



اثر تغذیه همزمان پروبیوتیک BioAqua و لسیتین سویا بر عملکرد تولیدمثلی مولدین ماده قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

فراز پنجوینی^{۱*}، غلامرضا رفیعی^۲

۱. دانش آموخته دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۳

چکیده

در تحقیق حاضر اثرات افزودنی پروبیوتیک تجاری BioAqua و لسیتین سویا بر کارایی تولید مثلی (هماوری مطلق و نسبی، تعداد تخمک در گرم، قطر تخمک، درصد لقاح و درصد تخم‌های چشم‌زده) در مولدین ماده قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی شد. بدین منظور ۵ جیره آزمایشی مختلف شامل کنترل، B2L6 (دو گرم بر کیلوگرم پروبیوتیک بایوآکوا و شش درصد لسیتین سویا)، B2L9، B4L6 و B4L9 ساخته شد و مولدین (۲/۷۳±۰/۰۲ کیلوگرم) به مدت دو ماه تغذیه شدند. طی این دوره، تغذیه ماهیان براساس یک درصد وزن بدن آن‌ها یک مرتبه در روز (ساعت ۱۰ صبح) صورت گرفت. بررسی نتایج نشان داد که بالاترین هماوری مطلق و نسبی، درصد لقاح و درصد تخم‌های چشم‌زده در تیمار B4L9 (به ترتیب ۷۱۵۳/۰۱±۷۶/۸۹، ۲۶۰۴/۲۳±۲۳/۷۷، ۹۹±۱، ۹۳/۳۳±۱/۱۵ درصد و ۹۷/۳۳±۱/۱۵ درصد) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل (به ترتیب ۵۳۰۴/۶۴±۱۴۳/۰۹، ۱۹۵۰/۰۵±۲۶/۴۶، ۵/۰۱±۰/۰۴ و ۵/۰۵±۰/۰۴ میلی‌متر) ثبت شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشتند ($P<0/05$). به تیمارهای B2L9 و B4L9 (به ترتیب ۱۷/۲±۰/۴) داشت ($P<0/05$). علاوه، کمترین تعداد تخمک در گرم در تیمار B4L9 (۱۵/۰±۰/۳) به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل (۱۷/۲±۰/۴) داشت ($P<0/05$). نتایج بیانگر آن است که مقادیر هماوری مطلق، هماوری نسبی و تعداد تخمک در گرم در تیمارهای B2L6، B4L6 و B2L9 اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P>0/05$). نتایج پژوهش حاضر نشان داد افزودن همزمان حداقل دو گرم در کیلوگرم پروبیوتیک بایوآکوا به همراه حداقل شش درصد لسیتین سویا منجر به بهبود کارایی تولید مثلی مولدین ماده قزل آلالی رنگین کمان خواهد شد.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، قزل آلالی رنگین کمان، کارایی تولیدمثلی، لسیتین، مولد ماده



The effect of simultaneous feeding of BioAqua probiotics and soy-bean lecithin on reproductive performance of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Faraz Panjvini^{1*}, Gholamreza Rafiee²

1. Ph. D graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

2. Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 23-Apr-2023

Accepted: 26-Aug-2023

Abstract

In this study, the effects of different levels of dietary supplementation with probiotic (BioAqua) and soy-bean lecithin on reproductive efficiency (absolute and relative fecundity, number of eggs per gram, egg diameter, percentage of fertilization and percentage of eyed-egg) of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were investigated. For this purpose, the broodstock (2.73 ± 0.02 kg) were fed with 5 different experimental diets including control, B2L6 (2 grams/kg of BioAqua probiotics and 6 percent soy lecithin), B2L9, B4L6 and B4L9 with the rate of one percent of their body weight once a day (at 10 A.M) for two months. The highest absolute relative fecundity, percentage of fertilization, and percentage of eyed-egg were significantly different in B4L9 treatment (7153.01 ± 76.89 , 2604.23 ± 23.77 , $99 \pm 1\%$, and $97.33 \pm 1.15\%$, respectively) compared to the control treatment (5304.64 ± 143.09 , 1950.05 ± 26.46 , $93.33 \pm 1.15\%$ and $91 \pm 1\%$, respectively; $P < 0.05$). Also, the largest egg diameter was recorded in B2L9 and B4L9 treatments (5.01 ± 0.07 and 5.05 ± 0.04 mm, respectively), which were significantly different from other treatments ($P < 0.05$). Furthermore, the lowest number of eggs per gram was obtained in B4L9 treatment (15 ± 0.3), which had a significant difference with the control treatment (17.2 ± 0.4 ; $P < 0.05$). The absolute and relative fecundity and number of eggs per gram in B2L6, B4L6 and B2L9 treatments were not significantly different ($P > 0.05$). The result of the current study revealed that simultaneous dietary supplementation of at least two grams per kilogram of BioAqua probiotic along with at least six percent soy-bean lecithin improve the reproductive efficiency in female rainbow trout.

Keywords: Female broodstock, Lecithin, Probiotics, Rainbow trout, Reproductive performance

۱. مقدمه

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از گونه‌های مهم پرورشی از خانواده آزادماهیان (Salmonids) است. از دلایل اهمیت این ماهی در پرورش آبزیان می‌توان به رشد سریع، مقاومت در برابر بیماری‌ها و تکثیر مطمئن در شرایط اسارت اشاره کرد. با این حال، تکثیر قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط اسارت تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد و گاهی می‌تواند بسیار متغیر باشد (Akbari Nargesi et al., 2020).

بسیاری از ماهی‌ها از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان هنگام نگهداری در شرایط اسارت، اختلال در عملکرد تولیدمثلی را بروز داده‌اند (Merrifield and Ringo, 2014). این مشکلات اغلب می‌تواند به دلیل استرس ناشی از اسارت، فقدان محیط طبیعی تخم‌ریزی مناسب و تغذیه نامناسب ایجاد شود که معمولاً در مولدین ماده جدی‌تر هستند (Merrifield and Ringo, 2014). مانند سایر مهره‌داران، عملکرد تولید مثلی در ماهیان توسط محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد^۱ (HPG) تنظیم می‌شود. عوامل محیطی داخلی و خارجی در تحریک هیپوتالاموس به ترشح هورمون آزاد کننده گنادوتروپین دخیل هستند (Akbari Nargesi et al., 2020). علاوه بر عوامل محیطی، عملکرد محور HPG می‌تواند تحت تأثیر تغذیه و متابولیسم ماهی قرار گیرد (Akbari Nargesi et al., 2020). این رابطه نزدیک، نشان‌دهنده ارتباط مستقیم بین عملکرد تولید مثلی و تغذیه مولدین است. در این راستا، تغذیه مناسب می‌تواند نقش کلیدی در بهبود عملکرد تولید مثلی ماهیان مولد داشته باشد (Akbari Nargesi et al., 2020).

