تأثیر عصاره الکلی حنا روی فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

مرضیه محمدی[۱]، مژده چله مال دزفولی نژاد[۲*]، مهرزاد مصباح[۳]

۱- گروه شیلات، واحدعلوم و تحقیقات خوزستان، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

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

۳- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[*]مسئول مکاتبات: m_chelemal@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۱۷

چکیده

برای انجام این آزمایش ۲۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی (با وزن متوسط ۱/۲۱±۲۲/۳۰ گرم) تحت چهار تیمار شاهد، گروه حمام دائم عصاره الکلی ۰/۰۱ درصد، گروه حمام دائم عصاره الکی ۰/۱ درصد، گروه حمام دائم عصاره الکلی ۰/۵ درصد به مدت ۶۰ روز قرار گرفتند. در انتهای دوره بالاترین میزان گلبول‌های سفید مربوط به تیمار ۰/۰۱ و به دنبال آن تیمار ۰/۱ بوده و در تیمار شاهد میزان گلبول‌های سفید کمترین مقدار را در میان سایر تیمارها نشان داد (p <۰/۰۵). بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز مربوط به تیمار ۰/۵ بدون اختلاف معنی دار با تیمار ۰/۱ و شاهد بود(p >۰/۰۵). میزان هماتوکریت در شاهد مقادیر بالاتری را در مقابل تیمارهای ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۵ نشان داد (p <۰/۰۵). در مورد هموگلوبین تیمار شاهد بالاترین میزان را دارا بود و به دنبال آن تیمار ۰/۰۱ قرار داشت(p <۰/۰۵). در مورد شاخص میزان متوسط هموگلوبین گلبولی بالاترین میزان مربوط به تیمار ۰/۰۱ و کمترین مقدار مربوط به تیمار ۰/۵ بود(p <۰/۰۵). تیمار شاهد از نظر عددی در رتبه دوم قرار داشت. عصاره حنا در پایان دوره ۲۸ غلظت سبب بالا رفتن متوسط هموگلوبین گلبولی در تیمارها شد و حجم متوسط گلبولی کمترین مقدار را در تیمار ۰/۵ و بیشترین مقدار مربوط به تیمار شاهد داشت(p <۰/۰۵).

کلمات کلیدی: عصاره حنا، کپور معمولی، شاخص‌های خونی.

مقدمه

بطور متوسط بیماری‌ها بیش از ۱۰ درصد زیان‌های اقتصادی این صنعت را در برمی‌گیرند. شرایط محیطی نابسامان و آکنده از فشار در پرورش متراکم آبزیان، باعث از بین رفتن تعادل بین میزبان، محیط و عامل بیماری‌زا می‌گردد (۱۳). از این رو مدیریت بیماری‌ها در آبزی‌پروری جایگاه ویژه ای دارد. در طول چند دهه‌ی اخیر آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان داروهای موثر برای درمان بیماری‌های باکتریایی مورد استفاد قرار گرفته اند، ولی استفاده ی مداوم آنتی بیوتیک‌ها و تجویز بیشتر یا کمتر از مقدار موثر آنها، باعث ایجاد مقاومت‌های دارویی در بسیاری از باکتری‌ها گردیده است (۵). به علاوه قیمت آنتی بیوتیک‌ها، مشکلات اجرایی تجویز، تهدید بهداشت عمومی و دامی، تاثیر کوتاه مدت و عدم تاثیر بر ویروس‌ها معایبی هستند

