نسخه قبل از انتشار

اثر حفاظتی کیتوزان بر پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور معمولی در مواجهه با کادمیوم

امید بخشایش

کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی، شیلات، تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیا (ص) بهبهان، ایران.

رایانامه: bakhshayeshomid7@gmail.com

چکیده

فلزات سنگین از جمله آلاینده‌هایی هستند که به علت اثرات سمی و توان تجمع زیستی در گونه‌های مختلف آبزیان و حتی به دلیل وارد شدن به زنجیره‌های غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. کیتوزان به عنوان بیوپلیمری با کاربرد وسیع در صنایع غذایی دارای ترکیبی بازی بوده و این ویژگی سبب شده تا بتواند به راحتی با یونهای فلزی ترکیب گردد. از این رو می‌توان از آن در کاهش دسترسی زیستی به فلزات سنگین استفاده کرد. این پژوهش با هدف بررسی اثر حفاظتی کیتوزان در مقابل اثرات مضر مواجهه با کادمیوم در ماهی کپور معمولی انجام شده است. به این منظور تعداد ۱۸۰ عدد ماهی کپور معمولی تهیه و در ۶ تیمار؛ کنترل، کادمیوم ۲۵۰ ، کادمیوم ۱۲۵ ، کیتوزان + کادمیوم۲۵۰ ، کیتوزان + کادمیوم ۱۲۵ و کیتوزان تنها دسته بندی شدند و در طی یک دوره ۲۱ روزه مورد سنجش قرار گرفتند و پس از آن یک دوره یک هفته‌ای جهت ریکاوری ماهیان نیز در آزمایشات لحاظ شد. از میان فاکتورهای بیوشیمیایی مورد سنجش شاخص‌های آلبولین، تری‌گلیسرید، گلوکز، کراتینین، AST، ALT ، ALP، افزایش معنی‌داری را در تیمارهایی که کادمیوم را بدون کیتوزان از غذا دریافت کردند نشان دادند. این در حالی است که این شاخص‌ها در تیمارهایی که علاوه بر کادمیوم، کیتوزان نیز از غذا دریافت کردند با تیمارکنترل اختلاف معنی‌داری نداشتند و این گویای آن است که کیتوزان سبب انجام فعالیت این آنزیم ها در سطح نرمال خود شده است.

واژگان کلیدی: کیتوزان، فلزات سنگین، کپور معمولی، پارامترهایی بیوشیمیایی.

مقدمه

بسیاری از فلزات به طور طبیعی در طبیعت وجود دارند و حتی تعدادی از آنها در بقای موجودات از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. با وجود این چنانچه غلظت این فلزات از حد مشخصی فراتر رود موجب بروز اختلال در شبکه‌های غذایی می‌شود (۱). امروزه به دلیل افزایش استقرار صنایع مختلف و رشد و توسعه شهری، میزان آلاینده های تخلیه شده به اکوسیستم‌های آبی زیاد شده که این اکوسیستم‌ها از جمله آبزیان آنها از آلاینده‌های تخلیه شده تأثیر می-پذیرند(۲).

از آن‌جا که فلزات سنگین در بافت‌های حیوانی تجمع می‌یابند و فرآیند تجمع در همه حیوانات از جمله ماهی رخ می‌دهد، از این رو پایش سطح این فلزات سمی در مواد غذایی جهت نگاه داشت سلامت انسان لازم است (۳). از آنجایی که فلزات سنگین می‌توانند از طریق دستگاه گوارش جذب شوند، استفاده از جاذب‌های زیستی می‌تواند مانع از جذب آن‌ها در دستگاه گوارش شده و دفع آن‌ها را از طریق مدفوع و حتی ادرار افزایش می‌دهند. این امر موجب پیگیری از بروز اثرات مضر این ترکیبات بر بافت‌های مختلف ماهی خواهد شد. از این رو این بررسی با هدف استفاده از جاذبهای زیستی در کاهش اثرات مضر فلزات سنگین در ماهی انجام شده است. هدف اصلی این پژوهش عبارت است از اینکه آیا استفاده از ۱/۵ درصد مکمل کیتوزان موجب بهبود پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی کپور در مواجهه با کادمیوم می‌گردد.

بر طبق مطالعات و بررسی‌ها، پژوهش‌های گوناگونی بر روی کیتوزان صورت گرفته که استفاده از آن در علوم پزشکی و داروسازی یکی از این موارد است. برای مثال می‌توان به مطالعه سعادتمند و همکاران (۱۳۹۱) که خاصیت ضد میکروبی نانو کامپوزیت کیتوزان TiO_2 - و به کارگیری آن روی گاز استریل بیمارستانی را مورد

پژوهش قرار دادند اشاره کرد که نهایتا اعلام کردند نانو کامپوزیت کیتوزان TiO_2 - در محیط کشت و روی گاز می‌تواند برای کنترل باکتریهای بیماری‌زا مفید باشد (۴).

نوع دیگری از پژوهش‌ها مربوط می‌شود به کاربرد آنها بر عملکرد سیستم دفاعی و ایمنی بدن که می‌توان به مطالعه طافی و همکاران (۱۳۹۲) اشاره داشت که تأثیر کیتوزان بر پارامترهای هماتولوژی و مقاومت در برابر استرس در قزل‌آلای رنگین کمان را بررسی کردند، که نتایج آنها بیان داشت افزود ۰.۲۵ درصد کیتوزان سبب افزایش پارامترهای هماتوبیولوژی و افزایش مقاومت در برابر برخی از استرس‌های محیطی در قزل آلا می‌گردد. (۵).

مطالعاتی مبنی بر استفاده از کیتوزان به عنوان نگهدارنده مواد غذایی صورت گرفته که به عنوان مثال می‌توان به پژوهش اجاق و همکاران (۱۳۹۱) اشاره کرد. در این پژوهش اثر پوشش‌های آنتی میکروبی در افزایش ماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفته و یافته‌ها نشان دادند که اسانس دارچین و پوشش کیتوزانی اثر سینرژیستی قابل ملاحظه‌ای در کاهش شمارش باکتریایی کل، باکتریهای سرما دوست، باکتریهای اسید الکتیک و اینترو باکترها داشتند (۶).

اما مطالعات گسترده‌ای در زمینه کاربرد کیتوزان جهت حذف آلاینده ها و تصفیه فاضلاب ها صورت گرفته که از این دسته مطالعات می‌توان به پژوهش‌های جعفرزاده حقیقی فرد و همکاران (۱۳۹۳) که استفاده از کیتین پوسته میگو (کیتوزان) برای بیو جذب فلز روی از محلولهای آبی را بررسی کردند، اشاره نمود. نتایج پژوهش آنها گواه بر این بوده که کیتین استحصالی از پوسته میگو (کیتوزان) یک بیو جاذب موثر برای حذف فلز روی از محلولهای آبی است (۷).