لسیتین یک واژه کلی برای گروهی از چربی‌های زرد مایل به قهوه‌ای است که از اسید فسفریک، کولین، اسیدهای چرب، گلیسرول، گلیکولیپید، تری‌گلیسرید و فسفولیپیدهایی مانند فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل اتانول‌امین و فسفاتیدیل اینوزیتول تشکیل شده است (Thompson et al., 2003). لسیتین با اثر بر متابولیسم

چربی و کاهش مصرف انرژی موجب بهبود کارایی مصرف غذا، رشد و بازماندگی ماهیان و سخت‌پوستان می‌شود (Hung et al., 1997). همچنین لسیتین با تأثیر بر تولید آنتی‌بادی‌ها و تحریک سیستم ایمنی (سلولی و خونی) باعث بهبود سیستم ایمنی می‌شود (Jenabi Haghparast et al., 2019). اثر مثبت لسیتین بر کارایی تولید مثلی نیز در چند گونه از ماهیان گزارش شده است. در مطالعه‌ای که روی ماهی گورخری (*Danio rerio*) صورت گرفت، جیره آزمایشی حاوی فسفولیپید (فسفاتیدیل کولین یا فسفاتیدیل اتانول‌امین) منجر به تحریک تخم‌ریزی مولدین شد، در صورتی که مولدینی که با غذای تجاری تغذیه شده بودند، اصلاً تخم‌ریزی نکردند (Diogo et al., 2015). Jamali و همکاران (۲۰۱۹) بهبود کارایی تولید مثلی مولدین *Aequidens rivulatus* تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با لسیتین سویا را گزارش کردند.

پروبیوتیک‌ها باعث ایجاد طیف گسترده‌ای از اثرات مفید روی آبزیان شده‌اند. پروبیوتیک‌ها جوامع میکروبی دستگاه گوارش را تعدیل می‌کنند و می‌توانند بر عملکرد سیستم عصبی مرکزی تأثیر گذارند (Carnevali et al., 2017; Ringø et al., 2018). بر این اساس، استفاده از پروبیوتیک‌ها در ماهی‌ها به عنوان مکمل خوراکی می‌تواند باعث بهبود مورفولوژی روده، تولید اسیدلاکتیک، پاسخ‌های سیستم ایمنی، تحمل استرس، تولید آنزیم‌های گوارشی، سطوح ویتامین‌ها یا اسیدهای آمینه شود (Qin et al., 2014; Ringø et al., 2018; Dawood et al., 2019). ارتباط این عوامل می‌تواند بر عملکرد تولید مثلی مانند همووری، لقاح، تفریح و رشد لاروها تأثیر گذارد. در نتیجه، پروبیوتیک‌ها می‌توانند متابولیسم و تعادل انرژی آبی را تحت تأثیر قرار داده و منجر به بهبود عملکرد تولید مثلی شوند (Gioacchini et al., 2010; Carnevali et al., 2017). این‌رو، سطح مناسب پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی می‌تواند به عملکرد مناسب محور HPG منجر شود. مطالعات متعددی به اثر تغذیه پروبیوتیک‌ها در مولدین متمرکز شده

^۱Hypothalamus-Pituitary-Gonadal

است که نتایج این مطالعات حاکی از اهمیت روابط بین فلور میکروبی روده و فرآیندهای تولید مثلی است (Ghosh et al., 2007; Giorgini et al., 2010; Dias et al., 2012; Carnevali et al., 2013; Mehrim et al., 2015; Carnevali et al., 2017; Mehdinejad et al., 2019; Akbari Nargesi et al., 2020).

با توجه به اثرات مثبت تغذیه‌ای پروبیوتیک‌ها و لسیتین بر گونه‌های مختلف آبزیان، هدف از مطالعه حاضر بررسی تغذیه همزمان پروبیوتیک و لسیتین سویا بر عملکرد تولید مثلی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین کمان است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه و ذخیره‌سازی مولدین

این تحقیق در مرکز تکثیر خصوصی واقع در شهرستان ارومیه انجام پذیرفت. بدین منظور ابتدا تعداد ۳۰ قطعه مولد ماده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین سن ۳ سال، پس از زیست‌سنجی ($2/73 \pm 0/02$ کیلوگرم) در مخازن بتونی طولی با حجم ۱۵۰۰ لیتر با تراکم ۶ قطعه مولد در هر مخزن ذخیره‌سازی شد. قبل از شروع آزمایش ماهی‌ها به مدت دو هفته با شرایط مخازن و جیره آزمایشی سازگار شدند. طی دوره آزمایش میانگین دما، اکسیژن محلول و دی‌آب به ترتیب $10/41 \pm 0/63$ درجه سانتی‌گراد، $10/21 \pm 0/13$ میلی‌گرم در لیتر و ۲۰ لیتر بر ثانیه بود.

۲.۲. ساخت غذا

بدین منظور از جیره غذایی تجاری اکستروود مولدین قزل‌آلا (پروتئین خام: ۴۵ درصد، چربی خام: ۱۵ درصد، انرژی قابل هضم: 4300 Cal/Kg ، فیبر خام: ۳ درصد، فسفر قابل جذب: $0/9$ درصد و رطوبت: کمتر از ۱۰ درصد) ساخت شرکت بیضاء به‌عنوان جیره پایه استفاده شد. پروبیوتیک تجاری (BioAqua, Iran) مورد استفاده در این تحقیق شامل هشت باکتری (*Pediococcus acidilactici*، *Bacillus subtilis*، *Enterococcus faecium*، *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus acidophilus*

۳.۲. تیمارهای آزمایشی

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و در ۵ تیمار آزمایشی با ۳ تکرار صورت گرفت (جدول ۱). طول دوره آزمایش ماهیان ۲ ماه (آبان و آذر) بود. طی این دوره، تغذیه ماهیان براساس یک درصد وزن بدن آن‌ها و یک مرتبه در روز (ساعت ۱۰ صبح) انجام شد (Lovell, 2003).