که مورد توجه محقیقین و پرورش دهندگان واقع شده است، از طرفی مشکلات زیست محیطی استفاده از داروها، امروزه به یکی از موانع توسعه دارو درمانی بویژه آنتی‌بیوتیک درمانی تبدیل شده است. ملاحظات اقتصادی در مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر داروهای شیمیایی در آبزیان با توجه به گران بودن و نیاز به تکرار زیاد نیز باعث کاهش گرایش به استفاده از این داروها در آبزی‌پروری گردیده است (۳)، لذا از روش‌های پیش‌گیرانه مثل استفاده از واکسن‌ها و محرک‌های ایمنی، به عنوان کاربردی‌ترین روش‌های کنترل بیماری‌های ماهی یاد می شود. اگرچه در زمینه استفاده از واکسن‌ها برای پیشگیری از بیماری‌ها در پزشکی و دامپزشکی (موجودات خون گرم) تحقیقات زیادی صورت گرفته است ولی در آبزیان این علم در مراحل اولیه خود به‌سر می‌برد (۱۶، ۱۷). دلیل این امر عوامل متعددی از جمله حضور جمعیت‌های ناهمگون عوامل بیماری‌زا در محیط‌های آبی مشکلات تجویز واکسن به ماهی و اطلاعات محدود در خصوص واکنش ایمنی ماهی در برابر بسیاری از عوامل بیماری‌زا می‌باشند (۵). از این رو بکار بردن روش-هایی که بتواند به بهبود کیفیت پرورش در کشور کمک نماید، ضروری به نظر می‌رسد. تحقیقات در زمینه مواد محرک سیستم ایمنی رو به پیشرفت است و موارد کمی از عصاره‌های گیاهی در حال حاضر در صنعت آبزی پروری استفاده شده است. استفاده از این مواد برای پیشگیری از بیماری‌ها در ماهی می‌تواند به عنوان یک جایگزین امیدوار به جای واکسن در نظر گرفته شده است و استفاده از تقویت‌کننده‌های طبیعی سیستم ایمنی در پرورش ماهی یک رویکرد امیدوار کننده برای جلوگیری ماهی از بیماری است (۱۹).

گیاه حنا دارای خصوصیات ضددرد، تنظیم قند خون، محافظت از کبد، تحریک‌کننده سیستم ایمنی، ضدالتهاب، ضدباکتری، ضدمیکروب، ضدقارچ، ضدویروس، ضدانگل، آنتی‌اکسیدان، التیام‌دهنده زخم و ضدسرطان است (۲). مهم‌ترین ترکیب شناخته شده و ماده‌ی اصلی رنگ‌کننده حنا لاوسون است که به صورت بلورهای منشوری شکل در اسید استیک به دست می‌آید (۱). در کنار لاوسون سایر مواد موجود عبارتند از گلیکوزیدهای فنلی متعدد، کومارین، گزانتون، کینوئید، گلیکوزید بتاسیتوسترول و فلاونوئیدهایی نظیر لوتئولین و مشتق ۵-۷-گلوکوزیدن آن که یک رزین به رنگ سبز زیتونی می-باشد که در اتر و الکل قابل حل است (۱). سایر مواد حاصل از برگ‌ها عبارتند از اسید گالیک، ۱ و ٤ نفتاکوئینون، لاکسانتون ۱ و ۲، آکاستین گلیکوزیدی و مقدار کمی آلکالوئید است (۱). با توجه به ویژگی‌های بیان شده در این تحقیق تأثیر عصارهٔ الکلی حنا روی فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بررسی شده است.

مواد و روش کار

در این تحقیق تعداد ۲۸۰ قطعه ماهی کپور معمولی با وزن متوسط ۱/۲۱±۲۲/۳۰ گرم از مزارع آبزی‌پروری در استان خوزستان تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز در آکواریوم‌های۱۵۰ لیتری و در ۳ تکرار قرار گرفتند.

دما ۱ ± ۲٦ °C، اکسیژن محلول ۱۰-۸ ppm، pH : ۰/۳±۷/۹، NO2 <۰/۰۱ ppm، NH3<۰/۱ ppm ، میزان سختی آب ۹٦۰ میکروزیمنس بر سانتی‌مترمربع و میزان تعویض روزانه آب حداقل ۱۰ درصد حجم آب بود. ابتدا سازش‌یابی بچه ماهی‌ها با شرایط آزمایش به مدت یک هفته انجام پذیرفت، سپس ماهیان به صورت کاملاً تصادفی در ۳ تکرار بصورت زیر بین ۳ آکواریوم ۱۵۰ لیتری تقسیم گردیدند.

تیمار ۱: گروه شاهد.

تیمار ۲ : گروه حمام دائم عصاره الکلی ۰/۰۱ درصد.

