

University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 8, No. 1, 2022, pages: 67-79
DOI: 10.22124/janb.2023.22550.1171



Comparative effects of the arachidonic acid enrichment of the concentrated food and live feed on growth rate and reproductive indices in zebrafish, *Danio rerio*

Reza Zarei Shamsabadi¹, Abolghasem Esmaeili Fereidouni^{1*}, Shima Masoudi Asil²

1- Fisheries Department, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Mazandaran, Iran

2- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources & Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran

Received 17 December 2021

Revised 19 February 2022

Accepted 1 March 2022

KEYWORDS

Arachidonic acid
Concentrated food
Live feed
Growth
Reproductive indices
Zebrafish

ABSTRACT

In this study, the comparative effects of arachidonic acid (ARA) enrichment of the concentrated food and live feed (*Artemia* nauplius) were investigated on growth rate and reproductive indices in zebrafish (*Danio rerio*). Thirty-day-old juveniles (n = 400, with an average initial weight of 0.125 g) were randomly distributed in six treatments (each in three replicates) in eighteen 10-L aquariums (with a stocking density of 15 juveniles per aquarium). Fish were fed with concentrated diet containing three levels of ARA (0, 1 and 2% in the diet) and live feed (Instar II *Artemia* nauplii) in three levels of ARA (0, enriched with 1% and 2% of ARA) for 60 days until sexual maturity. The results of Two-Way ANOVA showed that the final body weight, body weight gain rate (%), and female's reproductive indices were not affected by the combined effects of two factors; food type and ARA levels ($p > 0.05$). Body weight in fish fed with concentrated diet containing 2% ARA was significantly higher than compared with the other treatments ($p < 0.05$). The highest absolute and relative fecundities, and gonadosomatic index were obtained in females fed ARA-free concentrated diet, the enriched- *Artemia* with 1-2% ARA, and the enriched- *Artemia* with 1% ARA ($p < 0.05$), respectively. The ARA enrichment in the concentrated diet only accelerated the growth rate of fish until sexual maturity for breeding. However, fish fed the enriched- *Artemia* with 1% ARA exhibited higher gonadal weight and much higher relative fecundity compared to other groups despite lower final weight ($p < 0.05$). Based on the results and in order to improve the female's reproductive performance in zebrafish hatcheries, it is suggested that fish fed the enriched *Artemia* with 1% ARA two months before reproduction.

*Corresponding author: a.esmaeili@sanru.ac.ir





"مقاله پژوهشی"

تأثیر مقایسه‌ای گنجاندن سطوح مختلف اسید آراشیدونیک در غذاهای کنسانتره و زنده بر رشد و شاخص‌های تولیدمثلی ماهی گورخری (*Danio rerio*)

رضا زارعی شمس آبادی^۱، ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی^{۱*}، شیما مسعودی اصیل^۲

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

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، مازندران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۶

کلمات کلیدی

اسید آراشیدونیک
غذای کنسانتره
غذای زنده
رشد
شاخص‌های تولیدمثلی
زبرا گورخری

چکیده

در این مطالعه اثر افزودن سطوح مختلف اسید آراشیدونیک (ARA; Arachidonic acid) در جیره کنسانتره و غذای زنده (ناپلیوس آرتمیا) بر شاخص‌های رشد و تولیدمثلی ماهی گورخری (*Danio rerio*) بررسی شد. تعداد ۴۰۰ قطعه بچه ماهی جوان یک‌ماهه زبرا (با میانگین وزن اولیه ۰/۱۲۵ گرم) به‌طور کاملاً تصادفی در ۶ تیمار (هر کدام در سه تکرار) و در ۱۸ آکواریوم ۱۰ لیتری (با تراکم ذخیره‌سازی ۱۵ قطعه ماهی در هر آکواریوم) توزیع شدند. ماهیان با جیره کنسانتره حاوی سه سطح از ARA (صفر، ۱ و ۲٪ در جیره) و ناپلیوس آرتمیا (مرحله اینستار ۲) حاوی سه سطح از ARA (صفر، ۱ و ۲٪ ARA) به‌صورت روزانه به مدت ۶۰ روز تا مرحله رسیدگی جنسی تغذیه شدند. نتایج آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که وزن نهایی بدن، درصد افزایش وزن بدن و شاخص‌های تولیدمثلی ماهیان مولد متأثر از عملکرد توأم دو عامل (نوع غذا و سطح ARA) نبود ($p < 0/05$). وزن بدن در ماهیان تغذیه شده با جیره کنسانتره حاوی ۲٪ ARA به‌طور معنی‌دار بالاتر از دیگر تیمارها بود ($p < 0/05$). بیشترین هم‌آوری‌های مطلق، نسبی و شاخص گنادی به‌ترتیب در مولدین تغذیه شده با غذای کنسانتره فاقد ARA، ناپلیوس غنی‌شده با ۱ تا ۲٪ ARA و ناپلیوس غنی‌شده با ۱٪ ARA حاصل شد ($p < 0/05$). افزودن ARA در جیره کنسانتره فقط سبب تسریع رشد ماهی تا زمان رسیدگی جنسی شد، ولی زبراهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی‌شده با ۱٪ ARA به‌رغم وزن نهایی کمتر، دارای وزن گناد و هم‌آوری نسبی به مراتب بالاتری در مقایسه با دیگر گروه‌ها بودند ($p < 0/05$). بر اساس نتایج و برای بهبود عملکرد تولیدمثلی پیشنهاد می‌شود که ماهی گورخری در دو ماه قبل از تکثیر با ناپلیوس غنی‌شده با ۱٪ ARA در مراکز تکثیر تغذیه شود.

مقدمه

تولید آبزیان زینتی با نرخ رشد سالانه ۱۴٪، یکی از بخش‌های مهم، اشتغال‌زا و پرسود در دنیا با گردش مالی بیش از ۲۰ میلیارد دلار در سال به‌شمار می‌رود (FAO, 2020). در حال حاضر، بیش از ۹۰٪ از ماهیان زینتی آب شیرین قادر به تکثیر مصنوعی در شرایط هجری (اسارت) هستند، ولی بازدهی پایین تولیدمثل، همچنان یک چالش بزرگ در بین آنها به حساب می‌آید (Ling and Lim, 2017; Nowosad et al. 2006). میزان هم‌آوری، موفقیت تولیدمثلی، کمیت و کیفیت گنادها در مولدین و همچنین رشد، میزان زنده‌مانی و مقاومت به استرس و بیماری‌ها در نوزادان تولید شده در دوره نوزادپروری به‌شدت متأثر از عوامل محیطی، ژنتیک و تغذیه است (Cerda et al. 1995; Gonzales, 2012; Ljubobratović et al. 2020). استفاده از غذاهای زنده در کل دوره مولدسازی، مقاطع قبل از رسیدگی جنسی و یا زمان‌های نزدیک به تخم‌ریزی، یکی از راهکارهای مهم برای مرتفع کردن بازدهی پایین تولیدمثلی در مولدین بسیاری از گونه‌های آبزیان است (Das et al. 2012; Ershad Langroudi et al. 2009; Karga and Mandal, 2017). تغذیه آبزیان با غذاهای زنده‌ای مانند آرتمیا به‌واسطه ارزش غذایی مناسب، وجود ترکیبات ضروری (اسیدهای چرب، مواد معدنی، ویتامین‌ها و رنگدانه‌ها) همراه با قابلیت غنی‌سازی (با روغن‌های تجاری و یا انواع جلبک‌ها) سبب کاهش زمان لازم برای رسیدگی جنسی، توسعه سریع‌تر غدد جنسی و افزایش هم‌آوری در مولدین شده است (Ershad Langroudi et al. 2017; Seidgar, 2015; Nowosad et al. 2009). با وجود این، همواره نگرانی‌هایی در زمینه تأمین دائمی غذاهای زنده برای تغذیه آبزیان در مراکز بزرگ تکثیر وجود دارد.

