فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال دوازدهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۳

مقاله پژوهشی

ارزیابی اثر عصاره گیاه حنا (*Lawsonia inermis*) در مقایسه با سولفات مس ($CuSo_4.5H_2o$) بر شاخص‌های خونی، ایمنی و استرس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

روح الله برزگر[۱]، مسعود فرخ روز[۲]*، حسین خارا[۳]، محدثه احمدنژاد[۴]، علیرضا شناور ماسوله[۵]

DOI: 10.22124/japb.2023.24825.1502
تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۲

چکیده

از گیاه حنا (*Lawsonia inermis*) و سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O$) به دلیل خواص آنتی‌بیوتیکی و ضدقارچی برای بهبود و ترمیم زخم‌های پوستی استفاده می‌شود. بدین منظور از ۵۰۰ قطعه بچه تاس‌ماهی سیبری با میانگین وزنی ۱/۲±۱۵ گرم استفاده شد. ابتدا سمیت حاد (LC_{50}) و سپس میزان بیشترین غلظت مجاز (MAC) تعیین شد. برای انجام آزمایش، پنج تیمار با سه تکرار طراحی شد. در تیمارهای ۱ تا ۴ از غلظت‌هایی به اندازه مقادیر خود MAC حنا و مقادیری به اندازه ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد MAC استفاده شد. در تیمار ۵ سولفات مس به میزان ۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر برای مقایسه استفاده شد. ماهیان به مدت ۴ روز (۹۶ ساعت) تحت تاثیر ترکیبات با غلظت‌های تعیین‌شده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که عصاره گیاه حنا در شاخص‌هایی همچون تعداد گلبول سفید، کاهش استرس، عملکرد آنزیم‌های کبدی عملکرد مناسب‌تری نسبت به سولفات مس از خود نشان داد. نهایتا مطالعه حاضر نشان داد عصاره گیاه حنا بهتر عمل کرد و می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای سولفات مس برای ضدعفونی در مزارع پرورش تاس‌ماهی سیبری مورد استفاده قرار گیرد. همچنین نتایج نشان دادکه عصاره گیاه حنا دارای تاثیرات منفی بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی تاس‌ماهی سیبری بود.

واژگان کلیدی: *تاس‌ماهی سیبری، حنا، سولفات مس، شاخص‌های خونی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی.*

۱- دانشجوی دکتری شیلات، گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۲- استادیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۳- دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۴- استادیار پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.
۵- استادیار انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
* نویسنده مسئول: mfarokhrooz@yahoo.com

مقدمه

بر اساس گزارش سازمان غذا و کشاورزی سازمان ملل (FAO)، آبزی‌پروری به عنوان سریع‌ترین منبع در حال رشد تولید پروتئین‌های جانوری شناخته شده است و بیش از یک‌سوم ماهیان مصرفی در دنیا را فراهم می‌کند. با توجه به افزایش جمعیت جهان و نیاز به تولید غذای کافی، آبزی‌پروری یک روش پربازده و پایدار در تامین پروتئین جانوری است (FAO, 2022). با توجه به رشد جمعیت و افزایش تقاضا برای پروتئین، با پرورش آبزیان می‌توان به خوبی پروتئین جمعیت جهان را تامین کرد (Action, 2020). بنابراین، تسهیل رشد و سلامت ماهیان در اولویت قرار دارد و می‌توان گفت که بزرگترین چالش در این باره بیماری عفونی است. با شیوع بیماری‌های عفونی تشدید شده توسط اختلالات محیطی (از دست دادن یا تخریب زیستگاه، آلودگی، شهرنشینی، اسیدی شدن اقیانوس‌ها، تغییر اقلیم، تراکم جمعیت، رژیم غذایی و عوامل ذاتی میزبان (وضعیت ایمنی، ژنتیک، مرحله زندگی) و وضعیت باروری، باید اثرات گسترده‌تری را در نظر گرفت (MacAulay et al., 2022). یکی از راهکارهای بالا بردن مقاومت ماهی‌ها در برابر شرایط آلودگی در محیط پرورشی، استفاده از مواد ضدعفونی کننده است. امواد ضدعفونی کننده تابع نوع و مقدار ماده مورد نظر، نوع و غلظت میکروارگانیسم، زمان تماس، کیفیت آب و غیره متفاوت است (Juyande et al., 2016). برای جلوگیری از ابتلا ماهیان به بیماری‌ها و کاهش خسارات احتمالی، در مزارع پرورش ماهی از مواد ضدعفونی کننده شیمیایی استفاده می‌شود. این مواد شامل نمک، فرمالین، سولفات مس، هالامید و غیره است. با استفاده از این مواد، می‌توان از ورود باکتری‌ها، ویروس‌ها و عوامل بیماری‌زای دیگر به محیط پرورش ماهی جلوگیری و به سلامت ماهیان کمک کرد (Mishra et al., 2017). اخیرا توجه زیادی به استفاده از تولیدات گیاهی به عنوان دارو و ضدعفونی کننده برای کنترل و درمان بیماری‌های آبزیان در نقش جایگزینی برای داروهای شیمیایی شده است (Chaudhary et al., 2010; Rajwar and Khatri, 2011; Saeidi et al, 2012; Assefa and Abunna, 2018). گیاه *Lawsonia inermis* (متعلق به خانواده Lythraceae) که به عنوان حنا شناخته می‌شود، درختی کوچک، بدون کرک، منشعب و بومی مناطق نیمه گرمسیری آسیا و شمال آفریقا است. به طور سنتی حنا به عنوان یک عامل ضدشوره و ضدقارچ زمانی برای مو و بدن

استفاده می‌شود (Supian and Osman, 2023). گیاه حنا حاوی ترکیبات مختلفی مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، ترکیبات فنولی، آلکالوئیدها، ترینوئیدها، کوئینون‌ها، کومارین‌ها، گزانتون‌ها و اسیدهای چرب است (Chaudhary et al., 2010; Rajwar and Khatri, 2011) و دارای خواص آنتی‌بیوتیکی و ضدقارچی بوده و در بهبود و ترمیم زخم‌ها موثر است (Santhanamari et al., 2011; Brahmeshwari et al., 2012).

امروزه پرورش ماهیان خاویاری از جایگاه ویژه‌ای در آبزی‌پروری برخوردار است. ماهیان خاویاری به علت اهمیت بقا و حفظ نسل و جنبه اقتصادی تولید خاویار و گوشت، بسیار حائز ارزشمند هستند و از سال ۱۹۹۷، به دلیل صید بی‌رویه، کاهش زیستگاه و وجود بسترهای آلوده تخم‌ریزی، نام این ماهیان در فهرست گونه‌های در معرض خطر انقراض قرار گرفته است (Salahshoori et al., 2016). ایران در زمینه توسعه آبزی‌پروری و بویژه پرورش ماهیان خاویاری دارای ظرفیت بالقوه طبیعی است و امروزه به تکثیر و پرورش گونه‌های مختلف ماهی خاویاری از جمله تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) می‌پردازد (Hosseinpour and Sohrabi, 2021).

بنابراین، بسیاری از مطالعات روی پرورش این ماهیان متمرکز شده است. در این میان، تاس‌ماهی سیبری می‌تواند یک مدل زیستی مناسب برای مطالعات فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای تاس‌ماهیان بومی دیگر در نظر گرفته شود (Fontagne et al., 2006). مطالعات بسیاری در رابطه با تاثیر انواع مختلف عصاره‌های گیاهی در زمینه‌های مختلف علوم شیلاتی و آبزی‌پروری در بسیاری از کشورها انجام شده است. Nikbakhsh Bidarouni و Vahabzadeh Roudsari (۲۰۲۰) با بررسی تاثیر عصاره‌های سیر (*Allium sativum*)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) و پونه کوهی (*Oregano vulgare*) بر شاخص‌های رشد و ایمنی فیل‌ماهی (*Huso huso*) جوان پرورشی نشان دادند که استفاده از ۰/۱گرم در کیلوگرم عصاره پونه کوهی و نعناع فلفلی در جیره غذایی این ماهی باعث بهبود شاخص‌های رشد شد، ولی استفاده از ۰/۵ گرم در کیلوگرم عصاره سیر باعث بهبود شاخص‌های رشد نشد. Masoumi و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی تاثیر رژیم غذایی حاوی عصاره یوکا (*Yucca schidigera*) بر رشد و تغذیه، ایمنی غیراختصاصی و کیفیت آب محیط پرورش بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان دادند که