تیمار ۳: گروه حمام دائم عصاره الکی ۰/۱ درصد.
تیمار ٤: گروه حمام دائم عصاره الکلی ۰/۵ درصد.
برای تهیه عصاره الکلی گیاه حنا، ابتدا حنا از خار و خاشاک جدا شده و در سایه خشک کرده سپس با آسیاب الکتریکی خرد و از الک شماره ۱۰ عبور داده شده، پودر حاصله ۱ به ۱ با الکل اتیلیک ۸۰ درجه مخلوط و سپس مقدار پودر وزن شده به نسبت ۵ به ۱ اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت پودر درون الکل باقی ماند. سپس به مدت ٤ ساعت درون شیکر مخلوط و سپس صاف گردید (٦).
خوراک مخصوص کپور معمولی خریداری شد و به عنوان جیره پایه در نظر گرفته شد، به منظور مخلوط نمودن یکنواخت محرک‌های ایمنی با خوراک ماهی، ابتدا خوراک ماهی با آب مقطر به صورت خمیر در آمد. میزان مورد نیاز از مکمل‌های غذایی برای ایجاد دوزهای مورد نظر با استفاده از دستگاه همزن برقی به صورت همگن با خوراک مخلوط گردید. سپس خوراک خمیری شکل مخلوط شده با عصاره با استفاده از چرخ گوشت با پنجره خروجی ۲ میلی-لیتری به صورت رشته‌ای شکل گرفته و بعد از رطوبت‌گیری، خوراک به دست آمده در ٤۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده و سپس در کیسه‌های نایلونی بسته بندی و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری گردید. ماهی‌های هر گروه با خوراک‌های مخصوص هر تیمار به مدت ۲۸ روز تغذیه گردیدند (٦) . غذادهی ۳ بار طی ۳ وعده، صبح ۱ وعده، ظهر ۱ وعده و عصر ۱ وعده در حد سیری و به میزان ۲ تا ۱ درصد وزن بدن انجام شد.
جهت بررسی شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان، بعد از پایان دوره، دو روز آخر بدون استفاده از هیچ گونه ماده بیهوشی (به دلیل اینکه ممکن است بر فاکتورهای خونی و همولیز شدن تأثیر داشته باشد.) سپری شد. سپس با وارد کردن ضربه به بدن ماهی آنها را بیهوش نموده و با استفاده از هپارین از انعقاد خون جلوگیری گردید. در این مرحله خون از ورید ساقه دمی ماهی جمع‌آوری و پس از پایان خون‌گیری و مرگ ماهی‌های مورد آزمایش فاکتورهای هماتولوژی از جمله شمارش کلی گلبول‌های قرمز، شمارش گلبول‌های سفید، شمارش تقریبی گلبول‌های سفید اندازه‌گیری شد.
گلبول‌های قرمز با استفاده از لام هماسیتومتر نئوبار اندازه‌گیری شدند. برای رقیق کردن نمونه از محلول رقیق کننده نات- هریک استفاده شد. برای شمارش ۰/۵ پیپت ملانژور قرمز خون کشیده شد و سپس تا درجه ۱۰۱ با نات- هریک رقیق گردید. سپس نمونه به لام نئوبار منتقل و شمارش گلبولی انجام می‌شود (۲٤).
اندیس‌های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های استاندارد موجود محاسبه گردد (۲٤).
MCV= تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)/۱۰× هماتوکریت (درصد)
MCHC = هماتوکریت (درصد)/ هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر) ×۱۰
MCH =تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون در میلی‌متر مکعب)/ هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر) × ۱۰
شمارش کلی گلبول‌های سفید به روش مستقیم و با رقیق کردن خون با محلول نات- هریک به نسبت ۱ به ۲۰۰ انجام شد. سپس نمونه به لام نئوبار منتقل و شمارش و از طریق فرمول زیر تعداد گلبول‌های سفید محاسبه گردید (۲٤).
۲۰۰ × (۱۰درصد + تعداد کل گلبول‌های سفید شمارش شده در ۹ مربع بزرگ) = تعداد کل گلبول-های سفید در میکرولیتر خون.

هموگلوبین (Hb) با روش استاندارد سیان‌مت هموگلوبین (به وسیله سانتریفوژ و اسپکتوفتومتر) انجام شد. پس از مخلوط نمودن ۰/۰۲ میلی‌لیتر خون با ۵ سی‌سی محلول تجاری درابکین (معرف سیان.میت هموگلوبین)، به مدت ۱۰ دقیقه به منظور رسوب ذرات هسته با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب نوری محلول در طول موج ٥٤٠ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه-گیری و میزان هموگلوبین بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد(۱۰).