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی شامل افزودن سطوح مختلف پروبیوتیک و لسیتین به جیره پایه

تیمارها	پروبیوتیک (g/kg)	لسیتین سویا (%)
کنترل	۰	۰
B2L6	۲	۶
B4L6	۴	۶
B2L9	۲	۹
B4L9	۴	۹

مزرعه جهت هم دماسازی و خروج پوسته‌های اضافی تا شفاف شدن کامل آب شستشو گردیدند. تشت‌های حاوی تخم به مدت ۴۰-۳۵ دقیقه بدون دستکاری باقی ماندند تا آب جذب کرده و سفت شدند. در انتها تخم‌های لقاح یافته به سینی‌های کالیفرنایی انتقال داده شدند (Akbari Nargesi *et al.*, 2020). تخم‌های استحصال از هر مولد به صورت جداگانه درون سینی‌های کالیفرنایی قرار گرفتند و طی زمان انکوباسیون میانگین دما، اکسیژن محلول و دی‌آب به ترتیب $10/41 \pm 0/63$ درجه سانتی‌گراد، $10/21 \pm 0/13$ میلی‌گرم در لیتر و ۱ لیتر بر ثانیه بود.

۷ روز بعد، جهت تعیین درصد لقاح از تخم‌ها نمونه‌برداری شد. نمونه‌برداری از تخم‌های موجود در درون سینی به صورت کاملاً تصادفی و با استفاده از یک پیمانۀ معیار و به تعداد کاملاً یکسان برای هر یک از آن‌ها انجام گرفت. از هر یک از ظروف سینی انکوباسیون تعداد ۱۰۰ عدد تخم نمونه‌برداری شد و به منظور تعیین درصد لقاح درون محلول (۵۰ سی‌سی فرمالین + ۵۰ سی‌سی اسید استیک گلاسیال + ۵۰ سی‌سی آب مقطر) قرار داده شدند. پس از حدود ۱۰ دقیقه، تخم‌های لقاح یافته و سالم (با ظهور لکه جنینی در قطب حیوانی) از لقاح نیافته متمایز شد و درصد لقاح مطابق رابطه زیر محاسبه شد (Contreras-Sánchez *et al.*, 1998).

$100 \times (\text{تعداد کل تخم‌ها/تعداد تخم لقاح یافته}) = \text{لقاح (درصد)}$

پس از گذشت ۳۵-۳۰ روز از لقاح، تعداد تخم‌های چشم‌زده شمارش و درصد چشم‌زدگی تخم‌ها مطابق رابطه زیر محاسبه شد (Hatef *et al.*, 2009):

$\text{تخم‌های چشم‌زده (درصد)} =$

$100 \times (\text{تعداد کل تخم‌ها/تعداد تخم‌های چشم‌زده})$

۶.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار آزمایشی و در ۳ تکرار انجام شد. قبل از انجام تجزیه واریانس، نرمال بودن داده‌های به دست آمده با استفاده از

۴.۲. اندازه‌گیری هم‌آوری مطلق و نسبی، تعداد

تخمک در گرم و قطر تخمک‌ها

پس از اتمام دورش آزمایش، از هر مخزن پرورشی سه ماهی به صورت کاملاً تصادفی صید شد. مولدین با پودر گل میخک (۲۲۰ ppm، ۱۰ دقیقه) بیهوش شدند (Kazemi *et al.*, 2021) سپس تخم‌کشی از آن‌ها صورت گرفت. پس از تخم‌کشی از ماهیان و جداسازی مایع تخمدانی، ابتدا وزن کل تخمک استحصال محاسبه شد، سپس ۲۰ گرم از تخمک‌های هر مولد (۳ تکرار) جهت شمارش نمونه‌گیری شد و مطابق رابطه‌های زیر هم‌آوری مطلق و نسبی محاسبه شد (Agh and Irani, 2021).

تعداد کل تخمک‌های استحصال از مولد ماده: هم‌آوری مطلق

$$\text{هم‌آوری مطلق} = \frac{\text{هم‌آوری نسبی}}{\text{وزن مولد ماده (کیلوگرم)}}$$

از ۱۰ عدد تخمک استحصال هر مولد در کنار یک لام مدرج (۰/۰۱ میلی‌متر) زیر لوپ عکسبرداری شد و قطر تخمک‌ها به کمک نرم‌افزار Image J نسخه ۱/۵۲ سنجیده شد (Najafpour *et al.*, 2019).

۵.۲. درصد لقاح و تخم چشم‌زده

در زمان جداسازی تخمک‌ها و مایع تخمدانی، تخمک هر ماهی به صورت جداگانه در تشت‌های پلاستیکی جمع‌آوری شد. اسپرم مورد نیاز برای لقاح نیز از تعداد ۶ ماهی نر استحصال و با هم مخلوط و برای انجام لقاح استفاده شد. به منظور انجام لقاح از روش لقاح خشک استفاده شد. به طوری که پس از اضافه کردن مخلوط اسپرم (۱ سی‌سی برای تخمک‌های استحصال از هر مولد) به تخمک‌ها به مدت ۳۰ ثانیه به آرامی با پر هم‌زده شد. سپس حدود ۲۵ سی‌سی محلول کلرید سدیم ۰/۶ درصد به هر یک از تشت‌ها اضافه و دوباره به مدت ۲-۱ دقیقه هم‌زده شد. در ادامه برای شستشوی تخم‌ها مقداری از آب مزرعه به آن‌ها اضافه و تخم‌ها کاملاً هم زده شدند. تخم‌ها چندین بار توسط آب

برخلاف همآوری مطلق و نسبی، تعداد تخمک در گرم (جدول ۳) با افزایش سطوح پروبیوتیک و لسیتین سویا، کاهش معنی‌داری داشت؛ به‌نحوی که ماهیان گروه B4L9 کمترین تعداد تخمک در گرم را داشتند که اختلاف معنی‌داری را با ماهیان گروه B2L6 و کنترل نشان داد ($P < 0.05$). تعداد تخمک در گرم در تیمارهای B4L6، B2L6 و B2L9 اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0.05$). قطر تخمک‌های استحصالی (جدول ۳) با افزایش سطوح پروبیوتیک و لسیتین سویا افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). بیشترین قطر تخمک در تیمارهای B2L9 و B4L9 (به ترتیب 5.01 ± 0.07 و 5.05 ± 0.04 میلی‌متر) به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$). همچنین اختلاف معنی‌داری بین قطر تخمک‌های مولدین گروه‌های B2L6 و B4L6 (به ترتیب 4.70 ± 0.07 و 4.76 ± 0.06 میلی‌متر) با گروه شاهد (4.46 ± 0.05 میلی‌متر) وجود داشت ($P < 0.05$).