همچنین می‌توان به پژوهش صید محمدی و همکاران (۱۳۹۱) اشاره کرد که هدف از پژوهش آنها حذف کدورت از آب خام با استفاده از کیتوزان به عنوان منعقد کننده در فرآیند انعقاد الکتریکی توسط الکترود آلومینیوم بوده است. نتایج پژوهش آنها نشان داده ایست که استفاده از انعقاد الکتریکی با الکترود آلومینیوم به همراه کمک منعقده کننده کیتوزان میزان حذف کدورت را نسبت به فرآیند انعقاد الکتریکی بدون کمک منعقدها افزایش می‌دهد (۸).

زو و همکاران (۲۰۱۳) عنوان کردند که استفاده از کیتوزان به عنوان یک روش مؤثر و کم هزینه به صورت یک جاذب زیستی برای حذف فلزات سنگین در آب‌های آلوده می‌تواند اثرات مثبت قابل توجهی داشته باشد (۹).

فرهان و همکاران (۲۰۱۵) امکان استفاده از کیتوزان برای حذف Pb ، Feو Mn در نمونه‌های آب جمع آوری شده از چند منطقه مختلف سریلانکا را مطالعه کردند و اعلام نمودند که کیتوزن به عنوان ماده‌ای کم هزینه، دوست طبیعت و جاذب زیستی است که باعث تصفیه آبهای نوشیدنی آلوده با فلزات سنگین Pb، Feو Mn شده است (۱۰). این پژوهش‌ها از نمونه مطالعاتی است که در جهت کاربرد کیتوزان در تصفیه آب و فاضلاب ها صورت گرفته است.

اما مطالعاتی مبنی بر استفاده از کیتوزان برای حذف و عدم تجمع فلزات سنگین در بدن آبزیانی که در معرض این فلزات قرار می‌گیرند، صورت گرفته که می‌توان به تحقیقات رن و همکاران (۲۰۰۶) که اثر جعفری چینی (*sativum Coriandrum*) و کیتوزان را بر روی ممانعت از تجمع کادمیوم در قزل آلای رنگین کمان (*mykiss Oncorhynchus*) را بررسی کردند و بیان کردند افزودن این دو ماده می‌تواند سبب کاهش سمیت فلز سنگین تجمع یافته در ماهی گردد (۱۱).

لی و همکاران (۲۰۱۵) نیز تأثیر تغذیه‌ای سریوم و کمپلکس آن با کیتوزان بر کاهش تجمع کادمیوم در توربوت نوجوان (*maximus Scophthalmus*) در زیر شرایط استرس کادمیوم را بررسی کردند و این گونه اعلام داشتند که افزایش کمپلکس کیتوزان و سریوم نقش حفاظتی در برابر تجمع کادمیوم در ماهی توربوت داشته است (۱۲).

همانطورکه پژوهشهای انجام شده نشان دادند، کادمیوم می‌تواند طیف وسیعی از اثرات مخرب را بر سلامت ماهی کپور معمولی داشته باشد. ماهی کپور معمولی یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در جهان است و نقش حیاتی در تامین امنیت غذایی انسان ایفا می‌کند. این ماهی به دلیل مقاومت بالا به شرایط مختلف محیطی، به‌طور گسترده‌ای در

آب‌های شیرین پرورشی و طبیعی یافت می‌شود. با این حال، آلودگی آب‌ها به کادمیوم، سلامت و تولید این گونه ارزشمند را به طور جدی تهدید می‌کند.

با توجه به افزایش آلودگی آب‌ها به کادمیوم و اثرات مخرب آن بر سلامت ماهی کپور معمولی، بررسی اثر حفاظتی کیتوزان بر پارامترهای بیوشیمیایی خون این ماهی در مواجهه با کادمیوم از اهمیت بالایی برخوردار است. نتایج این پژوهش می‌تواند برای توسعه استراتژی های جدید برای کاهش اثرات مضر آلودگی کادمیوم بر ماهی کپور معمولی و سایر گونه‌های آبزی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، این یافته‌ها می توانند به درک بهتر مکانیسم سمیت کادمیوم و اثرات محافظتی کیتوزان کمک کند.

مواد و روش ها

تهیه ماهی و شرایط نگهداری: ۱۸۰ عدد ماهی کپور معمولی (۷±۳۷/۵گرمی) از یک مزرعه‌ی خصوصی واقع در شهرستان شوش، استان خوزستان خریداری و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص) بهبهان، انتقال داده شدند. پس از انتقال، ماهی‌ها به‌طور تصادفی در ۱۲ مخزن پلاستیکی ۳۰۰ لیتری (۱۵ ماهی در هر مخزن) مجهز به هواده با تعویض روزانه ۳۰ درصدی آب توزیع گردیدند، ورودی آنها برای جلوگیری از پرش ماهیها با تور پوشیده شد. پیش از شروع آزمایش، ماهی‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاهی (دمای آب ۲±۲۴ سانتیگراد، دوره ی نوری ۱۴ ساعت روشنایی،۱۰ ساعت تاریکی، اکسیژن ۱±۶ میلی گرم در لیتر، ۰/۲±۶ /۷ pH) سازگار گردیدند. در طی دوره ی سازگاری ماهی‌ها با جیره‌ی تجاری کپور به صورت دو بار در روز و معادل ۳ درصد وزن بدن تغذیه شدند

تهیه کیتوزان: جهت استخراج کیتین از پوسته میگوی هندی استفاده شد. پوسته میگوها به صورت تازه از بازار ماهی فروشان شهرستان بهبهان تهیه شد و پس از شستشو با نسبت ۱:۶ با استفاده از اسید کلریدریک ۵ درصد و به مدت ۲۴ ساعت مینرال زدایی شد. پس از زمان یاد شده، پوسته‌ها جهت از بین بردن بقایای اسید شسته شده و بعد در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد خشک شدند. پوسته‌های خشک شده به مدت ۴۸ ساعت و با نسبت ۱:۱۰ در

محلول سود ۵ درصد جهت حذف پروتئین نگهداری شده و در انتهای این مرحله کیتین استخراج شد. کیتین حاصله به منظور تبدیل به کیتوزان به سود ۶۰ درصد انتقال داده شده و به مدت ۲ ساعت در محلول مذکور نگهداری شد. در نهایت کیتوزان استخراج شده با استفاده از آب مقطر شسته شده و در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد خشک گردید.