حجم فشرده گلبولی یا PCV یا هماتوکریت با روش متداول یعنی با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از میکروسانتریفیوژ محاسبه شد (۱۰). در این تحقیق از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. برای آنالیز اطلاعات تحقیق از نرم‌افزار SPSS ویرایش ١٦ استفاده گردید. از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه برای بررسی تفاوت میانگین تیمارها استفاده گردید. همبستگی پیرسون برای تعیین همبستگی بین داده‌ها بکار برده شد.

نتایج

نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ الکلی حنا روی فاکتورهای خونی و شاخص های رشد در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در جدول ۱ نشان داده شده است. شاخص PCV در تیمارهای ۰/۰۱ ، ۰/۱ اختلاف معنی‌دار ندارد ($p >$ ۰/۰۵) اما هر دو با تیمارهای شاهد و ۰/۵ دارای اختلاف معنی‌دار هستند و نیز تیمارهای شاهد و ۰/۵ نیز دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p <$ ۰/۰۵). بیشترین مقدار این شاخص مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به تیمار ۰/۱ است.

شاخص HB در چهار تیمار دارای اختلاف معنی‌دار است ($p <$ ۰/۰۵). بیشترین میزان این شاخص مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به تیمار ۰/۵ است. شاخص WBC در دو تیمار ۰/۰۱ و ۰/۱ اختلاف معنی‌داری ندارد ($p >$ ۰/۰۵). اما هر دو تیمار با تیمارهای شاهد و ۰/۵ دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p <$ ۰/۰۵). و دو تیمار ۰/۵ و شاهد نیز با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p <$ ۰/۰۵). بیشترین میزان این شاخص مربوط به تیمار ۰/۰۱ و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد است.

شاخص RBC در ۳ تیمار ۰/۵، ۰/۱ و شاهد اختلاف معنی‌داری ندارد ($p <$ ۰/۰۵) و هر سه تیمار با تیمار ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p <$ ۰/۰۵) و بیشترین مقدار این شاخص در تیمار ۰/۱ و کمترین آن در تیمار ۰/۰۱ است.

در شاخص MCV بین ٤ تیمار اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p <$ ۰/۰۵). کمترین مقدار مربوط به تیمار ۰/۵ و بیشترین مقدار مربوط به تیمار شاهد است.

شاخص MCH در دو تیمار ۰/۱ و شاهد اختلاف معنی‌داری ندارد ($p >$ ۰/۰۵) اما هر دو تیمار با تیمار ۰/۵ و ۰/۰۱ دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p <$ ۰/۰۵) و دو تیمار ۰/۵ و ۰/۰۱ نیز با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p <$ ۰/۰۵). بیشترین میزان این شاخص مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به تیمارهای ۰/۵ است.

در شاخص MCHC بین دو تیمار ۰/۰۱ و ۰/۱ اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($p >$ ۰/۰۵) و همچنین بین دو تیمار ۰/۵ و شاهد نیز اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($p >$ ۰/۰۵). اما هر دو گروه دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر هستند ($p<$ ۰/۰۵). بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۰/۱ و کمترین مقدار مربوط به تیمار ۰/۵ است.

جدول-۱- نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی حنا روی فاکتورهای خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

شاخص‌های خونی	تیمار ۰/۰۱	تیمار ۰/۱	تیمار ۰/۵	شاهد
PCV	۳۰/۱۶±۱/۴۴*a*	۲۹/۷۵±۱/۲۶*a*	۳۲/۶۵±۲*b*	۳۷/۶۶±۲/۰۹*c*
HB	۶/۶۷±۰/۱۷*a*	۶/۲۴±۰/۱۱*b*	۵/۴۳±۰/۱۱*c*	۷/۱۴±۰/۱۳*d*
WBC	۳/۰۱±۰/۳۶*a*	۲/۷۹±۰/۳۷*a*	۲/۰۷±۰/۱۲*b*	۱/۶۵±۰/۱۳*c*
RBC	۱/۹۲±۰/۱۲*a*	۲/۲۱±۰/۱۸*b*	۲/۳۳±۰/۱۶*b*	۲/۲۲±۰/۱۸*b*
MCV	۱۵۸/۹۴±۶/۰۱*a*	۱۲۴/۳۸±۸/۶۲*b*	۱۲۹/۷۰±۸/۵۱*c*	۱۶۴/۰۱±۹/۷۲*d*
MCH	۳۶/۶۰±۲/۵۸*a*	۳۱/۵۵±۴/۵۲*b*	۲۳/۹۴±۴/۷۹*c*	۳۳/۱۵±۶/۴۷*b*
MCHC	۲۱/۲۱±۵/۱۰*a*	۲۱/۴۱±۵/۴۶*a*	۱۸/۴۹±۲/۱۸*b*	۱۹/۴۴±۶/۴۱*b*