جدول ۳. میانگین (میانگین \pm sd) تعداد تخمک در گرم و قطر تخمک مولدین ماده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

تیمارها	تعداد تخمک در گرم	قطر تخمک (میلی‌متر)
کنترل	17.2 ± 0.4^a	4.46 ± 0.05^c
B2L6	16.4 ± 0.4^{ab}	4.70 ± 0.07^b
B4L6	16.0 ± 0.3^{bc}	4.76 ± 0.06^b
B2L9	15.6 ± 0.4^{bc}	5.01 ± 0.07^a
B4L9	15.0 ± 0.3^c	5.05 ± 0.04^a

وجود حداقل یک حرف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است

۲.۳. درصد لقاح و تخم چشم‌زده

مطابق شکل ۱، کمترین میانگین درصد لقاح و تخم چشم‌زده در تیمار کنترل (به ترتیب $93/33 \pm 1/15$ و 91 ± 1 درصد) ثبت شد که با تیمارهای B2L6 (به ترتیب 95 ± 1 و $91/66 \pm 0/57$ درصد) و B2L9 (به ترتیب $95/66 \pm 0/57$ و $93/66 \pm 0/57$ درصد) اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). به‌علاوه، بیشترین میانگین درصد لقاح

آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. برای تعیین اختلاف معنی‌دار بین میانگین متغیرها در تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. برای تعیین سطح معنی‌داری میان میانگین تیمارهای مختلف از آزمون توکی استفاده شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. داده‌ها به‌صورت "میانگین \pm انحراف معیار" ارائه شدند. برای انجام تجزیه آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

۳. نتایج

۱.۳. همآوری مطلق و نسبی، تعداد تخمک در گرم و

قطر تخمک‌ها

نتایج به‌دست آمده برای همآوری مطلق و نسبی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۲ ارائه شده است. مطابق نتایج به‌دست آمده، با افزایش سطوح پروبیوتیک و لسیتین سویا افزایش معنی‌داری در مقادیر همآوری مطلق و نسبی مولدین ماده مشاهده شد به‌طوری که بیشترین همآوری مطلق و نسبی در ماهیان گروه B4L9 ثبت شد که اختلاف معنی‌داری با ماهیان گروه B2L6 و کنترل داشت ($P < 0.05$). همچنین، مقادیر همآوری مطلق و نسبی در تیمارهای B2L6، B4L6 و B2L9 اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0.05$).

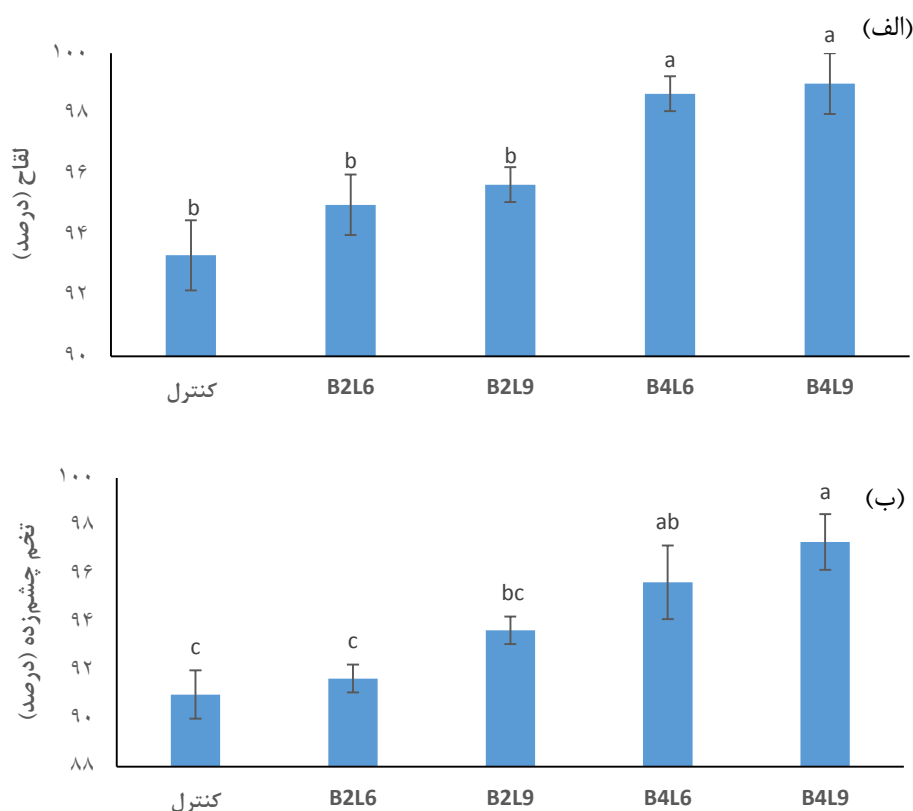
جدول ۲. میانگین (میانگین \pm sd) همآوری مطلق و نسبی مولدین ماده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

تیمارها	همآوری مطلق	همآوری نسبی
کنترل	$53.04/64 \pm 143/09^c$	$195.0/05 \pm 26/46^c$
B2L6	$6774/93 \pm 133/25^b$	$2481/62 \pm 45/26^b$
B4L6	$6968/71 \pm 82/78^{ab}$	$2549/68 \pm 36/64^{ab}$
B2L9	$7005/80 \pm 41/46^{ab}$	$2572/75 \pm 38/87^{ab}$
B4L9	$7153/01 \pm 76/89^a$	$2604/23 \pm 23/77^a$

وجود حداقل یک حرف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

۹۹±۱ و ۹۷/۳۳±۱/۱۵ درصد) مشاهده شد که اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند ($P>0.05$).

و تخم چشم‌زده در تیمارهای B4L6 (به ترتیب ۹۸/۶۶±۰/۵۷ و ۹۵/۶۶±۱/۵۲ درصد) و B4L9 (به ترتیب



شکل ۱. نمودارهای درصد لقاح (الف) و تخم چشم‌زده (ب) تخمک‌های استحصالی از مولدین ماده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

۴. بحث

با فسفولسپیدها و پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های تولید مثلی پرداخته است. تغذیه با فسفولسپیدها می‌تواند از طریق زرده‌سازی بر کارایی تولید مثلی اثرگذار باشد؛ به این‌گونه که ممکن است فسفولسپیدها باعث افزایش متابولیسم چربی‌ها و بهبود انتقال آن‌ها از کبد به تخمدان شوند (Wu *et al.*, 2007; Sui *et al.*, 2009). همچنین به‌علت کارایی بالاتر استفاده از تری‌گلیسریدها به‌عنوان منبع انرژی در مراحل ابتدایی لاروی، تکامل لاروی را تسهیل بخشند (Kaitaranta and Ackman, 1981; Tocher *et al.*, 2008; Jamali *et al.*, 2019). افزودن ۲ تا ۴ درصد لسیتین به جیره غذایی توانست میزان همآوری را در *Litopenaeus vancouverensis* (Maneii *et al.*, 2019) و *Fundulus fasicatus* (Yong *et al.*, 2007) افزایش دهد.