آماده سازی جیره‌های غذایی آزمایشی: جهت آماده سازی جیره‌های غذایی آزمایشی از خوراک پایه استاندارد کپور معمولی شرکت فرادانه استفاده شد. در مورد گروه اول (کنترل) تنها از خوراک پایه استفاده شد. برای گروه دوم (cd250) ۲۵۰ میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم غذا، برای گروه سوم (cd251) ۱۲۵ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم غذا، ، برای گروه چهارم (کیتوزان + Cd 250) ۰.۵ درصد کیتوزان و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم، برای گروه پنجم (کیتوزان + Cd 125) ۰.۵ درصد کیتوزان و ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیوم، و برای گروه ششم (کیتوزان تنها) ۰/۵ درصد کیتوزان با خوراک آسیاب شده کپور مخلوط و توسط چرخ گوشت با قطر حدیده تقریبی ۳ میلیمتری به صورت رشته درآمدند. رشته‌های حاصل در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد خشک و با استفاده از دست در اندازه‌ای مناسب خرد شدند سپس تا زمان استفاده به صورت بسته بندی در فریزر (۲۰ – درجه سانتیگراد) نگهداری شدند (۱۳).

جدول ۱: ترکیب غذایی جیره تجاری شرکت فرادانه (۱۳)

مواد مغذی	میزان بر حسب درصد
پروتئین خام	۳۶
چربی خام	۹
فیبر خام	۵
خاکستر	۱۰
رطوبت	۱۰
فسفر	۱۱

طرح آزمایش: آزمایش در قالب یک طرح کامال تصادفی و با ۶ تیمار آزمایشی(دو تکرار) به مدت ۲۱ روز انجام شد .پس از دوره ۲۱ روزه، جهت پاکسازی و ریکاوری ماهیان به مدت یک هفته تنها از خوراک پایه استفاده شد. پس از شروع دوره آزمایشی و تغذیه ماهی‌ها با جیره‌های معرفی شده، نمونه برداری از بچه ماهیان در هر شش گروه در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ انجام شد. برای این منظور تعداد دو عدد ماهی از هر مخزن به صورت تصادفی گرفته شد سپس به وسیله سرنگ آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین، خون‌گیری از ساقه دمی بچه ماهیان انجام شد و نمونه‌های خونی به میکروتیوپ آغشته شده به هپارین انتقال داده شدند. پلاسمای نمونه‌های خونی در دستگاه سانتریوفیوژ در دور rpm ۲۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شده و تا انجام آزمایشهای بیوشیمیایی در دمای ۲۱ –درجه سانتیگراد نگهداری شدند. مایع سطحی جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی جمع آوری و تا زمان اندازه گیری آنالیزهای بیوشیمیایی در دمای ۲۰ –درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی خون: پارامترهای بیوشیمیایی خون مورد سنجش عبارتند از: پروتئین کل پلاسما، آلبومین، گلوبولین، کراتینین، گلوکز، تری‌گلیسرید و آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز (۱۴). اندازه‌گیری این فاکتورها با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتوفتومتر صورت گرفت.

نتایج

جدولهای ۲ الی ۵ مربوط به نتایج بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی است که به صورت میانگین به همراه انحراف معیار نشان داده شده است.

جدول ۲، بررسی شاخصهای بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی در روز هفتم را نشان می‌دهد.

جدول ۲ : بررسی شاخصهای بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی در روز هفتم

	کنترل	Cd250	Cd125	کیتوزان + Cd120	کیتوزان + Cd125	کیتوزان تنها

پروتئین کل g/dl	۲/۹۸ ± ۰/۴۱	۲/۶۱ ± ۰/۱۵	۲/۶۷ ± ۰/۶۱	۲/۱۷ ± ۰/۱	۱/۸۷ ± ۰/۲۶	۳/۰۳ ± ۰/۲۱
آلبومین g/dl	۱/۴۸ ± ۰/۱۶	۱/۶۱ ± ۰/۴۳	۱/۴۱ ± ۰/۳۶	۱/۴۵ ± ۰/۲۳	۱/۱۵ ± ۰/۷۸	۱/۰۸ ± ۰/۳۵
گلوبولین g/dl	۱/۵ ± ۰/۲۵	۱ ± ۰/۲۹	۱/۲۶ ± ۰/۲۵	۰/۷۲ ± ۰/۱۵	۰/۷۳ ± ۰/۲	۱/۹۵ ± ۰/۳۷
تری‌گلیسرید mg/dl	۹۸/۹۹ ± ۱۷/۴ ^{a}	۲۶۹/۸۵ ± ۲۶/۱۴ ^{b}	۲۴۶/۵۷ ± ۲۵/۹۹ ^{b}	۱۷۹/۴ ± ۲۰/۶۹ ^{ab}	۱۹۴/۱۴ ± ۸/۳۹ ^{ab}	۹۹/۶۱ ± ۳۶/۵۳ ^{a}
گلوکز mg/dl	۱۳۸/۸۵ ± ۲۳/۸۴ ^{ab}	۲۳۱/۴۱ ± ۲۸/۱۹ ^{b}	۱۹۴/۹۷ ± ۳۲/۲۳ ^{ab}	۱۸۲/۹۴ ± ۶/۹ ^{ab}	۱۹۵/۲۱ ± ۸/۸۹ ^{ab}	۱۰۳/۱۷ ± ۱۵/۷ ^{a}
کراتنین mg/dl	۰/۸۹ ± ۰/۴۱	۱/۹ ± ۰/۶۱	۱/۱۲ ± ۰/۲	۰/۹۷ ± ۰/۱۶	۰/۹۳ ± ۰/۳۹	۰/۷۴ ± ۰/۲۵
ALT μ/l	۱۰/۵۹ ± ۰/۷۱ ^{a}	۴۰/۸۶ ± ۹/۸ ^{b}	۲۲/۹۹ ± ۵/۸۳ ^{ab}	۱۹/۰۲ ± ۴/۰۵ ^{ab}	۲۰/۰۷ ± ۵/۰۴ ^{ab}	۱۲/۹ ± ۲/۶ ^{a}
AST μ/l	۱۹/۸۵ ± ۳/۵۷ ^{ab}	۸۲/۷۱ ± ۲۷/۵۸ ^{b}	۶۲/۰۳ ± ۱۴/۲۵ ^{ab}	۳۰/۶ ± ۹/۳۹ ^{ab}	۲۸/۱۲ ± ۸/۳۸ ^{ab}	۱۸/۱۹ ± ۶/۱۱ ^{a}
ALP μ/l	۱۷ ± ۵/۱۱	۷۴/۶۷ ± ۲۳	۲۸/۷۲ ± ۱۱/۴۴	۳۹/۷۵ ± ۱۷/۵۶	۳۸/۶ ± ۴/۴۹	۲۰/۲۲ ± ۷/۹۲

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد. $(P < 0.05)$

در روز هفتم، شاخص تری‌گلیسرید برای تیمارهای Cd 250 و Cd 125 بیشترین مقدار و برای تیمار شاهد کمترین مقدار را داشت. بیشترین مقدار برای شاخص گلوکز مربوط به تیمار Cd 250 بود. برای آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) ، Cd 250 باز با داشتن بیشترین مقدار، اختلاف معنی داری را با تیمار شاهد نشان داد. در مورد شاخصهای پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، کراتینین و آلکانین فسفاتاز (ALP) اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد.