عصاره یوکا می‌تواند باعث تحریک ایمنی شود، اما در برخی موارد تاثیرمعنی‌دار آماری نداشته باشد. Zare Salmasi و همکاران (۲۰۱۹) طی مطالعه اثر استفاده از ماده موثره گیاه زردچوبه (*Curcuma longa*) بر فراسنجه‌های خون‌شناسی فیل‌ماهی جوان نشان دادند که میزان گلبول‌های سفید و قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین و شاخص‌های MCV، MCH و MCHC در تیمارهای دریافت کننده کورکومین از میزان بالاتری نسبت به گروه‌های شاهد مثبت و منفی برخوردار بودند. Bahadori Birgani و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر عصاره مورد (*Myrtus communis*) را بر روی رشد، بقا، شاخص‌های خونی و سیستم ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی کردند و نشان دادند که عصاره گیاه مورد سبب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد، ایمنی، خون و سرمی در دو تیمار دریافت کننده این عصاره در مقایسه با شاهد شد. Molayem Raftar و همکاران (۲۰۱۸) طی مطالعه اثر متقابل درمان با سولفات مس و فرمالین با مسمومیت نیتریت و آمونیاک بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور معمولی نشان دادند که وجود نیتریت و آمونیاک در آب همزمان با درمان با فرمالین و سولفات مس می‌تواند باعث تلفات یا افزایش معنی‌دار برخی آنزیم‌ها مثل AST، ALT و LDH شود. Moradi و همکاران (۲۰۱۹) اثر عصاره هیدروالکلی گیاه داروا‌ش (*Viscum album*) را بر شاخص‌های رشد و خونی تاس‌ماهی سیبری مطالعه کردند و نشان دادند که استفاده از این عصاره با غلظت‌های به کار رفته به صورت خوراکی، تاثیر معنی‌داری روی شاخص‌های رشد و خونی تاس‌ماهی سیبری نداشت. Yegane Rastekenari و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تاثیر مکمل پودر سیر بر شاخص‌های رشد و پاره‌ای از شاخص‌های ایمنی بچه تاس‌ماهی سیبری پرداختند. Dadras و همکاران (۲۰۱۹) اثرات عصاره‌های گیاهان مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) و سرخارگل (*Echinacea angustifolia*) را بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و پاسخ‌های ایمنی ذاتی فیل‌ماهی بررسی کردند. Safari و همکاران (۲۰۱۹) اثرات عصاره آلوئه ورا (*Aloe vera*) را بر رشد، وضعیت سلامت و برخی شاخص‌های خونی ماهی شیربت (*Tor grypus*) مطالعه کردند و نشان دادند که غلظت‌های مختلف عصاره آلوئه ورا در مقایسه با گروه شاهد، به طور معناداری موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین شد. Chitsaz و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی اثر پودر

حبه سیر بر شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه فیل‌ماهی نشان دادند که سطح هموگلوبین در تیمار تغذیه شده با جیره غذایی پوست سیر به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از گروه شاهد بود. Amhamed و همکاران (۲۰۱۸) اثر عصاره متانولی گیاه سلمه‌تره (*Chenopodium album*) را بر شاخص‌های ایمنی و خونی ماهی کپور معمولی مطالعه کردند و نشان دادند که فعالیت لیزوزیم در تمام زمان‌های نمونه‌برداری نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین، فعالیت میلوپراکسیداز در تمامی گروه‌های آزمایشی به طور معناداری افزایش داشت.

با توجه به این که استفاده از گیاهان دارویی اثرات مضر کمتری دارد و از آنجایی‌که تاس‌ماهی سیبری همانند ماهیان دیگر در معرض انواع بیماری‌ها قرار دارد، این پژوهش باهدف ارزیابی اثر عصاره گیاه حنا در مقایسه با سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O$) بر شاخص‌های خونی و ایمنی، استرس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بافت آبشش و کبد تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) انجام شد تا بتوان گامی در جهت استفاده از ترکیبات طبیعی برای رفع نیازهای مزارع پرورش ماهی بویژه ماهیان خاویاری برداشت.

مواد و روش‌ها

تهیه تاس‌ماهی سیبری

این پژوهش در موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر در سال ۱۳۹۸ انجام شد. برای انجام آزمایش از ۵۰۰ قطعه تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) ۱/۲±۱۵گرمی استفاده شد. مخازن مدور فایبرگلاس با حجم آب ۱۰۰ لیتری توسط آب چاه آبگیری و توسط پمپ هوادهی شدند.

شرایط فیزیکوشیمیایی آب

شاخص‌های دما، اکسیژن و pH با استفاده از دماسنج، اکسیژن‌متر و pHمتر (WTW، آلمان) و شاخص‌های نیتریت، نیترات و سختی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (HACH، آلمان) و هدایت الکتریکی نیز با استفاده از دستگاه Water Quality Meter اندازه‌گیری شد. در طول دوره آزمایش مقادیر دما، اکسیژن، pH، نیتریت، نیترات، سختی و هدایت الکتریکی آب به ترتیب برابر ۲۱/۵ درجه سانتی‌گراد، ۶/۶ میلی‌گرم در لیتر، ۷/۴، ۲/۹ میلی‌گرم در لیتر، ۰/۰۴۱ میلی‌گرم در لیتر، ۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر و ۱۲۲۸ میکروزیمنس بر سانتی‌متر بود.

روش تعیین سمیت حاد (LC_{50})

عصاره گیاه حنا (*Lawsonia inermis*) از شرکت کشت و صنعت و داروسازی گیاه اسانس دکتر سلیمانی تهیه شد. ابتدا اثرات سمیت حاد LC_{50}، ۹۶ ساعته عصاره حنا روی بچه ماهیان تاس‌ماهی سیبری تعیین شد و ثبت تلفات هر ۲۴ ساعت یک‌بار انجام شد. بعد از کسب نتایج نهایی اطلاعات به دست آمده بر طبق روش آماری Probit Analysis Program 1.5 (USEPA, 1985) با سطح اطمینان ۹۵ درصد تجزیه و تحلیل شد و مقادیر LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} طی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به دست آمد (Finney, 1971). پس از تعیین مقدار LC_{50}، میزان بیشترین غلظت مجاز (MAC) با تقسیم میزان LC_{50} در ۹۶ ساعت (۰/۳۶۳ میلی‌گرم در لیتر) بر عدد ۱۰ به دست آمد (Finney, 1971). پس از آن، عصاره حنا در چهار غلظت شامل مقادیری برابر با خود MAC حنا و ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد MAC تهیه و برای چهار تیمار عصاره گیاهی در سه تکرار به شرح جدول ۱ استفاده شد. همچنین یک تیمار با استفاده از سولفات مس با غلظت ۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر برای مقایسه اثر آن تهیه و به آب محیط پرورش اضافه شد. در تیمار شاهد نیز هیچ ماده‌ای افزوده نشد. ماهیان پس از ۲ هفته سازگاری در مخازن ۱۰۰ لیتری توزیع شدند و به مدت ۴ روز (۹۶ ساعت) تحت تاثیر ترکیبات با غلظت‌های معین قرار گرفتند. برای انجام آزمایش، جریان آب قطع و هوادهی به طور مداوم صورت پذیرفت.

جدول ۱: تیمارهای مورد استفاده در آزمایش

تیمارها		عصاره حنا (mg/L)	سولفات مس (mg/L)
تیمار شاهد		۰	۰
تیمار ۱	**برابر MAC حنا**	۳۶/۳	۰
تیمار ۲	**۲۵ درصد MAC حنا**	۹/۰۷۵	۰
تیمار ۳	**۵۰ درصد MAC حنا**	۱۸/۱۵	۰
تیمار ۴	**۷۵ درصد MAC حنا**	۲۷/۲۵	۰
تیمار ۵	**سولفات مس**	۰	۰/۰۷

تعویض آب ۱۰۰ درصد با آب هم دما با محیط و حاوی غلظت مورد نظر عصاره حنا، سولفات مس و یا آب فاقد افزودنی (تیمار شاهد) به صورت روزانه انجام شد (Shamloofar et al., 2014).

خون‌گیری

پس از ۴ روز (۹۶ ساعت)، نمونه‌برداری از خون ماهیان همه تیمارها به طور تصادفی انجام شد. ابتدا ماهیان با عصاره گل میخک (۰/۵ گرم در لیتر) بیهوش شدند (Zorriehzahra et al., 2014) و خون‌گیری از سیاهرگ دمی انجام شد. با توجه به این که هم شمارش گلبول‌های خون و هم بررسی شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی سرم خون مد نظر بود، خون‌گیری هم با استفاده از سرنگ‌های هپارینه و هم سرنگ‌های غیرهپارینه انجام شد. نمونه‌های خون به داخل ویال‌های مخصوص منتقل و بلافاصله در یک کلمن حاوی یخ خشک قرار داده شد و بدون تکان‌های شدید به آزمایشگاه ارسال شد (Torfi Moazenzadeh et al., 2015). نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از طریق سرنگ غیرهپارینه به ویال‌های غیرهپارینه انتقال داده شد تا لخته خون تشکیل شود. سپس ویال‌ها در سانتریفیوژ یخچال‌دار (H-18، Koukusan، ژاپن) قرار داده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه جداسازی شدند. سرم جدا شده نیز با استفاده از میکروپیپت جمع‌آوری و تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد (Torfi Moazenzadeh et al., 2015).

سنجش شاخص‌های خون‌شناختی

پس از خون‌گیری نسبت به تعیین مقدار شاخص‌های خونی شامل شمارش گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC)، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید (Feldman et al., 2000)، اندازه‌گیری مقدار هموگلوبین (Hb)، مقدار هماتوکریت (Hct) (Barros et al., 2002) و محاسبه شاخص‌های MCH، MCV و MCHC (Feldman et al., 2000) اقدام شد.

شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی مورد بررسی در سرم شامل پروتئین تام، آلبومین، گلبولین، ایمنوگلوبولین کل، لیزوزیم، گلوکز، کورتیزول، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آنزیم‌های کبدی سرم (ALT، AST، ALP) با استفاده از کیت‌های تشخیصی (پارس آزمون، ایران) و با کمک دستگاه اتوآنالایزر (Hitachi، ژاپن) اندازه‌گیری شدند (Binaii et al.,

2014). به این ترتیب که سطح پروتئین تام سرم بر اساس واکنش بیوره و در طول موج ۵۴۰ نانومتر، آلبومین سرم بر اساس واکنش برموکرزول گرین و در طول موج ۶۳۰ نانومتر، گلبولین سرم بر اساس تفریق آلبومین از پروتئین تام سرم و گلوکز سرم بر اساس روش آنزیمی گلوکز اکسیداز و در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Torfi Moazenzadeh et al., 2015). مقدار کورتیزول نیز با استفاده از کیت تشخیصی (Immunotech، فرانسه) و به روش سنجش ایمنی رادیواکتیو سنجش شد (Rotllant et al., 2001).

