تاثیر جنیستئین محلول در آب به‌عنوان منبع طبیعی ترکیبات فنولی بر پارامترهای خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

حمیدرضا شهریاری[1]، نصرالله محبوبی صوفیانی*[1]، فاطمه پیکان‌حیرتی[1]، پدرام ملک‌پوری[2]

[1]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

[2]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: soofiani@cc.iut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۱۶

چکیده

ترکیبات فنولی به‌عنوان یکی از فراوانترین متابولیت‌های گیاهی محسوب می‌شوند. این ترکیبات به طرق مختلف وارد اکوسیستم‌های آبی می شوند و سلامتی ماهیان و بالطبع انسان‌ها را به خطر می اندازند. در این تحقیق، تاثیر غلظت‌های مختلف فلاونوئید جنیستئین به‌صورت محلول در آب بر پارامترهای خونی شامل تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC)، غلظت هموگلوبین (Hb)، درصد هماتوکریت (Hct)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)، متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC)، شمارش افتراقی گلبول سفید در ماهی کپور معمولی با محدوده وزنی ۸۲-۵۲ گرم مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش، ۵ تیمار از جنیستئین با غلظت‌های ۱۴/۸، ۲۸/۸، ۶۵/۰، ۱۲۷/۳، ۲۲۳/۶ میکروگرم در لیتر و یک گروه شاهد طی یک دوره ۳۰ روزه در نظر گرفته شد. پس از پایان آزمایش، از هر تیمار ۷ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و از آن‌ها خونگیری به عمل آمد. نتایج بدست آمده حاکی از عدم وجود تغییرات معنی‌دار در تمامی پارامترهای اندازه‌گیری شده در مقایسه با گروه شاهد است. بنابراین، غلظت‌های مورد استفاده جنیستئین در مطالعه حاضر نمی‌تواند اثرات زیانباری بر سیستم خون‌سازی ماهی کپور معمولی داشته باشد که این خود حاکی از احتمال سمی نبودن ترکیبات فنولی موجود درفلاونوئیدها در محدوده مورد بررسی است.

واژگان کلیدی: فیتواستروژن، ایزوفلاون، شمارش افتراقی، هموگلوبین، کپورمعمولی.

مقدمه

فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌های زیست فعالی هستند که دارای وزن مولکولی پایین بوده و نقش حیاتی در سلول‌های فتوسنتز کننده ایفا می‌کنند (Cushnie and Lamb, 2005). فلاونوئیدها در همه سلول‌های فتوسنتزکننده وجود داشته، بنابراین به‌طور گسترده‌ای در سلسله گیاهان یافت می‌شوند. این ترکیبات می‌توانند از طریق روان‌آب زمین‌های کشاورزی، پساب کارخانه‌های قند، کاغذسازی و چوب‌بری به اکوسیستم‌های آبی راه پیدا کنند و یا از طریق مواد گیاهی موجود در جیره غذایی بخصوص سویا وارد بدن آبزیان شوند. از آن‌جایی که فعالیت‌های حیاتی ماهی (تنفس، تنظیم اسمزی، تعادل اسید و باز، تنظیم دما و تولیدمثل) ارتباط بسیار تنگاتنگی با محیط آبی دارد، این مواد می‌توانند با ورود به محیط‌های آبی، به‌صورت ترکیب با مواد غذایی و یا به صورت مستقیم از طریق سیستم تنفسی وارد بدن آبزیان شود و بر عملکردهای حیاتی و رفتارهای زیستی آنها تاثیرگذار باشد (Di Giulio and Hinton, 2008).