جدول ۳، بررسی شاخصهای بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی در روز چهاردهم را نشان می‌دهد.

جدول ۳ :بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی در روز چهاردهم

	کنترل	Cd250	Cd125	کیتوزان + Cd120	کیتوزان + Cd125	کیتوزان تنها
پروتئین کل g/dl	۴/۱۷ ± ۰/۳۷	۴/۹۴ ± ۰/۶۶	۴/۸ ± ۰/۶۷	۴/۱۹ ± ۰/۲	۴/۳۳ ± ۰/۲۲	۴/۶۶ ± ۰/۱۵
آلبومین g/dl	۲/۶۳±۰/۱۱	۳/۸۲±۰/۴۶	۳/۵۱±۰/۵۶	۲/۹۲±۰/۲۹	۲/۶۲±۰/۱۶	۲/۵۳±۰/۱۷
گلوبولین g/dl	۱/۵۴±۰/۲۷	۱/۱۲±۰/۱۹	۱/۲۹±۰/۴۳	۱/۲۷±۰/۴۲	۱/۷۱±۰/۷۸	۲/۱۳±۰/۱۵
تری‌گلیسرید mg/dl	۹۲/۲۹±۵/۰۲ ^{a}	۱۹۶/۶۵±۳۱/۶۲ ^{b}	۱۵۵/۲۸±۱۴/۰۲ ^{ab}	۹۸/۸۳±۱۶/۰۴ ^{a}	۱۲۰/۲۷±۲۹/۳۳ ^{ab}	۹۳/۱۳±۱۵/۵۷ ^{a}
گلوکز mg/dl	۸۴/۴۳±۳/۴۱ ^{a}	۱۹۵/۲۱±۳۰/۶۱ ^{b}	۱۳۵/۲±۴/۷۲ ^{a}	۹۴/۵۱±۶/۷۵ ^{a}	۸۵/۴±۷/۰۵ ^{a}	۷۹/۰۴±۳/۱۳ ^{a}

کراتنین mg/dl	۰/۴۸±۰/۱^{a}	۲/۱±۰/۲۸^{b}	۱/۶۱±۰/۱۶^{b}	۰/۹۶±۰/۰۳^{a}	۰/۶۵±۰/۱۴^{a}	۰/۴۱±۰/۱۶^{a}
ALT μ/l	۱۴/۸۹±۲/۳۸^{a}	۲۷/۹۵±۳/۲۸^{b}	۱۸/۰۳±۰/۷۳^{a}	۱۷/۸۶±۱/۹۵^{a}	۱۶/۵۴±۲/۶۷^{a}	۱۰/۹۲±۲/۴۲^{a}
AST μ/l	۲۳/۹۸±۳/۶۷	۹۰/۱۵±۸/۴۷	۸۸/۵±۴۰/۴۶	۴۶/۳۲±۱۴/۴۸	۴۵/۴۹±۱۷/۵۸	۲۳/۹۸±۲/۴۸
ALP μ/l	۱۰/۸±۲/۲۳^{a}	۵۵/۸۳±۱۳/۹۸^{b}	۲۸/۲۶±۶/۴۹^{ab}	۲۸/۴۹±۶/۹۳^{ab}	۲۵/۷۳±۸/۴۶^{ab}	۱۱/۰۳±۳/۷۱^{a}

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد. $(P < 0.05)$

روز چهاردهم، شاخصهای پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) اختلافی را بین تیمارها نشان ندادند. در شاخص تری‌گلیسرید تیمار Cd ۲۵۰ بیشترین مقدار را داشت. برای شاخص‌های گلوکز و آالنین آمینوترانسفراز (ALT) این تیمار Cd 250بود که بیشترین مقدار را داشت و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد. تیمارهای کادمیومی(Cd 250و Cd 125) در شاخص کراتینین افزایش قابل توجهی را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند. بیشترین و کمترین سطح شاخص آلکانین فسفاتاز (ALP) به ترتیب مربوط به تیمار Cd 250 و تیمار کنترل است.

جدول ۴، بررسی شاخصهای بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی در روز هفتم را نشان می‌دهد.

جدول ۴ :بررسی شاخصهای بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی در روز بیست و یکم

	کنترل	Cd250	Cd125	کیتوزان + Cd120	کیتوزان + Cd125	کیتوزان تنها
پروتئین کل g/dl	۳/۷۲ ± ۰/۷۳	۵/۶۹ ± ۰/۳۶	۴/۹۲ ± ۰/۲۵	۵/۰۸ ± ۰/۱۴	۴/۸۱ ± ۰/۵۳	۴/۰۱ ± ۰/۲۸
آلبومین g/dl	۲/۲±۰/۵۱^{a}	٤/۲٦±۰/۳۶^{b}	۳/٤٤±۰/۳^{ab}	۳/٦±۰/۲^{ab}	۳/۲۳±۰/۴۴^{ab}	۲/۳۱±۰/۲۳^{a}
گلوبولین g/dl	۱/۵۲±۰/۲۶	۱/۴۳±۰/۱۱	۱/۴۹±۰/۲۶	۱/۴۸±۰/۱۲	۱/۶±۰/۲۶	۱/۷±۰/۱۸
تری‌گلیسرید mg/dl	۱۰۶/۳۶±۸/۵۶^{a}	۲۴۷/۵۷±۳۹/۲۹^{b}	۲۰۳/۵۲±۲۵/۴۹^{ab}	۱۸۸/۱۱±۹/۷۵^{a}	۱۴۸/۴۱±۶/۵۳^{ab}	۲۵۷/۰۶±۷۲/۹۶^{a}
گلوکز mg/dl	۹۷/۱۸±۱۰/۳^{a}	۱۵۲/۷±۱۴/۱^{b}	۱۳۵/۳۲±۹/۹۵^{a}	۹۶/۶۹±۱۵/۸۴^{a}	۱۰۰/۳۴±۱۰/۶۱^{a}	۹۹/۴۵±۷/۳۷^{a}
کراتنین mg/dl	۰/۵۸±۰/۱۶^{a}	۱/۸۳±۰/۲^{b}	۱/۳۹±۰/۲۵^{b}	۱/۰۶±۰/۲۹^{ab}	۰/۶۵±۰/۱۵^{a}	۰/۶۶±۰/۱۴^{a}
ALT μ/l	۱۰/۵۹±۱/۱۱^{a}	۲۳/۳۲±۱/۷۶^{c}	۱۹/۶۸±۱/۷۴^{bc}	۱۱/۴۱±۲/۳۱^{a}	۱۳/۶۷±۰/۸۸^{ab}	۱۳/۷۳±۱/۰۲^{ab}
AST μ/l	۲۳/۱۳±۷/۹۹^{a}	۱۶۲/۹۳±۳۴/۷۳^{b}	۱۶۶/۲۴±۳۶/۷^{b}	۵۶/۲۴±۱۰/۷۲^{a}	۷۶/۹۲±۱۳/۵۳^{ab}	۲۳/۱۶±۴/۴۸^{a}
ALP μ/l	۱۳/۰۹±۴/۸۴^{a}	۵۰/۷۷±۳/۱^{b}	۳۳/۵۴±۱۴/۵۶^{ab}	۲۷/۸±۶/۳۸^{ab}	۱۶/۰۸±۲/۱۷^{a}	۱۵/۰۱±۵/۶۲^{a}