حروف غیرمشابه به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

بحث

کپور یکی از ماهیان با ارزش و بسیار اقتصادی در ایران و جهان به شمار می‌آید و از این رو باید تلاش شود تا قدرت ایمنی این ماهی در برابر بیماری‌های متعدد بخصوص بیماری‌های ناشناخته بالاتر رود. به دلیل عدم کارایی مناسب واکسن‌های آبزیان و مشکلات متعدد موجود در زمینه استفاده از این نوع روش‌ها و برتری کارایی سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی نسبت به ایمنی اختصاصی پرورش‌دهندگان استفاده از محرک‌های گیاهی را ترجیح می‌دهند. در زیر نتایج این تحقیق در مورد اثر عصاره گیاه بر فاکتورهای رشدی و خونی مورد ارزیابی قرار گرفته است. در روز ۲۸ بالاترین میزان گلبول‌های سفید مربوط به تیمار ۰/۰۱ و به دنبال آن تیمار ۰/۱ است و در تیمار شاهد میزان گلبول‌های سفید کمترین مقدار را در میان سایر تیمارها نشان می‌دهد (p <۰/۰۵). می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از حنا به میزان ۰/۰۱ سبب بهبود شمار گلبول‌های سفید و بهبود ایمنی می‌شود.

بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) مربوط به تیمار ۰/۵ بدون اختلاف معنی‌دار با تیمار ۰/۱ و شاهد است (p >۰/۰۵). در مورد این شاخص تیمار ۰/۰۱ همانند شاخص هموگلوبین کمترین مقدار را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره حنا تاثیر معنی‌داری بر روی تعداد گلبول‌های قرمز خون ندارد. از طرفی میزان هماتوکریت (PCV) در شاهد مقادیر بالاتری را از تیمارهای ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۵ نشان می‌دهد. به این معنی که یک دوره استفاده از حنا سبب کاهش میزان هماتوکریت در مقایسه با گروه‌های شاهد می‌شود. و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار ۰/۱ بدون اختلاف معنی‌دار (p >۰/۰۵) با تیمار ۰/۰۱ است. در مورد هموگلوبین، در پایان دوره ۲۸ روزه تیمار شاهد بالاترین میزان هموگلوبین را دارا بود و به دنبال آن تیمار ۰/۰۱ با اختلاف معنی‌دار قرار داشت (p<۰/۰۵). کمترین میزان هموگلوبین در تیمار ۰/۵ مشاهده شد که نشان دهنده تاثیر نامطلوب حنا بر روی هموگلوبین است.

در مورد شاخص میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) در روز ۲۸، بالاترین میزان با اختلاف معنی-دار با سایر گروه‌ها مربوط به تیمار ۰/۰۱ بود در حالی که کمترین مقدار مربوط به تیمار ۰/۵ بود. مقدار این شاخص در شاهد از نظر عددی در رتبه دوم قرار دارد و نشان‌دهنده کارایی تیمار ۰/۰۱ در بهبود شاخص میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) است.

عصاره حنا در پایان دوره ۲۸ غلظت سبب بالا رفتن متوسط هموگلوبین گلبولی (MCHC) در تیمارها در مقایسه با شاهد می‌شود و در واقع بدون در نظر گرفتن اختلاف معنی‌دار شاهد فقط از تیمار ۰/۵ مقدار بالاتری را در مورد این شاخص نشان می‌دهد. که نشان دهنده تاثیر مطلوب این شاخص بر روی غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی است.

