

تأثیر عصاره‌ی الکلی یونجه (*Medicago sativa*) بر عملکرد رشد، مصرف غذا، ترکیب بدن و برخی از فراسنجه‌های سرمی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

زینب نجفی^۱، حسین اورجی^{*}، سکینه یگانه^۱، عبدالصمد کرامت^۱
hoseinoraji@yahoo.com

۱- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثرات عصاره‌ی الکلی یونجه (*Medicago sativa*) بر عملکرد رشد، مصرف غذا، ترکیب بدن و برخی از فراسنجه‌های سرمی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام شد. در این راستا تعداد ۲۴۰ عدد بچه ماهی با میانگین وزن $8/36 \pm 0/2$ گرم در حوضچه‌های پلاستیکی ۱۰۰ لیتری در ۴ تیمار غذایی به ترتیب شامل، صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد عصاره در کیلوگرم جیره با سه تکرار به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره پرورش انجام شد. نتایج فاکتورهای رشد (وزن نهایی، شاخص رشد ویژه و رشد روزانه) و کارایی تغذیه (ضریب تبدیل غذا و کارایی پروتئین) در انتهای دوره پرورش نشان داد، تیمارهای تغذیه شده با غذای حاوی ۱ درصد عصاره‌ی الکلی یونجه نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی داری بهبود یافته بود ($p < 0/05$). همچنین افزایش مقدار چربی لاشه در تیمار ۱ درصد عصاره مشاهده شد، ضمن اینکه اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد ملاحظه گردید ($p < 0/05$). بررسی فراسنجه‌های سرمی نشان داد، بین ماهیان تغذیه شده با عصاره‌ی الکلی یونجه و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$) بطوریکه کمترین مقدار کلسترول و تری‌گلیسرید و بیشترین سطح پروتئین در گروه ۱/۵ درصد عصاره مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار گلوکز را تیمار شاهد به خود اختصاص داد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان اذعان نمود، افزودن عصاره الکلی یونجه به میزان ۱ تا حداکثر ۱/۵ درصد جیره، می‌تواند عملکرد رشد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، عصاره الکلی یونجه، عملکرد رشد، فراسنجه‌های سرمی

* نویسنده مسئول

مقدمه

امروزه آبزیان به عنوان یک منبع ارزشمند از پروتئین و چربی باکیفیت بالا در رژیم غذایی انسان جایگاه ویژه‌ای دارند. رشد روز افزون جمعیت جهان، تأمین غذا را به یکی از مهمترین دغدغه‌های دولت‌ها، مبدل ساخته است. یکی از راه‌های تأمین غذای سالم و با کیفیت، پرورش ماهی از جمله ماهی‌های سردآبی نظیر قزل‌آلای رنگین-کمان (*O. mykiss*) است. این ماهی یک گونه با ارزش اقتصادی است که تلاش‌های زیادی برای بهبود شاخص‌های رشد و افزایش قدرت ایمنی آن انجام شده است. امروزه استفاده از تولیدات گیاهی در جیره غذایی آبزیان به دلیل در دسترس بودن و قیمت مناسب مورد توجه قرار گرفته است، افزودنی‌های گیاهی می‌توانند با تأثیر بر شاخص‌هایی نظیر قابلیت هضم و مصرف غذا، میزان رشد در آبزیان را تحت تأثیر قرار دهند. افزودنی‌های گیاهی دارای عملکردهای آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد باکتری و تأثیرات زیستی سازنده می‌باشند (Gabor *et al.*, 2012). یکی از گیاهانی که دارای سابقه‌ای طولانی در استفاده‌های غذایی و دارویی در طب سنتی است، گیاه یونجه با نام علمی (*M. sativa*) و نام عمومی (*alfalfa*) می‌باشد که در افزایش اشتها، هضم غذا و بهبود سوء تغذیه مؤثر است (Malekinezhad *et al.*, 2012). بر اساس مطالعات انجام شده استفاده از گیاه یونجه در آبزیان موفقیت آمیز بوده است. گیاه یونجه از قدیم به علت اثرات سریع در درمان بیماران مبتلا به کمبود ویتامین C و افزایش سرعت التیام بافتی استفاده شده است (Khayat-zadeh *et al.*, 2009). یونجه دارای ترکیبات فعالی مثل ساپونین، آهن، روی، فلاونوئیدها و تانن می‌باشد (Rechulicz *et al.*, 2014). ساپونین موجود در گیاه یونجه، ماده فعالی با خواص زیستی و دارویی منحصر به فرد است. از جمله خواص آن عملکرد آنتی‌اکسیدانی، تمیزکننده رادیکال‌های آزاد و ترویج متابولیسم چربی می‌باشد (Sun *et al.*, 2013). استفاده از یونجه در جیره غذایی ماهی، فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و پروتئاز را در روده افزایش می‌دهد و سبب افزایش فرآیند گوارش و بهبود