فنول و ترکیبات فنولی آلاینده های استرس‌زایی هستند که همواره به‌صورت گسترده در محیط وجود دارند و بهداشت و سلامتی سیستم‌های بیولوژیک از جمله حیات آبزیان را متاثر می سازند (Hori *et al.*, 2006). پوست، آبشش و روده از جمله مسیرهای ورود ترکیبات فنولی به بدن آبزیان محسوب می‌شوند (Di Giulio and Hinton, 2008). این ترکیبات پس از جذب در بدن، از طریق خون در تمامی قسمت‌های بدن پخش شده و باعث اختلالات بیولوژیک می‌شود. وجود فنول در اکوسیستم آبی

باعث کاهش اشتهای ماهی و کاهش راندمان تولید-مثلی می‌شود (Saha *et al.*, 1999). مطالعات نشان داده است که افزایش فنول به میزان ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر در مخازن پرورشی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) باعث کاهش معنی‌دار ضریب رشد ویژه و حجم زیست‌توده ماهیان می‌شود (Gad and Saad, 2008). فنول می‌تواند با تغییر در روند توالی آمینواسیدها در متابولیسم پروتئین و همچنین در فعالیت ترانس‌آمینازها در کاردماهی (*Notopterus notopterus*) اختلال ایجاد کند (Gupta *et al.*, 1983). افزایش فنول در آب می-تواند باعث اختلال در فعالیت طبیعی کبد ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) در جریان سنتز و تولید هورمون‌های استروئیدی و در نهایت زرده‌سازی (Kumar and Mukherjee, 1988) و همچنین تغییر متابولیسم ماهی *Brycon amazonicus* شود (Hori *et al.*, 2006). کاهش درصد هموگلوبین خون ماهی سیم دریایی (*Dicentrarchus labrax*) نیز متعاقب تاثیر ترکیبات فنولی گزارش شده است (Roche and Bogé, 2000). تاثیر سمیت سلولی ترکیبات فنولی بر گلبول‌های قرمز ماهی و سایر موجودات نیز مشخص شده است. علاوه براین بروز حالت کم خونی نیز متعاقب مجاورت با ترکیبات فنولی نیز قابل مشاهده است (Bogé and Roche, 1996; Bukowska and Kowalska, 2004; Louei Monfared and Salati, 2013).

خون به‌عنوان یک بافت سیال یکی از مهمترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که ترکیبات آن تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و عوارض پاتولوژیک، دستخوش نوسان و تغییر می‌گردند. بنابراین در اختیار داشتن مقادیر طبیعی پارامترهای خونی و بررسی چگونگی تغییرات آن‌ها در شرایط مختلف همواره از ابزارهای مهم در تشخیص بسیاری از بیماری‌های ماهیان محسوب می‌شود. پارامترهای خونی از شاخص‌های آزمایشگاهی دقیق و قابل اعتماد جهت بیان وضعیت بهداشتی، آلودگی محیطی و شناخت نوع پاسخ‌های ایمنی، به خصوص واکنش‌های التهابی است. وجود هر تغییری در محیط طبیعی می‌تواند تغییراتی را در پارامترهای خونی به‌وجود آورد (Nussey *et al.*, 1995). شاخص متوسط حجم گلبول قرمز تحت تاثیر تغییرات تعداد گلبول قرمز و هماتوکریت قرار دارد. کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین، بیانگر وجود کم‌خونی است. کم‌خونی می‌تواند در اثر تخریب گلبول‌های قرمز نیز به‌وجود آید (Tripathi *et al.*, 2004). بنابراین تعیین پارامترهای خونی و مقایسه با شرایط طبیعی، می‌تواند تا حدی به‌عنوان یک ابزار پاراکلینیکی در تشخیص بیماری و استرس وارد شده مورد استفاده قرار گیرد (Nussey *et al.*, 1995; Affonso *et al.*, 2002).

کپور معمولی یکی از گونه‌های مهم پرورشی در ایران است که تولیدات سالانه آن در ایران در حدود ۶۵۵۶۸ تن است (FAO, 2014). این مطالعه با هدف بررسی تاثیر جنیستئین به عنوان منبع طبیعی ترکیبات فنولی بر پارامترهای خونی به‌عنوان شاخصی برای بررسی آلودگی‌های محیطی درکپور معمولی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