چربی‌ها و اسیدهای چرب ضروری گروه n3 و n6 نقش کلیدی در رشد، انتقال چربی به سمت غدد جنسی، کنترل تولیدمثل، توسعه کیسه زرده، تولید هورمون‌های جنسی و انرژی لازم برای سپری کردن مراحل رشد جنینی ایفا می‌کنند (Ohs et al. 2013). اسید آراشیدونیک (Arachidonic acid; ARA; 20:4n6) یک اسید چرب غیراشباعی از سری n6، و جزئی از فسفولیپیدهای غشای سلولی و پیش‌ساز انواع هورمون‌های جنسی بوده که

امکان تولید خودبه‌خودی آن در آبزیان وجود ندارد (Shanab et al. 2018; Miao et al. 2022). مطالعات قبلی نشان داد که گنجاندن سطوح ۰/۵ تا ۰/۲ اسید آراشیدونیک در جیره در مراحل مختلف زندگی از جمله دوره‌های قبل از رسیدگی جنسی در ماهیان مولد اثرات واضحی بر رشد بدن، میزان تولید هورمون‌های جنسی، هم‌آوری مولدین و میزان زنده‌مانی نوزادان تولیدی دارد (Ohs et al. 2013; Asil et al. 2017). با وجود این، اثرات واضحی بر رشد، پروفایل اسیدچرب بدن و بیان ژن‌های مرتبط با تولید ایکوزانوئیدها در سطوح ۰/۳ تا ۰/۱۶ اسید آراشیدونیک در میگوی جوان وانامی (*Litopenaeus vannamei*) مشاهده نشد (Araújo et al. 2020).

ماهی زبرا یا گورخری (*Danio rerio*) در طول سه دهه اخیر یک ماهی مدل مطلوب در تحقیقات ژنتیکی، رشد، بوم‌سم‌شناسی، تولیدمثل، پزشکی و دارودرمانی محسوب می‌شود (Fishman, 2001; Sumanasa and Lin, 2004). زبراها در ۳ ماهگی بالغ شده و به‌واسطه مدل تخم‌ریزی غیرهمزمان می‌توانند تا ۲۰۰ عدد تخم در هر مرحله از تخم‌ریزی رهاسازی کنند (Spence et al. 2006). به‌رغم انجام مطالعات فراوان از جنبه‌های ژنتیکی، تکامل و بوم‌سم‌شناسی، همچنان اطلاعات نسبتاً محدودی در زمینه استانداردها و زیست‌فناوری نرماتوهای تکثیر و پرورش مصنوعی و به‌خصوص بهبود عملکردهای تولیدمثلی در ماهیان مولد زبرا وجود دارد (Gonzales, 2012; Lawrence et al. 2012; Nowosad et al. 2017). بنابراین، استفاده و یا گنجاندن منابع مختلف در رژیم غذایی مولدین با هدف افزایش میزان رشد و هم‌آوری در جیره‌های کنسانتره و یا غذاهای زنده، یکی از اهداف مهم در افزایش بازدهی و کارایی تولید ماهیان زینتی در کارگاه‌های تکثیر تجاری به‌شمار می‌رود. با توجه به این فرضیات، در مطالعه حاضر اثرات مقایسه‌ای استفاده از سطوح مختلف اسید آراشیدونیک در جیره کنسانتره و غذای زنده (ناپلیوس آرتمیا) بر برخی از شاخص‌های رشد و تولیدمثلی ماهی گورخری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و سازش‌پذیری بچه ماهیان جوان به شرایط پرورشی

محدوده ۲۷ الی ۲۸ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن محلول (با اکسیژن‌متر پرتابل از شرکت FAMCO) ۶/۱-۵/۸ میلی‌گرم در لیتر و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی - ۱۲ ساعت تاریکی به‌صورت یکسان در تیمارهای مختلف اعمال شد.

محتویات خام جیره کنسانتره شامل آرد ماهی چربی‌زدایی شده، آرد سویا و گندم چربی‌زدایی شده، روغن آفتاب‌گردان و مخلوط‌های ویتامینی و مواد معدنی، و روغن Vevodar oil (حاوی ۴۶٪ ARA) بود. ابتدا مواد خام اولیه مخلوط، و سپس از چرخ گوشت عبور داده شدند. در هر یک از تیمارهای حاوی جیره کنسانتره و غذای زنده از سه سطح گنجاندن اسید آراشیدونیک استفاده شد. روغن Vevodar استفاده‌شده به‌ترتیب برای سطوح ۱ و ۲٪ ARA به میزان ۲۵ و ۵۰ گرم در کیلوگرم از جیره کنسانتره بود و برای تنظیم باقیمانده چربی جیره از روغن آفتاب‌گردان استفاده شد. میزان پروتئین و چربی جیره کنسانتره به ترتیب ۴۵-۴۴٪ و ۱۲/۵-۱۲٪ بود (جدول ۱).

تعداد ۴۰۰ قطعه ماهی جوان زبرای یک ماهه از یک مرکز خصوصی تهیه، و برای سازگاری دو هفته‌ای در ۴ آکواریم ۸۰ لیتری در دمای ۲۶ الی ۲۸ درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی - ۱۲ ساعت تاریکی و تغذیه با غذای تجاری بیومار (ساخت فرانسه و با سفارش شرکت ماهیران؛ با ترکیب بیوشیمیایی شامل ۵۵/۴٪ پروتئین، ۱۵/۱۶٪ چربی و ۷/۸٪ خاکستر) در حد سیری نگهداری و در سالن تکثیر و پرورش دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری پرورش یافتند.