جذب مواد غذایی از روده می‌شود (Zheng *et al.*, 2009). یونجه به دلیل داشتن منگنز باعث کاهش سطح گلوکز خون می‌شود و همچنین مواد مؤثره موجود در عصاره گیاه یونجه موجب کاهش استئاتوز کبدی از طریق اثر گذاری برژن‌های دخیل در متابولیسم کلسترول می‌شود. از جمله این اثرات تنظیم افزایشی گیرنده LDR، گیرنده-های نوع X کبدی نوع a (LXRa) است و استفاده از آن در ضایعات کبدی به عنوان یک عامل محافظ کبد مطرح شده است (Liang *et al.*, 2015). در طب چینی از برگ یونجه برای درمان اختلالات گوارشی استفاده می‌شود. یونجه دارای مواد مغذی فلاونوئید و کاروتنوئید می‌باشد، فلاونوئیدها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌تواند از رسوب کلسترول در شریان‌ها جلوگیری کند (Hongmey *et al.*, 2016). به طور کلی مواد مغذی موجود در گیاه یونجه موجب کاهش سطح کلسترول خون شده و شاخص‌های خونی را بهبود می‌بخشد (Gawel & Gerzlak., 2012). با توجه به خواص و ترکیبات ارزشمند گیاه یونجه، این پژوهش به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف عصاره‌ی الکلی یونجه بر رشد، ترکیب بدن و برخی از شاخص‌های سرمی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) انجام گرفت.

مواد و روش کار

تهیه‌ی عصاره‌ی گیاه یونجه

گیاه یونجه به میزان مورد نظر از مزارع کشاورزی تهیه و پس از جداسازی برگ و جوانه‌ها از ساقه، در دمای اتاق به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس با دستگاه آسیاب برقی کاملاً خرد شد و پس از عبور دادن از الک (۰/۵ میکرون) جهت تهیه عصاره الکلی استفاده شد. به منظور عصاره‌گیری، پودر حاصل به نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی/حجمی) با اتانول ۹۶ درصد مخلوط شد و مخلوط حاصل در ارلن که با فویل آلومینیوم پوشیده شده بود، به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه روی دستگاه هات‌پلت در دمای اتاق نگهداری و کاملاً مخلوط شد و سپس به وسیله‌ی کاغذ صافی واتمن و با کمک قیف بوختر صاف گردید و مایع بدست آمده در

و کارایی غذا از قبیل افزایش وزن (WG)، درصد افزایش وزن (IBW)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نرخ رشد روزانه (GR) و کارایی پروتئین (PER) با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شدند (عادل و همکاران، ۱۳۹۴).

$$WG = W2 - W1$$

$$IBW = (W2 - W1 / W1) \times 100$$

$$SGR = (\ln w2 - \ln w1 / t) \times 100$$

$$FCR = F / WG$$

$$GR = W2 - W1 / t$$

$$PER = WG / Pr$$

W1=وزن اولیه، W2=وزن ثانویه، t=طول دوره پرورش،

F=غذای مصرفی، Pr=پروتئین مصرفی)

آنالیز بیوشیمیایی جیره و لاشه: آنالیز بیوشیمیایی میزان چربی خام، پروتئین خام، رطوبت و خاکستر موجود در بدن با استفاده از روش کار استاندارد صورت گرفت (AOAC, 2000). بدین منظور از هر تکرار ۳ عدد ماهی به طور تصادفی انتخاب و نسبت به آنالیز لاشه اقدام شد. اندازه‌گیری مقادیر پروتئین باروش کج‌دال و چربی از طریق سوکسله و حلال اتر انجام شد. تعیین رطوبت از طریق قرار دادن نمونه‌ها در آون با دمای ۱۰۵ درجه‌ی سانتیگراد و توزین آن پس از خشک شدن در دسیکاتور صورت پذیرفت. اندازه‌گیری خاکستر نمونه‌ها، با سوزاندن نمونه‌ها در کوره با دمای ۵۵۰ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۵ ساعت و توزین آنها انجام گرفت.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های سرمی: در پایان دوره‌ی پرورش، تعداد ۴ عدد ماهی ۴۵ تا ۵۵ گرمی از هر تکرار به طور تصادفی جهت خونگیری و سنجش پارامترهای خونی انتخاب گردیدند. ماهیان ابتدا با پودر گل میخک بیهوش (۱۵۰ میلی گرم به ازای هر لیتر آب) و خونگیری از ساقه-ی دمی توسط سرنگ ۲/۵ سی سی انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد خون قرار گرفتند و پس از تشکیل لخته، سرم خون با استفاده از سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch آلمان) با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد، توسط سمپلر از لخته جدا شد و در