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد. $(P < 0.05)$

در روز بیست و یکم، در شاخص آلبومین تیمار کنترل با تیمار Cd 250اختلاف معنی داری داشت. بیشترین مقدار برای شاخص تریگلیسرید مربوط به تیمار Cd 250 و کمترین آن مربوط به تیمار کنترل میباشد. تیمارهای کیتوزانی (کیتوزان + Cd 250،کیتوزان + Cd 125) برای شاخص‌های گلوکز، کراتینین، آلانین آمینوترانسفراز ALT ، آسپارتات آمینوترانسفراز AST و آلکانین فسفاتاز ALP با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداده است و تیمارهای کادمیومی (Cd 250و Cd 125) بیشترین مقادیر این شاخص‌ها را دارا بوده است.

جدول ۵، بررسی شاخصهای بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی در روز هفتم را نشان می‌دهد.

جدول ۵ : بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون در تیمارهای مختلف بچه ماهی کپور معمولی در روز بیست و هشتم

	کنترل	Cd250	Cd125	کیتوزان + Cd120	کیتوزان + Cd125	کیتوزان تنها
پروتئین کل g/dl	۵/۰۳±۰/۴۳	۵/۲۵±۰/۲۵	٤/۷٤±۰/۱۶	٤/۹٤±۰/۳۹	۵/۳۱±۰/۳۴	۵/۲۱±۰/۴۱
آلبومین g/dl	۳/۱±۰/۳۴	۳/۳٦±۰/۲۷	۳/۰٤±۰/۱۵	۲/٦۲±۰/۳۷	۲/۷±۰/۳۱	۲/۰۳۶/۳۱
گلوبولین g/dl	$۱/۹۱±۰/۱۱^{ab}$	$۱/۸۹±۰/۱^{ab}$	$۱/۷±۰/۰۴^{a}$	$۲/۳۳±۰/۱۷^{ab}$	$۲/۶۱±۰/۴۶^{ab}$	$۲/۸۵±۰/۱۱^{b}$
تری‌گلیسرید mg/dl	$۸۴/۲۵±۱۹/۷۷^{a}$	$۱۶۹/۳۵±۹/۷۲^{b}$	$۱۴۴/۸۹±۱۸/۹۵^{ab}$	$۱۳۱/۳۲±۴/۷۱^{ab}$	$۱۲۴/۱۲±۱۲/۸۶^{ab}$	$۸۴/۴۲±۱۹/۹۱^{a}$
گلوکز mg/dl	$۹۸/۴±۶/۷۲^{ab}$	$۱۵۱/۳۶±۲۷/۵۷^{b}$	$۱۰۴/۵۹±۱۱/۳^{ab}$	$۱۰۲/۲۸±۱۷/۰۳^{ab}$	$۹۶/۰۹±۴/۳۳^{ab}$	$۸۱/۶۳±۴/۷۲^{a}$
کراتنین mg/dl	$۰/۵۹±۰/۱۸^{ab}$	$۱/۰۷±۰/۰۹^{b}$	$۰/۷۷±۰/۱^{ab}$	$۰/۶۸±۰/۲۳^{ab}$	$۰/۴۱±۰/۰۶^{a}$	$۰/۲۷±۰/۰۸^{a}$
ALT μ/l	$۱۰/۲۵±۰/۹۹^{a}$	$۲۰/۳۵±۳/۱^{b}$	$۱۵/۳۸±۱/۰۹^{ab}$	$۱۰/۹۲±۲/۵۷^{a}$	$۹/۲۶±۱/۹۱^{a}$	$۱۱/۴۱±۱/۶۱^{a}$
AST μ/l	$۳۲/۲۶±۶/۲۴^{a}$	$۱۵۷/۱۴±۳۷/۳۴^{b}$	$۹۳/۴۶±۳۲/۷^{ab}$	$۴۹/۶۲±۱۱/۳۸^{a}$	$۲۳/۹۸±۴/۳۵^{a}$	$۳۹/۴۱±۶/۳۹^{a}$
ALP μ/l	$۱۴/۰۱±۱/۸۵^{a}$	$۴۷/۵۶±۷/۰۳^{b}$	$۲۹/۶۴±۳/۹۸^{ab}$	$۲۸/۷۲±۷/۶۴^{ab}$	$۲۰/۶۸±۵/۶۲^{a}$	$۱۵/۳۲±۲/۹۲^{a}$

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد. ($P < 0.05$)

در روز بیست و هشتم، به طور کلی تیمارها در همه شاخص‌ها اختلاف معنی داری را با تیمار کنترل نشان ندادند جز تیمار Cd 250 با نشان دادن افزایش سطح در مورد شاخص‌های تری‌گلیسرید، آلانین آمینوترانسفراز ALT ، آسپارتات آمینوترانسفراز AST و آلکانین فسفاتازALP از اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل برخوردار بوده است.