تیمارهای آزمایشی

پس از سازگاری، بچه ماهیان (با میانگین وزن اولیه ۰/۰۵ ± ۰/۱۲۵ گرم) به‌صورت کاملاً تصادفی در ۶ تیمار (هر کدام در سه تکرار) در آکواریم‌های ۱۰ لیتری توزیع، و به مدت ۶۰ روز با جیره‌های غذایی شامل غذای کنسانتره و غذای زنده (ناپلیوس آرتمیا) تغذیه شدند. در طی پرورش فراسنجه‌های کیفی آب شامل دما (با دماسنج معمولی) در

جدول ۱ فرمولاسیون و ترکیب تقریبی جیره غذایی کنسانتره غنی شده با سطوح مختلف اسید آراشیدونیک برای تغذیه ماهی زبرا در طول دوره آزمایشی.

سطوح اسید آراشیدونیک در جیره کنسانتره (%)			محتویات (گرم بر کیلوگرم)
۲	۱	صفر	
۴۲۰	۴۲۰	۴۲۰	پودر ماهی چربی‌زدایی شده
۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	پودر سویا چربی‌زدایی شده
۱۴۰	۱۴۰	۱۴۰	پودر گندم
۷۰	۹۵	۱۲۰	روغن آفتاب‌گردان
۲/۵	۲/۵	۲/۵	اسید اسکوربیک
۲۰	۲۰	۲۰	مخلوط ویتامینی
۳۰	۳۰	۳۰	مخلوط مواد معدنی
۵۰	۲۵	۰	روغن Vevodar
۵	۵	۵	مونو فسفات کلسیم
۲۰	۲۰	۲۰	لیستین
ترکیب تقریبی جیره (%)			پروتئین
۴۵/۱	۴۴/۸	۴۴/۳	
۱۲/۴	۱۲/۸	۱۲/۲	
۲۰/۵	۲۰/۷	۲۰/۴	چربی
			انرژی (کیلوژول بر گرم)

آراشیدونیک (با روغن Vevodar) با روش استاندارد Lavens و Sorgeloos (۱۹۹۶) به‌مدت ۲۴ ساعت

برای تأمین ناپلیوس آرتمیا، ابتدا سیست آرتمیای فرانسیسکانا تخم‌گشایی شده و ناپلیوس‌ها با اسید چرب

که روزانه در ۴ وعده به ماهیان خورنده شد (Takon, 1990). برای همسان کردن مقدار غذای داده شده کنسانتره و غذای زنده به ماهیان، میزان آرتمیای استفاده شده برای تغذیه ماهیان بر اساس متوسط وزن خشک ناپلیوس آرتمیا (قبل و بعد از غنی‌سازی و بر اساس پروتکل Lavens و Sorgeloos (۱۹۹۶) محاسبه شد.

ارزیابی شاخص‌های رشد و تغذیه

برای اندازه‌گیری شاخص‌های رشد در تیمارهای مختلف، زیست‌سنجی (وزن و درازا) ماهیان در ابتدا و انتهای دوره به ترتیب با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) و کولیس مدرج (با دقت ۱ میلی‌متر) انجام شد. فراسنجه‌های رشد و تغذیه‌ای ماهیان در پایان دوره پرورش بر اساس روابط زیر تعیین شد (Almeida Bicudo et al. 2009):

$100 \times \text{میانگین وزن اولیه} / (\text{میانگین وزن اولیه} - \text{میانگین وزن نهایی}) = \text{افزایش وزن بدن} (\%)$
 $\text{ازمان} / (\text{لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی}) \times 100 = \text{نرخ رشد ویژه} (\text{درصد در روز})$
 $\text{طول نهایی}^3 / \text{وزن نهایی} \times 100 = \text{ضریب چاقی}$

برای ارزیابی و نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها در بین تیمارها و معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌ها از تحلیل داده‌ها با روش آزمون واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) استفاده شد. در صورت عدم اختلافات معنی‌دار در اثرات متقابل بین دو عامل، از روش آزمون واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون چنددامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. تمامی داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. برای ترسیم نمودارها و انجام آزمون‌های آماری به ترتیب از نرم‌افزارهای Excel و SPSS استفاده شد.

نتایج

آزمون واریانس دوطرفه از فراسنجه‌های بررسی شده نشان داد که وزن نهایی بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، شاخص گنادی و همآوری‌ها (مطلق و نسبی) متأثر از اثرات توأم هر دو عامل نوع غذا و سطح ARA نبود

غنی‌سازی شده و ناپلیوس‌های واقع در مرحله اینستار ۲ با توری ۲۰۰ میکرونی جمع‌آوری و به صورت روزانه به ماهیان خورنده شدند. ماهیان در تیمارهای مختلف این مطالعه به شرح زیر و به مدت ۶۰ روز تا زمان رسیدگی جنسی تغذیه شدند (Asil et al. 2017; Araújo et al. 2020):

تغذیه با غذای کنسانتره فاقد ARA در جیره تغذیه با غذای کنسانتره حاوی ۱٪ ARA در جیره تغذیه با غذای کنسانتره حاوی ۲٪ ARA در جیره تغذیه با ناپلیوس اینستار ۲ آرتمیا (فاقد ARA) تغذیه با ناپلیوس آرتمیای اینستار ۲ غنی‌شده با ۱٪ ARA تغذیه با ناپلیوس آرتمیای اینستار ۲ غنی‌شده با ۲٪ ARA مقدار غذای هر یک از تیمارهای آزمایش با توجه به میانگین وزن بدن ماهیان و متوسط دمای آب برآورد شد

ارزیابی عملکرد تولیدمثلی

ماهیان مولد ماده پس از مدت ۶۰ روز و مشاهده علائم ظاهری رسیدگی جنسی زیست‌سنجی شدند. ابتدا ۸ قطعه مولد ماده از هر تیمار جدا، و ناحیه شکمی آنها با قیچی شکافته شد. در مرحله بعد، تخمدان ماده‌ها از بدن خارج، و با ترازوی دیجیتالی (با دقت یک هزارم گرم) توزین شد. تعداد اووسیت‌های هر ماده توسط بینوکولار شمارش شد. شاخصه‌های تولیدمثلی ماده‌ها با اندازه‌گیری همآوری‌های مطلق، نسبی و شاخص گنادی (GSI; Gonadosomatic index) با روابط زیر محاسبه شد:

$\text{شاخص گنادی} (\%) = \text{وزن گناد} / \text{وزن تر بدن} \times 100$
 $\text{همآوری مطلق} = \text{تعداد تخمک تولید شده توسط هر مولد ماده}$
 $\text{همآوری نسبی} = \text{تعداد تخمک تولید شده توسط هر مولد ماده} / \text{وزن تر بدن}$

تجزیه و تحلیل آماری

($p > 0.05$)، ولی دیگر فراسنجه‌ها شامل درازای نهایی بدن و درصد افزایش درازای بدن تحت تأثیر همزمان دو عامل قرار گرفتند ($p < 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۲ نتایج آزمون واریانس دوطرفه بر شاخص‌های رشد، تغذیه و تولیدمثل زبرا (*Danio rerio*) در تیمارهای مختلف ناشی از اثرات جداگانه و توأم نوع غذا و سطوح اسید آراشیدونیک.