روتاری در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، تا الکل آن تقطیر و از آن جدا گردد و عصاره گیاه تا حد امکان تغلیظ شود. عصاره تغلیظ شده تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Zargari, 2001). ماهیان و شرایط پرورش: برای انجام این تحقیق تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن $1/2 \pm 8/36$ گرم، از یک مرکز تکثیر و پرورش خصوصی ماهیان سرد آبی خریداری و به محل انجام آزمایش منتقل گردید. ماهیان در وان‌های ۱۰۰ لیتری با جریان آب ۳ لیتر در دقیقه به مدت ۱۰ روز با محیط و شرایط جدید آداپته شدند. بچه‌ماهیان (۲۰ قطعه ماهی در هر تکرار) بصورت تصادفی تحت ۴ تیمار صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد عصاره در کیلوگرم جیره با سه تکرار قرار گرفتند. به منظور تولید غذای حاوی درصد‌های مختلف عصاره‌ی الکی یونجه از پلت تجاری شرکت سیمیکاران (کمپانی آلر دانمارک) محتوی ۴۵ درصد پروتئین، ۱۶ درصد چربی، ۱۰ درصد خاکستر و ۱۰ درصد رطوبت با سایز ۲/۵ میلی متر استفاده گردید. عصاره‌ی الکی یونجه ابتدا در روغن آفتابگردان به نسبت ۱ به ۳ (وزنی-وزنی) حل و همگن شد. سپس مقادیر ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره‌ی الکی به هر کیلوگرم جیره غذایی به روش اسپری اضافه گردید. جیره‌های غذایی به صورت هفتگی آماده سازی و در ظروف درب دار ریخته شد و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد. ماهیان بطور مرتب ۳ بار در روز (صبح، ظهر، عصر) به میزان سیری با جیره‌های مورد نظر تغذیه شدند. در طول دوره‌ی پرورش فاکتورهای کیفی آب شامل دما به صورت روزانه، اکسیژن و pH به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد؛ به طوری که میانگین‌های درجه حرارت آب 16 ± 1 سانتی‌گراد، اکسیژن محلول $7/9 \pm 0/2$ و pH معادل $7/5 \pm 0/5$ تعیین گردید. شاخص‌های رشد: در طول ۶۰ روز دوره‌ی پرورش هر ۲۰ روز یک بار زیست‌سنجی ماهیان انجام شد، در پایان دوره پرورش ماهیان با استفاده از پودر گل میخک به میزان ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر لیتر آب بیهوش شدند و به طور انفرادی توزین و شاخص‌های رشد

حاوی عصاره‌ی الکلی یونجه پس از ۶۰ روز دو ماه در جدول شماره ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج موجود، بیشترین میزان وزن نهایی در تیمار ۱ درصد عصاره و کمترین میزان در تیمار ۱/۵ درصد عصاره مشاهده شد. ضمن اینکه اختلاف معنی‌دار آماری نیز در بین این تیمارها (به جزء تیمار ۰/۵ درصد) با گروه شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). در این مطالعه مقادیر WG ، SGR ، PER ، IBW و GR در تیمار ۱ درصد عصاره‌ی یونجه از بیشترین مقدار برخوردار بوده و کمترین مقدار هر یک از شاخص‌های مذکور در تیمار ۱/۵ درصد عصاره مشاهده گردید، بطوریکه اختلاف معنی‌داری آماری بین تیمارهای فوق الذکر با تیمار شاهد ملاحظه گردید ($p < 0.05$). همچنین کمترین و بیشترین FCR به ترتیب مربوط به تیمار ۱ و ۱/۵ درصد عصاره بود که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و ۰/۵ درصد عصاره نشان دادند ($p < 0.05$).

میکروتیوپ های جداگانه قرار گرفت. نمونه های سرم جداسازی شده تا زمان اندازه گیری فراسنجه های سرمی در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. اندازه گیری پروتئین تام از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۲)، گلوکز بر اساس روش تریندر (Trinder, 1969)، تری گلیسرید و کلسترول بر اساس روش زویی و فلینی (Zoppi & Fellini, 1976) انجام شدند. تجزیه و تحلیل داده ها: این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. به منظور بررسی توزیع نرمال داده ها در تیمارهای مورد مطالعه از آزمون Kolmogorov-smirnov استفاده شد. تجزیه تحلیل داده های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و از آزمون واریانس یک طرفه (One way ANOVA) استفاده گردید.