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن همزمان پروبیوتیک تجاری بیواکوا به‌همراه لسیتین سویا می‌تواند کارایی تولید مثلی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان را بهبود بخشد به‌نحوی که افزایش معنی‌داری در شاخص‌های همآوری مطلق و نسبی، قطر تخمک، درصد لقاح و درصد تخم‌چشم‌زده ثبت شد. به‌علاوه، شاخص تعداد تخمک در گرم در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف از پروبیوتیک بیواکوا و لسیتین سویا کاهش معنی‌داری با تیمار کنترل ایجاد کردند. به‌عبارتی، افزایش سطوح پروبیوتیک و لسیتین سویا، وزن تخمک‌های استحصالی از مولدین را افزایش داد. مطالعات مختلفی به اثر تغذیه آبریان مختلف

(هیپاتوپانکراس) و تخمدان (*Larmichthys crocea*) Zhao) (Geurden et al., 2013), *Cyprinus carpio*, (et al., 2013) و (*Scylla paramamosain*) Xu et al., 2019) را افزایش دهد که می‌تواند انرژی مورد نیاز برای رشد تخمدان را بهبود بخشد و از طرف دیگر نیاز به اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر امگا ۳ را کاهش دهد (Mohamadi et al., 2013; Li et al., 2014). همچنین در برخی از مطالعات گزارش شده است که لیستین رژیم غذایی می‌تواند با بهبود انتقال کلسترول، بر استروئیدوژنز و سیستم غدد درون‌ریز تأثیر گذارد (Coutteau et al., 1997; Tocher et al., 2008; Merlin et al., 2015; Song et al., 2019; Lin et al., 2020; Lin et al., 2020).

با توجه به اینکه پروبیوتیک‌ها بر تشکیل مواد مغذی مختلف، به‌ویژه پروتئین‌ها و اسیدهای چرب تأثیر می‌گذارند، در نتیجه می‌توانند نقش کلیدی در ویتلوژنز و بلوغ تخمک داشته باشند (Merrifield and Ringo, 2014; Carnevali et al., 2017). همچنین در مطالعه حاضر با افزایش سطح پروبیوتیک در جیره غذایی، همآوری مطلق، نسبی و قطر تخمک‌ها افزایش و تعداد تخمک در گرم کاهش یافت. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که پروبیوتیک ممکن است با افزایش دسترسی به اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌ها، وضعیت تغذیه مولدین را بهبود بخشد و منجر به افزایش کارایی تولید مثلی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان شود (Akbari Nargesi et al., 2020).

با توجه به مطالعات انجام شده، مواد مغذی جیره غذایی می‌تواند تولید هورمون‌های هیپوفیز را افزایش داده و بر روند تولیدمثل تأثیرگذار باشد و تولید تخمک را افزایش دهد. در نتیجه، افزایش همآوری ماهی ممکن است به دلیل اثرات مواد مغذی خوراک روی غده هیپوفیز باشد (Izquierdo et al., 2001; Carnevali et al., 2017). در مطالعه حاضر، با افزایش سطح پروبیوتیک در جیره، همآوری، قطر تخمک‌ها و وزن تخمک‌های استحصالی افزایش یافت که ممکن است با جذب بهتر مواد مغذی و در نتیجه افزایش ذخیره تخمک‌ها همراه باشد. این نتایج با

Eriocheir heteroclitus (Blickley et al., 2014) و *sinensis* (Wu et al., 2007; Sui et al., 2009) افزایش دهد. به‌علاوه، Hossen و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که تغذیه مولدین گربه ماهی (*Mystus cavasius*) با ۱ درصد فسفولیپید موجب بهبود شاخص گنادوسوماتیک، درصد اسپرماتوزوای متحرک، دفعات تخم‌ریزی، رسیدگی جنسی، درصد لقاح و درصد تفریح تخم‌ها می‌شود. همچنین، افزایش درصد لقاح و تخم‌چشم‌زده در گونه‌های *Danio rerio* (Diogo et al., 2015), *fasciatus* (Yong et al., 2007), *Aequidens* (Wu et al., 2007; Sui et al., 2009), *Litopenaeus rivulatus* (Jamali et al., 2019) و *vannamei* (Maneii et al., 2019) با افزایش فسفولیپید جیره غذایی نشان داده شده است. فسفولیپیدها از اجزاء اصلی غشاء سلولی است (Coutteau et al., 1997; Tocher et al., 2008) و افزایش مقادیر قابل دسترس آن در آبزیان می‌تواند موجب بهبود رشد سلولی (Coutteau et al., 2019; Jamali et al., 2019) و افزایش مقادیر قابل دسترس آن از مولدین ماده شود (Yong et al., 2007; Diogo et al., 2015; Martins et al., 2020). برای مثال، در خرچنگ *Eriocheir sinensis* جیره‌های غذایی غنی شده با ۲ الی ۴ درصد لسیتین سویا توانست وزن و قطر تخمک‌ها را افزایش دهد (Wu et al., 2007; Sui et al., 2009). نتایج مطالعات ذکر شده با نتایج این تحقیق هم‌راستا است. در آبزیان مشخص شده است که لسیتین سویا (به‌عنوان یک منبع فسفولیپیدی) باعث افزایش انتقال زرده توسط لیپوپروتئین‌ها^۱ به تخمدان‌ها و در انتها به تخمک‌ها می‌شود (Zhou et al., 2019). لسیتین یک ماده غذایی ضروری در مرحله قبل از تولید مثل در آبزیان است و در سنتز ویتلوژنین به‌عنوان پیش‌ساز آن نقش دارد و همچنین انتقال چربی‌ها از کبد به تخمدان‌ها را از طریق خون یا همولنف در زمان زرده‌سازی، افزایش می‌دهد. علاوه بر این، لسیتین جیره غذایی توانست رسوب چربی در کبد