فلاونوئید مورد استفاده در این آزمایش از نوع جنیستئین با درصد خلوص۵۲/۲٪ بوده که پس از حل نمودن در DMSO (Dimethyl sulfoxide) و تهیه محلول مادر مورد استفاده قرار گرفت. جهت انجام این تحقیق از ماهی کپور معمولی با محدوده وزنی ۸۲-۵۲ گرم پس از ۲ هفته سازگاری با شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. ۱۲۰ قطعه ماهی در مخازنی با حجم ۲۰۰ لیتر تقسیم گردید (۲۰ قطعه در هر مخزن). این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در شش تیمار از جمله یک تیمار شاهد و پنج تیمار جنیستئین شامل ۰، ۱۴/۸، ۲۸/۸، ۶۵، ۱۲۷/۳، ۲۲۳/۶ میکروگرم در لیتر انجام شد. روزانه نیمی از حجم آب تعویض و با استوک تازه جایگزین

گردید. جهت اطمینان از میزان واقعی جنیستئین در هر یک از تیمارها، ابتدا به میزان یک لیتر آب از هر تیمار برداشته شد. سپس نمونه آب بوسیله پمپ خلا از کاتریج ۶۰ میلی‌گرم عبور داده شد. نمونه غلیظ شده پس از استخراج از کاتریج بوسیله سیستم کروماتوگرامی مایع با عملکرد بالا (Hewlett-Packard مدل HPLC۱۰۹۰) ساخت آمریکا، با ستون C18-YMC-Pack اندازه‌گیری شد. به منظور تامین اکسیژن در هر یک از مخازن، هوادهی به‌وسیله پمپ هوا صورت گرفت. پارامترهای کیفی آب برای هریک از مخازن به‌صورت روزانه براساس روش‌های معمول آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. میزان اکسیژن محلول در آب ۷/۵-۶ میلی‌گرم در لیتر، هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)۲۹۰-۳۲۰، pH ۶/۵-۷/۵ و دما ۱۹- ۲۱ درجه سانتی‌گراد اندازه-گیری شد. غذادهی به‌طور روزانه و به میزان ۲ درصد وزن توده‌ی زنده در سه وعده (حاوی ۳۱/۶۷٪ پروتئین، ۸/۵۸٪ چربی، ۸/۱۶٪ خاکستر، ۷/۸۷٪ رطوبت) در هر مخزن انجام شد.

در این آزمایش به بررسی اثر غلظت‌های مختلف جنیستئین بر پارامترهای خونی در ماهی کپور معمولی طی یک دوره ۳۰ روزه پرداخته شد. در انتهای دوره آزمایش، ۷ قطعه ماهی به‌صورت تصادفی از هر تیمار انتخاب گردید و خون‌گیری از ناحیه ساقه دمی انجام شد. یک روز پیش از خونگیری غذادهی قطع گردید. نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری در میکروتیوپ حاوی ماده ضدانقعاد سیترات سدیم ریخته شد و به‌مدت ۵ دقیقه به آرامی تکان داده شد. پارامترهای خونی بلافاصله پس از خون‌گیری اندازه-گیری شدند. برای این منظور درصد هماتوکریت با استفاده از لوله‌های موئینه میکروهماتوکریت در دستگاه سانترفیوژ (۱۰۰۰۰ دور دقیقه به مدت پنج دقیقه) مدل Hettich 210 و خط‌کش مخصوص هماتوکریت با استفاده از روش سنیزکو (۱۹۷۴) تعیین گردید (Snieszko, 1974). اندازه‌گیری غلظت هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر) با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین در طول موج ۵۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر صورت گرفت. تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC) در رقت ۱:۲۰۰ از نمونه خون و شمارش به‌وسیله لام توما انجام شد. شاخص‌های گلبولی شامل حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

$$MCV\ (fl)=Hct\ (\%) \times 10 / RBC\ (10^6/mm^3)$$
$$MCH\ (pg)=Hb\ (g/dl) \times 10 / RBC$$
$$MCHC\ (g/dl)=Hb\ (g/dl) / Hct\ (\%) \times 100\ cc$$

تعیین درصد افتراقی گلبول‌های سفید (لنفوسیت، هتروفیل، گرانولوسیت و مونوسیت) با تهیه گسترش خونی، رنگ‌آمیزی گیمسا و شمارش آن‌ها در زیر میکروسکپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ طبق روش Houston (۱۹۹۰) انجام گرفت. از قسمت‌های نازک لام جهت شمارش استفاده گردیده و شمارش گلبول‌های سفید بر اساس شکل آن‌ها و طبق الگوی شکلی صورت پذیرفت و درصد هریک از انواع گلبول‌های سفید به تفکیک ارائه گردید.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه تیمارها از آزمون تکمیلی LSD در سطح اطمینان ۹۵ درصد (معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵) مورد استفاده قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 18 استفاده شد.

