شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۶۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵

صفحات ۲۵۱-۲۳۵

اثرات سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه (*Medicago sativa*) بر عملکرد رشد، تغذیه، بیوشیمیایی لاشه و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

زهرا فلامرزی[۱]، سید محمد موسوی[۲]*، محمد ذاکری[۳]، نسیم زنگویی[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۲. دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۳. استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۲۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۲/۳۱

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تغییرات فاکتورهای رشد، تغذیه، بیوشیمیایی لاشه و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون کپور معمولی تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی گیاه یونجه، انجام گردید. طی این تحقیق ۳۰۰ قطعه ماهی با وزن متوسط ۰/۱۹ ± ۲۰/۰۴ گرم و طول متوسط ۰/۶۴± ۱۱/۷۸ سانتی متر به مدت ۸ هفته با ۹ تیمار غذایی ساخته شده تغذیه شدند.تیمارهای غذایی ساخته شده شامل ۴ تیمار غذایی با سطوح افزایشی پودر یونجه (سطوح ۳، ۶، ۹ و ۱۲ درصد)، ۴ تیمار غذایی با سطوح افزایشی عصاره الکلی یونجه (سطوح ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد) و یک تیمار غذایی بدون افزودن عصاره و پودر (به عنوان گروه کنترل) بودند. بر اساس نتایج بدست آمده در پایان آزمایش، نتایج نشان داد که افزودن سطوح مختلف پودر یونجه تا میزان ۹ درصد جیره و عصاره الکلی تا میزان ۴ درصد جیره منجر به افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد روزانه، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی، شاخص احشایی و کبدی، پروتئین و چربی لاشه، نسبت بازده غذایی، نسبت بازده پروتئین و چربی، پروتئین کل، گلوبولین،گلوکز و فسفر سرم با اختلاف معنی داری نسبت به تیمار شاهد منجر شده ($P<0/05$) و از طرف دیگر این تیمار ها در نسبت تبدیل غذایی، چربی محوطه شکمی، رطوبت لاشه، تری گلیسرید و کلسترول کاهش معنی داری تیمار شاهد نشان دادند ($P<0/05$) اما اختلاف معنی داری بین شاخص های طول نسبی روده، کل غذای مصرفی، کربوهیدرات و خاکستر لاشه، آلبومین و کلسیم با تیمار شاهد مشاهده نشد ($P>0/05$). در این تحقیق شاخص نسبت تبدیل اقتصادی نیز محاسبه گردید و نتایج بهترین و اقتصادی ترین تیمار برای به کار گیری در تغذیه ماهی کپور تیمار ۴ درصد عصاره و ۹ درصد پودر بود. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و بهبود فاکتورهای رشد و تغذیه و همچنین افزایش سطوح سرمی پروتئین تام و گلوبولین از یک سو و کاهش مقادیر سرکی کلسترول و تری گلیسرید از سوی دیگر، و همچنین تاثیرات مثبت بر سطوح سرمی کلسیم و فسفر، یونجه را می توان به عنوان یک مکمل گیاهی مناسب جهت استفاده در جیره غذایی ماهی کپور معمولی، معرفی نمود.

واژگان کلیدی: یونجه، رشد و تغذیه، بیوشیمیایی لاشه، پارامترهای بیوشیمیایی سرم، کپور معمولی

* نویسنده مسئول مکاتبه تلفن: ۰۹۱۶۶۱۱۲۵۲۲ email: seied1356@yahoo.com

۱. مقدمه

ماهی کپور اهمیت زیستی زیادی داشته و در سرتاسر دنیا به طور وسیعی پرورش داده می شود. روشهای پرورش مرسوم این گونه در ایران و نحوه تغذیه این ماهی، همواره مورد بررسی های مختلف قرار گرفته است ولی در سال های اخیر با توجه به بروز برخی بیماری ها و کاهش رشد در مزارع پرورشی، استفاده از ترکیبات مکمل و مکمل های گیاهی در جیره غذایی آبزیان با هدف افزایش راندمان رشد و تغذیه و بالا بردن سطح ایمنی این گونه مورد توجه خاص قرار گرفته است. در آبزی پروری بیش ۵۰ درصد از هزینه های جاری یک مزرعه پرورش ماهی به مدیریت تغذیه و غذا دهی اختصاص داده می شود بنابراین از مهمترین مباحث در مورد پرورش به صورت مصنوعی توجه به امر تغذیه است (Zarif Manesh and Zoreh Zahra, 2012). روشهای مختلفی در کاهش هزینه های مدیریت تغذیه در آبزی پروری عنوان شده است که استفاده از منابع پروتئین گیاهی ارزان قیمت یکی از این روش ها در کاهش هزینه های مدیریتی مزارع پرورش آبزیان است. از سوی دیگر، اطلاعات در مورد پارامترهای بیوشیمیایی خون این آبزی کمک شایانی به ارزیابی سلامت و بقاء آن در محیط زیست و پروش می کند. تحقیقات زیادی در توسعه استراتژی های جدید مکمل غذایی در رشد و سلامتی وجود دارد و در این رابطه ترکیباتی همچون پرو بیوتیک، پری بیوتیک، سین بیوتیک و فیتوبیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفته اند. همچنین بررسی پیرامون فیتوبیوتیک در آبزی پروری موضوعی نسبتا جدید است و نتایج بررسی آن قابل توجه و امیدوارکننده است (Cristea *et al.*, 2012).

یونجه از جمله مکمل های گیاهی است که به دلیل داشتن خواص ارزشمند همواره مورد توجه قرار گرفته است. به طور معمول یونجه دارای ۲۴-۱۷ درصد پروتئین خام می باشد (Putnam *et al.*, 2008). همچنین دارای مقادیر متعارفی از اسیدهای آمینه، ویتامین ها، کارتنوئیدها (Chatzifotis *et al.*, 2006) و پروفایل اسید های چرب ضروری (European Food Safety Authority, 2009) می‌باشدکه این اجزا ممکن است روی رشد و پارامترهای خونی ماهی اثر مثبت داشته باشد. همچنین کاهش کلسترول خون، ممانعت از افزایش فشار خون، کنترل و جلوگیری از دیابت و زخم های گوارشی از جمله خواص درمانی این گیاه به شمار می‌رود. همچنین گیاه یونجه منبع غنی از آنتی اکسیدان ها مثل ساپونین، آهن، زینک، مس، سلنیوم (Rechulicz *et al.*, 2014) فلاونوئیدها، تانن ها، کامسترول، کارتنوئیدها و توکول ها می باشد (Eskin and Tamir, 2006). با افزایش سطح یونجه در جیره و بالا رفتن میزان ساپونین، ترشحات اسیدی از صفرا افزایش می یابد که این ترشحات با دفع استروئیدها همراه است (مثل کلسترول) که در نهایت این امر باعث کاهش کلسترول خون می گردد(Rechulicz *et al.*, 2014). به طور کلی مواد مغذی موجود در گیاه یونجه باعث کاهش سطح کلسترول خون شده و شاخص های خونی و هماتولوژی را بهبود می بخشد و باعث افزایش راندمان تغذیه نیز می شود (Gawel and Grzelak, 2012). با توجه به تاثیرات مثبت گیاه یونجه بر برخی حیوانات و آبزیان و برنامه های توسعه، جهت استفاده از مکمل های گیاهی جایگزین در پرورش کپورماهیان، هدف از این تحقیق بررسی اثرات سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه بر رشد و تغذیه و برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خونی ماهی کپور معمولی می باشد.

۲. مواد و روشها

تحقیق حاضر در آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر در اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ به مدت ۸ هفته انجام شد. برای انجام این مطالعه از ۱۵ مخزن فایبرگلاس مدور ۳۰۰ لیتری استفاده شد. ۲۷۰ قطعه ماهی به طور کاملاً تصادفی بین ۲۷ مخزن فایبرگلاس توزیع شدند (۱۰ قطعه ماهی به ازای هر مخزن). دوره ی سازگاری ماهیان جهت سازگار شدن با شرایط جدید به مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش در خود مخزن ها به طول انجامید. در طول دوره ی سازگاری، ماهیان روزانه ۳ بار در روز به میزان سیری با غذای پلت تجاری ماهی کپور (تهیه شده از شرکت ۲۱ بیضاء شیراز)

(جدول۱)، تغذیه شدند.

۱.۲. تهیه پودر و عصاره گیاه یونجه

گیاه یونجه به میزان مورد نظر از مزارع کشاورزی استان خوزستان در فروردین ماه ۱۳۹۳ تهیه و پس از جداسازی برگ و جوانه ها از ساقه، یونجه ها در دمای اتاق(۲۵ درجه سانتی گراد) به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس با دستگاه آسیاب برقی کاملا خرد شده و پس از عبور دادن از الک (۰/۵میکرون)، مقداری از آن جهت تهیه جیره های حاوی پودر و مابقی جهت تهیه عصاره الکلی در نظر گرفته شدند. به منظور عصاره گیری، پودر حاصل به نسبت ۱ به ۱۰ (حجمی/حجمی)، به اتانول ۹۸ درصد اضافه شد و مخلوط حاصل در ارلن که با فویل آلومینیوم پوشیده شده بود، به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه بر روی دستگاه هات پلیت با دور ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای اتاق نگهداری و کاملا مخلوط گردید. سپس به وسیله ی کاغذ صافی واتمن (شماره۱، سایز چشمه ی ۴۲ میکرون) و با کمک قیف بوخنر، در ۳ مرحله صاف گردید. مایع بدست آمده در روتاری (۳۰ درجه سانتی گراد) با ۹۰ دور در دقیقه قرار داده شد تا الکل آن تقطیر و از آن جدا گردد و پس از تقطیر، عصاره ی گیاه مورد نظر در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا زمان استفاده نگهداری شد (Zargari, 2001). به منظور اطمینان از مواد موثره موجود در عصاره الکلی و پودر یونجه، آنالیز GC Mass برای عصاره الکلی و آنالیز بیوشیمیایی برای پودر یونجه انجام شد که نتایج آن در جداول ۸ و ۹ آورده شده اند.

۲.۲. مراحل ساخت جیره های آزمایشی

برای ساخت جیره های غذایی آزمایشی (جدول ۲) ابتدا یک کیلوگرم غذای تجاری ماهی کپورکه توسط آسیاب پودر شده بود، در ظرفی ریخته، سپس پودر یا عصاره ی یونجه به همراه آب به غذای ماهی اضافه شده و ۳۰ دقیقه توسط همزن تجاری به هم زده شد تا کاملاً یکنواخت و آب، عصاره و پودر با تمامی ذرات غذا مخلوط شود. سپس توسط چرخ گوشت چرخ شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری تا کاملاً خشک گردید. در این مطالعه، ۹ تیمار با ۳ تکرار با جیره های حاوی سطوح ۳، ۶، ۹ و ۱۲ درصد پودر یونجه (به ترتیب با عناوین P3، P6، P9 و P12) و سطوح ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد عصاره یونجه (به ترتیب با عناوین E1، E2، E3 و E4) و گروه شاهد بدون افزودن پودر یا عصاره (کنترل) در نظر گرفته شدند (Saligheh Zadeh *et al.*, 2015).