^۱ Lipoproteins

در نتیجه افزایش جذب را موجب می‌شوند (Suzer et al., 2008; Kalantarian et al., 2020; Melo-Bolívar et al., 2021). همچنین، به‌خوبی مشخص شده است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند فعالیت آنزیم‌های گوارشی به‌خصوص لیپاز و پروتئاز را افزایش دهند (Essa et al., 2010; Mohammadiyan et al., 2017; Dawood et al., 2019; Kalantarian et al., 2020) که می‌توانند مقادیر جذب چربی و پروتئین در روده را بهبود بخشند. از طرف دیگر، لسیتین رژیم غذایی می‌تواند تجمع چربی‌ها، به‌ویژه چربی‌های قطبی را در روده کاهش داده و تشکیل امولسیون چربی‌ها در روده را تسهیل کرده و جذب را در روده موجودات آبی بهبود بخشد (Tocher et al., 2008). به‌علاوه، Cai و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی لاروهای *L. crocea* دریافتند که فعالیت لیپاز و میزان mRNA ژن‌های دخیل در جذب و انتقال اسیدهای چرب با رژیم غذایی حاوی مکمل لسیتین به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج این تحقیق به‌نظر می‌رسد که ترکیب همزمان پروبیوتیک و لسیتین سویا ابتدا جذب پروتئین‌ها و چربی‌ها و انتقال آن‌ها از روده به کبد و از کبد به تخمدان و تخمک‌ها را به کمک لیپوپروتئین‌ها، تسهیل بخشیده و در ادامه با تأثیر بر هورمون‌های درون‌ریز و محور HPG موجب افزایش کارایی تولیدمثلی در مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شوند. براساس نتایج این تحقیق، استفاده همزمان از حداقل ۲ گرم در کیلوگرم پروبیوتیک با یواکوا به‌همراه حداقل ۶ درصد لسیتین سویا در جیره غذایی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌شود.

References

Agh, N., Irani, A., 2021. Effects of Artemia powder in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock diet on the egg quality. *Journal of Aquaculture Development* 15(2), 1-13. DOI: 10.52547/aquadev.15.2.1

¹ Leptin

² Kisspeptin

تحقیقات صورت گرفته روی *Danio rerio* (Gioacchini et al., 2010; Qin et al., 2014) و *Fundulus heteroclitus* (Lombardo et al., 2011) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (Mehrim et al., 2015) و *niloticus* (Akbari Nargesi et al., 2020) مطابقت دارد. بر این اساس، علت افزایش همآوری، قطر تخمک‌ها و وزن تخمک‌های استحصالی از مولدین ماده در مطالعه حاضر را می‌توان به اثرات مفید تغذیه‌ای پروبیوتیک‌ها نسبت داد. توانایی پروبیوتیک‌ها برای تأثیرگذاری بر عوامل مختلف از جمله ویتلوژنز، رشد سریع‌تر تخمک‌ها، افزایش بیان هورمون‌های نوروپپتیدی و سیگنال‌های متابولیک در سیستم عصبی مرکزی به‌خوبی ثابت شده است (Gioacchini et al., 2010; Lombardo et al., 2011).

شواهد نشان می‌دهند که استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌تواند بلوغ فولیکول تخمدان را تحریک کرده و همچنین سرعت تجزیه و زیکول ژرمینال را افزایش دهد (Carnevali et al., 2017). همچنین، پروبیوتیک‌ها با ایجاد تغییر در مسیرهای سیگنال‌دهی دخیل در بلوغ تخمک می‌توانند اثرات مثبتی بر عملکرد تولید مثلی در ماهیان داشته باشند (Gioacchini et al., 2010; Gioacchini et al., 2011; Qin et al., 2014; Carnevali et al., 2017). در این راستا، Carnevali و همکاران (۲۰۱۷) و Qin و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که پروبیوتیک‌ها با افزایش سطوح mRNA های لپتین^۱ و کیسپتین^۲ و افزایش سطح هورمون‌های نوروپپتیدی می‌توانند میزان تولید تخمک را افزایش دهند.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که پروبیوتیک‌ها سبب بهینه‌شدن فرآیندهای گوارشی از طریق افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید، فعالیت آنزیمی باکتری‌ها و بهبود تعادل میکروبی روده می‌شوند و

۵. منابع

- Akbari Nargesi, E., Falahatkar, B., Sajjadi, M.M., 2020. Dietary supplementation of probiotics and influence on feed efficiency, growth parameters and reproductive performance in female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock. *Aquaculture Nutrition* 26(1), 98-108. DOI: 10.1111/anu.12970
- Blickley, T.M., Matson, C.W., Vreeland, W.N., Rittschof, D., Di Giulio, R.T., McClellan-Green, P.D., 2014. Dietary CdSe/ZnS quantum dot exposure in estuarine fish: Bioavailability, oxidative stress responses, reproduction, and maternal transfer. *Aquatic Toxicology* 14827-39. DOI: 10.1016/j.aquatox.2013.12.021
- Cai, Z., Feng, S., Xiang, X., Mai, K., Ai, Q., 2016. Effects of dietary phospholipid on lipase activity, antioxidant capacity and lipid metabolism-related gene expression in large yellow croaker larvae (*Larimichthys crocea*). *Comparative Biochemistry Physiology Part B: Biochemistry Molecular Biology* 20146-52. DOI: 10.1016/j.cbpb.2016.06.007
- Carnevali, O., Avella, M.A., Gioacchini, G., 2013. Effects of probiotic administration on zebrafish development and reproduction. *General and Comparative Endocrinology* 188297-302. DOI: 10.1016/j.ygcen.2013.02.022
- Carnevali, O., Maradonna, F., Gioacchini, G., 2017. Integrated control of fish metabolism, wellbeing and reproduction: The role of probiotic. *Aquaculture* 472144-155. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.03.037
- Contreras-Sánchez, W.M., Schreck, C.B., Fitzpatrick, M.S., Pereira, C.B., 1998. Effects of Stress on the Reproductive Performance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction* 58(2), 439-447. DOI: 10.1095/biolreprod58.2.439
- Coutteau, P., Geurden, I., Camara, M., Bergot, P., Sorgeloos, P., 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture* 155(1-4), 149-164. DOI: 10.1016/S0044-8486(97)00125-7
- Dawood, M.A.O., Koshio, S., Abdel-Daim, M.M., Van Doan, H., 2019. Probiotic application for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 11(3), 907-924. DOI: 10.1111/raq.12272
- Dias, D.C., Leonardo, A.F.G., Tachibana, L., Corrêa, C.F., Bordon, I.C.A.C., Romagosa, E., Ranzani-Paiva, M.J.T., 2012. Effect of incorporating probiotics into the diet of matrinxã (*Brycon amazonicus*) breeders. *Journal of Applied Ichthyology* 28(1), 40-45. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2011.01892.x
- Diogo, P., Martins, G., Gavaia, P., Pinto, W., Dias, J., Cancela, L., Martínez-Páramo, S., 2015. Assessment of nutritional supplementation in phospholipids on the reproductive performance of zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Journal of Applied Ichthyology* 31(S1), 3-9. DOI: 10.1111/jai.12733
- Essa, M.A., El-Serafy, S., El-Ezabi, M.M., Daboor, S.M., Esmael, N.A., Lall, S.P., 2010. Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive enzymes activities of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the Arabian Aquaculture Society* 5(2), 143-162. https://www.arabaqs.org/journal/vol_5/2/Text%2010%20-%2011.pdf
- Geurden, I., Marion, D., Charlon, N., Coutteau, P., Bergot, P., 1998. Comparison of different soybean phospholipidic fractions as dietary supplements for common carp, *Cyprinus carpio*, larvae. *Aquaculture* 161(1), 225-235. DOI: 10.1016/S0044-8486(97)00272-X
- Ghosh, S., Sinha, A., Sahu, C., 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. *Aquaculture Research* 38(5), 518-526. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01696.x
- Gioacchini, G., Lombardo, F., Merrifield, D., Silvi, S., Cresci, A., Avella, M., Carnevali, O., 2011. Effects of probiotic on zebrafish reproduction. *Journal of Aquaculture Research and Development* S11-6. DOI: 10.4172/2155-9546.S1-002
- Gioacchini, G., Maradonna, F., Lombardo, F., Bizzaro, D., Olivotto, I., Carnevali, O., 2010. Increase of fecundity by probiotic administration in zebrafish (*Danio rerio*). *Reproduction* 140(6), 953-959. DOI: 10.1530/REP-10-0145