نتایج

بر اساس نتایج به دست آمده، مقادیر شاخص های رشد قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف غذایی

جدول ۱: بررسی شاخص های رشد قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف عصاره الکلی گیاه یونجه

Table 1: Growth performance of rainbow trout fed diets containing different levels of alfalfa (*Medicago sativa*) alcoholic extract

شاخص/عصاره	شاهد	۰/۵٪	۱٪	۱/۵٪
وزن اولیه (گرم)	۸/۲۵±۰/۱۶ ^{ab}	۸/۳۳±۰/۱۵ ^a	۸/۵۱±۰/۱۱ ^a	۸/۳۶±۰/۱۵ ^a
وزن نهایی (گرم)	۴۸/۶۲±۱/۳ ^b	۵۰/۲۰±۱/۳ ^b	۵۷/۵۴±۱/۶ ^c	۴۳/۷۱±۰/۸ ^a
افزایش وزن (گرم)	۴۰/۳۶±۱/۰۹ ^b	۴۱/۸۶±۱/۲۶ ^b	۴۹/۰۳±۱/۵۳ ^c	۳۵/۳۵±۰/۹۸ ^a
درصدافزایش وزن (درصد)	۴۶۹/۱۱±۱۰/۶۴ ^b	۵۰۲/۳۵±۲۱/۱۹ ^b	۵۷۶/۱۸±۱۴/۶۲ ^c	۴۲۲/۹۴±۱۹/۳۸ ^a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰۳±۰/۰۵ ^b	۱/۰۳±۰/۰۱ ^b	۰/۹۵±۰/۰۴ ^a	۱/۱۰±۰/۰۱ ^c
نرخ رشد ویژه (%/day)	۳/۱۰±۰/۰۳ ^b	۳/۱۴±۰/۰۶ ^b	۳/۳۴±۰/۰۳ ^c	۲/۸۹±۰/۰۶ ^a
نرخ رشد روزانه	۰/۷۰±۰/۰۲ ^b	۰/۷۳±۰/۰۲ ^b	۰/۸۵±۰/۰۳ ^c	۰/۶۱±۰/۰۱ ^a
کارایی پروتئین	۲/۲۱±۰/۰۲ ^b	۲/۱۸±۰/۰۴ ^{ab}	۲/۴۰±۰/۱ ^c	۲/۰۶±۰/۰۱ ^a

* میانگین (± انحراف معیار)، حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها است ($p < 0.05$).

عصاره در جیره غذایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان افزایش مقدار چربی لاشه مشاهده شد، بطوریکه میزان چربی لاشه ها در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۱ درصد عصاره الکلی

همچنین، در این بررسی بیشترین میزان پروتئین لاشه در تیمار ۱ درصد عصاره‌ی یونجه بود که تفاوت معنی داری با گروه شاهد نداشت ($p > 0.05$)، ضمناً با افزایش سطح

۱ درصد عصاره و بیشترین مربوط به ۱/۵ درصد عصاره‌ی الکلی یونجه بوده است، به طوری که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0.05$)؛ جدول ۳).

بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بالاتر بودند ($p < 0.05$). این در حالیست که مقدار خاکستر تیمارها نسبت به گروه شاهد کاهش داشت و فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بود ($p > 0.05$). کمترین میزان رطوبت در تیمار

جدول ۲: آنالیز ترکیبات لاشه‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف عصاره‌ی الکلی یونجه

Table 2: Proximate composition of rainbow trout carcass fed diets containing different levels of alfalfa (*Medicago sativa*) alcoholic extract

شاخص (درصد)/عصاره	شاهد	۰/۵٪	۱٪	۱/۵٪
پروتئین	۱۶/۴۳±۰/۲۳ ^{a*}	۱۷/۲±۰/۵۶ ^a	۱۷/۴۲±۰/۷ ^a	۱۶/۷۴±۰/۲۱ ^a
چربی	۸/۶۷±۰/۳۶ ^a	۹/۱۲±۰/۶۵ ^{ab}	۹/۸۵±۰/۲۶ ^b	۸/۷۱±۰/۴۹ ^{ab}
خاکستر	۱/۸±۰/۱۱ ^a	۱/۵۶±۰/۰۶ ^a	۱/۶۹±۰/۱۹ ^a	۱/۶۸±۰/۱۱ ^a
رطوبت	۶۸/۳۳±۱/۱ ^{ab}	۶۸/۳۳±۰/۵۷ ^{ab}	۶۷/۳۳±۰/۵۷ ^a	۶۹/۳۳±۰/۵۷ ^b

* (میانگین ± انحراف معیار)، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0.05$).