بحث و نتیجه گیری

فاکتورهای بیوشیمیایی خون آنزیم‌های آسپارتات آمینو ترانسفراز AST و آلانین آمینو ترانسفراز ALT می‌توانند میزان آلودگی محیط و سمیت ناشی از فلزات سنگین را قبل از بروز اثرات خطرناک به طور حساسی نشان دهند (۱۴). این آنزیم‌ها نقش مهمی در مرحله نهایی تجزیه پروتئینها جهت تولید ATP ایفا می‌کنند(۱۵)، لذا افزایش سطح فعالیت این آنزیم‌ها به علت استفاده از اسیدهای آمینه در فرآیند اکسیداسیون یا گلوکوژنز جهت تأمین انرژی لازم برای مقابله با اثرات سمی می‌تواند تأثیر گذار باشد. از طرفی، اسیدهای آمینه نیز نقش مهمی در سم زدایی و دفع سموم از طریق ترکیب شدن با متابولیت‌های سمی ایفا می‌کنند (۱۶). آنزیم لاکتات فسفاتاز ALP ، در اپیتلیوم مجاری صفراوی، سلولهای کبدی و نیز در مخاط روده و کلیه ها یافت می‌شود. سطح این آنزیم در انسداد مجاری صفراوی داخل و خارج کبدی، سیروزی و اختلالات کبدی بشدت افزایش می‌یابد (۱۸). ممانعت از فعالیت این آنزیم در کبد با تجزیه گلیکوژن جهت تأمین انرژی مورد نیاز تحت شرایط استرس زا در ارتباط بوده و یا سبب کاهش نرخ فسفوریالسیون شده و یا از فسفوریالسیون اکسیداتیو در زنجیره تنفسی جلوگیری می‌نماید. (۱۹).

در طی این مطالعه مشاهده شده است که تیمار Cd 250نسبت به تیمار کنترل برای سه آنزیم فوق ذکر افزایش سطح را نشان داده است که افزایش سطح این آنزیم ها می‌تواند ناشی از این باشد که کادمیوم اثرات سمی خود را القا کرده است. مشابه این نتایج، افزایش فعالیت این آنزیم ها در پلاسمای ماهی کپور در معرض غلظت بالایی NPs Znoمشاهده شده است (۲۰). تیمارهایی که علاوه بر کادمیوم، کیتوزان هم از غذا دریافت کردند اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان ندادند و این گویای آن است که کیتوزان سبب انجام فعالیت این آنزیم ها در سطح نرمال خود شده است. پروتئین کل پلاسما در سلولها و بافت‌ها به ویژه بافت کبد یافت می‌شوند و نقش حیاتی در فیزیولوژی موجودات زنده ایفا می‌کند. همچنین پروتئین مهمترین ماده آلی مورد نیاز جهت ساخت و نوسازی بافت‌ها است و نقش مهمی در تأمین انرژی برای ماهیان ایفا می‌کند (۲۱). در این مطالعه این شاخص گرچه اختلاف معنی داری بین تیمارها نشان نداد ولی تیمار Cd 250نسبت به تیمار کنترل افزایشی هر چند نامحسوس داشته و این می‌تواند به خاطر افزایش ترکیبات ایمنی پروتئینی مانند لیزوزیم و همچنین پاسخهای غیر اختصاصی قوی ماهی باشد.(۲۲).

پروتئین پلاسما عمدتا حاوی آلبومین و گلوبولین است. تحقیق در مورد عملکرد و استفاده از آلبومین پلاسما ، نه تنها به دلیل موقعیت غالب آن در پروتئین پلاسما ، بلکه به خاطر تغییرات چشمگیر سطح این پروتئین پلاسما در بسیاری از بیماریها و سایر شرایط استرس، همچنان منحصر به فرد است(۲۳). آلبومین پلاسما مهمترین پروتئین خارج سلولی است که توسط سلولهای کبدی سنتز می‌شود. این آنزیم در حفظ فشار انکوتیک در عروق خونی، حفظ ذخیره نیتروژن برای رشد و ترمیم بافت‌ها و نیز در نقل و انتقال داروها، هورمونها، مواد معدنی، ویتأمین های محلول در چربی، لیپیدها و بیلی روبین مؤثر است. کاهش سطح آلبومین پلاسما در ماهی های تحت تیمارهای آلاینده های زیست محیطی، نشان دهنده بروز آسیبهای شدید کبدی و به دنبال آن کاهش سنتز آلبومین می‌باشد (۱۸). این آنزیم در روز ۲۹ در تیمار Cd 250نسبت به تیمار کنترل افزایش سطح نشان داده که ممکن است به دلیل نقش آن در انتقال متابولیت‌های کادمیوم جهت دفع کردن از بدن باشد. گلوبولین‌ها گروهی از پروتئینهای تام هستند که نقش بسزایی در فعالیتهای ایمنولوژیکی جانوران ایفا می‌کنند. گرچه در مورد این آنزیم اختلاف معنی-داری بین تیمارها مشاهده نشده اما سطح این آنزیم در تیمارهای کادمیومی (Cd 250و Cd 125) نسبت به تیمار کنترل کاهش داشته که در توضیح این مشاهده باید گفت که تعاملات پیچیده ای از سلول های ایمنی بدن که به بسیاری از اختلالات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی که می‌تواند توسط فلزات سنگین ایجاد شود حساس هستند، برای تولید پاسخ ایمونولوژیک ماهی مورد نیاز می‌باشند، چنین عوارض جانبی ممکن است پاسخ ایمنی ماهی را سرکوب کند و آنها را نسبت به پاتوژنهای محیطی آسیب پذیرترکنند(۲۴). از طرفی تیمار (کیتوزان + Cd 125) نشان داده که نسبت به گروه کنترل افزایش سطح داشته که این ممکن است به خاطر تقویت سیستم ایمنی ماهی‌ها باشد. در تحقیقی که محیسنی و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام دادند بیان کردند که سطح آلبومین و گلوبولین در پلاسمای خون ماهی کپور معمولی که از طریق تغذیه به Cd و Pb آلوده شدند کاهش قابل توجهی داشته است (۳۵).

تری گلیسرید برای نشان دادن وضعیت تغذیه‌ای و برای ارزیابی متابولیسم لیپید در حیوانات استفاده شده است (۲۶). مهمترین کارکرد تری گلیسرید، ذخیره و فراهم آوردن انرژی سلولی است (۲۷). در تحقیق حاضر سطح این شاخص در تیمار Cd 250نسبت به تیمار کنترل افزایش چشمگیر داشته است از طرف دیگر تیمارهایی که علاوه

بر کادمیوم کیتوزان نیز دریافت کرده اند با تیمار کنترل اختلاف معنی داری نشان ندادند. تعدادی گزارش وجود دارد که نشان می دهد آلاینده ها (مانند Cd ، Pbو Mercury) عملکرد تیروئید را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۲۸ و ۲۹). از آنجا که کاهش ترشح تیروئید (کم کاری تیروئید)، میزان TG در خون را بالا می برد، هیپرتری گلیسریدمی مشاهده شده ممکن است به علت هیپوتیروئیدیسم ناشی از اختلال عملکرد سرب و یا کبد باشد زیرا کبد مرکز اصلی متابولیسم لیپید است (۳۰).