آنالیز بیوشیمیایی جیره غذایی شامل میزان رطوبت، چربی خام، پروتئین خام و خاکستر با استفاده از روش کار استاندارد صورت گرفت (AOAC, 2000). برای محاسبه رطوبت از آون و دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد استفاده گردید. اندازه گیری میزان چربی خام به روش سوکسله، پروتئین خام با اندازه گیری نیتروژن کل با استفاده از روش کجلدال (دستگاه Buchi K370, Auto Kejldahl) و ضرب آن در عدد ۶/۲۵ و خاکستر، با قرار دادن نمونه ها به مدت ۱۶ ساعت در کوره ی الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد صورت گرفت.

جدول ۱. ترکیب (آنالیز بیوشیمیایی) جیره پایه مورد استفاده (جیره پایه غذای ماهی کپور تهیه و ارائه شده توسط کارخانه ۲۱ بیضاء شیراز)

مواد مغذی	مقدار
رطوبت (٪)	۱۰
پروتئین خام (٪)	۳۲-۳۸
انرژی قابل هضم (Cal/kg)	۳۶۰۰-۳۸۰۰
فیبر خام (٪)	۵/۵
چربی (٪)	۵-۸
خاکستر (٪)	۱۲
TVN (mg/100g)	۵۰

لیزین (٪)	۱/۶-۱/۸
متیونین (٪)	۰/۴۲-۰/۴۸
ترئونین (٪)	۱/۰۵-۱/۲۵

جدول ۲. میزان ترکیبات مورد استفاده جهت ساخت جیره های آزمایشی مختلف ماهیان کپور معمولی جوان

تیمارهای آزمایشی	کنترل	P3	P6	P9	P12	E1	E2	E3	E4
جیره پایه(گرم)	۸۸۰	۸۸۰	۸۸۰	۸۸۰	۸۸۰	۸۸۰	۸۸۰	۸۸۰	۸۸۰
عصاره الکلی یونجه (گرم)	۰	۰	۰	۰	۰	۳۰	۱۰	۲۰	۴۰
پودر یونجه(گرم)	۰	۳۰	۶۰	۹۰	۱۲۰	۰	۰	۰	۰
پرکننده(پودر سنگ(گرم))	۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰	۰	۹۰	۱۱۰	۱۰۰	۸۰
آب(سی سی)	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰

۳.۲. نمونه برداری

در طول آزمایش ماهی ها ۳ بار در روز در ساعات ۸:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۱۸:۰۰ به میزان سیری تغذیه شدند. روزانه پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب (درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH آب) مورد سنجش قرار گرفته و ثبت گردید. مقادیر پارامتر های کیفی آب به ترتیب ۱±۲۸ درجه سانتی گراد، ۸-۷ میلی گرم در لیتر اکسیژن محلول و pH ۷/۵-۶/۵ ، ثبت گردید. در طول مدت آزمایش، روزانه ۱۰٪ حجم آب تعویض گردید. در انتهای دوره و یک روز قبل از نمونه برداری غذا دهی قطع شد. تمام ماهی ها زیست سنجی شدند و به منظور اندازه گیری وزن امعاء و احشا و کبد، ماهی ها تشریح شدند و سپس ۳ عدد ماهی از هر تکرار بصورت تصادفی برای آنالیز بیوشیمیایی لاشه انتخاب گردید و تا زمان آزمایشات بعدی در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

همچنین تعدادی از ماهیان نیز از هر مخزن بصورت تصادفی انتخاب شد و پس از بیهوشی با ماده اوژنول (۴۰ ppm)، خون گیری از ماهیان بوسیله سرنگ ۲/۵ سی سی آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین از طریق ورید ساقه دمی انجام شد. نمونه های خون در میکروتیوپ های ۱/۵ میلی لیتری انتقال یافته و با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریوفیوژ شد و نمونه های سرم جداسازی شدند. سنجش پارامترهای بیوشیمیایی سرم به روش کالریمتری (فتومتریک) و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمیایی (Mindrey BS-200, China) و با استفاده از کیت تشخیصی پارس آزمون به روش زیر انجام شد.

۴.۲. آنالیز شاخص های رشد و تغذیه

شاخص های رشد و تغذیه نظیر افزایش وزن (WG)[1]، ضریب رشد روزانه (DGR)[2]، نرخ رشد ویژه (SGR%)[3]، ضریب چاقی (CF%)[4]، ضریب بازده پروتئین (PER)[5]، ضریب تبدیل غذایی(FCR)[6]، ضریب بازده چربی (LER)[7]، شاخص احشایی (VSI)[8]، ضریب بازده غذایی (FER)[9]، شاخص کبدی (HSI%)[10]، شاخص چربی محوطه شکمی (IFR)[11]، شاخص طول نسبی روده (RLG)[12]، کل غذای مصرف شده (TFI)[13] و نسبت تبدیل اقتصادی (ECR)[14] براساس فرمول های زیر محاسبه گردید (Nya and Austin, 2009).

[1] Weight gain
[2] Daily growth ratio
[3] Specific growth ratio
[4] Condition factor
[5] Protein efficiency ratio
[6] Feed conversion ratio
[7] Lipid efficiency ratio
[8] Viscero somatic index
[9] Feed efficiency ratio
[10] Hepato somatic index
[11] Intraperitoneal fat ratio
[12] Relative Length Gut
[13] Total feed intake
[14] Economic efficiency ratio

وزن اولیه (گرم) – وزن ثانویه (گرم) = افزایش وزن (وزن تر تولید شده) (گرم)

(طول دوره پرورش (روز)/(وزن اولیه(گرم)- وزن ثانویه (گرم)) = ضریب رشد روزانه (روز/گرم) ۱۰۰ × (طول دوره پرورش (روز) / (لگاریتم وزن اولیه – لگاریتم وزن ثانویه)) = نرخ رشد ویژه(٪)

۱۰۰ × (۳(طول ثانویه) (سانتی متر) / وزن ثانویه (گرم)) = ضریب چاقی (٪)

پروتئین مصرفی (گرم) / وزن تر تولید شده (گرم) = ضریب بازده پروتئین (گرم)

افزایش وزن بدن (گرم) / غذای خشک داده شده = ضریب تبدیل غذایی (گرم)

چربی مصرفی (گرم) / وزن تر تولید شده (گرم) = ضریب بازده چربی (گرم)

۱۰۰× (وزن ثانویه بدن (گرم) / وزن کل احشا (گرم) = شاخص احشایی(٪)

وزن تر تولید شده (گرم) / وزن غذای داده شده = ضریب بازده غذایی (٪)

۱۰۰× (وزن ثانویه بدن (گرم) / وزن کل کبد (گرم) = شاخص کبدی(٪)

۱۰۰× (وزن ثانویه بدن (گرم) / وزن کل چربی محوطه شکمی(گرم) = شاخص چربی محوطه شکمی(٪)

طول بدن (سانتی متر) / طول روده (سانتی متر) = شاخص طول نسبی روده(٪)

تعداد ماهی در هر مخزن / وزن کل غذای خورده شده (گرم) = کل غذای مصرف شده (گرم)

نسبت تبدیل اقتصادی × قیمت یک کیلوگرم از جیره غذایی = نسبت تبدیل اقتصادی

۵.۲. آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی سرم

همچنین مقدار پروتئین تام سرم با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون (کد ۰۲۸۵۰۰۱) و آلبومین تام سرم با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون (کد ۰۰۱۵۰۰۱) (Thomas *et al.*, 1998; Johnson *et al.*, 1999) و میزان تقریبی گلوبولین سرم با کم کردن مقادیر آلبومین سرم از پروتئین تام سرم محاسبه شد (Kumar *et al.*, 2005). میزان گلوکز نمونه‌های سرم با استفاده از کیت تشخیص کمی گلوکز شرکت پارس آزمون (کد ۰۱۷۵۰۰۱) (Barham and Trinder, 1972; Sacks, 1999). سنجش میزان کلسترول نمونه‌های سرم از کیت تشخیص کمی کلسترول شرکت پارس آزمون به روش آنزیمی (کد ۰۱۰۵۰۰۱) (Deeg and Ziegenhorn, 1983; Artiss and Zak, 1997) و میزان تری گلیسرید نمونه‌های سرمی، با استفاده از کیت تشخیص تری‌گلیسرید شرکت پارس آزمون (کد ۰۳۲۵۰۰۱)، (Rifai *et al.*, 1991; Cole *et al.*, 1997)، میزان کلسیم موجود در نمونه‌های سرم با کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون (کد ۰۰۸۱۰۰۱) (Michaylova and Ilkova, 1971; Bauer, 1981) و میزان فسفر نمونه‌های سرم با کیت تشخیص کمی فسفر شرکت پارس آزمون (کد ۰۲۷۵۰۰۱) (Burtis and Ashwood, 1999) استفاده شد.

۶.۲. آنالیز تقریبی بیوشیمیایی لاشه

آنالیز بیوشیمیایی تقریبی میزان رطوبت، چربی خام، پروتئین خام و خاکستر با استفاده از روش کار استاندارد صورت گرفت (AOAC, 2000). برای محاسبه رطوبت لاشه و غذا، ابتدا نمونه ها وزن شده، سپس داخل ورق آلومینیومی قرار گرفته و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت پس از ثابت شدن وزن در آون خشک گردیدند، پس از محاسبه میزان رطوبت، نمونه ی لاشه آسیاب شده و به صورت یک مخلوط همگن جهت استفاده در آنالیز بیوشیمیایی بعدی آماده شد. پس از خارج نمودن از آون، نمونه ها را در دسیکاتور سرد قرار داده و مجدداً وزن شدند. پس از محاسبه میزان رطوبت، نمونه ی لاشه آسیاب شده و به صورت یک مخلوط همگن جهت استفاده در آنالیزهای بیوشیمیایی بعدی آماده شد. چربی خام به روش سوکسله محاسبه گردید (Soxtec 2005 ساخت کشور سوئد)، پروتئین خام با اندازه گیری نیتروژن کل با استفاده از روش کجلدال (دستگاه Auto Kejldahl K370، Buchi ساخت کشور سوئیس) و ضرب آن در عدد ۶/۲۵ تعیین شد. جهت محاسبه میزان خاکستر، نمونه ها به مدت ۱۶ ساعت در کوره الکتریکی در درجه حرارت ۵۵۰ درجه سانتی گراد سوزانده شدند.