نتایج حاصل از بررسی فراسنجه‌های سرمی در جدول شماره‌ی ۴ آمده است. با توجه به نتایج، میزان پروتئین کل سرم در تیمارهای تغذیه شده با عصاره یونجه بیشتر از گروه شاهد بود. تیمار حاوی ۱/۵ درصد عصاره دارای بیشترین میزان پروتئین بود به طوری که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0.05$) و فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد عصاره یونجه بود ($p > 0.05$). تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری با هم و با تیمارهای دیگر نشان ندادند

کمترین میزان گلوکز در گروه ۰/۵ درصد عصاره مشاهده شد که اختلاف آماری معنی‌داری با گروه شاهد و سایر تیمارهای دارویی داشت. افزودن عصاره یونجه به جیره‌ی غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان موجب کاهش معنی‌دار تری‌گلیسرید و کلسترول خون تیمارها نسبت به شاهد گردید ($p < 0.05$)، به طوری که کمترین میزان تری‌گلیسرید و کلسترول در تیمار ۱/۵ درصد عصاره مشاهده شد.

جدول ۳: شاخص‌های سرمی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف عصاره الکلی گیاه یونجه

Table 3: Biochemical parameters of rainbow trout fed diets containing different levels of alfalfa (*Medicago sativa*) alcoholic extract

شاخص/عصاره	شاهد	۰/۵٪	۱٪	۱/۵٪
پروتئین (g/dl)	۳/۶۱±۰/۰۹ ^{a*}	۳/۶۳±۰/۰۸ ^{ab}	۳/۷۳±۰/۰۲ ^{ab}	۳/۸۰±۰/۰۲ ^b
گلوکز (mg/dl)	۷۰/۵۰±۰/۷۰ ^b	۶۳/۰۰±۲/۸۲ ^a	۶۶/۰۰±۱/۴۱ ^{ab}	۷۰/۰۰±۱/۴ ^b
کلسترول (mg/dl)	۴۷۷/۰۰±۲/۸۲ ^c	۴۷۰/۰۰±۲/۸۲ ^b	۴۶۳/۵۰±۲/۱۲ ^{bc}	۴۵۹/۵۰±۲/۱۲ ^a
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۴۳۴/۵۰±۹/۱۹ ^d	۳۳۳/۵۰±۱۲/۰۲ ^c	۲۹۱/۰۰±۲/۸۲ ^b	۲۳۸/۵۰±۱۶/۲۶ ^a

* میانگین (± انحراف معیار)، حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0.05$).

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، تقریباً تمام فاکتورهای رشد مورد بررسی تحت تأثیر عصاره‌ی الکلی یونجه قرار گرفتند. با افزایش میزان عصاره تا سطح ۱ درصد، فاکتورهای رشد بهبود داشتند که این نتایج با پژوهش محمدی و همکاران (۱۳۹۳) مطابقت دارد. به طوری که آنها دریافتند که افزودن عصاره‌ی گیاه اسفرزه تا سطح ۱ درصد به جیره‌ی غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان اختلاف معنی‌داری در میزان شاخص‌های رشد ایجاد کرد (p < ۰/۰۵). در تحقیقی دیگر توسط Wang و همکاران (۲۰۱۱)، مشخص گردید که کاربرد سطوح ۰/۱ و ۱ درصد عصاره آلونهورا در غذای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اثر مثبتی بر عملکرد رشد این ماهی داشته است. در این مطالعه میزان شاخص‌های رشد در تیمار ۱/۵ درصد عصاره‌ی الکلی یونجه نسبت به گروه شاهد کاهش داشت به طوری که، وزن نهایی، افزایش وزن، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد (p < ۰/۰۵). نتایج مطالعات Ali و همکاران (۲۰۰۳)، در خصوص اثر سطوح مختلف پودر یونجه بر رشد و ترکیب بدن ماهی تیلپای نیل نشان داد، که افزایش سطح یونجه در غذای ماهی تیلپای منجر به کاهش کارایی رشد و افزایش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با تیمار شاهد شد (p < ۰/۰۵). این تأثیر منفی را به میزان بالای فیبر خام، بازدارنده‌های پروتئازی و تانن موجود در گیاه یونجه نسبت داده اند (Liener, 1990). بر اساس مطالعه‌ی Soto و همکاران (۱۹۶۰)، علت کاهش رشد در سطوحی خاص را می‌توان به وجود برخی بازدارنده‌ها مثل تریپسین نسبت داد. از دلایل استفاده از گیاه یونجه تا سطح معینی در تغذیه آبزیان به عنوان ماده اشتها آور و تحریک کننده رشد، وجود سیستم چندگانه پروتئینی و اسیدهای آمینه می‌باشد (Fiorentini & Galoppini, 1981). اثر افزایش دهندگی رشد با استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان مکمل غذایی، به غلظت مناسب عصاره، ترکیب رژیم غذایی ماهی و مدیریت پرورشی بستگی دارد (Barreto et al., 2008). ترکیب شیمیایی بدن از جمله شاخص‌های مهم جهت بررسی شرایط فیزیولوژیک ماهی است که تحت تأثیر ترکیب جیره غذایی، درصد و مقدار غذادهی روزانه و گونه‌ی ماهی