عوامل		فراسنجه‌ها	
نوع غذا × سطح اسید آراشیدونیک	سطح اسید آراشیدونیک	نوع غذا	
۰/۶۰۶	۰/۹۳۸	۰/۴۸۷	وزن اولیه بدن
۰/۰۲۰**	۰/۰۲۵**	۰/۰۰۰**	وزن نهایی بدن
۰/۷۳۵	۰/۹۱۳	۰/۸۴۳	درازای اولیه بدن
۰/۵۸۷	۰/۳۱۱	۰/۰۰۱**	درازای نهایی بدن
۰/۰۲۰**	۰/۰۱۱**	۰/۰۰۰**	درصد افزایش وزن بدن
۰/۹۵۷	۰/۶۱۴	۰/۰۰۲**	درصد افزایش درازای بدن
۰/۰۳۴**	۰/۰۳۸**	۰/۰۰**	نرخ رشد ویژه
۰/۰۰۸**	۰/۰۰۴**	۰/۲۰۸**	شاخص گنادی
۰/۰۰۰**	۰/۰۰۰**	۰/۰۰۰**	هماوری مطلق
۰/۰۱۸**	۰/۳۰۱	۰/۰۰۳**	هماوری نسبی

** در یک ردیف نشان‌دهنده عدم اختلافات معنی دار در سطح $p < 0.05$ است.

($p < 0.05$). روند مشابهی در وزن نهایی بدن در تیمارهای مختلف دیده شد، به طوری که ماهیان تغذیه کرده از غذای زنده با سطوح مختلف از ARA وزن به مراتب کمتری در مقایسه با ماهیان تغذیه کرده از غذای کنسانتره داشتند ($p < 0.05$). در طی دوره تلفاتی در ماهیان در تیمارهای مختلف مشاهده نشد (جدول ۳).

شاخص‌های رشد و تغذیه

شاخص‌های رشد در زبراها نشان داد که بیشترین کمترین مقادیر افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه به ترتیب در ماهیان تغذیه کرده با ۲٪ ARA (کنسانتره) و تمام تیمارهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا حاصل شد.

جدول ۳ شاخص‌های رشد و تغذیه (میانگین ± انحراف معیار) مولدین زبرا (*Danio rerio*) در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف غذای کنسانتره و ناپلیوس آرتمیا.

تیمارهای آزمایشی						شاخص
ناپلیوس آرتمیا - ARA ۲٪	ناپلیوس آرتمیا - ARA ۱٪	ناپلیوس آرتمیا غنی نشده با ARA	کنسانتره - ARA ۲٪	کنسانتره - ARA ۱٪	کنسانتره فاقد ARA	
± ۰/۰۰۵ ۰/۱۲۴	± ۰/۰۰۷ ۰/۱۲۸	± ۰/۰۰۳ ۰/۱۲۱	± ۰/۰۰۴ ۰/۱۳۱	± ۰/۰۰۵ ۰/۱۲۳	± ۰/۰۰۳ ۰/۱۲۵	وزن اولیه بدن (گرم)
± ۰/۰۰۹ ۲/۲۳	± ۰/۰۰۱ ۲/۳۴	± ۰/۰۰۶ ۲/۳۳	± ۰/۰۰۵ ۲/۳۱	± ۰/۰۲۱ ۲/۳۳	± ۰/۰۰۳ ۲/۳۷	درازای اولیه بدن (سانتی‌متر)
± ۰/۰۰۲ ^c ۰/۴۶	± ۰/۰۰۱ ^c ۰/۴۲	± ۰/۰۰۳ ^c ۰/۵۱	± ۰/۰۰۸ ^a ۱/۲۸	± ۰/۰۰۲ ^b ۰/۸۶	± ۰/۰۰۲ ^b ۰/۸۶	وزن نهایی بدن (گرم)
± ۰/۰۰۲ ۳/۱۳	± ۰/۰۰۱ ۳/۲۳	± ۰/۰۰۷ ۳/۱۳	± ۰/۰۰۱ ۳/۸۱	± ۰/۰۰۲ ۳/۵۳	± ۰/۰۰۱ ۳/۵۳	درازای نهایی بدن (سانتی‌متر)
± ۸/۷ ^c ۲۷۱/۱	± ۹/۶ ^c ۲۲۸/۵	± ۱۰/۲ ^c ۳۲۱/۱	± ۱۲/۲ ^a ۸۷۷/۹	± ۱۱/۹ ^b ۵۸۷/۵	± ۱۷/۲ ^b ۵۸۸/۲	افزایش وزن بدن (%)

نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۳/۲۳ ± ۰/۲ ^b	۳/۲ ± ۰/۱۲ ^b	۳/۸ ± ۰/۲ ^a	۲/۴ ± ۰/۲ ^c	۲/۴ ± ۰/۲ ^c	۲/۲ ± ۰/۱ ^c
ضریب چاقی	۱/۹۵ ± ۰/۲	۱/۹۵ ± ۰/۱	۲/۳ ± ۰/۲	۱/۶۵ ± ۰/۱	۱/۲۴ ± ۰/۲	۱/۵۱ ± ۰/۲

* اعداد با حروف انگلیسی متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ است.

شاخص‌های تولیدمثلی

فراسنجه‌های تولیدمثلی مولدین در پایان دوره متاثر از اثرات متقابل دو عامل نوع غذا و سطح ARA قرار نگرفت ($p > 0.05$). از این رو، سنجش واریانس یک‌طرفه این شاخص‌ها نشان از تفاوت معنی‌دار در تیمارهای مختلف داشت ($p < 0.05$). بیشترین و کمترین همآوری مطلق در

تیمار غذای کنسانتره (به ترتیب صفر و ۲٪ ARA) حاصل شد، ولی همآوری نسبی در تیمارهای حاوی غذای زنده با سطوح بالاتر ARA، مقادیر به مراتب بالاتری را در مقایسه با غذای کنسانتره نشان داد ($p < 0.05$). بیشترین همآوری نسبی در تیمارهای دارای غذای زنده (سطوح ۱ و ۲٪ ARA) و کمترین مقدار در غذای کنسانتره حاوی ۲٪ ARA حاصل شد (جدول ۴).

جدول ۴ مقادیر همآوری‌های مطلق و نسبی (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان مولد زبرا (*Danio rerio*) در سطوح مختلف از اسید آراشیدونیک تغذیه شده با غذای کنسانتره و ناپلیوس آرتمیا.