۶.۲. آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده ها با آزمون کولموگروف

اسمیرنف و همگنی واریانس ها بوسیلهٔ آزمون Leven تست گردید. برای مقایسه میانگین ها از پس آزمون آماری دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. از نرم افزار SPSS (Version 16) برای آنالیز آماری و از Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

۴. نتایج

نتایج بر اساس میانگین داده ها ± خطای معیار ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده، هیچ گونه تفاوت معنی داری بین میزان ترکیبات بیوشیمیایی موجود در جیره های مختلف مورد استفاده در این تحقیق وجود نداشت (جدول ۳).

جدول ۳. آنالیز بیوشیمیایی تقریبی جیره های غذایی آزمایشی مختلف ماهیان کپور معمولی جوان

ماده مغذی	تیمارهای آزمایشی								
	کنترل	P3	P6	P9	P12	E1	E2	E3	E4
پروتئین (٪)	۳۱/۵۰ ±۱/۰۱	۳۴/۱۲±۱/۱۰	۳۴/۸۵±۱/۵۱	۳۵/۱۷±۱/۷۲	۳۶/۰۵±۱/۶۳	۳۲/۲۰±۱/۵۶	۳۲/۳۵±۱/۶۹	۳۳/۰۷±۱/۷۳	۳۳/۱۷±۱/۵۱
چربی (٪)	۴/۸۶ ± ۰/۵۱	۴/۹۲±۰/۵۱	۵/۷۸±۰/۶۰	۵/۸۶±۰/۵۹	۵/۸۸±۰/۶۶	۴/۵۶±۰/۰۷	۴/۸۰±۰/۴۰	۶/۰۲±۰/۲۶	۶/۰۹±۰/۰۶
کربوهیدرات (٪)	۹/۳۵ ± ۰/۵۷	۹/۳۳±۰/۲۳	۹/۸۸±۰/۰۵	۹/۴۹±۰/۰۸	۹/۷۸±۰/۱۵	۹/۱۶±۰/۱۰	۹/۹۰±۰/۰۴	۹/۶۵±۰/۱۸	۹/۹۰±۰/۰۴
خاکستر (٪)	۱۷/۳۳ ±۰/۳۹	۱۶/۸۳±۰/۵۴	۱۵/۴۵±۰/۷۳	۱۵/۹۷±۰/۳۸	۱۶/۴۶±۰/۳۸	۱۷/۱۲±۰/۱۳	۱۷/۰۵±۰/۷۵	۱۶/۳۰±۰/۸۹	۱۶/۷۲±۰/۶۱
رطوبت (٪)	۳۶/۹۵ ± /۵۵	۳۴/۷۸±۱/۷۷	۳۴/۰۲±۲/۸۶	۳۳/۴۹±۲/۰۹	۳۳/۸۲±۱/۶۵	۳۶/۹۴±۱/۸۰	۳۵/۸۸±۲/۲۳	۳۴/۹۵±۱/۵۴	۳۴/۱۱±۰/۹۰
انرژی ناخالص کل (MJ/Kg)	۱۵/۶۸ ±۰/۱۵	۱۵/۹۶±۰/۲۳	۱۶/۳۴±۰/۱۲	۱۶/۳۶±۰/۲۰	۱۶/۲۹±۰/۲۶	۱۵/۷۳±۰/۰۹	۱۵/۶۸±۰/۱۹	۱۶/۱۷±۰/۳۲	۱۶/۰۸±۰/۲۱

کلیه نتایج به صورت میانگین ± خطای معیار بیان شده اند. عدم وجود حروف در جدول، نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارهای آزمایشی است (P> ۰/۰۵).

نتایج افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب رشد روزانه، ضریب چاقی، شاخص چربی محوطه شکمی، شاخص احشایی، شاخص کبدی و شاخص طول نسبی روده ماهیان کپور معمولی، تحت تاثیر عصاره و پودر یونجه در پایان دوره آزمایشی در جدول ۴، آورده شده است. بر اساس نتایج حاصله بیشترین میزان افزایش شاخص های رشد در تیمار ها P9 و E4 مشاهده گردید.

جدول ۴. شاخص های رشد و وضعیت ماهیان کپور معمولی تحت تغذیه سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه (n=۳)

تیمار	شاخص								
	(g)WG	(٪)BWI	(٪)SGR	(g/day)DGR	(٪)CF	(٪)IFR	(٪)VSI	(٪)HSI	(cm)RLG
شاهد	۶/۹۵±۰/۷۴^{e}	۳۰/۹۴±۳/۳۶^{c}	۰/۴۷±۰/۰۵^{e}	۰/۱۲±۰/۰۱^{d}	۱/۶۳±۰/۰۴^{c}	۱/۱۱±۰/۱۹^{a}	۹/۹۳±۰/۴۵^{c}	۲/۶۴±۰/۱۳^{c}	۱/۷۹±۰/۰۴
P3	۹/۶۶±۰/۸۵ ^{cd}	۴۴/۳۱±۳/۵۹^{c}	۰/۶۴±۰/۰۴^{d}	۰/۱۷±۰/۰۱^{cd}	۱/۷۰±۰/۰۵^{bc}	۰/۶۵±۰/۱۵^{b}	۱۰/۰۹±۰/۳۳^{c}	۲/۷۲±۰/۲۰^{c}	۱/۸۱±۰/۰۴
P6	۱۲/۷۷±۰/۵۷^{b}	۶۶/۳۰±۶/۱۶^{bc}	۰/۸۹±۰/۰۷^{bc}	۰/۲۲±۰/۰۲^{b}	۱/۷۹±۰/۰۸^{bc}	۰/۴۴±۰/۱۰^{b}	۱۰/۳۰±۰/۵۷^{bc}	۳/۶۱±۰/۱۹^{ab}	۱/۹۳±۰/۰۶
P9	۱۶/۹۴±۰/۵۴^{a}	۹۱/۴۰±۳/۲۹^{a}	۱/۱۵±۰/۰۳^{a}	۰/۳۰±۰/۰۱^{a}	۱/۸۲±۰/۰۶^{ab}	۰/۳۶±۰/۰۵^{b}	۱۱/۵۷±۰/۴۹^{ab}	۳/۶۵±۰/۳۳^{a}	۱/۹۴±۰/۰۴
P12	۸/۵۶±۰/۸۱^{de}	۴۱/۰۴±۳/۸۰^{c}	۰/۶۰±۰/۰۵^{de}	۰/۱۵±۰/۰۱^{cd}	۱/۷۲±۰/۰۴^{bc}	۰/۴۴±۰/۰۵^{b}	۱۰/۰۱±۰/۴۰^{c}	۲/۹۷±۰/۱۲^{c}	۱/۷۹±۰/۰۵
E1	۸/۳۹±۰/۶۵^{de}	۴۲/۷۳±۵/۳۰^{c}	۰/۶۱±۰/۰۶^{de}	۰/۱۴±۰/۰۲^{cd}	۱/۶۸±۰/۰۶^{bc}	۰/۶۲±۰/۱۴^{b}	۹/۹۷±۰/۲۶^{c}	۲/۶۸±۰/۲۴^{c}	۱/۷۹±۰/۰۵
E2	۱۱/۶۵±۰/۸۵ ^{bc}	۵۸/۶۵±۵/۰۳^{c}	۰/۸۰±۰/۰۶^{c}	۰/۲۰±۰/۰۲^{bc}	۱/۶۸±۰/۰۳^{bc}	۰/۴۸±۰/۰۷^{b}	۱۰/۷۷±۰/۴۴^{abc}	۳/۰۰±۰/۲۰^{bc}	۱/۸۲±۰/۰۶
E3	۱۳/۶۴±۰/۶۴ ^{b}	۷۵/۳۷±۶/۵۶^{b}	۰/۹۸±۰/۰۷^{b}	۰/۲۴±۰/۰۲^{b}	۱/۷۰±۰/۰۶^{bc}	۰/۴۱±۰/۰۳^{b}	۱۱/۲۸±۰/۵۷^{abc}	۳/۱۰±۰/۱۸^{abc}	۱/۸۴±۰/۰۴
E4	۱۸/۶۲±۰/۷۷^{a}	۱۰۰/۸۳±۷/۱۵^{a}	۱/۲۲±۰/۰۶^{a}	۰/۳۳±۰/۰۲^{a}	۱/۹۱±۰/۰۶^{a}	۰/۳۳±۰/۰۹^{b}	۱۱/۸۳±۰/۵۱^{a}	۳/۶۲±۰/۲۲^{ab}	۱/۹۴±۰/۰۶

کلیه نتایج به صورت میانگین±خطای معیار بیان شده اند. حروف غیرهمنام در هر ستون، نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارهای آزمایشی است (P< ۰/۰۵)

نتایج حاصل از شاخص های نسبت تبدیل غذایی، نسبت بازده غذایی، نسبت بازده پروتئین، نسبت بازده چربی و کل غذای مصرف شده درماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه در جدول ۵، آورده شده است. بر اساس نتایج حاصله، کمترین میزان FCR، در تیمار

E4 مشاهده گردید.

جدول ۵. شاخص های تغذیه ای ماهیان کپور معمولی تحت تغذیه سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه (n = ۳)

تیمار	شاخص				
	FCR	FER	PER	LER	TFI
شاهد	۳/۹۳±۰/۲۴^{a}	۰/۲۶±۰/۰۳^{c}	۰/۸۰±۰/۰۸^{c}	۵/۱۹±۰/۳۳^{c}	۶۶/۳۳±۰/۳۳
P3	۳/۳۴±۰/۳۱^{a}	۰/۳۳±۰/۰۳^{bc}	۰/۹۸±۰/۰۷^{bc}	۵/۸۰±۰/۳۹^{bc}	۶۵/۵۸±۰/۸۲
P6	۲/۵۸±۰/۰۹^{b}	۰/۳۵±۰/۰۲^{b}	۱/۰۴±۰/۰۶^{b}	۶/۵۰±۰/۳۴^{ab}	۶۴/۶۶±۰/۳۳
P9	۲/۱۴±۰/۰۹^{bc}	۰/۴۰±۰/۰۳^{ab}	۱/۲۶±۰/۰۵^{a}	۶/۹۱±۰/۲۱^{a}	۶۵/۲۵±۰/۸۰
P12	۳/۷۹±۰/۲۲^{a}	۰/۲۷±۰/۰۲^{c}	۰/۸۲±۰/۰۵^{c}	۵/۲۶±۰/۲۸^{c}	۶۵/۰۰±۰/۵۸
E1	۳/۸۱±۰/۱۶^{a}	۰/۲۶±۰/۰۳^{c}	۰/۸۰±۰/۰۵^{c}	۵/۲۳±۰/۳۲^{c}	۶۶/۰۰±۰/۵۸
E2	۳/۳۲±۰/۲۴^{a}	۰/۳۴±۰/۰۲^{bc}	۱/۰۱±۰/۰۶^{b}	۶/۱۱±۰/۳۲^{abc}	۶۶/۰۸±۰/۵۱
E3	۲/۵۲±۰/۱۰^{b}	۰/۳۶±۰/۰۳^{b}	۱/۸۰±۰/۰۳^{b}	۶/۷۵±۰/۲۶^{a}	۶۶/۰۸±۰/۵۱
E4	۱/۸۴±۰/۱۳^{c}	۰/۴۵±۰/۰۲^{a}	۱/۲۶±۰/۰۵^{a}	۷/۰۰±۰/۱۷^{a}	۶۴/۵۰±۰/۲۹

کلیه نتایج به صورت میانگین±خطای معیار بیان شده اند. حروف غیرهمنام در هر ستون، نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین تیمارهای آزمایشی است (P< ۰/۰۵).

