetl Ecobiol. 2011;2(8):21-8. [Persian]
- 4- Sinyakov MS, Dror M, Zhevelev HM, Margel Sh, Avtalion RR. Natural antibodies and their significance in active immunization and protection against a defined pathogen in fish. Vaccine. 2002;20(31-32):3668-74.
- 5- Baratizade S, Peyghan R, Razijalali M. Combined effect of filtration method (carbon, zeolite and simple filtration) and stock density of Macro (Labidochromis caeruleus) on growth and nitrogenous compounds of water. J Vet Med Iran. 2017;13(3):15-23. [Persian]
- 6- Banaee M, Suredda A, Mirvaghefi AR, Ahmadi K. Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Pestic Biochem Physiol. 2011;99(1):1-6.
- 7- Ebrahimzade MA, Karami M, Golrokh M. Measurement of choline esterase activity in the Rutilus kutum brain in marine and breeding types as an indicator of the health of these fishes. Shahrekord Univ Med Sci. 2004;6(3):33-8. [Persian]
- 8- Ghafari Farsani H, Poorbagher H, Farahmand H. Effects of malathion on DNA breakage in the liver and gill of rainbow trout (Oncorhynchus Mykiss) using weighted averaging. J Fish. 2016;69(1):89-99. [Persian]
- 9- Lu Ch, Toepel K, Irish R, Fenske RA, Barr DB, Bravo R. Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus pesticides. Environ Health Perspect. 2005;114(2):260-3.
- 10- Yonar SM, Ural MŞ, Silici S, Yonar ME. Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant status of Cyprinus carpio carpio: Protective role of propolis. Ecotoxicol Environ Saf. 2014;102(8):202-9.
- 11- Kaya H, Çelik EŞ, Yılmaz S, Tulgar A, Akbulut M, Demir N. Hematological, serum biochemical, and immunological responses in common carp (Cyprinus carpio) exposed to phosalone. Comp Clin Pathol. 2015;24(3):497-507.
- 12- Wahli T, Verlhac V, Girling P, Gabaudan J, Aebischer C. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture. 2003;225(1-4):371-86.
- 13- Sandnes K, Ulgenes Y, Braekkan OR, Utne F. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture. 1984;43(1-3):167-77.
- 14- Arab N, Rajabi Islami H. Effects of dietary ascorbic acid on growth performance, body composition, and some immunological parameters of Caspian brown trout, Salmo trutta caspius. J World Aquac Soc. 2015;46(5):505-18.
- 15- Terova G, Saroglia M, Papp ZG, Cecchini S. Dynamics of collagen indicating amino acids, in embryos and larvae of sea bass (Dicentrarchus labrax) and gilthead sea bream (Sparus aurata), originated from broodstocks fed with different vitamin C content in the diet. Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol. 1998;121(2):111-8.
- 16- Suresh AV, Lin CK. Tilapia culture in saline waters: A review. Aquaculture. 1992;106(3-4):201-26.
- 17- Wang M, Lu M. Tilapia polyculture: A global review. Aquac Res. 2016;47(8):2363-74.
- 18- El-Rhman AM, Khatlab YA, Shalaby AM. Micrococcus luteus and Pseudomonas species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, Oreochromis niloticus. Fish Shellfish Immunol. 2009;27(2):175-80.
- 19- Pathiratne A, George SG. Toxicity of malathion to Nile tilapia, Oreochromis niloticus and modulation by other environmental contaminants. Aquat Toxicol. 1998;43(4):261-71.
- 20- Mohapatra S, Chakraborty T, Prusty AK, Kumar K, Prasad KP, Mohanta KN. Fenvalerate induced stress mitigation by dietary supplementation of multispecies probiotic mixture in a tropical freshwater fish, Labeo rohita (Hamilton). Pestic Biochem Physiol. 2012;104(1):28-37.
- 21- Gabriel UU, Ugbomeh AP. Efficacy of Clove flower bud powder as anaesthetic for three life stages of S. melanotheron, O. niloticus and T. Guineensis. J Appl Sci Environ Manag. 2017;21(1):11-5.