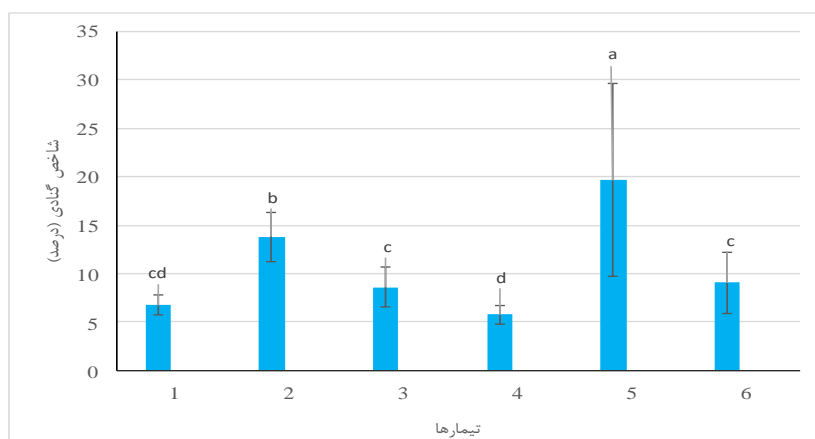
تیمارها	تیمارهای آزمایشی				کنسانتره فاقد ARA	فراسنجه
	کنسانتره - ARA ۱٪	کنسانتره - ARA ۲٪	ناپلیوس آرتمیای غنی نشده	ناپلیوس آرتمیا - ARA ۱٪		
هم‌آوری مطلق	۶۰۵/۳ ± ۱۶/۵ ^a	۵۵۸/۷ ± ۱۹/۸ ^a	۲۸۸ ± ۱۰/۴ ^c	۳۳۵ ± ۷ ^{bc}	۳۸۱/۷ ± ۱۰/۵ ^b	۴۱۹/۷ ± ۹/۵ ^b
هم‌آوری نسبی	۷۲۰/۳ ± ۱۱۹/۳ ^b	۶۰۷/۵ ± ۹۳/۷ ^b	۳۵۶/۷ ± ۲۹/۳ ^c	۶۵۹/۲ ± ۳۰/۱ ^b	± ۳۴۳/۳ ^a	۹۳۴/۸ ± ۱۶۰/۴ ^a

۹۰۰/۱

* اعداد با حروف انگلیسی متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ است.

آزمون واریانس یک‌طرفه نشان داد که شاخص گنادی (GSI) تفاوتی معنی‌دار بین تیمارها داشت ($p < 0.05$)، به طوری که بالاترین مقدار آن در ماهیان تغذیه شده با

ناپلیوس حاوی ۱٪ ARA- و کمترین مقادیر در گروه‌های فاقد ARA (جیره‌های زنده و کنسانتره) به ثبت رسید ($p < 0.05$) (شکل ۱).



شکل ۱ شاخص گنادی (میانگین ± انحراف معیار) مولد زبرا (*Danio rerio*) در سطوح مختلف اسید آراشیدونیک تغذیه شده با غذای کنسانتره و زنده - تیمارهای ۱، ۲ و ۳ (غذای کنسانتره و به ترتیب دارای صفر، ۱ و ۲٪ ARA) و تیمارهای ۴، ۵ و ۶ (ناپلیوس آرتمیای غنی شده با صفر، ۱ و ۲٪ ARA).

و کفشک سنگالی باشد (Bransden et al. 2005; Villalta et al. 2005; Fountoulaki et al. 2009; Norambuena et al. 2013). بنابراین، از یک طرف ممکن است که وجود اسیدهای چرب در جیره ماهیان دارای دیگر اثرات مهم فیزیولوژیک بوده و تأثیر آنها به صورت مستقیم بر شاخص‌های رشد به طور واضح مشهود نباشد. همچنین، طول دوره تغذیه ماهیان با منابع مختلفی از اسیدهای چرب نیز ممکن است بر شاخص‌های رشد تأثیرگذار باشد که این مسئله نیاز به تحقیقات بیشتر در آینده دارد.

اسید آراشیدونیک یکی از مهم‌ترین اسیدهای چرب برای تشکیل و تولید پروستاگلاندین‌ها، تولید هورمون‌های استروئیدی و رسیدگی فولیکول در بسیاری از آبزیان است (Xu et al. 2010, 2017; Miao et al. 2022). عوامل تغذیه‌ای مانند نرخ تغذیه، ترکیب و میزان مواد مغذی و اسیدهای چرب به خصوص گروه (HUFA) DHA، EPA و ARA تأثیر واضح بر خصوصیات تولیدمثلی از جمله تکامل غدد جنسی، کمیت و کیفیت گامت‌ها (باخته‌های جنسی)، موفقیت تخم‌ریزی، نرخ تخم‌گشایی، رشد جنین‌های تولیدشده و کیفیت نوزادان دارند (Furuita et al. 2003, 2007; Coman et al. 2014; Hossen et al. 2011). نتایج مطالعه حاضر هم نشان داد که میزان شاخص گنادی در ماده زبراهای تغذیه کرده از ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده با ۱٪ ARA بالاتر از دیگر تیمارها بود، درحالی‌که عدم وجود ARA در هر دو نوع جیره سبب کاهش شدید و معنی‌دار وزن غدد جنسی شد. این یافته با نتایج Markovich و همکاران (۲۰۰۷)، Asil و همکاران (۲۰۱۷) و Karga و Mandal (۲۰۱۷) هم‌سویی داشت. همچنین، Xu و همکاران (۲۰۱۷) در میگوی وانامی به‌وضوح گزارش کردند که گنجاندن سطوح پایین‌تر ARA (۴٪/۶) اثرات بهتری بر وزن گناد در مقایسه با سطوح بالاتر (۴٪/۱۲) در مدت زمان یک ماه قبل از تخم‌ریزی داشت، ولی شاخص کبدی میگوها متأثر از سطوح ARA نبود.