داده های مربوط به اثرات پودر و عصاره الکلی یونجه در سطوح مختلف بر ترکیبات بیوشیمیایی لاشه کپور معمولی تحت تغذیه سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه، در (جدول ۶) به شرح زیر آمده است. نتایج نشان می دهد که پودر و عصاره یونجه تاثیر مستقیم در میزان پروتئین و چربی لاشه داشته اند ولی بر روی کربوهیدرات، خاکستر تغییرات معنی داری را ایجاد نکرده اند.

جدول ۶. آنالیز لاشه ماهیان کپور معمولی تحت تغذیه سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه بر اساس درصد ماده خشک (n = ۳)

تیمار	شاخص				
	پروتئین	چربی	کربوهیدرات	خاکستر	رطوبت
شاهد	۱۳/۸۲±۰/۳۰^{d}	۷/۷۰±۰/۱۳^{b}	۵/۸۷±۰/۵۴	۲/۹۲±۰/۰۲	۶۹/۶۸±۰/۱۶^{a}
P3	۱۵/۴۱±۰/۳۴^{bc}	۸/۱۰±۰/۰۶^{b}	۵/۶۲±۰/۲۹	۲/۷۱±۰/۰۹	۶۸/۱۴±۰/۴۲^{b}
P6	۱۵/۸۱±۰/۴۱^{b}	۹/۱۷±۰/۲۴^{a}	۵/۹۲±۰/۴۱	۲/۶۹±۰/۱۰	۶۶/۳۹±۰/۳۳^{c}
P9	۱۵/۹۸±۰/۰۶^{a}	۹/۲۸±۰/۲۱^{a}	۴/۹۸±۰/۴۲	۲/۶۸±۰/۱۲	۶۶/۰۷±۰/۲۳^{c}
P12	۱۶/۹۷±۰/۲۴^{a}	۹/۲۴±۰/۱۱^{a}	۴/۶۹±۰/۴۴	۲/۶۳±۰/۰۴	۶۶/۴۵±۰/۴۹^{c}
E1	۱۴/۰۰±۰/۲۳^{d}	۷/۷۰±۰/۱۰^{b}	۵/۸۵±۰/۲۹	۲/۹۱±۰/۱۶	۶۹/۵۲±۰/۲۴^{a}
E2	۱۴/۶۰±۰/۱۹^{cd}	۸/۱۲±$^{۰/۰۴}$^{b}	۵/۳۰±۰/۲۳	۲/۸۸±۰/۰۷	۶۸/۹۹±۰/۳۴^{ab}
E3	۱۵/۷۶±۰/۳۸^{b}	۹/۰۶±۰/۱۳^{a}	۵/۲۱±۰/۱۵	۲/۸۷±۰/۰۸	۶۸/۰۷±۰/۴۷^{c}
E4	۱۷/۰۷±۰/۲۷^{a}	۹/۵۱±۰/۱۲^{a}	۴/۶۱±۰/۷۵	۲/۸۳±۰/۰۴	۶۵/۹۶±۰/۳۷^{c}

سنجش های مربوط به برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون کپور معمولی تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی حاوی پودر و عصاره الکلی یونجه با سطوح مختلف در (جدول ۷) آمده است که شامل سنجش میزان پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، تری گلیسرید، گلوکز، کلسترول، کلسیم و فسفر می باشد. همانطور که در جدول ۷ مشاهده می شود، میزان پروتئین کل، گلوبولین، تری گلیسرید، گلوکز، کلسترول و فسفر در تیمارهای P6، P9، P12، E3 و E4 با گروه شاهد تفاوت معنی داری داشتند (p<۰/۰۵)، اما در میزان آلبومین و کلسیم بین تیمارها با گروه شاهد تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

بر اساس نتایج بدست آمده، بیشترین میزان سطوح پروتئین کل، گلوبولین، گلوکز، کلسیم و فسفر، در تیمارهای P12 و E4 مشاهده گردید و همچنین کمترین میزان کلسترول و تری گلیسرید در تیمارهای P12 و E4 مشاهده گردید. همچنین با افزایش سطوح عصاره و پودر یونجه در جیره غذایی، یک روند افزایشی در پارامترهای ذکر شده مشاهده گردید.

جدول ۷. مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون کپور ماهیان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه

تیمارهای آزمایشی	پارامترهای بیوشیمیایی سرم							
	پروتئین کل (mg/dl)	آلبومین (mg/dl)	گلوبولین (mg/dl)	تری گلیسرید (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	گلوکز (mg/dl)	کلسیم (mg/dl)	فسفر (mg/dl)
کنترل	۳/۰۰±۰/۰۷^{d}	۱/۶۰±۰/۰۶	۱/۴۱±۰/۰۶^{c}	۲۴۸/۸۸±۵/۲۲^{a}	۱۰۴/۶۲±۲/۰۱^{a}	۶۸/۷۵±۱/۴۵^{c}	۸/۷۵±۰/۱۱	۹/۱۸±۰/۱۳^{b}
P3	۳/۱۴±۰/۱۰^{cd}	۱/۵۴±۰/۱۰	۱/۶۰±۰/۱۵^{c}	۲۴۵/۵۰±۳/۴۱^{a}	۱۰۲/۷۵±۲/۱۲^{ab}	۷۱/۷۵±۲/۹۰^{bc}	۸/۷۵±۰/۲۰	۹/۲۷±۰/۱۶^{b}
P6	۳/۴۰±۰/۱۱^{bc}	۱/۴۵±۰/۰۶	۱/۹۴±۰/۱۴^{b}	۲۲۴/۸۸±۵/۹۰^{b}	۹۶/۶۲±۲/۱۴^{bc}	۷۶/۱۲±۲/۹۱^{ab}	۸/۸۶±۰/۲۳	۱۰/۶۶±۰/۴۰^{a}
P9	۳/۷۲±۰/۱۱^{a}	۱/۳۳±۰/۰۹	۲/۳۸±۰/۱۴^{a}	۱۹۶/۵۰±۴/۱۳^{c}	۹۵/۵۰±۳/۰۶^{c}	۷۷/۸۷±۱/۸۷^{ab}	۹/۲۳±۰/۲۰	۱۰/۷۰±۰/۳۶^{a}
P12	۳/۶۹±۰/۱۴^{ab}	۱/۴۷±۰/۱۲	۲/۲۱±۰/۰۷^{ab}	۱۸۴/۰۰±۵/۷۷^{c}	۹۶/۳۷±۱/۳۶^{bc}	۷۷/۳۷±۲/۶۵^{ab}	۹/۲۷±۰/۱۹	۱۰/۷۷±۰/۲۱^{a}
E1	۳/۰۸±۰/۰۹^{d}	۱/۶۰±۰/۱۰	۱/۴۸±۰/۰۹^{c}	۲۴۳/۰۰±۶/۷۶^{a}	۱۰۳/۶۲±۱/۳۱^{a}	۶۸/۷۵±۲/۹۶^{c}	۸/۷۶±۰/۱۳	۹/۲۱±۰/۲۴^{b}
E2	۳/۱۳±۰/۰۹^{cd}	۱/۵۸±۰/۰۸	۱/۵۴±۰/۰۹^{c}	۲۴۰/۳۸±۶/۵۸^{a}	۱۰۳/۰۰±۲/۷۸^{ab}	۷۱/۳۷±۲/۸۸^{bc}	۸/۷۶±۰/۱۲	۹/۲۶±۰/۲۸^{b}
E3	۳/۶۴±۰/۱۴^{ab}	۱/۴۸±۰/۱۵	۲/۱۵±۰/۱۶^{ab}	۲۱۷/۸۸±۳/۲۹^{b}	۹۶/۸۷±۲/۵۰^{bc}	۷۷/۰۰±۱/۸۵^{ab}	۹/۰۷±۰/۱۸	۱۰/۲۸±۰/۲۴^{a}
E4	۳/۷۱±۰/۰۷^{a}	۱/۴۰±۰/۰۷	۲/۳۰±۰/۱۰^{a}	۱۸۳/۳۸±۴/۷۵^{c}	۹۱/۶۲±۲/۸۶^{c}	۷۸/۸۷±۱/۰۶^{a}	۹/۲۱±۰/۱۴	۱۰/۷۶±۰/۳۲^{a}

وجود حروف غیرهمنام در هر ستون، نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین گروه های آزمایشی است ($P < ۰/۰۵$). تمام نتایج بر اساس میانگین ± خطای معیار بیان شده اند

جدول ۸. ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره یونجه مورد استفاده در این تحقیق

ردیف	نام ترکیب	درصد	ردیف	نام ترکیب	درصد
۱	Phytol	۲۱/۲۷	۳۲	Propane, 2,2-diethoxy	۰/۲۹
۲	Linoleic acid	۱۶/۷۸	۳۳	5-Methyl-1-heptene	۰/۲۸
۳	Palmitic acid	۱۲/۹۱	۳۴	Methyl heptadecyl ketone	۰/۲۷
۴	Mome inositol	۱۱/۳۱	۳۵	N-(4-Fluorophenyl)-N-(4-nitrophthalimidomethyl)benzamide	۰/۲۷
۵	Neophytadiene	۷/۸۶	۳۶	1-(3,6,6-Trimethyl-1,6,7,7a-tetrahydrocyclopenta[c]pyran-1-yl)ethanone	۰/۲۷
۶	Oleic acid	۷/۴۰	۳۷	Undecene,10-methyl	۰/۲۶
۷	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	۲/۶۹	۳۸	1,3,12-Nonadecatriene	۰/۲۴
۸	Cyclopentadecanone, 2-hydroxy	۱/۱۶	۳۹	2-ethylbutanoate	۰/۲۴
۹	Phytene	۱/۰۹	۴۰	Hexadecane	۰/۲۴
۱۰	4,6-Di-O-methyl-/alpha/-d-galactose	۱/۰۸	۴۱	Farnesyl acetone	۰/۲۱
۱۱	Skatole	۱/۰۶	۴۲	Tetradecane	۰/۲۱
۱۲	3-Mercapto-2(1H)-pyridinone	۰/۹۲	۴۳	propane 2,2 dimethoxy	۰/۲۰
۱۳	Phenol, 2-methoxy-4-vinyl	۰/۹۰	۴۴	Loliolide	۰/۲۰
۱۴	Octoil	۰/۷۰	۴۵	3-Heptadecanone	۰/۱۹
۱۵	Trans-(+)-Carveol	۰/۶۷	۴۶	Propylamine	۰/۱۹
۱۶	Propiophenone	۰/۶۳	۴۷	2-Methyl-2-butenolide	۰/۱۹
۱۷	Dihydroactinidiolide	۰/۵۸	۴۸	Methyl pentadecyl ether	۰/۱۸