کراتینین یکی از نشانگرهای زیستی مهم در سنجش میزان سموم در خون محسوب می‌شود(۳۱). در این مطالعه میزان این شاخص در تیمارهای کادمیومی (Cd 250و Cd 125) نسبت به سایر تیمارها بیشتر بوده است. در روز چهاردهم تیمارهای کادمیومی با داشتن بیشترین سطح، اختلافی بسیار مشهودی نسبت به سایر تیمارها نشان دادند این در حالی است که تیمارهایی که علاوه بر کادمیوم، کیتوزان نیز دریافت کرده اند با گروه کنترل از اختلاف معنی داری برخوردار نبودند و سطح این شاخص را در حد نرمال نگه داشته اند. در توضیح این یافته باید بیان کرد میزان کراتینین سرم در ارتباط با فیلتراسیون گلومرولی میباشد و هر چه میزان فیلتراسیون بالا باشد میزان دفع کراتینین نیز بالا رفته و میزان کراتینین در آسیب‌های کلیوی افزایش می‌یابد (۳۲).

سطح گلوکز به عنوان حساسترین شاخص بیان وضعیت یک ماهی بکار برده می‌شود. در این تحقیق مشاهده شده که شاخص گلوکز در تیمار Cd 250 نسبت به تیمار کنترل افزایش معنی داری را در روزهای چهاردهم و بیست و یکم داشته و در روزهای دیگر اگر چه اختلاف معنی دار نبوده ولی سطح آن باز نسبت به تیمار کنترل بیشتر بوده است. از طرفی تیمارهای کیتوزانی اختلاف معنی داری را با گروه کنترل در هیچ کدام از روزها نشان ندادند. باید گفت که سطح این شاخص در تیمار Cd 250 بیان کننده آن است که که ماهی تحت تنش بوده و از انرژی استفاده کرده است. در این راستا گزارشی از طرف کیخسروی و همکاران در سال ۱۳۸۹ وجود دارد که بیان می‌کند رابطه مثبتی بین غلظت کادمیوم در محیط و افزایش میزان گلوکز سرم ماهی کپور معمولی وجود دارد که علت آن را نیز تغییر در متابولیسم کربوهیدراتها و تأثیر آن بر روی گلوکز سرم بیان داشتند (۳۳).

به طور کلی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که شاخصهای آلبولین، تری‌گلیسرید، گلوکز، کراتینین، AST، ALT، ALP، افزایش معنی‌داری را در تیمارهایی که کادمیوم را بدون کیتوزان از غذا دریافت کردند نشان دادند. نتایج حاصل همچنین بیانگر آن بوده که این شاخصها در تیمارهایی که علاوه بر کادمیوم، کیتوزان نیز از غذا دریافت کردند با تیمارکنترل اختلاف معنی داری نداشتند.

منابع

1. Aryai, M., Hamidian, A.H., Eghdari, S., Ashrafi, S. (2013). Absorption rate of heavy metal Cd in zebrafish liver in two saltwater and freshwater environments, *Natural Environment, Natural Resources of Iran*, 67(4), 365-355. (Translated in Persian)
2. Habibian, T., (2007). Investigation of the biological accumulation of heavy metals (Pb, Zn, Ni) in the pseudo-suppressed muscle and sediments of Khor Musa (Mahshahr and Moavi), *Master's Thesis, Islamic Azad University, Ahvaz Science and Research Unit*, 754. (Translated in Persian)
3. Fialkowski, W., Fialkowska, E., Smith, B.D. (2003). Biomonitoring survey of trace metal pollution in streams of a catchment draining azinc and lead mining area of upper Silesia, Poland using the amphipod Gammarusfossarum, *Int Rev Hydrobiol*, 88, 187-200.
4. Saadatmand, M.H., Yazdanshanas, M.A., Rezaei Zarchi, S., Yousefi Telluri, B., Mandahi, M. (2012). Antimicrobial property of chitosan-TiO2 nanocomposite and its application on hospital sterile gas, *Journal of Laboratory Sciences Spring and summer*, 6(1), 59-72. (Translated in Persian)
5. Tafi, A., Meshkini, S., Tokmechi, A. (2012). Study of the effect of chitosan on some immune responses of rainbow trout and increasing its resistance following experimental encounter with Aeromonas (Oncorhynchus mykiss) Hydrophil, *Journal of Animal Research (Iranian Biology Magazine)*, 26(4), 477-468. (Translated in Persian)
6. Ajaq, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., Hosseini, S.M.H. (2017). Effect of antimicrobial coatings in increasing shelf life of rainbow trout, *Journal of Food Science and Industry*, 34(9), 13-23. (Translated in Persian)
7. Jafarzadeh Haghighi Fard, N., Menglizadeh, N., Hormozinejad, M. (2014). Using shrimp shell chitin (chitosan) for zinc metal biosorption from aqueous solutions, *Water and Wastewater*, 1, 51-61. (Translated in Persian)
8. Said Mohammadi, A., Asgari, Q., Rajabizadeh, A., Pourmohammadi, A., Ahmadian, M. (2013). Investigating the efficiency of electrocoagulation process with iron electrode in removing humic acid from aqueous environments in the presence of chitosan as a coagulant, *Journal of Health and Development*, 3(3), 211-200. (Translated in Persian)
9. Zhou, Y., Gao, B., Zimmerman, A. R., Fang, J., Sun, Y., Cao, X. (2013). Sorption of heavymetals on chitosan-modified biochars and its biological effects, *Chemical Engineering Journal*, 231, 512-518.
10. Farhan, S., De Silva, S.M., Rajapakse, C.S.K. (2015). Determination of potential use of chitosan for the removal of Pb, Fe and Mn in the water samples collected from different areas of Sri Lanka, *Proceedings of the Research Symposium of UvaWellassa University*, 29-30.