نتایج نشان می‌دهند که در پایان دوره ۲۸ روزه حجم متوسط گلبولی (MCV) کمترین مقدار را در تیمار ۰/۵ و بیشترین مقدار مربوط به تیمار شاهد دارد. تیمار ۰/۰۱ در رتبه دوم قرار دارد و دو تیمار ۰/۵ و ۰/۱ با فاصله زیاد در رتبه دوم قرار دارد که نشان دهنده تاثیر نامطلوب عصاره حنا بر روی حجم متوسط گلبولی است. نتایج بالا رو می‌توان به صورت زیر خلاصه کرد:

تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای تحت درمان با عصاره حنا ۰/۰۱ افزایش نشان می‌دهد. در مورد فاکتورهای مرتبط با اندیس‌های گلبول‌های قرمز، عصاره حنا سبب کاهش هماتوکریت، هموگلوبین و حجم متوسط گلبولی می‌شود یعنی ابعاد گلبول‌های قرمز کاهش می‌یابد اما غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی و میزان متوسط هموگلوبین گلبولی را بالا برده و سبب بالا رفتن کارایی انتقال اکسیژن توسط گلبول-های قرمز تحت تیمار حنا بخصوص در غلظت ۰/۰۱ می‌شود. احتمالاً حنا به سبب تاثیر در روند بلوغ گلبول‌های قرمز و میزان اشباع گلبول از هموگلوبین باعث افزایش MCHC گردیده است (۲٤). البته فاکتورهای خونی حیوانات خونسرد نظیر ماهی تحت تاثیر فاکتورهای مختلف مثل استرس، دما، فصل، تغذیه و.. قرار می‌گیرند و نمی‌توانند نشان دهنده دقیق سلامت و ایمنی ماهی باشند (۱۲).

میزان هموگلوبین و هماتوکریت تابعی از تغییرات گلبول‌های قرمز بوده و رابطه مستقیمی با آن دارد. افزایش غلظت متوسط هموگلوبین بر قابلیت انتقال گازهای تنفسی در خون، بازده قلب و افزایش وزن ماهی موثر است و عصاره استخراج شده از برگ گیاه حنا مانع از داسی شدن گلبول‌های قرمز شده و پیوستگی و قدرت حمل اکسیژن توسط هموگلوبین را بالا می‌برد (۹).

در مورد افزایش گلبول‌های سفید نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که متانول و هفت ترکیب دیگر موجود در برگ گیاه حنا از طریق القا تحریک لنفوسیت‌ها بخصوص لنفوسیت T سبب بالارفتن سطح گلبول‌های سفید و بهبود سیستم ایمنی می‌شود (۹) که تحقیق حاضر این موضوع را به نشان می‌دهد.

در غالب مطالعات صورت گرفته بر روی گیاه حنا، گیاه حنا یک گیاه باکتری‌کش و از بین برنده عفونت معرفی شده است و اغلب تمرکز اصلی بر روی این خاصیت حنا که عمدتاً ناشی از تاثیر ماده لاسون است قرار گرفته است و از طرفی مطالعات انجام شده در زمینه تاثیر عصاره حنا بر روی ماهی محدود و اغلب بر روی موجوداتی نظیر موش متمرکز شده است. اما نتایج منتشر شده تقریباً مشابه نتایج تحقیق حاضر است. Priya و همکاران در سال ۲۰۱۱، تاثیرات حنا را بر روی موش مورد بررسی قرار دادند (۱۸). نتایج آنها نشان داد هموگلوبین، RBC، PCV تحت تاثیر حنا کاهش نشان دادند اما در مورد گلبول‌های سفید افزایش مشاهده شد که مشابه یافته‌های این تحقیق است. Agabna و همکاران ۲۰۱٤ اثرات اتانول

استخراج شده از گیاه حنا را بر روی موش در دوره ۳۰ روزه مورد بررسی قرار دادند (۸). نتایج آنها نشان داد که گلبول‌های قرمز و سفید حداقل تاثیر را از حنا گرفته‌اند و در واقع نتایج آنها نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید در گروه تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش داشته است که مشابه نتایج تحقیق حاضر است. اما در مورد سایر پارامترها نظیر هماتوکیت، هموگلوبین هیچ تغییری مشاهد نشد.

تحقیقات Kaur و همکاران در سال ۲۰۱٤ با مطالعه عصاره حنا بر روی موش نشان دادند که تعداد گلبول-های سفید در اثر استفاده از حنا افزایش یافته است (۲۰۱٤) ولی تعداد گلبول‌های قرمز کاهش یافت که این موضوع توسط تغییرات هیستوپاتولوژی انجام شده بر روی موش‌های استفاده کننده تطابق داشت که مشابه یافته‌های موجود در این تحقیق بر روی کپور معمولی است.