۱۸	2-Ethyl-3-methylmaleimide	۰/۵۶	۴۹	2-Vinyl-9-[/beta/-d-ribofuranosyl]hypoxanthine	۰/۱۸
۱۹	4-methyl-7-methylethenyl-3,8-dioxatricyclo(2-4]octane	۰/۴۷	۵۰	Methyl /beta/-d-galactopyranoside	۰/۱۷
۲۰	Styrene epoxide	۰/۴۷	۵۱	Decanoic acid	۰/۱۶
۲۱	Tributyl amine	۰/۴۱	۵۲	2,6,6-trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde	۰/۱۵
۲۲	2-Methyl-4-ethoxycarbonyl-isoxazole	۰/۳۷	۵۳	1,2-diaza-1-phenyl-3-methyl-4-(3,4,5-trimethoxy phenyl carbonyl amino methyl)-cyclopent-3-en-5-one	۰/۱۵
۲۳	2-Amylfuran	۰/۳۶	۵۴	Monoolein	۰/۱۵
۲۴	8-Oxa-9-ketotricyclo (2,6)]undecane	۰/۳۶	۵۵	Cyclohepta siloxane,tetradeca methyl	۰/۱۵
۲۵	Cyclopentadecanolide	۰/۳۴	۵۶	7-Hexadecenoic acid, methyl ester	۰/۱۴
۲۶	Phenic acid	۰/۳۳	۵۷	1,2-Epoxy-۱-vinylcyclododecene	۰/۱۳
۲۷	Benzeneacetonitrile, 3-fluoro	۰/۳۳	۵۸	Toluene	۰/۱۳
۲۸	Beta-Ionone	۰/۳۱	۵۹	Dodecamethylcyclohexasiloxane	۰/۱۲
۲۹	Methyl vinyl maleimide	۰/۳۰	۶۰	1,3,12-Nonadecatriene	۰/۱۲
۳۰	1,7-dimethyl-2-oxo-7-(4'-formyl-butyl)-norbornane	۰/۳۰	۶۱	Bis(trimethylsiloxy)acetone	۰/۱۲
۳۱	2-Dodecanon	۰/۳۰			

جدول ۹. آنالیز بیوشیمیایی تقریبی پودر یونجه مورد استفاده در این تحقیق

	ترکیبات				
پودر یونجه	پروتئین(٪)	چربی(٪)	خاکستر(٪)	کربوهیدرات(٪)	رطوبت(٪)
	۲۳/۹۷	۴/۲۲	۸/۴۷	۸/۱۸	۵۵/۱۶

نتایج مربوط به شاخص نسبت تبدیل اقتصادی در جدول ۱۰ به این شرح است که بیش ترین میزان مربوط به تیمار P۱۲ و کم ترین آن مربوط به تیمار شاهد می باشد که با هم دارای اختلاف معنی داری هستند ($P<۰/۰۵$) اما بین تیمار شاهد با تیمارهای P۳، P۶، P۹ و E۴ اختلاف معنی داری وجود ندارد ($P>۰/۰۵$).

جدول۱۰. سنجش شاخص نسبت تبدیل اقتصادی ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر و عصاره الکلی یونجه (n=۳)

	تیمارهای آزمایشی								
نسبت تبدیل اقتصادی	شاهد	P۳	P۶	P۹	P۱۲	E۱	E۲	E۳	E۴
	۶۷۵۴^{c}	۷۸۰۱^{c}	۸۰۶۳^{c}	۸۲۰۳^{c}	۱۷۱۳۹^{a}	۱۰۲۱۴^{b}	۱۰۵۹۹^{b}	۱۰۷۷۱^{b}	۸۳۳۴^{c}

وجود حروف غیرهمنام، نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین گروه های آزمایشی است ($p <۰/۰۵$). تمام نتایج بر اساس میانگین ± خطای معیار بیان شده اند.

۴. بحث و نتیجه گیری

عمدتاً گیاهان دارویی حاوی آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، رنگدانه ها، ترکیبات فنولی، ترپنوئیدها، استروئیدها و اسیدهای چرب ضروری (امگا ۹ و امگا ۶) بوده، به همین علت از این تولیدات به عنوان یک ماده مقوی، اشتها آور و تحریک کننده رشد در تغذیه آبزیان استفاده می شود (Sivaram *et al.*, 2004). جیره های غذایی که حاوی گیاهان دارویی هستند، تاثیرات متفاوتی بر گونه های مختلف دارند. گیاه

یونجه نیز به عنوان یک مکمل غذایی گیاهی (فیتوبیوتیک) جایگزین مناسبی برای پروتئین در پارامترهای رشدی بکار می رود، همچنین بدلیل ارزش غذایی بالای یونجه، در گذشته این گیاه را با نام گیاه درمانگر یاد می کردند (Gavel and Grazelak, 2012). از دلایل مهم و قابل قبول در بهبود شاخص های رشد و وضعیت، در رابطه با استفاده از گیاه یونجه تا سطح معینی، می توان به وجود سیستم چندگانه پروتئینی با اثرات متقابل در گیاه یونجه اشاره نمود که دارای انحلال پذیری مشابه کازئین می‌باشد. همچنین از نظر اسیدهای آمینه یک ماده مغذی با کیفیت خوب به حساب می آید (Fiorentini and Galoppini, 1981). از طرفی استفاده از یونجه طبق یافته های Zhang و همکاران (۲۰۰۹) به طور معنی داری ($P < ۰/۰۵$) باعث افزایش فعالیت آنزیم های آمیلاز و پروتئاز در روده و هپاتوپانکرآس می شود که این امر بهبود شرایط هضم و گوارش غذا را به دنبال دارد. اسید های آمینه موجود در یونجه تشکیل کمپلکس هایی می دهند که برای بافت ماهیچه و آنزیم ها بسیار مهم و ضروری تلقی می شوند که افزایش وزن و راندمان تغذیه را به دنبال دارد. همچنین کربوهیدرات های غیر سلولزی موجود در یونجه به طور صد درصد در تولید انرژی نقش داشته و به سرعت هضم می شوند که در نهایت رشد بیشتر را به دنبال خواهد داشت.

براساس سایر گزارشات موجود و داده های جدول ۸، گیاه یونجه دارای اجزای ضروری مثل اسیدهای چرب ضروری (لینولئیک، لینولنیک و آرشیدونیک اسید)، ویتامین ها، پروتئین ها، مواد معدنی و روغن های ضروری می باشند که اثرات مثبت این اجزای مهم و ضروری بر رشد انواع ماهی ها به دفعات به اثبات رسیده است (Murray *et al.*, 1991; Abdel-Latif *et al.*, 2004). هر چند که در خصوص علت اصلی کاهش رشد در برخی از مطالعات در سطوحی خاص را می توان به حضور برخی بازدارنده ها مثل بازدارنده تریپسین در بافت گیاهی نسبت داد (Soto et al,.1960) که فعالیت این بازدارنده ها هضم و جذب پروتئین را دچار مشکل می‌کند (Juancey And Rose,1982)، همچنین علاوه بر بازدارنده تریپسین می توان به حضور بازدارنده پروتئاز، ساپونین، فیتواستروژن ها، ضد ویتامین ها (Francis *et al.*, 2005)، فنول ها و تانن ها (Francis *et al.*, 2005)، فیتازها، ال کاناوانین، متابولیت های ثانویه (کامسترول و ایزوفلاون) (Tetens *et al.*, 2009) و فیتات ها (Gavel and Grazelak, 2012)، فلاونوئیدها و توکول ها (Eskin and Tamir, 2006) اشاره کرد.

ترکیباتی مثل ساپونین ها، ترپنوئیدها، استروئیدها، فنول ها، کومارین، فلاونوئید، تانین، آلکالوئیدها، سیانوژنیک گلوکوزید ها در گیاهان به عنوان سم شناخته شده (Rice, 1984) که حضور این مواد در گیاه یونجه از عوامل اصلی کاهش رشد با بالا رفتن سطح پودر این گیاه در جیره محسوب می شود. اثر منفی یونجه بر رشد و کارایی تغذیه در ماهی ممکن است به دلیل میزان بالای سلولز باشد (Miguel, 1990) زیرا افزایش سلولز روی میزان هضم و جذب غذا اثر گذاشته و کاهش رشد را به دنبال دارد. عمل عصاره گیری در تحقیق حاضر باعث حذف سلولز شده و با افزایش سطح عصاره یونجه به تیمارهای آزمایشی هیچ کاهش رشدی مشاهده نگردید.

با افزایش سطح پودر یونجه در جیره غذایی میزان ساپونین نیز افزایش می یابد (Chatzifotis *et al.*, 2006) ساپونین بدلیل اینکه دارای خاصیت دترجنتی است می تواند برای غشای بیولوژیکی خطرناک باشد و ایجاد سمیت کند (Francis *et al.*, 2001 ; Francis *et al.*, 2002). از طرفی کاهش رشد و راندمان تغذیه در سطوح بالای استفاده از پودر یونجه در تیمارهای آزمایشی را می توان به کمبود اسیدهای آمینه ضروری نسبت داد (Miguel, 1990) به ویژه کمبود گوگرد که اولین محدود کننده در تولید اسیدهای آمینه می باشد (Fiorentini and Galoppini,1981).

به منظور آگاهی از مواد مغذی مورد استفاده ماهی، شاخص های وضعیت از جمله شاخص کبدی و احشایی مورد سنجش قرار می گیرد که بیانگر شرایط فیزیولوژیکی بدن ماهی است (Cui and Wootton, 1988). وضعیت کبدی هرگونه آبزی به میزان ذخیره انرژی در کبد و نوع تغذیه در آن بستگی دارد (Pyle *et al.*, 2005) به طور مثال اگر میزان چربی یا منبع

چربی در جیره غذایی تغییر کند باعث تغییر در میزان انباشته شدن چربی در بافت کبد و تغییر اندازه هپاتوسیت ها و نهایتاً تغییر اندازه در حجم کبد می‌شود که این امر مسبب تغییر اندازه در وزن احشا می گردد (Bolasina and Fenucci, 2007). تغییرات در شاخص های وضعیت را می توان به تاثیر اسیدهای چرب موجود در این گیاه نسبت داد زیرا تاثیر مستقیم بر سوخت و ساز چربی ها در کبد دارند، در نتیجه باعث افزایش حجم کبد و بالا رفتن شاخص کبدی می گردند (Al- Gaby, 1992).