- Giorgini, E., Conti, C., Ferraris, P., Sabbatini, S., Tosi, G., Rubini, C., Vaccari, L., Gioacchini, G., Carnevali, O., 2010. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* on zebrafish oocyte maturation: an FTIR imaging and biochemical analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398(7), 3063-3072. DOI: 10.1007/s00216-010-4234-2
- Hatef, A., Niksirat, H., Alavi, S.M.H., 2009. Composition of ovarian fluid in endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*, and its effects on spermatozoa motility and fertilizing ability compared to freshwater and a saline medium. *Fish Physiology and Biochemistry* 35(4), 695-700. DOI: 10.1007/s10695-008-9302-6
- Hossen, M.S., Reza, A., Rakhi, S.F., Takahashi, K., Hossain, Z., 2014. Effect of phospholipids in brood stock diets on serum calcium level, gamete quality and spawning of threatened Bagrid Catfish Gulsha, *Mystus cavasius*. *International Journal of Research in Fisheries Aquaculture* 4(2), 70-76. DOI: 10.37745/ijfar.15
- Hung, S.S.O., Berge, G.M., Storebakken, T., 1997. Growth and digestibility effects of soya lecithin and choline chloride on juvenile Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition* 3(2), 141-144. DOI: 10.1046/j.1365-2095.1997.00080.x
- Izquierdo, M., Fernandez-Palacios, H., Tacon, A., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197(1-4), 25-42. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00581-6
- Jamali, H., Ahmadifard, N., Noori, F., Gisbert, E., Estevez, A., Agh, N., 2019. Lecithin-enriched Artemia combined with inert diet and its effects on reproduction and digestive enzymes of *Aequidens rivulatus*. *Aquaculture* 51142-53. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734253
- Jenabi Haghparast, R., Sarvi Moghanlou, K., Mohseni, M., Imani, A., 2019. Effect of dietary soybean lecithin on fish performance, hemato-immunological parameters, lipid biochemistry, antioxidant status, digestive enzymes activity and intestinal histomorphometry of pre-spawning Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). *Fish & Shellfish Immunology* 9150-57. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.05.022
- Kaitaranta, J.K., Ackman, R.G., 1981. Total lipids and lipid classes of fish roe. *Comparative Biochemistry Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 69(4), 725-729. DOI: 10.1016/0305-0491(81)90376-X
- Kalantarian, S., Mirzargar, S., Rahmati-Holasoo, H., Sadeghinezhad, J., Mohammadian, T., 2020. Effects of oral administration of acidifier and probiotic on growth performance, digestive enzymes activities and intestinal histomorphology in *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 19(3), 1532-1555. DOI: 10.22092/ijfs.2019.119077
- Kazemi, E., Nazari, S., Sourinejad, I., Pourkazemi, M., Paknejad, H., Eslamloo, K., 2021. Effect of different dietary zinc sources on seminal plasma enzymatic activity, antioxidant, and immune-related gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International* 29(6), 2731-2750. DOI: 10.1007/s10499-021-00778-3
- Li, X., Wang, J., Han, T., Hu, S., Jiang, Y., Wang, C., 2014. Effect of dietary phospholipids levels and sources on growth performance, fatty acid composition of the juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture* 430166-172. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.03.037
- Lin, Z., Han, F., Lu, J., Guo, J., Qi, C., Wang, C., Xiao, S., Bu, X., Wang, X., Qin, J., 2020. Influence of dietary phospholipid on growth performance, body composition, antioxidant capacity and lipid metabolism of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Aquaculture* 516734653. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734653
- Lin, Z., Qi, C., Han, F., Chen, X., Qin, C., Wang, C., Wang, X., Qin, J., Chen, L., 2020. Selecting suitable phospholipid source for female *Eriocheir sinensis* in pre-reproductive phase. *Aquaculture* 528735610. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735610
- Lombardo, F., Gioacchini, G., Carnevali, O., 2011. Probiotic-based nutritional effects on killifish reproduction. *Fisheries and Aquaculture Journal* 2733. DOI: 10.4172/2150-3508.1000033
- Lovell, R.T., 2003. 13 - Diet and Fish Husbandry. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition* (Third Edition). *Academic Press*, San Diego, pp. 703-754. DOI: 10.1016/B978-012319652-1/50014-8