در ماهیان زبرای مولد، برتری تغذیه با غذاهای زنده (مانند پلانکتون‌های جانوری وحشی، آرتمیا و دیگر غذاهای زنده) در مقایسه با جیره کنسانتره در مراحل قبل از بلوغ برای تسریع رسیدگی جنسی و بهبود فراسنجه‌های تولیدمثل گزارش شد (Markovich et al. 2007; Karga and

برخلاف اسیدهای چرب گروه n-3، اثرات گنجاندن اسیدهای چرب گروه n-6 به‌خصوص اسید آراشیدونیک بر رسیدگی جنسی، گامتوزن و شاخص‌های تولیدمثلی آبزیان کمتر ارزیابی شده و به همین دلیل مطالعات متعددی بر روی اهمیت عملکردی این اسید چرب کلیدی در آبزیان در یک دهه اخیر انجام شده است (Needleman et al. 1986; Siccardi et al. 2009; Mandal et al. 2010; Norberg et al. 2017; Araújo et al. 2019; Ljubobratović et al. 2020; Miao et al. 2022). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه دو ماهه ماهیان با جیره کنسانتره حاوی ۱-۲٪ ARA سبب بهبود رشد، افزایش وزن و تسریع در رسیدگی جنسی تا مرحله مولد می‌شود. در هم‌سویی با مطالعات قبلی، اثرات مثبتی در گنجاندن اسید آراشیدونیک بر افزایش رشد و بهبود کارایی فیزیولوژیک در برخی از گونه‌های ماهیان آب شیرین مانند کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idellus*)، کاراس (*Carassius auratus gibelio*) و سوف (*Sander lucioperca*) گزارش شد (Ji et al. 2011; Chen et al. 2011; Ljubobratović et al. 2020). با وجود این، اثرات گنجاندن سطوح بالاتر از ۲٪ اسید آراشیدونیک در جیره برخی از آبزیان شامل صیبتی (*Solea*)، کفشک سنگالی (*Sparidentex hasta*)، میگوی وانامی و سوف نشان داد که این مقادیر می‌توانند اثرات منفی بر شاخص‌های تولیدمثلی، سرعت رسیدگی تخمک (اوولاسیون) و میزان ترشح هورمون‌های جنسی ایجاد کنند (Atalah et al. 2011; Boglino et al. 2012; Norambuena et al. 2013; Xu et al. 2017; Ljubobratović et al. 2020). برخلاف نتایج مطالعه حاضر، شواهدی مبنی بر عدم تأثیر سطوح اسید آراشیدونیک در جیره بر رشد برخی از ماهیان آب شیرین و دریایی گزارش شد. برای مثال، Asil و همکاران (۲۰۱۷) اثرات مثبتی بر رشد وزنی ماهی گورامی آبی (*Trichopodus trichopterus*) در سطوح مختلف ARA (۵-۲۰٪) در جیره کنسانتره گزارش نکردند، به طوری‌که بیشترین رشد در ماهیان تغذیه شده فاقد ARA حاصل شد. به نظر می‌رسد که عدم تأثیر گنجاندن سطوح مختلف ARA بر رشد بدن، مشابهت نسبتاً بالایی با عملکرد اسیدهای چرب گروه n-3 بر میزان رشد ماهیانی مانند کپور علفخوار (Ji et al. 2011) و برخی از گونه‌های دریایی مانند ماهی کاد، سیم سرطلایی

DHA افزایش می‌یابد. به‌طور مشابه، کیفیت تخم و میزان تخم‌گذاری در ماهیان سیم دریایی سرطلایی مولد ارتباط مثبت با افزایش سطوح n-۳ HUFA و ARA در جیره داشت (Rodriguez et al. 1998). با وجود این، در برخی گونه‌ها از جمله ماهی کفشک (*Solea solea*)، افزایش PUFA n-۳، PUFA n-۶، DHA و ARA در جیره اثر معکوسی بر کیفیت تخمک و نرخ تخم‌گذاری نشان داد (Bonaldo et al. 2015).

استفاده از جیره‌های مختلف اعم از کنسانتره و یا غذای زنده در طی دوره پرورش زبرا برای بهبود رشد، مولدسازی و بهبود شاخص‌های تولیدمثلی، یکی از روش‌های متداول در تکثیر و پرورش این گونه از ماهیان زینتی به‌شمار می‌رود. برای مثال، Navas و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که استفاده از جیره تجاری مخصوص مرحله رشد به جای جیره مخصوص ماهیان مولد، سبب مختل کردن فرآیند تولیدمثل سی‌باس اروپایی مولد (*Dicentrarchus labrax*) می‌شود و این کمبود حتی پس از افزودن روغن ماهی غنی از اسیدهای چرب n-۳ بهبود نمی‌یابد. بر طبق نتایج مطالعه حاضر می‌توان اظهار کرد که وجود ۱٪ ARA در جیره ماهی زبرا سبب بهبود شاخص‌های تولیدمثلی می‌شود. بدون شک نیازهای مختلف هر گونه، اندازه بدن، مراحل مختلف رشد، عوامل تغذیه‌ای و محیطی می‌توانند در شاخص‌های تولیدمثلی ماهیان مولد تأثیرگذار باشند.

در برخی از مطالعات استفاده از جیره‌های کنسانتره برای بهبود رشد در مراحل قبل از رسیدگی جنسی و سپس کاربرد غذای زنده (به‌خصوص آرتیمیا و یا دیگر غذاهای زنده) برای افزایش هم‌آوری ماهیان مولد گزارش شد (Markovich et al. 2007; Nowosad et al. 2021; Williams et al. 2017). از طرف دیگر، مدت زمان تغذیه پیش‌مولدها از غذاهای اختصاصی دوره مولد ممکن است نقش به‌سزایی در بهبود عملکردهای تولیدمثلی داشته باشد. در مطالعه حاضر، ماهیان در یک مدت زمان ۲ ماهه قبل از تکثیر با جیره‌های مدنظر تغذیه شدند. لذا این مسئله (مدت زمان تغذیه ماهیان در دوره قبل از بلوغ) یکی از شاخص‌های تأثیرگذار در کارایی تولیدمثلی ماهیان مولد محسوب می‌شود که زمان دقیق آن باید در مطالعات آینده و در گونه‌های مختلف آبزیان ارزیابی شود.