11. Ren, H., Jia, H., Kim, S., Maita, M., Sato, S., Yasui, M., Endo, H., Hayashi, T. (2006). Effect of Chinese parsley Coriandrum sativum and chitosan on inhibiting the accumulation of cadmium in cultured rainbow trout Oncorhynchus mykiss, *Fisheries Science*, 72, 263–269
12. Li, Q.C., Wei, X., Dong, F.W., Rantao, Z., Kang, S. M., Qing, H. A. (2015). Alleviation effect of dietary cerium and its complex with chitosan oligosaccharide on cadmium accumulation in juvenile turbot, (Scophthalmus maximus L.) under cadmium stress, 1-9.
13. Yilmaz, S., Ergun, S., Sanver Celik, E. (2012). Effects of herban supplements on growth performance of sea bass (Dicentrarchus labrax): change in body composition and some blood parameters, *Journal of bioscience and Biotechnology*, 1(3), 217-222.
14. Johnson, A.M., Rohlfs, E.M., Silverman, L.M. (1999). Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors, Tietz textbook of clinical Chemistry. 3 rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 477-540.
15. Oner, M., Atli, G., Canli, M. (2009). Effects of metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures on some enzymatic and non-enzymatic indicators in the liver of Oreochromis niloticus Bulletinof environmental contamination & toxicology, 82(3), 317-321
16. Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Rafei, G.R. (2011). Effects of longterm silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), *Fish Physiol Biochem*, 37, 885–896. (Translated in Persian)
17. DERE, E., DAĞ, Ş. (2003). In-Vitro Interaction of Paraquat with Some Amino Acids, *Fen Bilimleri Dergisi*, 24(2), 7-24.
18. Ebrahimi, A. (2004). Clinical Interpretation of Medical Experiments, first edition, Timurzadeh Cultural Publishing Institute, Tabib Publishing House, Tehran. (Translated in Persian)
19. Saha, S., Kaviraj, A. (2009). Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in fresh water catfish Heteropneustes fossilis, *Chemosphere*, 74, 1254-1259.
20. Lee, J.W., Kim, J.E., Shin, Y.J., Ryu, J.S., Eom, I.C., Lee, G.S., Kim, Y., Kim, P.J., Choi, K.H., Lee, B.C. (2014). Serum and ultrastructure responses of common carp.
21. Binukumari, S., Devi, K. A., & Vasanthi, J. (2016). Applications in environmental risk assessment of biochemical analysis on the Indian fresh water fish, *Labeo rohita exposed to monocrotophos pesticide, Environmental toxicology and pharmacology*, 47, 2002-05.
22. Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., Kumar, S. (2009). Haematological modulation and growth of Labeo rohitafingerlings: effect of dietary mannan oligosaccharide, *yeast extract, protein hydrolysate and chlorella, Aquacult Res*, 41: 61-69
23. Gopal, V., Parvathy, S., Balasubramanian, P. (1997). Effect of heavy metals on the blood protein biochemistry of the fish Cyprinus carpio and its use as a bioindicator of pollution stress, *Environ Monit Assess*, 48, 117-24.
24. Banaee M, Haghi B.N, Ibrahim A.T.A. (2014). Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos on Common carp (Cyprinus carpio), *Biochemical response, Int J Aqu Biol*, 1, 281-8. (Translated in Persian)
25. Mohiseni, M., Asayesh, S.S., ShafieeBazarnoie, S., Mohseni, F., Moradi, N., Matouri, M., Mirzaee, N. (2016). Biochemical Alteration Induced by Cadmium and Lead in Common Carp via an Experimental Food Chain, *Iranian Journal of Toxicology*, 10(4), 25-32. (Translated in Persian)
26. Bernet D, Schmidt H, Wahli T, Burkhardt-Holm P. (2001). Effluent from a sewage treatment works causes changes in plasma chemistry of brown trout (Salmo trutta L), *Ecotoxicol Environ Saf*, 48, 140–7.

27. Patriche, T., Patriche, N., Bocioc, E., Coada, M.T. (2011). Serum biochemical parameters of farmed carp (Cyprinus carpio), Aquqculture, Aquarium, Conservation & Legislation, *International Journal of the Bioflux Society*, *AACL Bioflux*, 4(2), 137-140.
28. Ricard A, Daniel C, Anderson P, Hontela A. (1998). Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout Oncorhynchus mykiss, *Arch Environ Con Tox*, 34, 81-377.
29. Hontela, A., Daniel, C., Ricard, A.C. (1996). Effects of acute and subacute exposures to cadmium on the interrenal and thyroid function in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss, *Aqua Toxicol*, 35, 82-171.
30. Levesque H, Moon T, Campbell P, Hontela A. (2002). Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (Perca flavescens) chronically exposed to metals in the field, *Aqua Toxicol*, 60, 67- 257.
31. Klaassen, C.D. (2008). Casarett and Doull' s Toxicology the Basics Cience of Poisons, McGraw-Hill Companies, Inc, New York, Seventh Edition.
32. Babaei, A., Haqparast, A.R., Arshami, J., Danesh Mesgaran, M. (2012). Effects of alcoholic extract of saffron petals (L sativus Crocus) on blood biochemical parameters in male rats, *scientific-research journal of Arak University of Medical Sciences*, 16(6), 14-21. (Translated in Persian)
33. Ki Khosravi, A., Etbati, A., Watan Dost, J., Shams, H., Jalili, M., Roki, J. (2009), Effect of near-lethal concentrations of cadmium on some biochemical parameters in the blood of phytophagous fish (Hypophthalmichthys molitrix), *Oceanography*, 1(2), , 11-16. (Translated in Persian)

Protective effect of chitosan on blood biochemical parameters of common carp exposed to cadmium

Omid bakhshayesh

Master of Science in Natural Resources Engineering, Fisheries, reproduction and aquaculture, Khatam Alanbia University of Technology, Behbehan, Iran,
E-mail: bakhshayeshomid7@gmail.com

Abstract

Heavy metals are among the pollutants that are of particular importance due to their toxic effects and ability to bioaccumulate in various aquatic species and even because they enter the food chain. Chitosan, as a biopolymer widely used in the food industry, has a basic composition, and this feature allows it to be easily combined with metal ions. Therefore, it can be used to reduce bioavailability of heavy metals. This research was conducted with the aim of investigating the protective effect of chitosan against the harmful effects of exposure to cadmium in common carp. For this purpose, 180 common carp fishes were prepared and in 6 treatments; Control, cadmium 250, cadmium 125, chitosan + cadmium 250, chitosan + cadmium 125 and chitosan alone were categorized and measured during a period of 21 days and then a period of one week for the recovery of the fish was also included in the experiments. Among the biochemical factors measured, the indices of albumin, triglyceride,

glucose, creatinine, AST, ALT, and ALP showed a significant increase in the treatments that received cadmium without chitosan from food. This is despite the fact that these indices were not significantly different from the control treatment in the treatments that received chitosan from food in addition to cadmium, and this indicates that chitosan caused the activity of these enzymes to be at their normal level.
Key words: chitosan, heavy metals, common carp, biochemical parameters.