آنزیم‌های کبدی مورد بررسی طی مطالعه حاضر شامل آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بودند که اندازه‌گیری کاتالاز بر اساس روش Aebi (۱۹۸۴)، گلوتاتیون پراکسیداز بر اساس روش Tappel (۱۹۷۸) و سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش McCord و Fridovich (۱۹۶۹) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 22 و برای رسم نمودارها از برنامه Microsoft Excel 2013 استفاده شد. داده‌ها ابتدا برای اطمینان از نرمال بودن با آزمون Shapiro-Wilk بررسی شدند. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و برای جداسازی گروه‌های همگن از پس‌آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0/05$) استفاده شد.

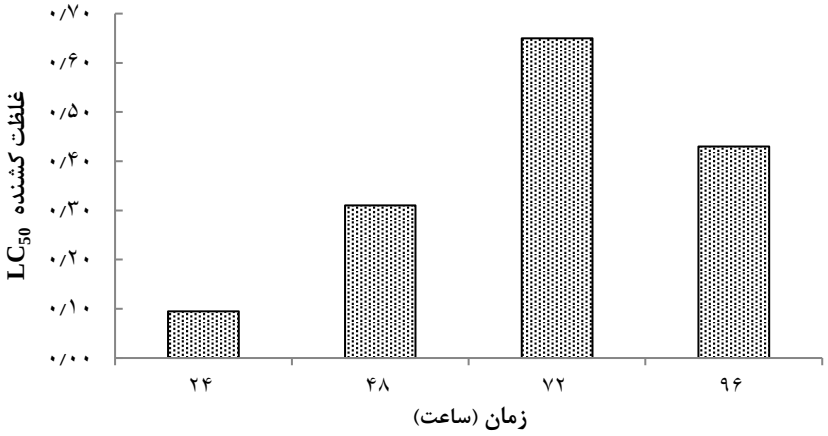
نتایج

بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان LC_{50} عصاره حنا در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت، با استفاده از برنامه آماری تجزیه پروبیت به ترتیب برابر با ۰/۰۹۵، ۰/۲۱، ۰/۴۳ و ۰/۳۶ میلی گرم در لیتر محاسبه شد (شکل ۱).

شمارش و اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

نتایج بررسی شاخص‌های خونی نشان داد که در مقدار گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV، MCH و درصد منوسیت، لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف وجود داشت ($P<0/05$؛ جدول ۲). به این ترتیب که کمترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار شاهد و بیشترین در تیمار ۴ مشاهده شد

که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). بیشترین و کمترین میزان گلبول سفید به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار منوسیت در تیمارهای ۲ و ۵ و کمترین مقدار در تیمار ۴ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار لنفوسیت در تیمار ۲ مشاهده شد. البته تفاوت معنی‌داری در بین میزان لنفوسیت تیمارهای شاهد، ۲، ۳، ۴ و ۵ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). کمترین و بیشترین میزان نوتروفیل به ترتیب در تیمارهای ۵ و ۲ مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان ائوزینوفیل در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین مقدار هموگلوبین در تیمار شاهد و بیشترین مقدار آن در تیمار ۳ مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین میزان هماتوکریت در تیمار شاهد و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ مشاهده شد. کمترین مقدار MCH در تیمارهای شاهد، ۴ و ۵ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵) و بیشترین مقدار آن در تیمارهای ۱ و ۲ مشاهده شد. کمترین و بیشترین مقدار MCV به ترتیب در تیمارهای ۵ و ۴ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). کمترین و بیشترین میزان MCHC به ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵).



شکل ۱: مقادیر LC_{50} عصاره حنا (*Lawsonia inermis*) در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

جدول ۲: اثر عصاره گیاه حنا (*Lawsonia inermis*) در مقایسه با سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O$) بر شاخص‌های خونی تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) (میانگین ± خطای استاندارد)

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
گلبول سفید (mm^3)	۴۹۰۶/۳ ±۸/۵۱ d	۶۵۹۷/۷ ±۵/۸۶ f	۵۹۰۳/۰ ±۶/۲۴ e	۴۳۰۲/۳ ±۶/۵۱ b	۴۸۰۳/۳ ±۶/۸۱ c	۴۴۹۷/۳ ±۶/۴۳ a
گلبول قرمز (mm^3)	۵۱۰۰۱۷/۰ ±۴۰/۶ a	۵۴۳۰۱۳/۰ ±۴۸/۶ d	۵۳۵۰۱۰/۰ ±۲۰/۲ c	۵۶۲۰۱۰/۰ ±۱۱/۵ e	۵۷۱۹۹۶/۰ ±۷۳/۲ f	۵۳۱۰۱۹/۳ ±۴۸/۳ b
هموگلوبین (g/dL)	۵/۱۷ ±۰/۱۵ a	۵/۸۷ ±۰/۲۵ bc	۵/۷۳ ±۰/۴۰ abc	۵/۹۳ ±۰/۱۶ bc	۵/۸۰ ±۰/۳۰ abc	۵/۴۳ ±۰/۱۵ ab
هماتوکریت (٪)	۲۴/۶۷ ±۲/۵۲ a	۲۷/۰۰ ±۲/۰۰ abc	۲۶/۶۷ ±۱/۵۳ abc	۲۷/۳۳ ±۲/۰۸ abc	۲۸/۶۷ ±۲/۵۲ bc	۲۵/۶۷ ±۱/۵۳ ab
MCV (fL)	۴۸۹/۶۷ ±۱۰/۰۷ ab	۴۹۶/۶۷ ±۱/۵۳ ab	۵۰۰/۳۰ ±۱۲/۵۰ abc	۵۰۱/۰۰ ±۸/۵۴ abc	۵۰۷/۶۷ ±۳/۵۱ bc	۴۸۵/۶۷ ±۵/۵۱ a
MCH (pg)	۱۰۱/۳۳ ±۰/۵۷۸ b	۱۰۸/۰۰ ±۱/۷۳۰ a	۱۰۷/۶۷ ±۱/۵۳۰ a	۱۰۵/۰۰ ±۱/۷۳۰ ab	۱۰۱/۰۰ ±۱/۷۳۰ b	۱۰۲/۰۰ ±۱/۷۳۰ b
MCHC (g/dL)	۲۰/۸۳ ±۰/۰۶ cd	۲۱/۷۷ ±۰/۱۵ e	۲۱/۴۷ ±۰/۶۱ de	۲۱/۰۰ ±۰/۲۰ cde	۱۹/۹۷ ±۰/۲۵ ab	۲۰/۶۷ ±۰/۱۵ bcd
مونوسیت (٪)	۴/۰۳ ±۰/۱۵۰ a	۴/۱۳ ±۰/۳۵۰ a	۵/۹۷ ±۰/۰۵۸ c	۵/۲۷ ±۰/۳۱۰ b	۴/۰۳ ±۰/۰۵۸ a	۵/۹۷ ±۰/۱۵۰ c
لنفوسیت (٪)	۷۹/۶۷ ±۱/۵۳ ab	۸۰/۰۰ ±۲/۶۵ ab	۷۷/۶۷ ±۱/۱۶ a	۸۲/۰۰ ±۱/۷۳ ab	۸۱/۶۷ ±۱/۵۳ ab	۸۲/۰۰ ±۱/۷۳ ab
ائوزینوفیل (٪)	۰/۹۷ ±۰/۲۵ b	۰/۹۷ ±۰/۲۵ b	۰/۹۷ ±۰/۱۵ b	۰/۰۰ ±۰/۰۰ a	۰/۹۷ ±۰/۱۵ b	۰/۰۰ ±۰/۰۰ a
نوتروفیل (٪)	۱۵/۱۳ ±۰/۳۵ de	۱۵/۰۷ ±۰/۴۰ de	۱۵/۹۰ ±۰/۵۶ e	۱۴/۱۳ ±۰/۳۲ cd	۱۲/۹۷ ±۰/۴۵ bc	۱۱/۹۳ ±۰/۵۰ ab

در هر ردیف، حروف غیرمشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P<0/05$). تیمار ۱: برابر MAC حنا (۳۶/۳ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۲: ۲۵ درصد MAC حنا (۹/۰۷۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۳: ۵۰ درصد MAC حنا (۱۸/۱۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۴: ۷۵ درصد MAC حنا (۲۷/۲۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۵: سولفات مس (۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر).

شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی سرم خون

بررسی شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی سرم نشان داد که پروتئین کل، ایمنوگلوبولین کل، آلبومین، لیزوزیم، کورتیزول، گلوکز، LDH، ALT، AST و ALP از اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مختلف نسبت به یکدیگر برخوردار بودند (P<۰/۰۵؛ جدول ۳). کمترین میزان پروتئین تام در تیمار ۳ مشاهده شد که با همه تیمارها بجز ۲، تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). بیشترین میزان آن نیز در تیمار ۵ مشاهده شد. کمترین میزان آلبومین در تیمارهای شاهد، ۲ و ۳ مشاهده شد و بیشترین میزان نیز در تیمار ۵ مشاهده شد. کمترین مقدار ایمنوگلوبین کل در تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار آن نیز در تیمار ۵ مشاهده شد. کمترین و بیشترین مقدار لیزوزیم به ترتیب در تیمارهای ۳ و ۱ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار گلوکز در تیمار ۲ و بیشترین مقدار در تیمارهای شاهد و ۵ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). کمترین میزان کورتیزول در تیمارهای شاهد و ۲ و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ مشاهده شد که با تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار LDH در تیمارهای ۲ و ۵ و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار آنزیم AST در تیمار ۲ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت. بیشترین مقدار نیز در تیمار ۵ مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین میزان ALT در تیمار ۳ مشاهده شد که با همه تیمارها بجز تیمارهای شاهد و ۴، تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار آن نیز در تیمار ۵ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). کمترین و بیشترین مقدار آنزیم ALP به ترتیب در تیمارهای ۲ و ۴ مشاهده شد (P<۰/۰۵).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج به دست آمده از بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد نشان داد که تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف وجود داشت (P<۰/۰۵؛ جدول ۴).

جدول ۳: اثر عصاره گیاه حنا (*Lawsonia inermis*) در مقایسه با سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O$) بر شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی سرم خون تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) (میانگین ± خطای استاندارد)

شاخص	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
پروتئین تام (g/L)	۱/۷۶ ±۰/۰۱۵ c	۱/۷۸ ±۰/۰۲۵ c	۱/۵۷ ±۰/۰۲۵ ab	۱/۵۶ ±۰/۰۲۵ a	۱/۶۲ ±۰/۰۳۵ b	۱/۸۷ ±۰/۰۲۱ d
ایمنوگلوبولین کل (g/L)	۳۷/۵۳ ±۰/۱۲ c	۳۴/۵۳ ±۰/۰۶ b	۳۵/۱۰ ±۰/۴۰ b	۳۱/۲۳ ±۰/۵۵ a	۳۲/۱۳ ±۰/۶۷ a	۳۸/۲۳ ±۰/۳۲ c
آلبومین (g/L)	۰/۷۵ ±۰/۰۳۲ a	۰/۸۳ ±۰/۰۰۶ b	۰/۷۱ ±۰/۰۲۱ a	۰/۷۳ ±۰/۰۲۱ a	۰/۸۱ ±۰/۰۱۵ b	۰/۹۰ ±۰/۰۲۵ c
لیزوزیم (U/L)	۳۵/۳۳ ±۰/۵۸ abc	۴۰/۰۰ ±۱/۰۰ de	۳۸/۰۰ ±۲/۶۵ cd	۳۱/۶۷ ±۱/۵۳ a	۳۷/۶۷ ±۰/۵۸ cd	۳۵/۶۷ ±۰/۵۸ bc
کورتیزول (µg/dL)	۱۰۴/۳۳ ±۵/۱۳ a	۱۸۸/۰۰ ±۳/۶۱ b	۹۷/۶۷ ±۴/۱۶ a	۱۶۸/۶۷ ±۶/۴۳ c	۲۳۲/۶۷ ±۳/۵۱ d	۲۱۶/۶۷ ±۴/۹۳ e
گلوکز (mg/dL)	۶۰/۰۰ ±۲/۶۵ d	۳۳/۶۷ ±۰/۵۸ b	۲۹/۶۷ ±۱/۵۳ a	۴۹/۳۳ ±۲/۵۲ c	۵۰/۰۰ ±۱ c	۶۱/۶۷ ±۳/۵۱ d
LDH (U/L)	۵۷۵/۳ ± ۴/۹۳ c	۵۳۹/۷ ± ۸/۵۱ b	۴۷۲/۰۰ ± ۶/۲۴ a	۵۳۴/۷ ± ۱/۵۳ b	۶۱۴/۳ ± ۶/۱۱ d	۴۷۵/۰۰ ± ۴/۳۶ a
ALT (U/L)	۱۸/۰۰ ±۱/۷۳ abc	۲۴/۰۰ ±۱/۰۰ cd	۱۷/۰۰ ±۲/۶۵ ab	۱۵/۶۷ ±۱/۵۳ a	۱۸/۳۳ ±۲/۸۹ abc	۲۷/۶۷ ±۱/۱۶ d
AST (U/L)	۳۹۴/۳۳ ±۷/۲۳ d	۳۳۴/۳۳ ±۴/۰۴ bc	۳۱۵/۰۰ ±۳/۴۶ a	۳۳۰/۰۰ ±۵/۲۹ b	۳۴۴/۶۷ ±۱/۵۳ c	۴۱۷/۳۳ ±۳/۷۹ e
ALP (U/L)	۷۱۱/۶۷ ±۱۰/۴۱ e	۶۸۴/۳۳ ±۳/۷۹ b	۵۸۰/۶۷ ±۱۰/۰۲ a	۸۴۱/۳۳ ±۵/۱۳ c	۹۰۷/۰۰ ±۵/۰۰ d	۸۳۴/۶۷ ±۱/۵۳ f

در هر ردیف، حروف غیرمشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P<0/05$). تیمار ۱: برابر MAC حنا (۳۶/۳ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۲: ۲۵ درصد MAC حنا (۹/۰۷۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۳: ۵۰ درصد MAC حنا (۱۸/۱۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۴: ۷۵ درصد MAC حنا (۲۷/۲۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۵: سولفات مس (۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر).

جدول ۴: اثر عصاره گیاه حنا (*Lawsonia inermis*) در مقایسه با سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O$) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) (میانگین ± خطای استاندارد)

شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	شاخص
۶۳/۶۷	۶۵/۰۰	۵۶/۶۷	۶۷/۶۷	۷۲/۰۰	۷۸/۳۳	کاتالاز (U/L)
±۱/۵۳ ^{b}	±۲/۰۰ ^{bc}	±۴/۰۴ ^{a}	±۱/۵۳ ^{bcd}	±۱/۷۳ ^{de}	±۴/۵۱ ^{e}	
۳۲۴/۶۷	۳۷۸/۰۰	۳۹۳/۳۳	۴۰۱/۰۰	۴۳۷/۳۳	۳۳۲/۶۷	گلوتاتیون
±۱/۵۳ ^{a}	±۶/۲۴ ^{b}	±۵/۱۳ ^{c}	±۱/۷۳ ^{c}	±۲/۳۱ ^{d}	±۶/۳۵ ^{a}	پراکسیداز (U/L)
۵۵/۶۷	۵۰/۳۳	۴۳/۰۰	۴۴/۶۷	۴۷/۳۳	۵۳/۶۷	سوپراکسید
±۰/۵۸ ^{a}	±۲/۰۸ ^{c}	±۱/۰۰ ^{e}	±۲/۳۱ ^{e}	±۱/۵۳ ^{d}	±۱/۵۳ ^{b}	دیسموتاز (U/L)

در هر ردیف، حروف غیرمشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). تیمار ۱: برابر MAC حنا (۳۶/۳ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۲: ۲۵ درصد MAC حنا (۹/۰۷۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۳: ۵۰ درصد MAC حنا (۱۸/۱۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۴: ۷۵ درصد MAC حنا (۲۷/۲۵ میلی‌گرم در لیتر). تیمار ۵: سولفات مس (۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر).

کمترین میزان کاتالاز در تیمار ۲ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار آن نیز در تیمار ۴ مشاهده شد که با همه تیمارها بجز ۵، تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). کمترین میزان گلوتاتیون پراکسیداز در تیمارهای شاهد و ۵ و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین مقدار سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۲ و بیشترین مقدار در تیمارهای شاهد و ۵ مشاهده شد (P<۰/۰۵).

بحث

امروزه پرورش ماهیان خاویاری جایگاه ویژه‌ای در آبزی‌پروری پیدا کرده است. عموما ماهیان خاویاری با هدف تولید خاویار پرورش داده می‌شوند و به واسطه کاهش پیوسته سهم ماهیان خاویاری از تولید جهانی ماهی و کاهش ذخایر طبیعی آنها در برخی کشورها، پرورش این ماهیان از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار شده است (Vasilyeva et al., 2019). علاوه بر این، در دهه اخیر علاقه‌مندی به پرورش تاس‌ماهیان برای تولید گوشت، افزایش چشمگیری یافته است و به علت نیاز به گسترش تولید (از طریق معرفی گونه‌های جدید)، پرورش این ماهیان به سرعت در حال افزایش است. یکی از این گونه‌ها، تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) از خانواده Acipenseridae است که

از بااهمیت‌ترین ماهیان خاویاری به شمار می‌رود (Chebanov and Billard, 2001).