نتیجه‌گیری

(Mandal, 2017). برخلاف نتایج مطالعه حاضر، میزان هم‌آوری مطلق در سی‌باس اروپایی و کفشک ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) با افزایش میزان ARA در جیره بهبود یافت (Bruce et al. 1999; Furuita et al. 2003) که علت احتمالی آن را می‌توان به ماهیت دریایی گونه‌های مذکور و نیاز به مراتب بالاتر آنها به ARA نسبت داد. در مطالعه حاضر، اگرچه میزان هم‌آوری مطلق در ماهیان تغذیه کرده از غذای کنسانتره در بیشینه موارد بالاتر از گروه‌های تغذیه کرده از ناپلیوس آرتیمیا بود، ولی هم‌آوری نسبی بالاتری در ماهیان مولد تغذیه کرده از غذای زنده حاصل شد که علت آن، به وزن نهایی کمتر در نمونه‌های تغذیه کرده از غذای زنده (تقریباً نصف وزن حاصله در مقایسه با گروه‌های تغذیه کرده از غذای کنسانتره) نسبت داده می‌شود. همچنین، میزان هم‌آوری نسبی زبراهای مولد با افزایش سطح ARA در جیره کنسانتره روند معنی‌دار کاهشی، ولی در گروه‌های تغذیه کرده از غذای زنده روند معنی‌دار افزایشی (بدون اختلافات معنی‌دار بین سطوح ۱-۲٪ ARA) داشت. برخلاف مطالعه Asil و همکاران (۲۰۱۷) که بالاترین میزان هم‌آوری نسبی را در سطوح ۲-۱/۵٪ ARA با جیره کنسانتره در گورامی آبی گزارش کردند، چنین روندی در مطالعه حاضر با غذای کنسانتره در ماهی زبرا مشاهده نشد. چنین اختلافاتی را می‌توان به گونه ماهی، اندازه بدن و نیازهای اختصاصی هر گونه به اسید چرب ARA نسبت داد. کمتر بودن وزن بدن ماده‌ها در کنار بالاتر بودن وزن غدد جنسی و هم‌آوری نسبی در زبراهای تغذیه کرده از ناپلیوس آرتیمیا ممکن است بیانگر ارجحیت کاربرد غذای زنده نسبت به غذای کنسانتره برای مولدسازی در این گونه باشد. ARA پیش‌ساز اصلی محتویات کیسه زرده در اووسیت بوده و وجود سطوح بالاتر ARA باعث افزایش قطر کیسه زرده و تخمک می‌شود. چنین روندی به‌وضوح در مطالعه Rojbeek و همکاران (۲۰۱۴) در قطر تخمک ماهیان مولد کاد اطلس (*Gadus morhua*) و همچنین، قطر تخمک و رشد بیشتر جنین‌های تولیدشده در سوف تغذیه شده با جیره‌های حاوی ARA گزارش شد (Ljubobratović et al. 2020). همچنین، Ohs و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که میزان هم‌آوری ماهی آنجل مولد (*Monodactylus sebae*) تغذیه کرده از جیره حاوی درصد بالای ARA/DHA در مقایسه با جیره حاوی فقط

شاخص‌های تکثیر در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهی زبرا پیشنهاد می‌شود.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان تعارض منافع وجود ندارد.

منابع

- Almeida Bicudo, A.J., Sado, R.Y., Cyrino, J.E.P. 2009. Growth and hematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. *Aquaculture Research* 40: 486-495.
- Araújo, B.C., Flores-Galvez, K., Honji, R.M., Barbosa, V.M., Viana, M.T., Tinajero, A., Mata-Sotres, J.A. 2020. Arachidonic acid effects on the overall performance, fatty acid profile, hepatopancreas morphology and lipid-relevant genes in *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 523: 735207.
- Asil, S.M., Kenari, A.A., Miyanji, G.R., Van Der Kraak, G. 2017. The influence of dietary arachidonic acid on growth, reproductive performance, and fatty acid composition of ovary, egg and larvae in an anabantid model fish, Blue gourami (*Trichopodus trichopterus*; Pallas, 1770). *Aquaculture* 476: 8-18.
- Atalah, E., Hernández Cruz, C.M., Ganuza, E., Benítez Santana, T., Ganga, R., Roo, J., Montero, D., Izquierdo, M. 2011. Importance of dietary arachidonic acid for the growth, survival and stress resistance of larval European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high dietary docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids. *Aquaculture Research* 42: 1261-1268.
- Bogolino, A., Darias, M.J., Estévez, A., Andree, K.B., Gisbert, E. 2012. The effect of dietary arachidonic acid during the *Artemia* feeding period on larval growth and skeletogenesis in Senegalese sole, *Solea senegalensis*. *Journal of Applied Ichthyology* 28: 411-418.
- Bonaldo, A., Di Marco, P., Petoichi, T., Marino, G., Parma, L., Fontanillas, R., Koppe, W., Mongile, F., Finoia, M.G., Gatta, P.P. 2015. Feeding turbot juveniles *Psetta maxima* L. with increasing dietary plant protein levels affects growth performance and fish welfare. *Aquaculture Nutrition* 21: 401-413.
- Bransden, M.P., Butterfield, G.M., Walden, J., McEvoy, L.A., Bell, J.G. 2005. Tank color and dietary arachidonic acid affects pigmentation, eicosanoid production and tissue fatty acid profile of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 250: 328-340.
- Bruce, M., Oyen, F., Bell, G., Asturiano, J.F., Farndale, B., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Bromage, N. 1999. Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance. *Aquaculture* 177: 85-97.
- Cerda, J., Zanuy, S., Carrillo, M., Ramos, J., Serrano, R. 1995. Short-and long-term dietary effects on female sea bass (*Dicentrarchus labrax*): seasonal changes in plasma profiles of lipids and sex steroids in relation to reproduction. *Comparative Biochemistry and Physiology* 111C: 83-91.
- Chen, J., Zhu, X., Han, D., Yang, Y., Lei, W., Xie, S. 2011. Effect of dietary n-3 HUFA on growth performance and tissue fatty acid composition of gibel carp *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture Nutrition* 17: 476-485.
- Coman, G.J., Arnold, S.J., Barclay, M., Smith, D.M. 2011. Effect of arachidonic acid supplementation on reproductive

بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان عنوان کرد که افزودن ARA در جیره کنسانتره فقط سبب تسریع رشد ماهی تا زمان رسیدگی جنسی برای مولدسازی می‌شود، ولی افزودن ۱٪ ARA توسط ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده کارایی بهتری نسبت به غذای کنسانتره از نظر شاخص تولیدمثلی دارد. بنابراین، تغذیه ماهی زبرا در دو ماه قبل از تکثیر با ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده با ۱٪ ARA برای بهبود