قرار دارد (Gawlicka et al., 2002). در تحقیق حاضر طبق نتایج بدست آمده در جدول شماره ۳، میزان پروتئین لاشه در سطوح ۰/۵ و ۱ درصد عصاره افزایش یافت؛ اما اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (p > ۰/۰۵). بیشترین مقدار چربی لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطح ۱ درصد عصاره الکلی یونجه بود که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد بود. (p < ۰/۰۵). نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه‌ی فلامرزی و همکاران (۱۳۹۵)، در خصوص تأثیر پودر و عصاره‌ی الکلی یونجه بر عملکرد رشد و بیوشیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی، همسو می‌باشد. این افزایش میزان چربی لاشه ماهی‌ها را به حضور انواع اسیدهای چرب اشباع، اسید دکانویک و اسید پالمیتیک نسبت داده اند که نقش مهمی در تشکیل چربی‌های غشای سلولی دارند. Ali و همکاران (۲۰۰۳)، گزارش کرده اند که استفاده از پودر یونجه در تغذیه ماهی تیلپای تأثیری بر میزان پروتئین و چربی لاشه ندارد. در مقدار خاکستر نیز بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (p > ۰/۰۵). همچنین، تیمار ۱ درصد عصاره که بیشترین میزان چربی را نشان داده بود، کمترین میزان رطوبت را داشت. میزان رطوبت و چربی در بدن ماهیان دارای رابطه‌ی عکس می‌باشد. آزمایشات اجزاء سرم خون به عنوان ابزاری مناسب به منظور تشخیص اختلالات متابولیکی، ارزیابی وضعیت سلامتی ماهی، ارزیابی وضعیت تغذیه و تأثیر مواد افزودنی به غذای ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه میزان پروتئین کل سرم تحت تأثیر عصاره یونجه قرار گرفت و بیشترین مقدار آن در گروه ۱/۵ درصد یونجه مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی دار داشت (p < ۰/۰۵). فلامرزی و همکاران (۱۳۹۵)، نتایج مشابهی را در استفاده از مکمل گیاهی یونجه بر جیره غذایی ماهی کپور معمولی بدست آوردند. عادل و همکاران (۱۳۹۴)، گزارش نمودند که استفاده از عصاره نعنای فلفلی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب افزایش معنی‌دار سطوح پروتئین سرم می‌شود. گلوکز خون شدیداً تحت تأثیر استرس‌های محیطی مانند وضعیت تغذیه، تغییرات فصل و دستکاری قرار دارد (Prasad & Charles, 2010). در مطالعه‌ی حاضر کمترین میزان گلوکز در تیمار ۰/۵ درصد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با همه‌ی

فلامرزی، ز.، ذاکری، م.، موسوی، م. و زنگویی، ن.، ۱۳۹۵. اثرات سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه بر عملکرد رشد، تغذیه، بیوشیمیایی لاشه و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خونی ماهی کپور معمولی. مجله منابع طبیعی ایران، ۶۹(۲): ۲۵۱-۲۳۵.

محمدی، م.، علیشاهی، م.، آمون، آ.، جهان تیغ، ر.، ظریف جو، م.، و دهدار، ه.، ۱۳۹۳. تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه اسفرزه (*Plantago ovata*) بر پارامترهای رشد، کبد و طحال بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی- پژوهشی زیست‌شناسی جانوری، ۲(۴): ۴۱-۳۱.

عادل، م.، پورغلام، ر.، ذریه زهرا، س.ج. و قیاسی، م.، ۱۳۹۴. تأثیر سطوح مختلف عصاره نعنای فلفلی بر برخی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۱): ۳۷-۴۷.