ماهی‌ها به طور مداوم با عوامل بیماری‌زا ساکن آب در تماس هستند. تراکم جمعیت بالا و همچنین شرایط هیدرودینامیک ضعیف و تغذیه منجر به افزایش حساسیت نسبت به عفونت‌ها می‌شود. به منظور جلوگیری از ضررهای اقتصادی عمده ناشی از بیماری‌ها، از داروهای مختلفی برای درمان و پیشگیری از عفونت‌ها استفاده می‌شود. استفاده از داروهای ضدمیکروبی در آبزی‌پروری می‌تواند منجر به بروز مقاومت در میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شود. از چند سال پیش، پژوهشگران به دنبال جانشین‌هایی برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها هستند و گیاهان دارویی یکی از گزینه‌های موجود برای این منظور هستند (Stratev et al., 2018). گیاه حنا در عصاره خود دارای آنزیم‌های پروتئولیتیک است و مهارکننده قوی تریپسین در آن وجود دارد که از این ماده علیه انواع میکروب‌ها استفاده می‌شود (Padul et al., 2012). مطالعه حاضر در درجه اول برای تعیین حد مجاز قابل استفاده گیاه حنا، LC_{50} و MAC این گیاه انجام شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان LC_{50} عصاره گیاه حنا برابر با ۰/۳۶۳ میلی‌گرم در لیتر بود. در مطالعات مختلف مقادیر LC_{50} اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus globules*) برابر با ۱۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ماهی کپور معمولی (Sheikhzadeh et al., 2009)، LC_{50} عصاره هیدرو الکی سیر برابر با ۱۸۰۰/۵۲ میلی‌گرم در لیتر در تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) (Bazari Moghaddam et al., 2018) و LC_{50} عصاره هیدرو الکلی اکالیپتوس برابر با ۷۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) مبتلا شده به *Aeromonas hydrophila* (Roudbaraki et al., 2018) تعیین شده است. بررسی‌های خون‌شناختی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی در آبزی‌پروری محسوب می‌شود و تاریخ این مطالعات به قرن نوزدهم میلادی برمی‌گردد. گلبول‌های قرمز یا اریتروسیت‌ها بیشترین فراوانی را در بین سلول‌های خونی دارند. نتایج مطالعات مختلف درباره تاثیر داروهای گیاهی بر سطح گلبول‌های قرمز، تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارهای مورد آزمایش نشان داده است (Sattari, 2012). در مطالعه حاضر، نتایج بررسی اثر حنا و سولفات مس نشان داد که استفاده از این مواد بر روی گلبول‌های قرمز خون تاثیر داشت و نسبت به تیمار شاهد میزان گلبول‌های قرمز افزایش را نشان می‌داد. کمترین

تعداد گلبول‌های قرمز نیز در تیمار شاهد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). در مطالعه Zare Salmasi و همکاران در سال ۲۰۱۹ که اثر ماده موثره گیاه زردچوبه را بر شاخص‌های خونی فیل‌ماهی جوان (*Huso huso*) بررسی کردند، نشان دادند که میزان گلبول قرمز در تیمارهای دریافت کننده کورکومین از میزان بالاتری نسبت به گروه شاهد مثبت و منفی برخوردار بود (P<۰/۰۵). Moradi و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه دارواش بر شاخص‌های رشد و خونی تاس‌ماهی سیبری نشان دادند میزان شاخص‌های خونی در هیچ یک از تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (P>۰/۰۵). در مطالعه Nikbakhsh Bidarouni و Vahabzadeh Roudsari (۲۰۲۰) که به بررسی تاثیر عصاره‌های سیر، نعناع فلفلی و پونه کوهی بر شاخص‌های رشد و ایمنی فیل‌ماهی جوان پرورشی پرداختند، نتایج بررسی‌های نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز در هیچ تیماری اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). Bazari Moghaddam و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی اثر سطوح مختلف آلوئه ورا بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی غیراختصاصی تاس‌ماهی سیبری پرداختند و تفاوت معنی‌داری را در مقدار گلبول قرمز تیمارها در مقایسه با شاهد مشاهده کردند (P<۰/۰۵). نتایج مطالعات حاضر با یافته‌های Zare Salmasi و همکاران (۲۰۱۹) و Bazari Moghaddam و همکاران (۲۰۱۷) همسو است. به طور کلی استفاده از عصاره گیاهان در این مطالعه، اثرات افزایشی در گلبول‌های قرمز خون تاس‌ماهی سیبری داشت. نتایج بررسی پژوهشگران دیگر نیز در بیشتر موارد تاثیر مثبت عصاره گیاه حنا را در افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

نتایج این مطالعه نشان داد که کمترین مقدار MCH در تیمارهای ۴ و ۵ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار آن در تیمارهای ۱ و ۲ مشاهده شد. همچنین کمترین و بیشترین مقدار MCV به ترتیب در تیمارهای ۵ و ۴ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). ضمنا کمترین و بیشترین میزان MCHC به ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). نتایج مطالعه Zare Salmasi و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که میزان شاخص‌های MCV، MCH

و MCHC فیل‌ماهی جوان در تیمارهای دریافت کننده کورکومین از میزان بالاتری نسبت به گروه شاهد مثبت و منفی برخوردار بود (P<۰/۰۵). در مطالعه Bahadori Birgani و همکاران (۲۰۱۸) که به بررسی تاثیر عصاره مورد بر روی رشد، بقا، شاخص‌های خونی و سیستم ایمنی ماهی کپور معمولی پرداختند، مقدار MCHC و MCV در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره نسبت به تیمار ۷۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره با اختلاف معنی‌دار مقدار بالاتری را نشان داد (P<۰/۰۵)، ولی درباره شاخص MCH اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار عصاره مورد وجود نداشت (P>۰/۰۵). در مطالعه Chitsaz و همکاران (۲۰۱۸) که به بررسی اثر پودر حبه سیر بر شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه فیل‌ماهی پرداختند، نتایج حاکی از افزایش چشمگیر هموگلوبین در تیمارهای پودر سیر در مقایسه با تیمار شاهد بود، در حالی که شاخص‌های خونی دیگر از جمله هماتوکریت تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵). در مطالعه Safari و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی اثرات عصاره آلوئه ورا بر رشد، وضعیت سلامت و برخی شاخص‌های خونی ماهی شیربت پرداختند، نشان داد که پس از ۶۰ روز استفاده از آلوئه ورا تعداد گلبول قرمز و هموگلوبین در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). مقدار MCH نیز در تیمارهای ۰/۵ و ۰/۲ درصد آلوئه ورا در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). نهایتا مشخص شد که آلوئه ورا می‌تواند سبب بهبود عملکرد رشد و افزایش برخی شاخص‌های خونی از جمله هماتوکریت در این ماهی شود (Safari et al., 2019). نتایج مطالعات حاضر با یافته‌های Zare Salmasi و همکاران (۲۰۱۹)، Bahadori Birgani و همکاران (۲۰۱۸)، Chitsaz و همکاران (۲۰۱۸) و Safari و همکاران (۲۰۱۹) همسو است.

در مطالعه حاضر، کمترین میزان هماتوکریت در تیمار شاهد و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ مشاهده شد. کمترین مقدار هموگلوبین در تیمار شاهد و بیشترین مقدار در تیمار ۵ مشاهده شد (P<۰/۰۵). در مطالعه Zare Salmasi و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی اثر استفاده از ماده موثره گیاه زردچوبه بر شاخص‌های خونی فیل‌ماهی جوان پرداختند، نتایج نشان داد که میزان گلبول‌های سفید خون در تیمارهای دریافت کننده کورکومین از میزان بالاتری نسبت به گروه‌های شاهد مثبت و منفی

برخوردار بود (P<۰/۰۵). در مطالعه Dadras و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی اثرات عصاره‌های گیاهان مریم‌گلی و سرخارگل بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و پاسخ‌های ایمنی ذاتی فیل‌ماهی پرداختند، نتایج نشان داد که همه شاخص‌های خونی مورد بررسی تحت تاثیر استفاده از عصاره هر دو گیاه قرار گرفتند. در مطالعه Safari و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی اثرات عصاره آلوئه ورا بر رشد، وضعیت سلامت و برخی شاخص‌های خونی ماهی شیربت پرداختند، پس از ۶۰ روز تعداد گلبول قرمز و هموگلوبین در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵)، مقدار MCH در تیمارهای ۰/۵ و ۰/۲ درصد آلوئه ورا در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) و نهایتا مشخص شد که آلوئه ورا می‌تواند سبب بهبود عملکرد رشد و افزایش برخی شاخص‌های خونی از جمله هماتوکریت در این ماهی شود.

گلبول‌های سفید خون نقش مهمی را در تعیین عملکرد سیستم ایمنی ماهیان ایفا می‌کنند (Sattari, 2012). گلبول‌های سفید در خون ماهیان نیز به دو دسته گرانولوسیت و آگرانولوسیت تقسیم می‌شوند. گرانولوسیت‌ها دانه‌دار هستند، هسته چند قسمتی دارند و شامل نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل هستند. اما آگرانولوسیت فاقد دانه است، هسته تک قسمتی دارد و شامل لنفوسیت و مونوسیت است (Sattari, 2012). ائوزینوفیل در خون بعضی از ماهیان که دچار آلودگی ویروسی شده‌اند به مقدار فراوان یافت می‌شود. البته یک رویداد استرس‌زا مثل صید، تراکم زیاد و یا گرسنگی نیز باعث افزایش ائوزینوفیل‌ها می‌شود (Ellis, 1999). ائوزینوفیل ماهی همانند پستانداران در فاگوسیتوز و از بین بردن عوامل بیماری‌زا نقش دارد (Sattari, 2012). نتایج به دست آمده از تاثیر حنا و مورد نشان داده است که استفاده از این مواد برروی گلبول‌های سفید خون تاثیر دارد و نسبت به شاهد در اغلب موارد باعث افزایش می‌شود. در مطالعه حاضر کمترین میزان گلبول سفید در تیمار ۳ (یعنی MAC حنا) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). همچنین هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان گلبول سفید تیمارهای ۴ و ۳ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بیشترین مقدار مونوسیت در تیمارهای ۲ و ۵ و کمترین مقدار در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار لنفوسیت در تیمار ۲ مشاهده شد. البته تفاوت معنی در بین میزان لنفوسیت تیمارهای شاهد، ۱، ۳، ۴ و ۵ مشاهده