شاخص های تغذیه ای شامل نسبت تبدیل غذایی، نسبت بازده غذایی، نسبت بازده پروتئین، نسبت بازده چربی و کل غذای مصرف شده می باشد که با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، بهترین نسبت تبدیل غذایی با اختلاف معنی دار نسبت به تیمار شاهد مربوط به تیمارهای P۶، P۹، E۳ و E۴ می باشد ($P <$ ۰/۰۵) که این نتیجه برای شاخص نسبت بازده غذایی نیز صدق می کند. با افزودن پودر یونجه به تیمارهای آزمایشی تا سطح ۹ درصد باعث افزایش معنی دار نسبت بازده پروتئین و چربی در تیمارها شده ($P <$ ۰/۰۵) ولی افزودن سطح ۱۲ درصد باعث کاهش نسبت بازده پروتئین و چربی شده که بین این تیمار و تیمار شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود ($P >$ ۰/۰۵). در رابطه با عصاره یونجه نیز می توان این گونه بیان کرد که هر چه میزان عصاره یونجه در تیمارهای آزمایشی بیشتر شده، میزان نسبت بازده پروتئین و چربی نیز با اختلاف معنی دار نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته است. برای شاخص کل غذای مصرف شده در این تحقیق نیز از نظر آماری تفاوت معنی داری بین تمامی تیمارها مشاهده نشد ($P >$ ۰/۰۵).

از دلایل مهم برای بهبود شاخص های تغذیه‌ای در برخی از مطالعات و همچنین تحقیق حاضر می توان به حضور مواد پروتئینی در گیاه یونجه اشاره کرد. ارزش هر منبع پروتئینی که مورد تغذیه ماهی قرار می گیرد بر اساس میزان و قابلیت دسترسی به آمینواسیدهای آن سنجیده می شود که نهایتاً تاثیر مستقیم بر رشد و تغذیه ماهی دارد. تغییرات در میزان نسبت بازده پروتئین به دلیل نوع مواد تغذیه ای با نسبت های مختلف که در جیره غذایی بکار برده می شوند، بوجود می آید. از طرفی نوع گونه ماهی نیز تاثیر بسزایی در این امر می گذارد (Kangombe *et al.*, 2007).

به نظر می رسد دلایل افت در شاخص های رشد و تغذیه شامل عوامل مختلف از جمله بر هم خوردن تعادل جیره غذایی، کاهش در میزان قابلیت هضم پروتئین و استفاده ماهی از پروتئین جیره به عنوان منبع انرژی باشد زیرا با افزایش سطح پروتئین جیره، اسیدهای آمینه آزاد نیز افزایش یافته و برای تبدیل شدن به آمونیاک و دفع نیاز به صرف انرژی دارد و یا اینکه با زیاد شدن میزان پروتئین گیاهی در جیره، بازدارنده های فعالیت پروتئازی موجود در گیاه نیز زیاد شده و باعث کاهش قابلیت هضم می شوند (Brauge *et al.*, 1995). در جیره هایی که انرژی بالایی دارند دریافت غذا توسط ماهی کاهش یافته و در نهایت باعث عدم دریافت مواد مغذی مورد نیاز رشد و تغذیه را به دنبال دارد (Ali and Jauncey, 2005).

بهبود شاخص های تغذیه ای را می توان به آنتی اکسیدان های موجود در گیاه از جمله پلی فنول ها، ویتامین C، ویتامین E، بتا کاروتن، آهن، روی، مس و سلنیوم نیز نسبت داد (Ben Aziz *et al.*, 2006) همچنین طی آنالیزی که از عصاره یونجه با روش گاز کروماتوگرافی بدست آمد، ترکیبات آروماتیک و معطری چون پروپیوفنون، دهیدرواکتینیدیولید، استیرن آپوکساید، بتایونون ودودکانون مشاهده شد که می تواند باعث جذب و تحریک ماهی به تغذیه شود.

از دلایل دیگر بهبود شاخص های تغذیه ای در تحقیق حاضر را می توان به حضور کاروتنوئیدها بعنوان یکی از اجزای عمده موجود در این گیاه نسبت داد. کارتنوئید ها تنها محدود به ایجاد رنگ عضله و پوست ماهی ها نمی باشند، بلکه حضور آنها در جیره غذایی هضم و جذب مواد غذایی را افزایش داده و منجر به بهبود رشد می گردند (Storebakken and Choubert, 1991). کارتنوئید ها نقشی مشابه عملگر بیولوژیکی آلفا توکوفرول (ویتامین E) دارند (Krinsky, 1993). کارتنوئیدهای گیاهی بر متابولیسم، تسریع هضم و جذب و افزایش بهره وری از مواد غذایی اثر مثبت گذاشته و نهایتاً باعث افزایش

رشد و تغذیه در ماهیان می گردند (Amar *et al.*, 2001).

ترکیبات بیوشیمیایی لاشه از شاخص های مهم جهت بررسی شرایط فیزیولوژیک ماهی است که شامل پروتئین، چربی، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت می باشد (Aberoumad and Pourshafi, 2010) که تحت تاثیر عوامل مختلف از جمله جیره غذایی مورد استفاده (Du *et al.*, 2005)، فصل (Kandemir and Polat, 2007)، دما و گونه ماهی است (Kheriji *et al.*, 2003). در تحقیق حاضر طبق نتایج بدست آمده در جدول ۶ می توان این گونه بیان کرد که استفاده از پودر و عصاره الکلی یونجه در سطوح مختلف تاثیر معنی داری ($P <$ ۰/۰۵) بر ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی از جمله پروتئین، چربی و رطوبت می گذارد. در تحقیق حاضر کم ترین میزان پروتئین لاشه مربوط به تیمار شاهد بود که بر اساس آزمون دانکن با همه تیمارها بجز E۱ و E۲ دارای اختلاف معنی دار بود ($P <$ ۰/۰۵). به طور کلی میزان پروتئین لاشه در کپور ماهیان ۱۶ درصد وزن کل بدن ثبت گردیده است (FAO, 2008). همچنین بالاترین سطح پروتئین لاشه به تیمار E۴ با میزان ۰/۲۷±۱۷/۰۷ مربوط می شود که از لحاظ رشد و تغذیه نیز بهترین نتیجه را نشان داده بود. زیرا کارایی رشد ماهی ها با میزان پروتئین جیره غذایی ارتباط مستقیم دارد چرا که از پروتئین در مسیرهای متابولیکی به عنوان منبع انرژی استفاده می کنند (Hepher,1988).

گیاه یونجه بدلیل دارا بودن سطح بالای پروتئین (۲۳/۹۷ درصد) تاثیر بسزایی در میزان پروتئین لاشه می گذارد. با افزایش میزان پروتئین در جیره های غذایی، افزایش ذخیره پروتئین در ترکیبات لاشه نیز مشاهده شد که این نتیجه با مطالعات Martinez - Palacios و همکاران (۱۹۸۸)، Olvera-Novoa و همکاران (۱۹۹۰) و Nabil و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد. اما Ali و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که پودر یونجه در جیره تیلاپیای نیل تاثیری بر پروتئین خام لاشه ندارد.

در این پژوهش بالاترین میزان چربی لاشه در تیمار E۴ مشاهده گردید. هر چقدر میزان چربی در جیره غذایی بالاتر باشد میزان ذخیره چربی در احشا نیز افزایش می یابد (Martino *et al.*, 2002) که در آخر سبب افزایش محتوای چربی در لاشه ماهی می‌گردد. این روند در تحقیق حاضر نیز مشاهده گردید، چرا که با افزایش میزان چربی بدون تفاوت معنی دار ($P >$ ۰/۰۵) در جیره های آزمایشی، افزایش ذخیره چربی در لاشه ماهیان مشاهده گردید.

آنالیز واریانس یک طرفه اختلاف معنی داری بین تمامی تیمارها بجز تیمارهای P۳، E۱ و E۲ با گروه شاهد در میزان چربی لاشه نشان داد ($P <$ ۰/۰۵). از دلایل افزایش میزان چربی در لاشه ماهی ها می توان به حضور انواع اسیدهای چرب اشباع و ضروری سری n-۳، n-۹، اسید دکانوئیک و اسید پالمیتیک اشاره کرد (جدول۸)، این چربی ها نقش مهمی در شکل گیری چربی های غشای سلولی دارند (Ghaedi, 2014).

در بدن ماهیان میزان رطوبت و چربی دارای رابطه عکس می باشد (Yigit *et al.*, 2010) همچنین، Yildiz و همکاران (۲۰۰۷) نیز از رابطه معکوس بین میزان رطوبت و چربی گزارش دادند. بیش ترین میزان رطوبت در تیمار شاهد مشاهده گردید که با همه تیمار ها بجز تیمارهای E۱ و E۲ دارای اختلاف معنی داری است ($P <$ ۰/۰۵). در تیمار شاهد که کم ترین میزان چربی مشاهده شده بود، بیش ترین میزان رطوبت را نشان داد که دلیل این امر جایگزین شدن چربی های کاتابولیز شده با حجم برابر آب می باشد (Halver and Harday, 2002).

در این پژوهش نوسانات میزان خاکستر لاشه بر اساس نتایج آزمون دانکن تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ($P >$ ۰/۰۵). از دلایل روند کاهشی میزان خاکستر لاشه می توان به حضور ترکیبات فنولی در یونجه (Hall and Henderlong, 1989) اشاره نمود که باعث خارج شدن مواد معدنی از دسترس ماهی می شوند. در اصل ترکیبات فنولی با باند شدن با کربوهیدرات و مواد معدنی باعث کاهش قابلیت هضم نیز می شوند (Jose *et al.*, 2006; Reed, 1995) به همین دلیل روند کاهشی در میزان کربوهیدرات مشاهده گردید لذا این کاهش بین تیمارها اختلافی از لحاظ معنی دار بودن نداشت ($P >$ ۰/۰۵).