- 22- Ricker WE. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada; 1975.
- 23- Hummel BCW. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. Can J Biochem Physiol. 1959;37(12):1393-9.
- 24- Shihabi ZK, Bishop Ch. Simplified turbidimetric assay for lipase activity. Clin Chem. 1971;17(12):1150-3.

- behavioral responses of *Oncorhynchus mykiss* to dimethoate. *Fish Physiol Biochem*. 2011;37(4):951-8.
- 34- Ahmad Z. Acute toxicity and haematological changes in common carp (*Cyprinus carpio*) caused by diazinon exposure. *Afr J Biotechnol*. 2011;10(63):13852-9.
- 35- Al-Ghanim KA. Acute toxicity and effects of sub-lethal malathion exposure on biochemical and haematological parameters of *Oreochromis niloticus*. *Sci Res Essays*. 2012;7(16):1674-80.
- 36- Martínez-Porchas M, Martínez-Córdova LR, Ramos-Enriquez R. Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress?. *Pan Am J Aquat Sci*. 2009;4(2):158-78.
- 37- Farrell AP, editor. *Encyclopedia of fish physiology: From genome to environment*. 1st Edition. Cambridge: Academic Press; 2011.
- 38- Hamed HS. Impact of a short-term malathion exposure of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*): The protective role of selenium. *Int J Environ Monit Anal*. 2015;3(5-1):30-7.
- 39- Abdel Gawad EA, Abdel Hamid OM. Effect of vitamin C dietary supplementation in reducing the alterations induced by fenitrothion in *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiol Biochem*. 2014;40(3):787-96.
- 40- Jaddi Y, Movahedinia A, Safahieh A, Dejandian S, Hallajian A. Sub-lethal effects of pesticide diazinon on some serum biochemical parameters of Caspian Sea common bream (*Abramis brama*) fingerlings. *J Anim Res*. 2015;28(3):274-81. [Persian]
- 41- Mirvaghefi A, Farahmand H, Rafiee G, Banaee M. Study of biochemical characteristics of blood and histopathology in experimental poisoning with diazinon in common carp (*Cyprinus carpio*). *J Fish*. 2012;65(2):119-33. [Persian]
- 25- Bernfeld P. Enzymes of starch degradation and synthesis. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*. 1951;12:379-428.
- 26- Lee KJ, Dabrowski K. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. *Aquaculture*. 2004;230(1-4):377-89.
- 27- Ruff N, Fitzgerald RD, Cross TF, Hamre K, Kerry JP. The effect of dietary vitamin E and C level on market-size turbot (*Scophthalmus maximus*) fillet quality. *Aquac Nutr*. 2003;9(2):91-103.
- 28- Sarma K, Pal AK, Sahu NP, Ayyappan S, Baruah K. Dietary high protein and vitamin C mitigates endosulfan toxicity in the spotted murrel, *Channa punctatus* (Bloch, 1793). *Sci Total Environ*. 2009;407(12):3668-73.
- 29- Narra MR, Rajender K, Rudra Reddy R, Venkateswara Rao J, Begum G. The role of vitamin C as antioxidant in protection of biochemical and haematological stress induced by chlorpyrifos in freshwater fish *Clarias batrachus*. *Chemosphere*. 2015;132:172-8.
- 30- Adel A, Khara H. The effects of different dietary vitamin C and iron levels on the growth, hematological and immunological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Iran J Fish Sci*. 2016;15(2):886-97. [Persian]
- 31- Javanmardi S, Rezaee Tavabe K, Moradi S, Bayat Ghyasi LS. Effects of different levels of dietary vitamin C on growth performance, digestive enzymes activity and blood stress factors of rainbow trout under sub-lethal toxicity of malathion. *J Aquac Sci*. 2018;5(2):40-49. [Persian]
- 32- Soivio A, Oikari A. Haematological effects of stress on a teleost, *Esox lucius* L. *J Fish Biol*. 1976;8(5):397-411.
- 33- Dogan D, Can C. Hematological, biochemical, and