- performance of tank-domesticated *Penaeus monodon*. *Aquaculture Nutrition* 17: 141-151.
- Das, P., Mandal, S.C., Bhagabati, S.K., Akhtar, M.S., Singh, S.K. 2012. Important live food organisms and their role in aquaculture. *Frontiers in Aquaculture* 5: 69-86.
- Ershad Langroudi, H., Mousavi, S.H., Falahatkar, B., Moradkhani, Z. 2009. Effect of diets containing *Artemia* enriched with unsaturated fatty acids and vitamin C on angel fish *Pterophyllum scalare* propagation. *International Aquatic Research* 1: 67-72.
- Fishman, M.C. 2001. Genomics. Zebrafish-the canonical vertebrate. *Science* 294: 1290-1297.
- Food and Agricultural Organization (FAO). 2020. <http://www.fao.org>.
- Fountoulaki, E., Vasilaki, A., Hurtado, R., Grigorakis, K., Karacostas, I., Nengas, I., Rigos, G., Kotzamanis, Y., Venou, B., Alexis, M.N. 2009. Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile: Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture* 289: 317-326.
- Furuita, H., Hori, K., Suzuki, N., Sugita, T., Yamamoto, T. 2007. Effect of n-3 and n-6 fatty acids in broodstock diet on reproduction and fatty acid composition of broodstock and eggs in the Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Aquaculture* 267: 55-61.
- Furuita, H., Yamamoto, T., Shima, T., Suzuki, N., Takeuchi, T. 2003. Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 220: 725-735.
- Gonzales, J.M.J. 2012. Preliminary evaluation on the effects of feeds on the growth and early reproductive performance of zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 51: 412-417.
- Hossen, M.S., Reza, A.H.M., Rakhi, M., Takahashi, S.F., Hossain, K.Z. 2014. Effects of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) on gonadal maturation and spawning of striped gourami, *Colisa fasciatus*. *International Aquatic Research* 6: 1-13.
- Ji, H., Li, J., Liu, P. 2011. Regulation of growth performance and lipid metabolism by dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 159B: 49-56.
- Karga, J., Mandal, S.C. 2017. Effect of different feeds on the growth, survival and reproductive performance of zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Nutrition* 23: 406-413.
- Lavens, P., Sorgeloos, P. 1996. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture (No. 361). Food and Agriculture Organization (FAO), 361 p.
- Lawrence, C., Best, J., James, A., Maloney, K. 2012. The effects of feeding frequency on growth and reproduction in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture* 369: 103-108.
- Ling, K.H., Lim, L.Y. 2006. The status of ornamental fish industry in Singapore. *Singapore Journal of Primary Industries* 32: 59-69.
- Ljubobratović, U., Péter, G., Demény, F., Kugyela, N., Horváth, Á., Pataki, B., Horváth, Z., Sándor, Z.J., Rónyai, A. 2020. Reproductive performance in virgin pikeperch (*Sander lucioperca* L.) females fed different dietary levels of arachidonic acid with respect to the duration of spawning induction. *Aquaculture Reports* 18: 100430.
- Mandal, B., Mukherjee, A., Banerjee, S. 2010. Growth and pigmentation development efficiencies in fantail guppy, *Poecilia reticulata* fed with commercially available feeds. *Agriculture and Biology Journal of North America* 1: 1264-1267.

- Markovich, M.L., Rizzuto, N.V., Brown, P.B. 2007. Diet affects spawning in zebrafish. *Zebrafish* 4: 69-74.
- Miao, S., Wan, W., Hu, J., Chang, E., Zhou, Z., Zhou, Y., Sun, L.S. 2022. Dietary arachidonic acid affects the innate immunity, antioxidant capacities, intestinal health and microbiota in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Aquaculture* 548: 737635.
- Navas, J.M., Mananos, E., Thrush, M., Ramos, J., Zanuy, S., Carrillo, M., Zohar, Y., Bromage, N. 1998. Effect of dietary lipid composition on vitellogenin, 17 β -estradiol and gonadotropin plasma levels and spawning performance in captive sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 165: 65-79.
- Needleman, P., Truk, J., Jakschik, B.A., Morrison, A.R., Lefkowitz, J.B. 1986. Arachidonic acid metabolism. *Annual Review of Biochemistry* 55: 69-102.
- Norambuena, F., Estevez, A., Bell, G., Carazo, I., Duncan, N. 2013. Effects of graded levels of arachidonic acid on the reproductive physiology of Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Fatty acid composition, prostaglandins and steroid levels in the blood of broodstock bred in captivity. *General and Comparative Endocrinology* 191: 92-101.
- Nowosad, J., Kucharczyk, D., Targonska, K. 2017. Enrichment of zebrafish *Danio rerio* (Hamilton, 1822) diet with polyunsaturated fatty acids improves fecundity and larvae quality. *Zebrafish* 14: 364-370.
- Ohs, C.L., DiMaggio, M.A., Grabe, S.W., Broach, J.S., Watson, C.A., Breen, N.E., Barrows, F.T. 2013. Effect of increasing docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic acid (ARA) in brood diets of *Monodactylus sebae* on fecundity, egg and larval quality, and egg fatty acid composition. *North American Journal of Aquaculture* 75: 285-294.
- Rodríguez, C., Cejas, J.R., Martín, M.V., Badia, P., Samper, M., Lorenzo, A. 1998. Influence of n-3 highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) and on egg quality. *Fish Physiology and Biochemistry* 18: 177-187.
- Rojbek, M.C., Tomkiewicz, J., Jacobsen, C., Støttrup, J.G. 2014. Forage fish quality: seasonal lipid dynamics of herring (*Clupea harengus* L.) and sprat (*Sprattus sprattus* L.) in the Baltic Sea. *ICES Journal of Marine Science* 71: 56-71.
- Seidgar, M. 2015. The effects of fairy shrimp *Phallocryptus spinosa* (Branchiopoda: Anostraca) as live food on reproduction performances and color of freshwater ornamental fish prawns. *International Journal of Aquatic Science* 6: 37-44.
- Shanab, S.M., Hafez, R.M., Fouad, A.S. 2018. A review on algae and plants as potential source of arachidonic acid. *Journal of Advanced Research* 11: 3-13.
- Siccardi, A., Garris, H., Jones, W., Moseley, D., D'Abramo, L., Watts, S. 2009. Growth and survival of zebrafish (*Danio rerio*) fed different commercial and laboratory diets. *Zebrafish* 6: 1-6.
- Spence, R., Runa, K.F., Reichard, M., Huq, K.A., Wahab, M.A., Ahmed, Z.F., Smith, C. 2006. The distribution and habitat preference of the zebrafish in Bangladesh. *Journal of Fish Biology* 69: 1435-1448.
- Sumanasa, S., Lin, S. 2004. Zebrafish as a model system for drug target screening and validation. *Drug Discovery Today Targets* 3: 89-96.
- Takon, A.G.J. 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Argent Laboratories Press, Volume 1, The Essential Nutrition, 117 p.
- Villalta, M., Estévez, A., Bransden, M.P., Bell, J.G. 2005. The effect of graded concentrations of dietary DHA on growth, survival and tissue fatty acid profile of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae during the *Artemia* feeding period. *Aquaculture* 249: 353-365.

- Williams, M.B., Palmer, J.W., Chegade, S.B., Hall, A.J., Barry, R.J., Powell, M.L., Harris, M.L., Sun, L.Y., Watts, S.A. 2021. Effect of long-term consumption of poultry egg products on growth, body composition, and liver gene expression in zebrafish, *Danio rerio*. *Current Development in Nutrition* 2: 1-13.
- Xu, H., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Wang, J., Ma, H., Zhang, W., Wang, X., Liufu, Z. 2010. Effects of dietary arachidonic acid on growth performance, survival, immune response and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicas*. *Aquaculture* 307: 75-82.
- Xu, H., Zhang, Y., Luo, K., Meng, X., Luan, S., Cao, B., Chen, B., Liang, M., Kong, J. 2017. Arachidonic acid in diets for early maturation stages enhances the final reproductive performances of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 479: 556-563.