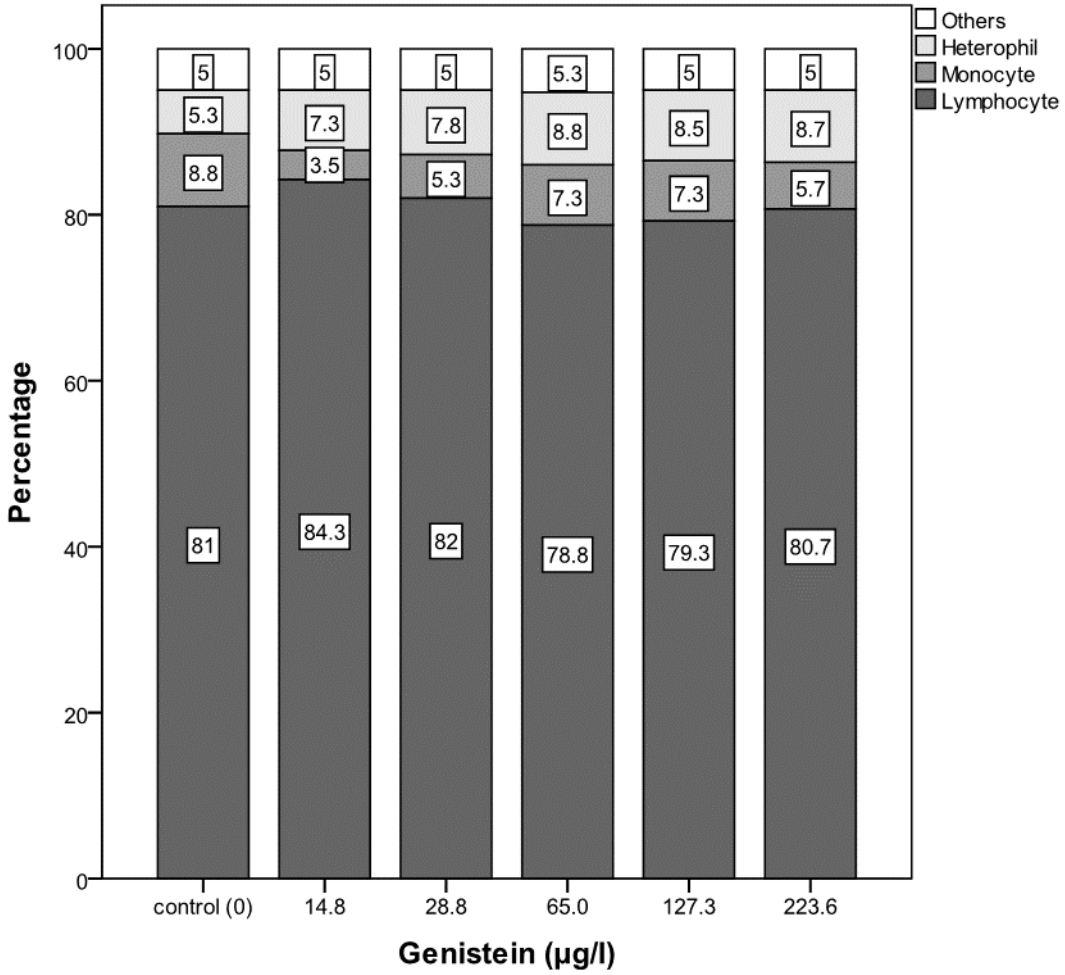
نتایج

میزان جنیستئین اندازه‌گیری شده به‌ترتیب برای تیمار شاهد و سایر تیمارها ۰، ۱۴/۸، ۲۸/۸، ۶۵، ۱۲۷/۳، ۲۲۳/۶ میکروگرم در لیتر قرائت شد که مبنای عملکرد و تفسیر نتایج قرار گرفت. درصد هماتوکریت (Hct) در تیمارهای مختلف جنیستئین در روز سی‌ام نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت. تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) با افزایش غلظت کاهش یافت اما این تفاوت به‌صورت

جدول ۳- شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی پس از ۳۰ روز نگهداری در معرض غلظت‌های مختلف جنیستئین (خطای استاندارد±میانگین).

