

آماده انتشار

میر حامد سید حسنی*^۱، ایوب یوسفی جوردهی^۲، مریم منصف شکری^۳، علی حلاجیان^۲، محمود محسنی^۴، ذبیح الله پژند^۳، هوشنگ یگانه^۲، اسماعیل حسین نیا^۳، رضا قربانی واقعی^۲، سجاد قاسمیان^۲، جلیل جلیل پور^۲

۱- نویسنده مسئول، کارشناس، انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران، رایانامه: mirhamedhassani@yahoo.mail

۲- کارشناس، انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران،

۳- استادیار، انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران،

۴- استاد، انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران،

Mir Hamed Seyed Hosni*¹, Ayoub Yousefi Jourdehi², Maryam Monsef Shokri³, Ali Halajian², Mahmoud Mohseni⁴, Zabihullah Pazhand³, Houshang Yeganeh², Ismail Hossein Niya³, Reza Ghorbani Vaghieh³, Sajjad Ghasemian², Jalil Jalilpour²

1-Corresponding Authors, Expert, International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran, PO Box: 3464-4635. Email: mirhamedhassani@yahoo.mail

2- Expert, International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran, PO Box: 3464-4635.

3- Assistant of Professor, International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran, PO Box: 3464-4635.

4- Professor, International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran, PO Box: 3464-4635.

Doi: 10.22069/japu.2024.22642.1891

تاریخ دریافت: 1403-05-02

تاریخ ویرایش: 1403-05-25

تاریخ پذیرش: 1403-05-27

تأثیر سطوح مختلف آستازانتین بر شاخصهای رشد و سیستم ایمنی غیر اختصاصی و ظرفیت آنتی اکسیدانی مولدین

فیلماهی (Huso huso)

چکیده

آستازانتین یک رنگدانه افزودنی مجاز در جیره غذایی آبزیان است که دارای خواصی نظیر پیش‌برنده‌های اختصاصی رتینوئیدهای پروویتامین A، تولیدکننده آنتی‌بادی و سلول‌های ایمنی، تقویت‌کننده سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و محرک رشد می‌باشد. در این مطالعه تأثیر سطوح مختلف آستازانتین بر شاخص‌های رشد، ضریب تبدیل غذا، سیستم ایمنی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مولدین فیلماهی ماده پرورشی مورد بررسی

قرار گرفت. ۱۵ قطعه فیلماهی ماده در مرحله رسیدگی جنسی II ($16/16 \pm 0/16$ کیلوگرم و $13/2 \pm 1/65$ سانتی-متر) با جیره های دارای ۵۰ درصد پروتئین، ۱۴ درصد چربی و ۱۸ مگاژول بر کیلوگرم انرژی در قالب چهار تیمار: C (فاقد آستازانتین)، C_{100} ، C_{150} و C_{200} (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین) به مدت ۶۷۴ روز در حوضچه های بتنی در قالب ۵ تیمار (هر تیمار دارای سه عدد ماهی) روز تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش فیلماهیان در مرحله رسیدگی جنسی ۳ به ۴ و ۴ (III-IV و IV) قرار داشتند. فیلماهیان تغذیه شده با جیره C_{200} دارای بیشترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و کمترین ضریب تبدیل غذا بودند ($P<0.05$). میزان لایوزیم و ایمونوگلوبولین M در ماهیان تغذیه شده با جیره های C_{150} و C_{200} به طور معنی داری بالاتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P<0.05$). میزان کمپلمان با افزایش آستازانتین در جیره افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در ماهیان تغذیه شده با جیره C_{200} ثبت گردید ($P<0.05$). میزان ایمونوگلوبولین کل ماهیان تغذیه شده با جیره های C_{100} ، C_{150} و C_{200} به طور معنی داری بیشتر از فیلماهیان تیمارهای C و C_{50} بود ($P<0.05$). اضافه کردن آستازانتین به جیره غذایی موجب افزایش آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) شد و بیشترین مقدار آن در سرم فیلماهیان تیمار C_{200} ثبت گردید، میزان مالون دی آلدید (MDA) در سرم خون با میزان آستازانتین جیره رابطه عکس داشت ($P<0.05$). افزودن مکمل آستازانتین به میزان ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم موجب افزایش شاخص های رشد، ارتقای سیستم ایمنی و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی فیلماهیان در مرحله مولدسازی می شود.