مطالعه روی آخرین تحقیقات نشان داده است

که پارامترهای بیوشیمیایی و سطوح سرمی آنها تحت تاثیر گونه (Catton, 1951)، سن (Hutton, 1967)، دمای آب (Hesser, 1960) و جیره غذایی (Smith, 1968) قرار می گیرد. برخی مطالعات نشان داده اند که نوع و میزان مصرف غذا توسط ماهی و رشد آن به محتوای شیمیایی و ارزش تغذیه ای گیاهان (نظیر محتوای انرژی خام جیره و پرتئین جیره) بستگی دارد (Shireman, *et al.*, 1983; Du *et al.*, 2005). گیاه یونجه حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات شامل ساپونین ها، فلاوونوئیدها، تانین ها، کومسترول، کارتنوئیدها و توکول ها می باشد. فلاوونوئیدها دارای خصوصیات مهمی بوده و شامل گلیکوزیدهای آپی ژنین، لوتئولین و تریسین می باشند (Packer *et al.*, 1999). گیاه یونجه دارای خصوصیت آنتی کلسترولمیا بوده و منبع غنی از آنزیم ها، مواد معدنی و ویتامین ها می باشد. دارای اثرات پیشگیری کننده از فشار خون بالا، دیابت و زخم های پپتیک می باشد. همچنین این گیاه حاوی کارتنوئیدها (شامل لوتئین)، تری ترپن ها، ایزوفلاوونوئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک، همچنین پیش سازهای ویتامین های A، B6، B12، D، K، E و P، کلسیم، فسفر و آهن، پتاسیم، منیزیم، کولین، سدیم، سلیکون و آنزیم های ضروری برای انجام عمل گوارش می‌باشد (Khare, 2007).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده افزایش مقادیر گلوکز و پروتئین تام در سرم خون ماهیان مورد مطالعه بوده است. Zhang و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که استفاده از یونجه در جیره غذایی ماهی کپور معمولی باعث افزایش فعالیت آنزیم های پروتئاز و آمیلاز در روده ماهی کپور معمولی می شود. وجود مقادیر بالای آنزیم های گوارشی نظیر آمیلاز و پروتئاز در غذا و دستگاه گوارش، منجر به افزایش فرآیند گوارش و در نتیجه افزایش جذب مواد غذایی از روده و به تبع آن، افزایش سطوح گلوکز و پروتئین در سرم خون ماهیان مورد مطالعه شده است. Mansoub و Myandoab (۲۰۱۲) گزارش نمودند که استفاده از سطح ۲٪ یونجه در غذای Japanese quail باعث افزایش گلوکز سرم خون می شود که با یافته های ناشی از این تحقیق همخوانی دارد. Hwang و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که یونجه منبعی غنی از ویتامین C بوده و دارای فعالیت آنتی اکسیدانتی بالایی بوده و اکسیداسیون LDL را مهار می کنند. اثر مهاری یونجه به اثرات سینرژیستیک فلاوونوئیدها و فیتواستروژن ها با آسکوربیک اسید در عصاره گیاه یونجه مرتبط است. همچنین افزودن یونجه به جیره غذایی مرغ، با عث کاهش معنی داری در میزان محتوای کلسترول زرده تخم مرغ گردید (Khajali *et al.*, 2007). در واقع کاهش کلسترول زرده می تواند ناشی از وجود برخی ترکیبات نظیر ساپونین در ترکیب یونجه باشد که دارای اثرات هایپوکلسترولمیا می باشد (Sidhu & Oakenfull, 1986). بعلاوه فیبرهای یونجه می تواند با عث افزایش حذف صفرا و در نتیجه کاهش کلسترول گردد. (Calvert & Yeates, 1982). Olvera-Novoa و همکاران (۱۹۹۰) در تحقیق خود بر روی ماهی تیلاپیای موزامبیکوس، گزارش نمودند که استفاده از گیاه یونجه در جیره غذایی این گونه باعث افزایش میزان پروتئین لاشه و کاهش میزان چربی لاشه می گردد. نتایج این تحقیقات با تحقیق تحقیق حاضر همخوانی دارد که استفاده از سطوح محتلف عصاره وپودر یونه منجر به کاهش میزان کلسترول و تری گلیسرید در سرم خون ماهیان مورد مطالعه گردید. Guclu و همکاران (۲۰۰۴) از مزایای مکمل یونجه در غذا را، کاهش مقادیر تری گلیسرید در زرده تخم Quail ذکر نمودند. Mansoub و Myandoab (۲۰۱۲) گزارش نمودند که استفاده از سطح ۲٪ یونجه در غذای Japanese quail باعث کاهش میزان کلسترول و تری گلیسرید و افزایش گلوکز سرم خون می شود. در تحقیقی دیگر، Akiba و Matsumoto (۱۹۸۲) دلیل اصلی کاهش کلسترول و تری گلیسرید سرم خون را ناشی از وجود ترکیباتی نظیر کارواکرول و تیمول در گیاهان ذکر نموده اند. این ترکیبات دارای اثر مثبت بر کلسترول و تری گلیسرید و کاهش آنها در خون می باشد (Zargari, 2001). با توجه به اینکه در آنالیز GC/Mass گیاه یونجه (جدول ۸) بکار رفته در این آزمایش ترکیباتی نظیر ساپونین و تیمول جداسازی شده است، دلیل کاهش میزان کلسترول و تری گلیسرید سرم را می توان اثرات این ترکیبات مطرح نمود. به بیان دیگر، ساپونین ها در یونجه ترشح اسیدهای صفراوی را افزایش می دهند و ترشح

استروئیدها (ترشح کلسترول از بدن) را افزایش می‌دهند و همچنین باعث کاهش نسبت کلسترول تام به کلسترول HDL در خون حیوانات می شوند (Gawel and Grzelak, 2012). تغییرات لیپید در بدن حیوانات و کاهش مقادیر جذب کلسترول روده ناشی از مقادیر زیاد ساپونین در یونجه توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Czech *et al.*, 2010; Reshef *et al.*, 2006). همچنین تحقیقات قبلی نشان داده است که یونجه گیاهی است که منبع مناسبی از ترکیبات معدنی خصوصا، فسفر و کلسیم می باشد (Khare, 2007). در واقع بالا بودن مقادیر کلسیم و فسفر جیره ناشی از افزودن این مکمل به جیره، می تواند منجر به افزایش سطوح سرمی این ترکیبات معدنی شده باشد. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و بهبود عملکرد رشد و تغذیه، بیوشیمیایی لاشه و همچنین افزایش سطوح سرمی پروتئین تام و گلوبولین از یک سو و کاهش مقادیر سرکی کلسترول و تری گلیسرید از سوی دیگر، و همچنین تاثیرات مثبت بر سطوح سرمی کلسیم و فسفر، یونجه را می توان به عنوان یک مکمل گیاهی مناسب جهت استفاده در جیره غذایی ماهی کپور معمولی، معرفی نمود.

همچنین افزودن پودر و عصاره الکلی یونجه به جیره های آزمایشی باعث بالا رفتن قیمت هر کیلوگرم جیره غذایی شد ولی با محاسبه نسبت تبدیل اقتصادی که از حاصل ضرب نسبت تبدیل غذایی در قیمت یک کیلو گرم جیره غذایی بدست می آید، پس از آزمون واریانس یک طرفه، اختلاف معنی داری بین تیمارهای E۴ و همه تیمارهای حاوی پودر بجز تیمار P۱۲ با تیمار شاهد در شاخص اقتصادی مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$) اما تیمارهای E۱، E۲ و E۳ با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی دار بودند ($P < ۰/۰۵$).

با توجه به افزایش رشد و عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای حاوی E۴، P۳، P۶ و P۹ با تیمار شاهد در نسبت تبدیل اقتصادی، استفاده از این مکمل گیاهی به صورت پودر و عصاره در سطوح ذکر شده برای ماهی کپور مقرون به صرفه می باشد.

۵. تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مجموعه مدیریت و پرسنل دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه، به منظور در اختیار قرار دادن آزمایشگاه، تجهیزات و حمایت مالی، بعمل می آورند.

References

Aberoumad, A., Pourshafi, K., 2010. Chemical and proximate composition properties of different fish species obtained from Iran. *World Journal of Fish Marine Science* 2(3): 237.239.

Abdel-Latif, S.A.A., El-Yamany, A.T., Edaly, E.A.F., 2004. Evaluation of using different levels and sources of medicinal herbs in growing Japanese quail diets. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds* 7, 69-81.

Akiba, Y., Matsumoto, T., 1982. Effects of dietary fibers on lipid metabolism in liver and adipose tissue in chicks. *Journal of Nutrition* 112, 1577-1585.

Al Gaby, A.M.M., 1992. Biochemical studies on Egyptian *Nigella sativa* L. oils. *Egyptian Journal of Applied Sciences* 7(5), 739-748.

Ali, M.Z., Jauncey, K., 2005. Approaches to optimizing dietary protein to energy ratio for African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Aquacture Nutrition* 11,95-101.

Amar, E. C., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe, T., 2001. Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defence mechanism in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research* 32: 162-173.

Artiss, J.D., Zak, B., 1997. Measurment of cholesterol concentration. In: Warnick GR and Dominicazak MH, Handbook of lipoprotein testing, Washington, AA CC Press, 99-114.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC)., 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.16th Edition, Arlington, VA, USA.

Barham, D., Trinder, P., 1972. An Improved Colour Reagent for the Determination of Blood Glucose by the Oxidase System. *Analyst* 97, 142-145.

Bauer, P.J., 1981. Affinity and stochiometry of calcium binding by arsenazo III. *Analytical Biochemistry* 110, 61-72.

Ben Aziz, A., Grossman, S., Budowski, P., Ascarelli, I. and Bondi, A. 2006. Antioxidant

properties of lucerne extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 19(10), 605-608.

Bolasina, S.N., Fenucci, J.L., 2007. Effect of dirtary lipid level on growth, survival and body composition of Brazilian codling (*Urophycis brasiliensis* Kaup, 1858). *Revista de Biologia Marina y Oceanografia* 42, 23-27.

Brauge, C., Corraze G., Medale F., 1995. Effect of dietary levels of lipid and carbohydrate on growth performance, body composition, nitrogen excretion and plasma glucose levels in rainbow trout rear at 8 or 18 °C. Reproduction Nutrition Development, 35, 517-520.

Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 1999. Clinical Chemistry, 3rd Ed., London, W. B. Saunders Publishing.

Catton, W.T, 1951. Blood cell formation in certain teleost fishes. *Blood* 6, 39-60.

Calvert, G.D., Yeates, R.A., 1982. Adsorption of bile salts by soya-bean flour wheat bran, Lucerne (Medicago sativa), sawdust and lignin: the effect of saponins and other plant constitutions, *British Journal of Nutrition* 47, 45-52.

Chatzifotis, S., Esteban, A.G., Divanach, P., 2006. Fishmeal replacement by alfalfa protein concentrate in sharp snout sea bream. *Fisheries Science* 72, 1313–1315.

Cole, T.G., Klotzsch, S.G., Namara, J., 1997. Measuerment of triglyceride concentration. In: Rafai, N., Warnick, G.R., Dominiczak, M.H., Hand book of lipoprotein testing, Washington, AA CC Press, 115-126.

Cristea, V., Antache, A., Grecu, I., Docan, A., Dediu, L., Mocanu, M., 2012. The Use of Phytobiotics in Aquaculture - University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iasi, 250- 255.

Cui, Y., Wootton, R. J., 1988. Effect of ration, temperature and body size on the body composition, energy content and condition of the minnow, (*Phoxinus phoxinus* L.). *Journal Fish Biology* 32, 749-764.

Czech, A., Ognik, K., Semeniuk, W., 2010. Effect of PX concentrate of alfalfa in turkey hens' feeding on blood biochemical parameters. In: Alfalfa in human and animal nutrition, Grela, E.R. (ed.). Stow. Rozwoju Regionalnego i Lokalnego "Progress" Dzierdziówka-Lublin, 6, 168–169.