در سایر تحقیقات در زمینه استفاده از گیاهان دارویی در بهبود سیستم ایمنی علیشاهی و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی اثرات لوافیرون به عنوان یک مکمل غذایی بهبوددهنده سیستم ایمنی و رشد در جیره غذایی ماهی کپور معمولی هیچ تغییر معنی‌داری در تعداد گلبول-های قرمز و میزان هموگلوبین، هماتوکریت مشاهده ننمودند (٦) اما در مورد تعداد گلبول‌های سفید افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد که نتایج آن در زمینه افزایش تعداد گلبول‌های سفید و عدم معنی‌داری در افزایش گلبول‌های قرمز مشابه نتایج تحقیق حاضر است.

Salaby و همکاران (۲۰۰٦) به بررسی اثر سیر به عنوان یک مکمل غذایی بهبود دهنده سیستم ایمنی بر روی ماهی تیلاپیا پرداختند و گزارش کردند (۲۱) که افزایش سیر در جیره غذایی سبب افزایش سطح گلبول‌های قرمز در این ماهی می‌گردد. که با نتایج این تحقیق که عصاره حنا سبب کاهش ابعاد گلبول‌های قرمز می شود مخالف است.

از طرفی Kumar jha و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثر مواد طبیعی محرک سیستم ایمنی شامل بتاکاروتن، مخمر RNA بر ماهی انگشت قد *Catla catla* این قبیل مواد محرک سیستم ایمنی را بر تغییرات شاخص‌های هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و مقدار آلبومین سرم بی‌اثر اعلام نمودند (۱۵) اما تعداد گلبول سفید افزایش معنی‌داری در تیمار ۸۰ درصد مخمر RNA نشان داد. که در مقام مقایسه با حنا به عنوان یک داروی محرک ایمنی در مورد تعداد گلبول‌های قرمز مشابه ولی در مورد هموگلوبین مخالف نتایج حنا است. اما در مورد گلبول‌های سفید نتایج مشابه است. از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که مواد محرک سیستم ایمنی لزوماً نمی‌توانند اثر معنی‌داری یا مثبتی بر شاخص‌های هماتولوژیک از جمله تعداد گلبول-های قرمز و میزان هموگلوبین و هماتوکریت داشته باشند.

نقش مهم سیستم ایمنی در حفظ سلامت آبزیان و تضمین بقا و رشد مناسب آنها در طول دوره پرورش، سبب شده تا محققین به استفاده از انواع ترکیبات شیمیایی و طبیعی محرک وتقویت کننده سیستم ایمنی تمایل نشان دهند. در دهه‌های گذشته مطالعات گسترده‌ای در ارتباط با استفاده از گیاهان دارویی در مقیاس آزمایشگاهی در تقویت سیستم ایمنی جانوران آزمایشگاهی صورت گرفته و نتایج بدست آمده از این تحقیقات نیز به خوبی مؤید نقش مثبت بسیاری از گیاهان دارویی از جمله حنا در تقویت سیستم ایمنی ماهی بخصوص در مورد گلبول‌های سفید می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه حنا دارویی طبیعی و غیرسمی و فاقد اثرات شدید است و با توجه به سایر مزیت‌های

آن از جمله ارزانی و در دسترس بودن آن می‌تواند به عنوان یک دارویی تقویت‌کننده سیستم ایمنی در ماهی بکار برده شود. اما در نتایج این تحقیق به خوبی دوز مطلوب را نشان نداد، هر چند غلظت ۰/۰۱ نسبت به سایر غلظت‌های مناسب‌تر به نظر می‌رسد اما از طرفی در بعضی از پارامترها نتایج منفی بوده و نشان دهنده تاثیر منفی حنا بر روی گلبول‌های قرمز است. از این رو نتیجه‌گیری نهایی نیاز به بررسی دقیق‌تر ترکیبات موثره و مکانیسم اثر آنها، و حتی بررسی سموم احتمالی آن بر فیزیولوژی بدن ماهی دارد.

منابع

۱. زرگری، ع. ۱۳۷۰. گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۸ صفحه.

۲. زمان، س. ۱۳۷۹. گیاهان دارویی. انتشارات ققنوس. ٤۲۰ صفحه.