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. (17ed.) Gaithersburg, Maryland, USA. DOI: 10.12691/ajfn-3-4-2

Akiba, Y. and Matsumoto, T., 1982. Effects of dietary fibers on lipid metabolism in liver and adipose tissue in chicks. Journal of Nutrition, 112: 1577-1585. DOI: 10.1093/jn/112.8.1577

Ali, A., Al-Asgah, N.A., Al-Ogaily and Ali, S., 2003. Effect of different feeding levels of alfalfa meal on the growth performance and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Asian Fisheries Science, 16: 59-67.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R. and Rafei, G.R., 2011. Effects of

تیمارها به جزء تیمار ۱٪ داشت ($p < 0.05$). Banaee و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش کردند استفاده از مکمل گیاهی خارمریم در جیره‌ی غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب کاهش گلوکز می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر فلامرزی و همکاران (۱۳۹۵)، گزارش نمودند که استفاده از مکمل گیاهی یونجه در تغذیه ماهی کپور معمولی سبب افزایش میزان گلوکز شد. نتایج متفاوت احتمالاً به علت متفاوت بودن گونه پرورشی و شرایط متفاوت پرورش می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد که استفاده از سطوح مختلف عصاره الکلی یونجه منجر به کاهش مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید در سرم خون ماهیان مورد مطالعه گردید که این نتیجه با مطالعات Mansoub و Myandoab (۲۰۱۲)، فلامرزی و همکاران (۱۳۹۵)، ایمان پور و همکاران (۱۳۹۴)، مطابقت دارد. وجود ترکیباتی نظیر کارواکرول و تیمول در گیاهان از دلایل کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون می‌باشد. (Akiba & Matsumoto, 1982). Zargari (۲۰۰۱)، در مطالعه‌ای بیان کرد که این ترکیبات موجب کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید در خون می‌شوند. از نتایج این یونجه به ویژه در سطح ۱ درصد می‌تواند نقش بسزایی را در افزایش اشتها، میزان رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی ماهی ایجاد کند. همچنین، با توجه به تأثیر مثبت بر سطوح پروتئین کل سرم و کاهش مقادیر کلسترول و تری‌گلیسرید، عصاره الکلی یونجه می‌تواند به عنوان یک ماده افزودنی در جیره‌ی غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان قرار گیرد.

منابع

ایمان پور، م.، سلاقی، ز.، روحی، ز.، بیک‌زاده، آ. و داودی پور، ع.، ۱۳۹۴. اثر مکمل گیاهی سنگروویت بر رشد، پارامترهای بیوشیمیایی خون، بازماندگی و مقاومت در مقابل تنش شوری بچه‌ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus Carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۳): ۲۲-۱۳.

- longterm silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 37: 885-896. DOI: 10.1007/s10695-011-9486-z
- Barreto, M.S.R., Menten, J.F.M., Racanicci, A.M.C., Pereira, P.W.Z. and Rizzo, P.V., 2008.** Plant extracts used as growth promoters in broilers. *Brazilian Journal Poultry Science*, 10: 109-115. DOI: DOI: 10.1590/S1516-635X2008000200006
- Fiorentini, R. and Galoppini, C., 1981.** Pilot plant production of an edible alfalfa protein concentrate. *Journal of Food Science*, 46: 1514-1517. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1981.tb04209.x
- Gabor, E.F., Ichim, O. and Suteu, M., 2012.** Phyto-additives in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) nutrition. *Biharean Biologist*, 6 (2): 134-139.
- Gawlicka, A., Herold, M. A., Barrows, F. T., De La Noue, J. and Hung, S. S.O., 2002.** Effects of dietary lipids on growth, fattyacid composition, intestinal absorptionand hepatic storage in white sturgeon (*Acipenser transmontannus*) larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 673-681. DOI: 10.1046/j.1439-0426.2002.00371.x
- Gawel, E., Grzelak, M., 2012.** The effect of a protein-xanthophyll concentrate from alfalfa (phytobiotic) on animal production – a current review. *Annals of Animal Sciences*, 12(3): 281–289. DOI: 10.2478/v10220-012-0023-5
- Hongmey, S., Minxia, W., Xidong, M., Chao, L. and Yinchang, H., 2016.** Efficacy of Alfalfa Saponins on promoting Pigmentation by Astaxanthin in Blood Parrot Fish. *The Journal of Aquaculture*, 1274: 10-16.
- Khayatzadeh, J., Rafiei, H. and Farhoodi, M., 2009.** The wound healing effect of *Medicago sativa* extract on pinna rabbit cartilage. *Arak Medical University Journal*, 12: 29-38.
- Liang, X., Zhang, D., Chen, Y., Guo, R., Wang, J. and Wang, C., 2015.** Effects of alfalfa saponin extract on mRNA expression of Ldlr, LXR α , and FXR in BRL cells. *Journal of Zhejiang University Science*, 6:479-86. DOI: 10.1631/jzus.B1400343
- Liener, L.E., Huisman, J., Vander and Poel, A.F.B., 1990.** Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. *Pudoc. Wageningen, Netherkland*. pp 6-14.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1952.** Protein measurement with folin phenol reagent. *Biological Chemistry*, 193-256.
- Mansoub, N.H. and Myandoab, M.P., 2012.** Effect of dietary inclusion of alfalfa (*Medicago sativa*) and black cumin (*Nigella sativa*) on performance and some blood metabolites of Japanese quail. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, 2(1): 7-9.