- Maneii, K., Oujifard, A., Ghasemi, A., Mozanzadeh, M.T., 2019. Reproductive performance and vitellogenin mRNA transcript abundance in the hepatopancreas of female *Litopenaeus vannamei* fed diets with different soy lecithin content. *Animal Reproduction Science* 211106228. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2019.106228
- Martins, G., Diogo, P., Santos, T., Cabrita, E., Pinto, W., Dias, J., Gavaia, P.J., 2020. Microdiet formulation with phospholipid modulate zebrafish skeletal development and reproduction. *Zebrafish* 17(1), 27-37. DOI: 10.1089/zeb.2019.1794
- Mehdinejad, N., Imanpour, M.R., Jafari, V., 2019. Combined or Individual Effects of Dietary Probiotic, *Pediococcus acidilactici* and Nucleotide on Reproductive Performance in Goldfish (*Carassius auratus*). *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 11(1), 233-238. DOI: 10.1007/s12602-017-9377-4
- Mehrim, A.I., Khalil, F.F., Hassan, M.E., 2015. Hydroyeast Aquaculture® as a reproductive enhancer agent for the adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758). *Fish Physiology and Biochemistry* 41(2), 371-381. DOI: 10.1007/s10695-014-9989-5
- Melo-Bolívar, J.F., Ruiz Pardo, R.Y., Hume, M.E., Villamil Díaz, L.M., 2021. Multistrain probiotics use in main commercially cultured freshwater fish: a systematic review of evidence. *Reviews in Aquaculture* 13(4), 1758-1780. DOI: 10.1111/raq.12543
- Merlin, J., Mohanlal, D., Balasubramanian, C., Sherly, T., Subramoniam, T., Syamadaya, J., Ravichandran, P., Ponniah, A., Gopal, C., Vijayan, K., 2015. Induction of vitellogenesis and reproductive maturation in tiger shrimp, *Penaeus monodon* by 17 β -estradiol and 17 α -hydroxyprogesterone: in vivo and in vitro studies. *Invertebrate Reproduction Development, growth differentiation* 59(3), 166-175. DOI: 10.1080/07924259.2015.1051192
- Merrifield, D.L., Ringo, E., 2014. Aquaculture nutrition: gut health, probiotics and prebiotics. *John Wiley & Sons*, Oxford, UK, p.,
- Mohamadi Azarm, H., Abedian Kenari, A., Hedayati, M., 2013. Effect of dietary phospholipid sources and levels on growth performance, enzymes activity, cholecystokinin and lipoprotein fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Aquaculture Research* 44(4), 634-644. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.03068.x
- Mohammadiyan, T., Alishahi, M., Tabande, M.R., Doos Ali, Z., Jangaran Nejad, A., 2017. Effect of different levels of *Lactobacillus casei* on growth performance and digestive enzymes activity of Shirbot (*Barbus grypus*). *Journal of Veterinary Research* 72(1), 43-52. URL: magiran.com/p1679800
- Najafpour, B., Dorafshan, S., Paykan Heyrati, F., Power, D.M., 2019. Embryonic development of the endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). *Journal of Applied Ichthyology* 35(2), 473-479. DOI: 10.1111/jai.13874
- Qin, C., Xu, L., Yang, Y., He, S., Dai, Y., Zhao, H., Zhou, Z., 2014. Comparison of fecundity and offspring immunity in zebrafish fed *Lactobacillus rhamnosus* CICC 6141 and *Lactobacillus casei* BL23. *Reproduction* 147(1), 53-64. DOI: 10.1530/REP-13-0141
- Ridha, M.T., Azad, I.S., 2012. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. *Aquaculture Research* 43(6), 843-852. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02899.x
- Ringø, E., Hoseinifar, S.H., Ghosh, K., Doan, H.V., Beck, B.R., Song, S.K., 2018. Lactic acid bacteria in finfish—An update. *Frontiers in microbiology* 91818. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01818
- Song, D., Shi, B., Ding, L., Jin, M., Sun, P., Jiao, L., Zhou, Q., 2019. Regulation of dietary phospholipids on growth performance, antioxidant activities, phospholipid metabolism and vitellogenesis in prereproductive phase of female swimming crabs, *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture* 511734230. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734230

- Sui, L.Y., Wu, X.G., Wille, M., Cheng, Y.X., Sorgeloos, P., 2009. Effect of dietary soybean lecithin on reproductive performance of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards) Broodstock. *Aquaculture International* 17(1), 45-56. DOI: 10.1007/s10499-008-9178-6
- Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, H.O., Saka, Ş., Firat, K., Otgucuoğlu, Ö., Küçüksarı, H., 2008. *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture* 280(1), 140-145. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.04.020
- Thompson, K.R., Muzinic, L.A., Christian, T.D., Webster, C.D., Manomaitis, L., Rouse, D.B., 2003. Lecithin requirements of juvenile Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture Nutrition* 9(4), 223-230. DOI: 10.1046/j.1365-2095.2003.00246.x
- Tocher, D.R., Bendiksen, E.Å., Campbell, P.J., Bell, J.G., 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture* 280(1), 21-34. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.04.034
- Wu, X., Cheng, Y., Sui, L., Zeng, C., Southgate, P.C., Yang, X., 2007. Effect of dietary supplementation of phospholipids and highly unsaturated fatty acids on reproductive performance and offspring quality of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards), female broodstock. *Aquaculture* 273(4), 602-613. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.09.030
- Xu, H., Wang, J., Han, T., Li, X., Zheng, P., Yin, F., Wang, C., 2019. Effects of dietary phospholipids levels on growth performance, lipid metabolism, and antioxidant capacity of the early juvenile green mud crab, *Scylla paramamosain* (Estampador). *Aquaculture Research* 50(2), 513-520. DOI: 10.1111/are.13922
- Yong, A.S.K., Seoka, M., Takaoka, O., Ji, S.C., Biswas, A.K., Takii, K., Kumai, H., 2007. Effect of dietary docosahexaenoic acid and soybean lecithin on spawning performance, egg and broodfish fatty acid and lipid class of striped knifejaw, *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture science* 55(3), 449-458. DOI: 10.11233/aquaculturesci1953.55.449
- Zhao, J., Ai, Q., Mai, K., Zuo, R., Luo, Y., 2013. Effects of dietary phospholipids on survival, growth, digestive enzymes and stress resistance of large yellow croaker, *Larimichthys crocea* larvae. *Aquaculture* 410-411122-128. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.05.018
- Zhou, Q.-C., Shi, B., Jiao, L.-F., Jin, M., Sun, P., Ding, L.-Y., Yuan, Y., 2019. Hepatopancreas and ovarian transcriptome response to different dietary soybean lecithin levels in *Portunus trituberculatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics* 31100600. DOI: 10.1016/j.cbd.2019.100600