پارامتر / جنیستئین (µg/l)	شاهد (صفر)	۱۴/۸	۲۸/۸	۶۵/۰	۱۲۷/۳	۲۲۳/۶
(g/dl) Hb	۵/۴۲±۰/۹۲	۵/۶۷±۰/۸۸	۵/۴۲±۰/۲۹	۶/۰۴±۱/۱۷	۵/۳۶±۰/۷۱	۶/۰۲±۰/۷۱
٪ Hct	۳۸/۰±۶/۵۵	۴۲/۸۰±۱۰/۷۰	۴۵/۷۵±۷/۳۶	۳۵/۶۰±۵/۶۱	۴۵/۲۵±۸/۳۱	۳۹/۳۳±۴/۵۰
(۱۰^{۶}/mm^{۳})RBC	۱/۷۶±۰/۱۱	۱/۳۹±۰/۱۷	۱/۳۴±۰/۳۳	۱/۳۲±۰/۲۴	۱/۳۴±۰/۳۳	۱/۶۶±۰/۱۸
(g/dl) MCHC	۱۳/۶۹±۲/۳۰	۱۳/۲۹±۴/۱۰	۱۲/۱۶±۱۰/۸۹	۱۸/۰۳±۴/۸۹	۱۲/۲۸±۳/۴۶	۱۵/۳۱±۰/۶
(fl) MCV	۲۱۷/۱۰±۴۹/۲۶	۳۲۷/۸۹±۹۷/۵۹	۳۶۰/۹۶±۱۱۲/۴۸	۲۶۸/۱۳±۷۴/۱۳	۲۳۳/۶۳±۷۹/۹۸	۲۳۷/۰۵±۵۰/۰۹
(pg) MCH	۳۱/۰۶±۶/۶۶	۴۰/۶۹±۴/۴۴	۳۷/۲۴±۵/۹۹	۴۵/۷۸±۷/۳۰	۴۱/۵۴±۸/۹۲	۳۶/۵۸±۶/۶۲

پارامترهای مورد بررسی بین تیمارهای مختلف از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار است.



شکل ۱ - شمارش افتراقی گلبول‌های سفید ماهی کپور معمولی پس از ۳۰ روز مجاورت با غلظت‌های مختلف جنیستئین.

معنی‌دار نبود، غلظت هموگلوبین (Hb) نیز تقریباً در تمامی تیمارها به‌صورت ثابت بود. دیگر شاخص‌های خونی از جمله متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)، متوسط حجم گلبول قرمز (MCV) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۱).

در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، تفاوت معنی‌داری در تعداد هتروفیل، مونوسیت و لنفوسیت‌ها بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. با وجود عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار، همان‌طور که از شکل ۱ نشان داده شده است، درصد مونوسیت با افزایش غلظت جنیستئین محلول در آب کاهش یافت، این میزان در غلظت ۱۴/۸ میکروگرم در لیتر ۵/۳ درصد

به‌دست آمد که نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد و میزان هتروفیل با افزایش جنیستئین محلول در آب افزایش یافت (شکل ۱).