- Malekinezhad, H., Agh, N., Vahabzadeh, Z., Varasteh, S and Alavi, M.H., 2012.** In vitro reduction of zearalenone to β -zearalenol by rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) hepatic microsomal and post-mitochondrial subfractions. Iranian Journal of Veterinary Research, 13:28-35. DOI: 10.22099/IJVR.2012.17
- Prasad, G. and Charles, S., 2010.** Haematology and leucocyte enzyme cytochemistry of a threatened yellow catfish (*Horabagrus brachysoma*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 435-443. DOI: 10.1007/s10695-009-9313-y
- Rechulicz, J., Ognik, K. and Greła, E.R., 2014.** The Effect of adding protein-xanthophylls concentrate (PX) from lucerne (*Medicago sativa*) on Growth parameters and redox profile in muscles of carp, (*Cyprinus carpio*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 14: 697-703. DOI: 10.4194/1303-2712-v14_3_12
- Soto, J.R. and Mitchell, H.L., 1960.** The trypsin inhibitor of alfalfa. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 8: 393-395.
- Sun, Y., Long, R.C., Zhang, T.J., Yang, Q.C. and Zhou, H., 2013.** Advances in the study of alfalfa saponin. Acta Prataculturae Sinica, 22: 274-283.
- Trinder, P., 1969.** Determination of glucose concentration in the blood. Ann. Clinical. Biochemistry, 6-24. DOI: 10.1177/000456326900600108
- Wang, C.Z., Wang, Y.H., Shi, Y.H., Yan, X.B., He Y. and Fan, W.N., 2011.** Effects of alfalfa saponins on the lipid metabolism, antioxidation and immunity of weaned piglets. Acta Prataculturae Sinica, 20, 210.
- Zargari, A., 2001.** Medical plants. Second edition. Tehran University Press, Tehran.
- Zheng, Z.L., Tan, J.Y.W., Liu, H.Y., Zhou, X.H., Xiang, X. and Wang K.Y., 2009.** Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant, effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctuatus*). Aquaculture, 229: 214-218. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.04.025
- Zoppi, F. and Fellini, D., 1976.** Enzymatic colorimetric cholesterol determination. Clinical. Chemistry, 22: 690-691.

The effect of alfalfa (*Medicago sativa*) alcoholic extract on growth performance, feed intake, body composition and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Najafi Z.¹, Ouraji H.^{1*}, Yegane S.¹, Keramat A.¹

*hoseinoraji@yahoo.com

1- Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of alfalfa (*Medicago sativa*) extract on growth performance, feed intake, body composition and some of the serum parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In this study, a total of 240 rainbow trout were weighted average $8/36 \pm 0.2$ (g) and randomly distributed in four treatments (control), 0.5, 1, 1.5% of extract per (kg) of diet with three replications in plastic tanks. Fish were placed and fed with extract containing food for 60 days. During this time, physicochemical factors of water were measured. At the end of the period, growth index and serum parameters calculated. The results showed that growth performance in treatments that fed with 1% alfalfa extract had a significant difference compared to control treatment ($p < 0/05$). In the indexes of body compositions, an increase in the amount of fat was observed in 1% treatment of the extract, while there was a significant difference with the control group ($p < 0/05$). Serum parameters showed that there were significant differences between fish fed with alcoholic extract of alfalfa and control group ($p < 0/05$). The lowest cholesterol and triglyceride levels and the highest level of protein were observed in the 1.5% extract group. Also, the highest amount of glucose was observed in control treatment. The results of this study showed that the addition of alcoholic extract of alfalfa (1 -1.5 %) to fish diet can improve the growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout.

Keywords: Rainbow trout, alfalfa alcoholic extract, growth performance, serum parameters

*
Corresponding author