نشد (P>۰/۰۵). کمترین و بیشترین میزان نوتروفیل در تیمار ۵ و ۲ مشاهده شد (P<۰/۰۵). در پایان نیز بیشترین میزان ائوزینوفیل در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ مشاهده شد (P<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری در میزان نوتروفیل تیمارهای ۳ و ۵ و نیز تیمارهای شاهد، ۱، ۲ و ۴ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در مطالعه Bazari Moghaddam و همکاران (۲۰۱۷) که به بررسی اثر سطوح مختلف آلوئه ورا بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی غیراختصاصی تاس‌ماهی سیبری پرداخته شد، تفاوت معنی‌داری در مقدار گلبول‌های سفید خون تیمارها در مقایسه با شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵). در مطالعه Zare Salmasi و همکاران (۲۰۱۹) درباره اثر استفاده از ماده موثره گیاه زردچوبه بر شاخص‌های خونی فیل‌ماهی جوان، نتایج نشان داد که میزان گلبول‌های سفید خون در تیمارهای دریافت کننده کورکومین از میزان بالاتری نسبت به گروه‌های شاهد مثبت و منفی برخوردار بود (P<۰/۰۵). Yegane Rastekenari و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تاثیر مکمل پودر سیر بر شاخص‌های رشد و پاره‌ای از شاخص‌های ایمنی بچه تاس‌ماهی سیبری پرداختند و نتایج مطالعه آنها نشان داد که افزودن پودر سیر در سطوح ۱ و ۱/۵ درصد به ترتیب موجب افزایش شاخص‌های رشد و شاخص‌های ایمنی IgM و لیزوزیم در تاس‌ماهی سیبری شد. علت تشابه مطالعات Yegane Rastekenari و همکاران (۲۰۱۷)، Bazari Moghaddam و همکاران (۲۰۱۷) و همچنین Zare Salmasi و همکاران (۲۰۱۹) را می‌توان در تاثیر عصاره گیاهان انتخابی آنان دانست که همگی اثر افزایشی روی تعداد گلبول‌های سفید خون داشتند. در مطالعه Safari و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی اثرات عصاره آلوئه ورا بر رشد، وضعیت سلامت و برخی شاخص‌های خونی ماهی شیر بت پرداخته شد، بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار دریافت کننده بیشترین مقدار آلوئه ورا مشاهده شد (P<۰/۰۵). در مطالعه Raissy و همکاران (۲۰۱۴) که به بررسی اثر اسانس گیاهان پونه کوهی (*Mentha longifolia*)، مرزه معمولی (*Satureja hortensis*) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر برخی شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) پرداختند، نتایج نشان داد که درصد نوتروفیل در گروه‌های آزمون نسبت به گروه شاهد بویژه در مورد آویشن شیرازی و مرزه معمولی افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). با این وجود تفاوت معنی‌داری بین

تعداد کلی گلبول‌های سفید در تیمارهای مختلف مشاهده نشد. تعداد جرم فاگوسیته شده و درصد فاگوسیتوز نیز در گروه‌های دریافت کننده اسانس به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵) (Raissy et al., 2014). در مطالعه Amhamed و همکاران (۲۰۱۸) که به بررسی اثر عصاره متانولی گیاه سلمه‌تره بر شاخص‌های ایمنی و خونی ماهی کپور معمولی پرداختند، نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید با افزایش مقدار مصرفی افزایش معنی‌داری یافت و نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). به طور کلی استفاده از عصاره گیاه حنا در مطالعه حاضر، اثرات افزایشی در گلبول‌های سفید، نوتروفیل و لنفوسیت و ائوزینوفیل خون تاس‌ماهی سیبری داشت. نتایج بررسی پژوهشگران دیگر نیز در اغلب موارد تاثیر عصاره گیاه حنا را بر افزایش تعداد گلبول‌های سفید نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد که با نتایج مطالعه حاضر مشابهت دارد.

مهم‌ترین اندام‌ها و بافت‌های سیستم‌های ایمنی ماهیان عبارت هستند از تیموس، کلیه، طحال، کبد، پوست، فلس، خون، روده، ترشحات موکوسی و صفراوی، آبشش‌ها و گره‌های لنفاوی. ایمنی در ماهیان به دو صورت اختصاصی و غیراختصاصی تظاهر می‌یابد (Soltani, 2008). به طور کلی ایمنی غیراختصاصی در ماهیان در دو بخش ترکیبات مایع (هومورال) و سلولی وجود دارد. آنزیم‌هایی مانند لیزوزیم، آلکالین فسفاتاز، تریپسین، سیتوکین‌ها، اجزای پروتئینی سیستم عامل مکمل که منجر به تشکیل کمپلکس از بین برنده غشا می‌شوند. لیزوزیم موجب هیدرولیز ترکیبات گلیکوپروتئینی می‌شود و قادر به شکستن پیوندهای گلیکوزیدی لایه پپتیدوگلیکان موجود در دیواره سلولی باکتری‌ها است (Soltani, 2008). در مطالعه حاضر کمترین و بیشترین مقدار لیزوزیم به ترتیب در تیمارهای ۳ و ۱ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). کمترین میزان پروتئین تام در تیمار ۳ مشاهده شد که با همه تیمارها بجز ۲ تفاوت معنی‌دار داشت و بیشترین میزان نیز در تیمار ۵ مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین میزان آلبومین در تیمارهای شاهد، ۲ و ۳ مشاهده شد و بیشترین میزان نیز در تیمار ۵ مشاهده شد (P>۰/۰۵). کمترین مقدار ایمنوگلوبین کل در تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار آن نیز در تیمار ۵ مشاهده شد (P<۰/۰۵).

کمترین مقدار گلوکز در تیمارهای ۱ و ۲ و بیشترین مقدار در تیمارهای شاهد و ۵ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). کمترین میزان کورتیزول در تیمارهای شاهد و ۲ و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ مشاهده شد که با تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار LDH در تیمار ۲ و ۵ و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشتند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار آنزیم AST در تیمار ۲ مشاهده شد (P<۰/۰۵) که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت. بیشترین مقدار آن نیز در تیمار ۵ مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین میزان ALT در تیمار ۳ مشاهده شد که با همه تیمارها بجز تیمارهای شاهد، ۲ و ۴ تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار نیز در تیمار ۵ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). کمترین و بیشترین مقدار آنزیم ALP به ترتیب در تیمارهای ۲ و ۴ مشاهده شد (P<۰/۰۵). در مطالعه Nikbakhsh Bidarouni و Vahabzadeh Roudsari (۲۰۲۰) که به بررسی تاثیر عصاره‌های سیر، نعناع فلفلی و پونه کوهی بر شاخص‌های رشد و شاخص‌های ایمنی فیل‌ماهی جوان پرورشی پرداختند، نتایج نشان داد که میزان IgM و ALP سرم خون در هیچ یک از تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، اما مقادیر آنزیم‌های کبدی ALT و AST به طور قابل توجهی در تیمارهای پونه کوهی و نعناع فلفلی کمتر از تیمار سیر بود (P<۰/۰۵). در مطالعه Dadras و همکاران در سال ۲۰۱۶ که به بررسی اثر دو گیاه دارویی *Rosa canina* و *Carthamus tinctorius* بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی و پاسخ ایمنی ذاتی در بچه فیل‌ماهی پرداختند، نتایج نشان داد که مقادیر ALT و AST در تیمارهای دریافت کننده مکمل گیاهی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). پاسخ‌های ایمنی ذاتی (فعالیت لیزوزیم و ACH50) در تیمار تغذیه‌شده با ۲ درصد *C. tinctorius* بیشتر از تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۵) (Dadras et al., 2016). در مطالعه Hassanalizadeh Chari و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی اثر اسانس خوراکی اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) بر شاخص‌های رشد، خونی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداختند، فعالیت کمپلمان پلاسما، آنزیم‌های لیزوزیم و سوپراکسید دیسموتاز، ایمنوگلوبولین M و ایمنوگلوبین کل سرم با افزایش مقادیر اسانس،

افزایش یافت. در نهایت آنها اظهار کردند که افزودن اسانس اسطوخوودوس به میزان ۱ و ۲ میلی‌لیتر به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب تاثیر مثبت و معنی‌دار بر برخی از شاخص‌های رشد، شاخص‌های خونی و سیستم ایمنی این ماهی می‌شود و این امر احتمالا به دلیل وجود ترکیباتی مانند فنل‌ها، تانن‌ها و مونوترپن‌ها موجود در اسانس اسطوخودوس است (Hassanalizadeh Chari et al., 2019).

در مطالعه Amhamed و همکاران (۲۰۱۸) که به بررسی اثر عصاره متانولی گیاه سلمه‌تره بر شاخص‌های ایمنی و خونی ماهی کپور معمولی پرداختند، نتایج نشان داده شد که میزان فعالیت لیزوزیم به طور معنی‌داری در تیمار ۰/۱ گرم در کیلوگرم در مقایسه با شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵) و تفاوت معنی‌داری در مقدار لیزوزیم و ACH50 تیمارها در مقایسه با شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵).

سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل دو نوع آنزیمی و غیرآنزیمی است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ترکیباتی کلیدی هستند که طی استرس اکسیداتیو، سبب بقای ماهیان می‌شوند و نقش مهمی را در محافظت از سلول‌ها در برابر اثرات سمی عوامل مختلف بازی می‌کنند. سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز از جمله آنزیم‌هایی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عمده‌ای در ماهیان دارند (Coutinho et al., 2017). در مطالعه حاضر، کمترین میزان گلوتاتیون پراکسیداز در تیمارهای شاهد و ۵ و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین میزان کاتالاز در تیمار ۲ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای دیگر داشت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار آن نیز در تیمار ۵ مشاهده شد که با همه تیمارها بجز ۵ تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). در مطالعه حاضر کمترین مقدار سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۲ و بیشترین مقدار در تیمار ۵ مشاهده شد (P<۰/۰۵). در مطالعه Pasandi Pour و همکاران (۲۰۱۶) که به بررسی فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی برگ حنا با دو غلظت ۱/۲۵ و ۲/۵ درصد از اکوتیپ‌های مختلف (شهداد، رودبار و بم) پرداختند، نتایج نشان داد که عصاره برگ حنا، فعالیت ضدباکتریایی نسبی در برابر انواع باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی در این مطالعه داشت و غلظت بالاتر آن موثرتر بود. در مطالعه Pereira و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و شناسایی

ترکیبات فعال زیستی عصاره گیاه مورد به دست آمده به شیوه التراسوند، نشان دادند که بین میزان پلی‌فنول و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی وجود داشت و عصاره برگ نسبت به عصاره میوه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت. تشابه نتایج Hassanalizadeh Chari و همکاران (۲۰۱۹) با مطالعه حاضر احتمالا به دلیل وجود ترکیباتی مانند فنل‌ها، تانن‌ها و مونوترپن‌ها موجود در اسانس اسطوخودوس دانست. تشابه مطالعه حاضر با نتایج مطالعات Pasandi Pour و همکاران (۲۰۱۶) در تشابه نوع عصاره گیاه انتخابی است که این عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد که این امر مرتبط باوجود برخی از انواع طبیعی آنتی‌اکسیدان در این گیاه است.

در مجموع، می‌توان گفت که عصاره گیاهی حنا در شاخص‌های همچون تعداد گلبول سفید، کم کردن استرس، عملکرد آنزیم‌های کبدی و کم کردن تعداد قارچ عملکرد مناسب‌تری را از خود نشان داد. تیمار آزمایشی ۵۰ درصد MAC حنا نیز در بسیاری از شاخص‌ها عملکرد قابل قبولی داشت و می‌توان گفت که جایگزین مناسبی برای سولفات مس جهت ضدعفونی در مزارع پرورش تاس‌ماهی سیبری است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نگارندگان از همکاری صمیمانه مسئولین محترم موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر و آزمایشگاه ویرومد و همچنین از پژوهشگر گرامی شهریار تقی‌پور کوه‌بنه جهت پیشبرد اهداف علمی این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

Action S. I. 2020. World Fisheries and Aquaculture. Food and Agriculture Organization, Italy. 244P.

Aebi H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121–126. doi: 10.1016/S0076-6879 (84)05016-3

Amhamed I.D., Mohamed G.A., Almabrok A.A., Altief T.A.S. and Bilen S. 2018. Efficacy of dietary *Chenopodium album* extract on some health parameters, digestive enzymes and growth performance in juvenile *Cyprinus carpio*. Alinteri Journal of Agriculture Sciences, 33(2): 165–176. doi: 10.28955/alinterizbd.412455

Assefa A. and Abunna F. 2018. Maintenance of fish health in aquaculture: Review of epidemiological approaches for prevention and control of infectious disease of fish. Veterinary Medicine International, 2018: 1–10 (5432497). doi: 10.1155/ 2018/5432497

Bahadori Birgani S., Roomiani L. and Chelehmal Dezfoolinezhad M. 2018. The effects of the extract of (*Myrtus communis* L.) on the growth, survival, hematology indices and immune system of common carp (*Cyprinus carpio*) (In Persian). Journal of Animal Research, 31(3): 329–341.

Barros M.M., Lim C. and Klesius P.H. 2002. Effect of iron supplementation to cotton seed meal diets on growth performance of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Journal of Applied Aquaculture, 10(65): 86–92. doi: 10.1300/J028v10n01_07

Bazari Moghaddam S., Haghigh M., Sharifrouhani M. Hamidi M. and Ghasemi M. 2017. The effects of different levels of *Aloe vera* extract on some of the hematological and non-specific immune parameters in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 16(4): 1234–1247. doi: 20.1001.1.15622916.2017.16.4.9.6

Bazari Moghaddam S., Masoumzadeh M., Jalilpour J. and Alizadeh M. 2018. Using garlic (*Allium sativum*) hydroalcoholic extract to eliminate the protozoan ectoparasite (*Trichodina*) in Persian sturgeon fingerlings (In Persian). Sturgeon Extention Journal, 1(1): 45–55.

Binaii M., Ghiasi M., Farabi S.M.V., Pourgholam R., Fazli H., Safari R., Alavi S.E., Taghavi M.J. and Bankehsaz Z. 2014. Biochemical and hamate-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). Fish and Shellfish

Immunology 36: 46–51. doi: 10.10 16/j.fsi.2013.10.001

Brahmeshwari G., Surekha M. and Saini K. 2012. Antifungal activity of naphthothiazoles derived from lawsone (*Lawsonia inermis*). African Journal of Biotechnology, 11(78): 14405–14409. doi: 10.5897/AJB12.808

Chaudhary G., Goyal S. and Poonia P. 2010. *Lawsonia inermis* Linnaeus: A phytopharmacological review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 2(2): 91–98.

Chebanov M. and Billard R. 2001. The culture of sturgeons in Russia: Production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aquatic Living Resources, 14(6): 375–381.

Chitsaz H., Oraji H., Keramat Amirkolaie A. and Akrami R. 2018. Effect of garlic peel on haematological, biochemical and digestive enzyme activity in beluga juvenile (*Huso huso*). Iranian Journal of Aquatic Animal Health, 4(1): 13–28. doi: 10.29252/ijaah.4. 1.13

Coutinho F., Simoes R., Monge-Ortiz R., Furuya W.M., Pousao-Ferreira P., Kaushik S., Oliva-Teles A. and Peres H. 2017. Effects of dietary methionine and taurine supplementation to low-fish meal diets on growth performance and oxidative status of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture, 479: 447–454. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017. 06.017

Dadras H., Hayatbakhsh M.R. and Golpour A. 2019. Dietary administration of common sage (*Salvia officinalis*) and coneflower (*Echinacea angustifolia*) extracts affects growth, blood parameters and immune responses of beluga, *Huso huso*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 20(5): 367–374. doi: 10.4194/1303-2712-v20_5_05

Dadras H., Hayatbakhsh M.R., Shelton W.L. and Golpour A. 2016. Effects of dietary administration of rose hip and safflower on growth performance, haematological, biochemical parameters and innate immune response of beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Fish and Shellfish Immunology, 59: 109–114. doi: 10.1016/j.fsi.2016.10.033

Ellis A.E. 1999. Immunity to bacteria in fish. Fish and Shellfish Immunology, 9(4): 291–308. doi: 10.1006/fsim.1998.0192

FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italy. 266P.

Feldman B., Zinkl J. and Jain N. 2000. Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams and Wilkins, USA. 1393P. doi: 10.1002/9781119500537

Finney D.J. 1971. A statistical treatment of the sigmoid response curve. Probit analysis. Cambridge University Press, UK. 633P.

Fontagne S., Bazin D., Breque J., Vachot C., Bernarde C., Rouault T. and Bergot P. 2006. Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae. Aquaculture, 257(1-4): 400–411. doi: 10.22113/jmst.2016.41156

Hassanalizadeh Chari F., Akrami R., Ghlichi A. and Ebrahimi P. 2019. Oral administration of *Lavandula officinalis* essence on growth indices and blood and immunology parameters of *Oncorhynchus mykiss* (In Persian). Journal of Animal Environment, 11(4): 197–206.

Hosseinpour A. and Sohrabi T. 2021. Effect of stocking density on growth performance and stress of cultured sturgeons (*Huso huso* and *Acipenser baerii*) (In Persian). Sturgeon Extention Journal, 3(5): 11–15.

Juyande F., Sadeghpoor A., Khara H. and Pazhand Z. 2016. Histopathological and bacterial study of skin and gill of grass carp, *Ceteopharyngodon idella* (Valenciennes 1844), exposed to copper sulfate and potassium permanganate. Journal of Parasitic Diseases, 40: 1009–1013. doi: 10.1007/s12639-014-0625-1

MacAulay S., Ellison A.R., Kille P. and Cable J. 2022. Moving towards improved surveillance and earlier diagnosis of aquatic pathogens: From traditional methods to emerging technologies. Reviews in Aquaculture, 14(4): 1813–1829. doi: 10.1111/raq.12674

Masoumi S.H., Adineh H., Harsij M., Jafaryan H. and Gholipour Kaanany H. 2019. Effects of different levels of *Yucca schidigera* extract on growth performance, nonspecific immunity and culture water quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the recirculating system. Journal of Aquaculture Sciences, 7(1): 68–80.

McCord J.M. and Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). Journal of Biological Chemistry, 244(22): 6049–6055.