بحث

پارامترهای خونی از جمله شاخص‌های دقیق تشخیص آزمایشگاهی جهت آگاهی از وضعیت بهداشتی جمعیت ماهیان و پیش بینی آسیب‌های احتمالی در مجاورت با ترکیبات ناخواسته در اکوسیستم‌های آبی محسوب می‌شود (Verma *et al.*, 1981). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که حضور جنیستئین به‌صورت محلول در آب تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای خونی از جمله درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در ماهی کپور معمولی ندارد. به طور مشابه، استفاده از ایزوفلاون‌ها در جیره غذایی سایر مدل‌های ازمایشگاهی (موش صحرایی و خرگوش) در بلندمدت قادر به تغییر پارامترهای خونی نبوده است (Yousef *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2009). فنول به میزان ۵ میلی‌گرم در لیتر تاثیری بر پارامترهای خونی ماهی کفال خاکستری ۱۲۵ گرمی نداشت، درحالی‌که افزایش این ماده تا ۲۵ میلی‌گرم در لیتر کاهش هموگلوبین، درصد هماتوکریت و همچنین همولیز گلبول قرمز در اندام-های خون ساز این ماهی (*Mugil auratus*) را به دنبال داشت، ضمن آن‌که غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز در مطالعه مذکور ثابت باقی ماند (Krajnović-Ozretić and Ozretić, 1988). برخلاف نتایج مطالعه حاضر، Pirbalouti و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که دوزهای بالای پلی‌فنول باعث افزایش متوسط حجم گلبول قرمز و کاهش غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌شود، اما تاثیری بر متوسط هموگلوبین گلبول قرمز ندارد که می‌تواند بیانگر بروز نوعی کم خونی باشد (Pirbalouti *et al.*, 2011). مطالعات انجام شده دیگری نشان می‌دهد که افزایش میزان فنول در آب به میزان ۲/۴ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند باعث کاهش تعداد گلبول قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین ، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز و افزایش تعداد گلبول‌های سفید در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) و کارد ماهی (*Notopterus notopterus*) شود، اما این میزان در حدی نیست که بتواند متوسط حجم گلبول قرمز، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز را تحت تاثیر قرار دهد (Verma *et al.*, 1981; Louei Monfared and Salati, 2013). آن‌ها همچنین گزارش نمودند که این میزان از فنول می‌تواند باعث کاهش تعداد لنفوسیت و افزایش درصد مونوسیت و نوتروفیل شود. این در حالی است که در مطالعه حاضر ترکیبات پلی فنولی موجود در جنیستئین طی سی روز قادر به تغییر معنی‌دار متوسط حجم گلبول قرمز، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز و ترکیب گلبول‌های سفید در ماهی کپور معمولی نبود. با این وجود، افزایش میزان فنول (۳۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث کاهش تعداد گلبول قرمز و هموگلوبین در نوعی گربه ماهی (*Clarius leather*) (Verma *et al.*, 1981)، اردک‌ماهی (*Esox lucius*) و گربه‌ماهی (*Clarius lazera*) (Zaki *et al.*, 2011) شد که برخلاف نتایج تحقیق حاضر بود.

در تایید نتایج این مطالعه، برخی از گزارش‌ها حاکی از عدم تغییرات معنی‌دار در شاخص‌های خونی متعاقب تماس با ترکیبات فنولی است. برای مثال، میزان گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در گربه ماهی روگاهی (*Ictalurus punctatus*) متعاقب ۹۶ ساعت مجاورت با فنول (۱/۵ میلی گرم بر لیتر) تغییری نکرده است (De Moraes *et al.*, 2015). نتایج مشابهی در خصوص عدم تاثیر منفی ترکیبات فنولی موجود در ترکیبات گیاهی مانند *Epilobium hirsutum* و پوسته سبز *Pistacia vera* بر شاخص‌های خونی در ماهی کپور معمولی گزارش شده است (Pakravan *et al.*, 2012; Motamedi-