Deeg, R., Ziegenhorn, J., 1983. Kinetic Enzymic Method for Automated Determination of Total Cholesterol in Serum. *Clinical Chemistry* 29, 1798-1802.

Du, Z.Y., Liu, Y.J., Tian, J.T., Wang, Y., Liang, G.Y., 2005. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition* 11, 139-146.

Eskin, N.A.M., Tamir, S., 2006. Dictionary of Nutraceuticals and Functional foods, Taylor and Francis Group, London, 768 p.

European Food Safety Authority, 2009. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies on a request from the European Commission on the safety of 'Alfalfa protein concentrate' as food. *The EFSA Journal* 997, 1-19.

FAO, 2008. The state of world Fisheries and aquaculture (SOFIA) FAO Fisheries and Aquaculture Department Food and Agriculture organization of the united nations Rome, Italy, Available from: http://www.fao.org/fishery/sofia/en.

Fiorentini, R. and Galoppini, C, 1981. Pilot plant production of an edible alfalfa protein concentrate. *Journal of Food Science* 46, 1514-1517.

Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197–227.

Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition* 88, 587–605.

Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2005. Quillaja saponins-a natural growth promoter for fish. *Animal Feed Science and Technology* 121, 147-157.

Gawel, E., Grzelak, M., 2012. The effect of a protein-xanthophyll concentrate from alfalfa (phytobiotic) on animal production – a current review. *Annuals of Animal Sciences* 12(3), 281–289.

Ghaedi, F. 2014. Effects of Green Cumin on growth performance, nutrition and carcass biochemical composition of *Cyprinus carpio* fingerlings, master's degree thesis, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, 116 p.

Guclu, B.K., Iscan, K.M., Uyanik, F., Rren, M., Agca, A.C., 2004. Effect of alfalfa meal in diets of laying quails on performance, egg quality and some serum parameters. *Archive of Animal Nutrition* 58(3), 255–263.

Halver, J.E., Hardy, R.W., 2002. Fish Nutrition. Academic Press.

Hall, M.H., Henderlong, P.R., 1989. Alfalfa autotoxic fraction characterization and initial separation. *Crop Science* 29, 425–428.

Hepher, B., 1988. Nutrition of Pond Fishes. Cambridge University. Press, Cambridge, Great Britain, 388 P.

Hesser, E.F., 1960. Method for routine fish hematology. *The progressive Fish Culturist* 22, 164-170.

Hutton, K.E, 1967. Characteristics of the blood of adult pinke salmon at three stages of maturity. Fishery *Bulletin of the Fish and Wild life Service* 66, 195- 202.

Hwang, J., Hodis, H.N., Sevanian, A., 2001. Soy and alfalfa phytoestrogen extracts become potent low-density lipoprotein antioxidants in the presence of acerola cherry extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 308-314.

Jauncey, K., Ross, B., 1982. A Guide to Tilapia Feed and Feeding. University of Stirling, Scotland, 111 p.

Jose, S., Mohan, M.V., Shyama, S., Nair, K.G.R., Mathew, P.T., 2006. Effect of soybeen meal-based diets on the growth and survival rate of the Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Ham). *Aquaculture Nutrition* 12, 275-279.

Johnson, A., Rohlfs, E., Silverman, L., Buris, C., Ashwood, E., 1999. Proteins. In: Tietz textbook of clinical chemistry, pp. 477-540.

Kandemir, S., Polat, N., 2007. Seasonal variation of total lipid and total fatty acid in muscle and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared in derbent dam lake. Turkish Journal of *Fisheries and Aquatic Sciences* 7, 27-31.

Kangombe, J., Likongwe, J.S., Eda, H., Mtimuni, J.P., 2007. Effect of varying dietary whole-body composition and growth of Malawian tilapia, *Oreochromiss hiranus*– oulenger. *Aquactue Research* 38, 373-380.

Khajali, F., Eshraghi, M., Zamani, F., Fathi, E., 2007. Supplementation of exogenous enzymes to laying hen diets containing alfalafa: influence upon performance and egg yolk cholesterol and pigmentation, 16th European Symposium on Poultry Nutrition, August 26 - 30, Strasbourg , France.

Khare, C.P., 2007. Indian Medicinal Plants, an illustrated dictionary, springer reference, New Delhi, 836 p.

Kheriji, S., Cafsi, M. E., Masmoudi, W., Castell, J. D., Romdhane, M. S., 2003. Salinityand temperature effects on the lipid composition of Mullet Sea fry (*Mugil cephalus*). *Aquaculture International* 11, 571- 582.

Krinsky, N., 1993. Actions of carotenoids in biological systems. *Annual Review of Nutrition* 13, 561–587.

Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., 2005. Effect of dietary carbohydrate on hematology, respiratory burst activity and histological changes in *Labeo rohita* juveniles. *Fish and Shellfish Immunology* 19, 331-344.

Mansoub, N.H., 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.

Martinez-Palacios, C.A., Galvan-Cruz, R., Olvera-Novoa, M.A., Chavez-Martinez, C., 1988. The use of jack bean (*Canavalia ensiformis* Leguminosae) meal as a partial substitute for fish meal in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus* Cichlidae). *Aquaculture* 68, 165-175.

Martino, R.C., Cyrino, J.E.P., Portz, L., Trugo, L.C., 2002. Effect of dietary lipid level on nutritional performance of the surubium (*Pseudoplatystoma coruscans*). *Aquaculture* 209, 209-218.

Michaylova, V., Ilkova, P., 1971. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Analytica Chimica Acta* 53, 194-8.

Miguel, A.O.N., Silvia Campos, G., Mirna Sabido, G., Carlos, A.M.P., 1990. The use of alfalfa leaf protein concentrates as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquaculture* 90, 291-302.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 1991. The text book of Harper's biochemistry. 22nd ed. Appleton and Large, Los Altos, California.

Nabil, F. Abd El—Hakim., Mohsen, S. Hussein., Hassaein, A. Abdel-Halim., 2009. Effects of partial replacement of soybean meal protein with dehydrated alfalfa meal (*Medicago sativa* L.) on growth performance and feed utilization of male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings reared in tanks. Egyptian *Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 13(2), 35-52.

Nelson, J.S. 2006. Fishes of The World, 4th ed., John Wiley and Sons Inc publisher, New Jersey, pp: 138-148.

Nya, E.J., Austin, B., 2009. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control Aeromonas hydrophila infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 32, 971-977.

Olvera-Novoa, M.A., Silvia Campos, G., Sabido, G.M., Martinez Palacios, C.A., 1990. The use of alfalfa leaf protein concentrates as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquaculture* 90, 291-302.

Packer, L., Hiramatsu, M., Yoshikawa, T., 1999. Antioxidant food supplements in human health, academic press, San Diego.

Putnam, D.H., Robinson, P., DePeters, E.D., 2008. Forage Quality and Testing, Irrigated alfalfa management for Mediterranean and desert zones, chapter 16, University of California, Division of agriculture and natural resources publication, pp, 25

Pyle, G.G., Rajotte, J.W., Couture, P., 2005. Effect of industrial matals on wild fish populations along a metal contamination gradient.

Ecotoxicology and Invironmental Safety 61, 287-312.

Rechulicz, J., Ognik, K., Grela, 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* (L.), *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 14, 697-703.

Reed, JD., 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. Journal of Animal Science, 73: 1516–1528.

Reshef, G., Gestetner, B., Birk, Y., Bondi, A., 2006. Effect of alfalfa saponins on the growth and some aspects of lipid metabolism of mice and quails. *Journal of Science of Food and Agriculture* 27(1), 63–72.

Rice, E. L., 1984. Allelopathy. Academic Press, Orlando, Florida. 422 pp. SAS Institute. 1988. SAS/ STAT User's Guide, 6.03 ed. SAS Institute, Cary, North Carolina, 108 p.

Rifai, N., Bachorik, P.S., Albers, J., 1991. Lipids, lipoprotein and apolipoprotein. In: Tietz text book of clinical chemistry, Burtis, C.A., Ashwood, E.R., 3th ed. Philadelphia, W.B.Saunder, pp. 809-861.

Sacks, D.B., 1999. Carbohydrate. In: Buotis CA, Ashwood ER. Tietz text book of clinical chemistry, 3rd ed. Philadelphia, W.B.Saunder, pp. 750-808.

SalighehZadeh, R., Yavari, V., Mousavi, S.M., Zakeri, M., 2015. Effects of nutritional supplementation of *Spirulina platensis* on immune parameters of complement and lysozyme activity in *Mesopotamichthys sharpeyi* (Gunther, 1874), *Journal of Aquatic Ecology* 5(1), 44-50.

Shireman, J.V., Rottman, R.W., Aldridge, F.J., 1983. Consumption and growth of hybrid grass carp fed four vegetation diets and trout chow in circular tanks. *Journal of Fish Biology* 22, 685-693.

Sidhu, G.S., Oakenfull, P.G., 1986. A mechanism for the hypocholeserolaemic activity of saponins. *British Journal of Nutrition*, 55, 643-649.

Sivaram, V., Babu, M.M., Citarasu, T., Immanuel, G., Murugadass, S., Marian, M.P., 2004. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. *Aquaculture* 237. 9-20.

Smith, C.E., 1968. Hematological Changes in Coho salmon fed folic acid deficient diet. Journal of *Fisheries Research Board of Canada* 25,151-156.

Soto, J.R., Mitchell, H.L., 1960. The trypsin inhibitor of alfalfa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 8, 393–395.

Storebakken, T., Choubert, G., 1991. Flesh pigmentation of rainbow trout fed astaxanthin or canthaxanthin at different feeding rates in freshwater and saltwater. *Aquaculture* 95, 289- 295.

Tetens, I., 2009. Opinion on the safety of 'Alfalfa protein concentrate'as food: EFSA-Q-2008-031. European Food Safety Authority.

Thomas, L., 1998. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. frankfurt: TH-book verlagsgesellchaft.

Yigit, M., Ergün, S., Türker, A., Harmantepe, B., Erteken, A., 2010. Evaluation of soybean meal as a protein source and its effect on growth and nitrogen utilization of black sea turbot (*Psetta maeotica*) juveniles. *Journal of Marine Science and Technology* 18, 682-688.

Yildiz, M., Şener, E., Timur, M. 2007. Effects of variations in feed and seasonal changes on body proximate composition of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 7, 45.51.

Zargari, A., 2001. Medical plants. Second edition. Tehran University Press.

Zarif Manesh, T., Zoreh Zahra, S., 2012. Sustainable development, Persistent Future. The first national conference of solutions for access to Sustainable development in deferent sections of agriculture, natural resources and environment. March 2012, Tehran, Iran.

Zhang, Ch.M., Shi, Ch.X., Wang, Ch.Zh., He, Y., Liu, Q.W., 2009. Effects of alfalfa meal on protease and amylase activities of common carps. *Pratacultural Science* 26(5), 128-134.