۳. شفائی پور، آ.، ۱۳۸۵. بررسی اثرات جایگزینی کنجاله کانولا به جای آرد ماهی بر رشد لاشه *Onchorhynchus mykiss* و پارامترهای شیمیایی در قزل آلای رنگین کمان. پایان نامه دکتری تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات خوزستان.

٤. علیشاهی، م.، ۱۳۸۳. نقش محرک های ایمنی در آبزی پروری. مجله سازمان نظام پزشکی کشور، سال چهارم، شماره سوم، صفحات ۳۸-۳۳.

۵. علیشاهی،م.، ۱۳۸۸. (ترجمه). مقدمه ای بر ایمنی شناسایی آبزیان. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز. ٤۹۹ صفحه.

٦. علیشاهی، م.، سلطانی،م.، مصباح، م.، زرگر، ا.، ۱۳۹۱. اثرات تحریک ایمنی و رشد لوافیرول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی بر کپور معمولی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ٦۷، شماره ۲، صفحات ۱٤۲-۱۳۵.

۷. گازرانی فراهانی، م. ۱۳۸۸. بررسی برخی فاکتورهای هماتولوژیک در بعضی از ماهیان خانواده *Acipenseridae*. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری، سال دوم، شماره دوم، صفحات ٦۱-۵۷.

8. Agabna N.M.E., Ahaddad S.A.I., Mudathi A.K., 2014. Safety of *Lawsonia inermis* ethanolic seeds extract. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 4(4): 303-309.

9. Chang H., Suzuka S.E., 1982. Lawsone (2-OH-1, 4- napthoquinone) derived from the henna plant increases the oxygen affinity of sickle cell blood. Bio-Chem. *Biophysology Research Community*, 107: 602-608.

10. Feldman F., Zinkl G., Jain C., 2000. Schalms veterinary hematology. 5thed. Lippinott Williams and Wilkins, USA. 11240p.

11. Gopalakannan A., Arul V., 2006. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture*, 255: 179-187.

12. Iwama G., Nakanishi T., 1996. The fish immune system. Academic Press, London. Chapter3: innate immunity in fish.116 p.

13. Jian J., Wu Z., 2003. Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson). *Aquaculture*, 218: 1-9.

14. Kaur M., Dangi C.B.S., Singhai M., Kosta S., Singh H., Peter J., Jain S., 2014. Toxicity profile of ethanol extract of *Lawasonia inermis* leaves in Albino wistar rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(5): 835-848.

15. Kumar J.H.A., Pal A., Sahu A.K., Kumar N.P., Mukherjee S.C., 2007. Haemato-immunological responses to dietary yeast RNA-3 fattty acid and

carotene in *Catl catla* juveniles. *Fish Shell Fish Immunology*, 23: 917-918.

16. Malekzadeh F., 1986. Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* L. *Applied Microbiology*, 16(4): 664-663.

17. Peddie S., Zou J. Secombes C.J., 2002. Immunostimulation in the rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss*) following intraperitoneal administration of Ergosan. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 86: 101-113.

18. Priya R., Ilavenil S., Kaleeswaran B., Srigopalram S., Ravikumar S., 2011. Effect of *Lawsonia inermis* on tumor expression induced by Dalton's lymphoma ascites in Swiss albino mice. *Saudi Journal Biology Science*, 18(4): 353-359.

19. Raa J., 1996. The use of immuno-stimulatory substances in fish and shellfish farming. *Review of Fish Sscience*, 4: 229-288.

20. Sakai M., 1999. Current research status of fish immune stimulants. *Aquaculture*, 172: 63-92.

21. Salaby S., Das B.K., Pradhan I., Mohapatra B.C., Mishra B.K., Sarangi N., 2006. Effect of Magnifera Indic Kernelasa feed additive on imunity and resistance to *Aeromoas hydrophila* in *Labeo rohita* finger lings. *Fish Shell and Fish Immunology*, 23: 109-118.

22. Sharma V.K., 1990. Tuber culostatic activity of henna *Lawsonia innermis* Linn. *Tubercle*, 71(4): 293-296.

23. Tacon A.G.J., 2005. Global trends in aquaculture and aqua feed production 1984-1985. *International Aqua Feed Directory*, 1997-1980.

24. Thrall A., 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry. *Lippinott Williams and Wilkins*, 241: 277-288.