Tehrani *et al.*, 2016). علت این امر احتمالاً به دلیل تاثیر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی موجود در فلاونوئیدها است (Dai and Mumper, 2010). با توجه به این‌که ترکیبات فنولی موجود در جنیستئین منشا طبیعی دارد، احتمالاً می‌تواند دلیلی بر عدم بروز پاسخ های پاتولوژیک آبزیان در اثر حضور این ترکیبات در آب باشد. گزارشاتی مبنی بر افزایش تعداد گلبول‌های سفید متعاقب افزایش میزان ترکیبات فنولی در جیره غذایی به میزان ۱۰۰۰ میلی گرم گالیک اسید در هر کیلوگرم غذا نیز وجود دارد (Motamedi-Tehrani *et al.*, 2016). علاوه براین، مقادیر بالاتر عصاره سویا حاوی فیتواستروژن‌ها است نیز سبب کاهش پارامترهای خونی در سایر مدل‌های مطالعات آزمایشگاهی شده است (Cho *et al.*, 2009). بنابراین این احتمال وجود دارد که دوزهای بالای ترکیبات فنولی بتواند سبب افزایش فعالیت قسمت قدامی کلیه شود و تحریک سیستم ایمنی و خونسازی ماهی شود. البته مطالعات هیستوپاتولوژیک بافت‌های خون‌ساز به منظور تایید این فرضیه لازم به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش میزان جنیستئین محلول در آب به میزان ۲۲۳/۶ میکروگرم در لیتر طی سی روز نمی‌تواند اثرات زیانباری بر پارامترهای خونی اندازه گیری شده در ماهی کپور معمولی داشته باشد. اما با توجه به مطالعات صورت گرفته این احتمال وجود دارد که مقادیر بالاتر و دوره‌های طولانی‌تر تماس با این ترکیبات، عوارض نامطلوبی بر سیستم خون‌سازی ماهی در بر داشته باشد. این امر احتمالاً تغییر در فعالیت‌های حیاتی ماهی در اکوسیستم‌های طبیعی را در پی خواهد داشت. به‌منظور درک بهتر تاثیر جنیستئین پیشنهاد می‌شود تاثیر این دسته از ترکیبات بر دیگر پارامترهای فیزیولوژیک، فرآیندهای بیوشیمیایی، هورمون‌های استروئیدی و ویتلوژنز نیز مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از کلیه اعضای هیات علمی و کارشناسان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان اعلام می‌دارد.

منابع

Affonso E., Polez V., Correa C., Mazon A., Araujo M., Moraes G., Rantin F. 2002. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 133, 375-382.

Bogé G., Roche H. 1996. Cytotoxicity of phenolic compounds on *Dicentrarchus labrax* erythrocytes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 57, 171-178.

Bukowska B., Kowalska S. 2004. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicology Letters* 152, 73-84.

Cho Y.M., Imai T., Ito Y., Takami S., Hasumura M., Yamazaki T., Hirose M., Nishikawa A. 200. A 13-week subchronic toxicity study of dietary administered saponin-rich and isoflavones-containing soybean extract in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology* 47, 2150-2156.

Cushnie T.T., Lamb A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26, 343-356.

Dai J., Mumper R.J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15, 7313-7352.

de Moraes F.D., de Figueiredo J.S.L., Rossi P.A., Venturini F.P., Moraes G. 2015. Acute toxicity and sublethal effects of phenol on hematological parameters of channel catfish *Ictalurus punctatus* and pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Ecotoxicology and Environmental Contamination* 10, 31-36.

Di Giulio R.T., Hinton D.E. 2008. The toxicology of fishes. CRC Press.1096 p.

FAO U. 2014. FAOstat. Retrieved Feb. 2014.

861-869.

Pirbalouti G.A., Broujeni N.V., Momeni M., Poor M.F., Hamedi B. 2011. Antibacterial activity of Iranian medicinal plants against Streptococcus iniae isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives of Biological Sciences* 63, 59-66.

Roche H., Bogé G. 2000. In vivo effects of phenolic compounds on blood parameters of a marine fish (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 125, 345-353.

Saha N., Bhunia F., Kaviraj A. 1999. Toxicity of phenol to fish and aquatic ecosystems. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 63, 195-202.

Snieszko S. 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *Journal of Fish Biology* 6, 197-208.

Tripathi N.K., Latimer K.S., Burnley V.V., 2004. Hematologic reference intervals for koi (*Cyprinus carpio*), including blood cell morphology, cytochemistry, and ultrastructure. *Veterinary Clinical Pathology* 33, 74-83.

Verma S., Rani S., Dalela R. 1981. Effects of phenolic compounds on in vivo blood parameters of a fish *Notopterus notopterus*. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 16, 273-282.