Mishra S.S., Das R., Das B.K., Choudhary P., Rathod R., Giri B. S. and Swain P. 2017. Status of aqua-medicines, drugs and chemicals use in India: A Survey Report. Journal of Aquaculture and Fisheries, 1(004): 1–15. doi: 10.24966/AAF-5523/100004

Molayem Raftar T., Peyghan R., Razi Jalali M. and Shahriari A. 2018. Interactive effect of treatment with copper sulfate and/or formalin bath with nitrite and ammonia intoxication, on some biochemical parameters of

blood serum of common carp. Iranian Veterinary Journal, 14(1): 70–80. doi: 10.22055/ivj.2017.64544.1824

Moradi S., Falahatkar B., Sattari M. and Alishahi M. 2019. Effect of different levels of hydroalcoholic extract of Viscum album on growth and hematological indices in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). Aquaculture Sciences, 6(2): 1–12.

Nikbakhsh Bidarouni A., and Vahabzadeh Roudsari H. 2020. Prioritization of *Allium sativum*, *Mentha piperita* and *Oregano vulgare* extracts on improving growth and immune indices of reared giant sturgeon (*Huso huso*). Journal of Aquaculture Development, 13(4): 107–121.

Padul M.V., Patil M.T., Chougale A.D., Zambare V.P., Patil R.M., Ghule R.B. and Salve A.N. 2012. In vitro screening of proteinase inhibitors (trypsin, chymotrypsin and *Helicoverpa* gut proteinase inhibitors) in different plant tissue extracts. Trends in Biotechnology Research, 1(1): 7–14.

Pasandi Pour A., Farahbakhsh H. and Moradi R. 2016. Antibacterial and antioxidant activity of henna (*Lawsonia inermis* L.) leaf extract. 5th National Congress on Medicinal Plants, Isfahan, Iran. P: 82.

Pereira P., Cebola M.J., Oliveira M.C. and Gil G.B. 2017. Antioxidant capacity and identification of bioactive compounds of *Myrtus communis* L. extract obtained by ultrasound-assisted extraction. Journal of Food Science and Technology, 54(13): 4362–4369. doi: 10.1007/s13197-017-2907-y

Raissy M., Fakhrian M., Jafarian M. and Varshoei H. 2014. Study on the effect of some medicinal plants essential oils on non-specific immune system of sterlet (*Acipenser ruthenus*). Journal of Marine Biology, 6(1): 23–28.

Rajwar S. and Khatri P. 2011. Pharmacognostic and phyto-chemical studies on various plant parts of *Lawsonia inermis* (henna). Asian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research, 1: 22–40.

Rotllant J., Balm P.H.M., Perez-Sanchez J., Wendelaar-Bonga S.E. and Tort L. 2001. Pituitary and internal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Teleostei) after handling and confinement stress. General and Comparative Endocrinology, 121: 333–342. doi: 10.1006/gcen.2001.7604

Roudbaraki S.M.S., Ershad H., Khara H. and Maasoumzadeh M. 2018. Effects of different amounts of hydroalcoholic extract of eucalyptus on the blood

parameters of gras carp (*Ctenopharyngodon idella*) infected with *Aeromonas hydrophila*. Journal of Animal Research, 31(1): 79–92.

Saeidi S., Sabagh S.K. and Sabori Robat E. 2012. A Study of antibacterial activity of plant extract and essential oil of *Myrtuscommunis* against resistant strains of *Staphyloccocus aureus* bacteriato selective antibiotics. Journal of Zabol University of Medical Sciences, 4: 21–32.

Safari M., Chelehmal Dezfouli Nejad M., Mesbah M. and Jangaran Nejad A. 2019. Effects of *Aloe vera* extract on growth and some hematological parameters of shirbot, *Tor grypus* (Heckel, 1843). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 18(3): 445–456. doi: 10.22092/ijfs.2018.118042

Salahshoori E., Falahatkar B. and Efatpanah I. 2016. The effect of dietary protein levels on growth performance and hematological parameters of juvenile beluga sturgeon (*Huso huso*). Journal of Aquaculture Development, 11(1): 51–62.

Santhanamari T., Meenakshi P.R. and Velayutham S. 2011. In vitro antibacterial activity of extracts of *Lawsonia inermis* and *Punica granatum* against clinically isolated antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 4: 62–65.

Sattari M. 2012. Ichthyology, Vol. 1: Anatomy and Physiology (In Persian). Naghshmehr and Guilan University Publications, Iran. 659P.

Shamloofar M., Jorjani S. and Ghelichi A. 2014. Determination of LC_{50} and investigation of tissue damage caused by swine poison in *Rutilus frisii kutum* (In Persian). Journal of Aquaculture Development, 9(1): 43–52.

Sheikhzadeh N., Soltani M., Ebrahimzadeh Mousavi H.A., Khosravi A.R., Bagheri H., Fathi E. and Zargar A. 2009. Effects of *Eucalyptus globules* Labill essential oil on some immuno-logical variables of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 64(1): 47–54.

Soltani M. 2008. Immunology of Fish and Crustaceans (In Persian). Tehran University Publications, Iran. 264P.

Stratev D., Zhelyazkov G., Noundou X.S. and Krause R.W. 2018. Beneficial effects of medicinal plants in fish diseases. Aquaculture International, 26: 289–308. doi: 10. 1007/s10499-017-0219-x

Supian F.N.A. and Osman N.I. 2023. Phytochemical and pharmaco-logical activities of natural dye plant, *Lawsonia inermis* L. (henna). Journal of Young

Pharmacists, 15(2): 201–211. doi: 10.5530/jyp.2023.15.29

Tappel A.L. 1978. Glutathione peroxidase and hydroperoxides. Methods in Enzymology, 52: 506–513. doi: 10.1016/s0076-6879(78)52055-7

Torfi Moazenzadeh M., Yaghoubi M., Yavari V., Agh N., Marammazi J.G. and Popovic N.T. 2015. Reference intervals for haematological and plasma biochemical parameters in sobaity sea bream juveniles (*Sparidentex hasta*, Valenciennes 1830). Comparative Clinical Pathology, 24(6): 1501–1507. doi: 10.1007/s00580-015-2107-y

USEPA 1985. Design manual: Odor and corrosion control in sanitary sewage systems and treatment plants. U.S. Environmental Protection Agency, EPA/625/1-85/018.

Vasilyeva L.M., Elhetawy A.I.G., Sudakova N.V. and Astafyeva S.S. 2019. History, current status and prospects of sturgeon aquaculture in Russia. Aquaculture Research, 50(4): 979–993. doi: 10.1111/are.13997

Yegane Rastekenari H., Vahabzade Roudsari H. and Yazdani Sadati M.A. 2017. Improving effect of garlic (*Allium sativum*) powder as a supplement on growth performance and immune system of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) juveniles. Aquatic Physiology and Biotechnology, 5(1): 107–125. doi: 10.22124/japb.2017.2346

Zare Salmasi A., Nazerian S., Mirghaed A.T. and Ebrahimzadeh S.M. 2019. The effect of the active ingredient of turmeric plant (*Curcuma longa* L.) on hematological parameters of beluga (*Huso huso*). Journal of Veterinary Research, 74(2): 199–208. doi: 10.22059/jvr.2018.239499.2683

Zorriehzahra J., Ghiasi M. and Binaii M. 2014. The study on some hematological and biochemical parameters in golden grey mullet (*Liza auratus*) in southern caspian sea of Mazandaran Province following the occurrence of an emerged disease (In Persian). Journal of Aquaculture Development, 7(4): 25–33.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 12, No. 1, Spring 2024

Research Paper

Evaluation of the effect of henna plant (*Lawsonia inermis*) extract compared to copper sulfate ($CuSo_4.5H_2o$) on blood, immunity and stress indices and antioxidant activity in liver tissues of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)

Ruhollah Barzgar[1], Masoud Farokhrouz[2]*, Hossein Khara[3], Mohaddeseh Ahmadnejad[4], Alireza Shenavar Masouleh[5]

DOI: 10.22124/japb.2023.24825.1502

Received: July 2023 Accepted: October 2023

Abstract

Henna plants (*Lawsonia inermis*) and copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$) are used for healing and repairing skin wounds due to their antibiotic and antifungal properties. For this purpose, 500 pieces of Siberian sturgeons with an average weight of 15±1.2g were used. First, the acute toxicity (LC_{50}) and then the maximum permissible concentration (MAC) were determined. To experiment, five treatments with three replications were designed. In treatments 1 to 4, doses equal to henna MAC value and amounts equal to 25%, 50%, and 75% of MAC were used. In treatment 5, copper sulfate at the concentration of 0.07 mg/L was used to compare. Fish were affected by compounds with determined concentrations for 4 days (96 hours). The results showed that henna plant extract performed better than copper sulfate in indicators such as white blood cell count, stress reduction, and liver enzyme activity. Finally, the present study showed that henna plant extract performed better and can be used as a suitable substitute for copper sulfate for disinfection in Siberian sturgeon farms. Also, the results showed that henna plant extract has negative effects on the blood and biochemical indices of Siberian sturgeon.

Key words: *Siberian Sturgeon, Henna, Copper Sulfate, Blood Factors, Antioxidant Enzymes*.

1- Ph.D. Student in Fisheries, Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
2- Assistant Professor in Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
3- Associate Professor in Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
4- Assistant Professor in Inland Water Aquaculture Research Institute, National Fisheries Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.
5- Assistant Professor in International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

*Corresponding Author: mfarokhrooz@yahoo.com