Yousef M.I., El-Demerdash F.M., Kamel K.I., Al-Salhen K.S. 2003. Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by isoflavones and cypermethrin. *Toxicology* 189, 223-234.

Zaki M.S., Fawzi O., Shalaby S. 2011. Phenol toxicity affecting hematological changes in cat fish (*Clarius lazera*). *Life Science Journal* 8, 244-248.

Zhang W.Z., Wen-Ming C.U.I., Zhang X., Wei W.A.N.G., Xu-Dong J.I.A., Zhang X.P., Ning L.I. 2009. Subchronic toxicity study on soy isoflavones in rats. *Biomedical and Environmental Sciences* 22, 259-264.

Gad N.S., Saad A.S. 2008. Effect of environmental pollution by phenol on some physiological parameters of *Oreochromis niloticus*. *Global Veterinaria* 2, 312-319.

Gupta S., Dalela R., Saxena P. 1983. Effect of phenolic compounds on in vivo activity of transaminases in certain tissues of the fish, *Notopterus notopterus*. *Environmental Research* 32, 8-13.

Hori T.S.F., Avilez I.M., Inoue L.K., Moraes G. 2006. Metabolical changes induced by chronic phenol exposure in matrinxã *Brycon cephalus* (teleostei: Characidae) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology* 143, 67-72.

Houston A. 1990. Blood and circulation. *Methods for Fish Biology* 1990, 273-334.

Krajnović-Ozretić M., Ozretić B. 1988. Toxic effects of phenol on grey mullet, *Mugil auratus* Risso. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 40, 23-29.

Kumar V., Mukherjee D. 1988. Phenol and sulfide induced changes in the ovary and liver of sexually maturing common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquatic Toxicology* 13, 53-59.

Louei Monfared A., Salati A.P., 2013 Hematological alterations induced by phenol exposure in *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Clinical Pathology* 22, 851-853.

Motamedi-Tehrani J., Ebrahimi E., Malekpouri P., Goli A. 2016. Liver alteration and hematological and serum biochemical responses of common carp, *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, following long-term feeding of pistachio (*Pistacia vera*) green hull extract as a source of natural phenol. *Journal of Applied Ichthyology* 32, 906-912.

Nussey G., Van Vuren J., Du Preez H., 1995. Effect of copper on the differential white blood cell counts of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Comparative *Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 111, 381-388.

Pakravan S., Hajimoradloo A., Ghorbani R. 2012. Effect of dietary willow herb, *Epilobium hirsutum* extract on growth performance, body composition, haematological parameters and *Aeromonas hydrophila* challenge on common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture Research* 43,

Effect of water-borne genistein as a natural source of phenolic compounds on hematological parameters of common carp (*Cyprinus carpio*)

Hamidreza Shahryari[1], Nasrollah Mahboobi Soofiani[*1], Fatemeh Paykan Heyrati[1], Pedram Malekpouri[2]

[1]Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
[2]Young Researchers and Elites Club, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
*Corresponding author: soofiani@cc.iut.ac.ir

Received: 2018/6/22 Accepted: 2018/11/7

Abstract

Phenolic compounds are one of the most abundant metabolites of plants. These compounds enter the aquatic ecosystems through different ways and consequently threat aquatic animal health as well as human life. In this project, the effect of different concentrations of water-borne genistein flavonoid on hematological parameters, including the number of red blood cells (RBC), hemoglobin concentration (Hb), percentage of hematocrit (Hct), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and differential count of white blood cell were studied in common carp weighing 52-82 g. In this study, 5 different treatments of genistein, including 14.8, 28.8, 65.0, 127.3, 223.6 µg/l and a control group were considered in a period of 30 days. At the end of experiment, 7 fish from each treatment were randomly selected and blood samples were then withdrawn. The results showed no significant changes in all measured parameters as compared with the control group. Therefore, the tested concentrations of genistein in the present study could not cause deleterious effects on common carp hematopoiesis. This indicates that phenolic compounds in current conditions did not have any toxic effects on common carp.

Keywords: Phytoestrogen, Isoflavone, Differential count, Hemoglobin, Common carp.