کلمات کلیدی: فیلماهی، آستازانتین، شاخص های رشد، سیستم ایمنی.

مقدمه

فیلماهی، ماهی غالب پرورشی در مزارع خصوصی کشور به شمار آمده و در واقع سنگ بنای پرورش ماهیان خاویاری در کشور می باشد. در حال حاضر تعداد کم مولدین و نیاز کارگاه های پرورش تاسماهیان به تولید گله های مولد و با کیفیت بیشتر از گذشته خود را نشان می دهد. اگرچه در حال حاضر شیوه قانونمند و مدونی جهت پرورش گله های مولد فیلماهی در حوضچه های بتونی وجود ندارد، اما معمولاً این ماهیان از میان ماده های قوی و درشت انتخاب و در حوضچه های بتنی و استخرهای خاکی در مراحل جنسی II یا II-III رها شده و اگر شرایط استاندارد پرورش رعایت گردد، زمان بلوغ جنسی در فیل ماهی به طور متوسط به ۷ الی ۹ و در جنس نر به ۴ الی ۷ سال می رسد (۱). مطالعات کمی در مورد اثرات جنسیتی بر پاسخ های ایمنی ماهیان مولد انجام شده، اما به نظر می رسد که برخلاف پستانداران، ماهی های ماده پاسخ ایمنی ضعیف تر (۲) و حساسیت بیشتری نسبت به بیماری دارند (۳). همچنین در اکثر کارگاه های پرورش در طی مرحله مولدسازی، استرس های زیادی به پیش مولدین و مولدین به دلیل تراکم، شرایط نامساعد محیطی و یا جیره غذایی وارد می شود. این در حالی است که هنگامی که یک حیوان استرس را تجربه می کند، کورتیزول برای کمک به سازگاری با استرس، بستر انرژی را بسیج و جابجا می کند و اگر استرس ادامه یابد تبدیل به استرس مزمن شده و این انرژی از سایر عملکردهای مهم از جمله سیستم ایمنی منحرف (۴) و منجر به کاهش سرعت رشد، پس رفت سیستم ایمنی و افزایش استعداد به بیماری های عفونی و قارچی می شود (۵). در ماهی، سیستم دفاعی در دو سطح سازماندهی شده است: سیستم دفاعی ذاتی و سیستم دفاعی اکتسابی (از طریق سازگاری با محیط). سیستم ایمنی ذاتی در مهره داران و ماهیان اولین مدافع جاندار در مقابل حمله پاتوژن ها بوده و شامل موانع اپیتلیال (پوست، آبشش ها، روده ها و مخاط)، لکتن، ماکروفاژها، مونوسیت ها، گرانولوسیت ها، پروتئین واکنش گر C و اینترفرون بوده و عناصر همورالی این سیستم شامل لایوزیم، سیستم کمپلمان و واکنش های التهابی مربوطه می باشد (۶). در این میان لایوزیم و کمپلمان نقش مهمی در مبارزه با پاتوژن های خارجی داشته و موجب عدم چسبندگی و کلونیزه شدن میکروارگانیسم های بیماری زا در بدن آبری می شوند (۷). لایوزیم به طور گسترده در تمام مایعات بدن جاندار وجود دارد که نه تنها باکتری ها را حل می کند بلکه سیستم کمپلمان C_3 را

فعال نموده (۸) و این سیستم می‌تواند به طور موثر میکروارگانیزم های بیماری‌زا را حذف نموده و واکنش های التهابی را تحریک کند (۹). همچنین در سیستم ایمنی ذاتی، ماهیان دارای جمعیت لنفوسیت های B, T و پلاسماسل هستند که می‌توانند از طریق تولید آنتی‌بادی‌هایی بنام ایمونوگلوبولین تولید کرده و پاسخ‌های ایمنی خاصی را در برابر انواع آنتی ژن ها ایجاد کنند (۱۰). در پستانداران ۵ گروه Ig با وظایف گوناگون وجود دارد که شامل IgM, IgA, IgG, IgD و IgE می‌باشند (۱۱) اما در ماهیان ایمونوگلوبین اصلی که خاصیت ضدباکتریایی و ویروسی مشابه پستانداران را دارد ایمونوگلوبین IgM می‌باشد (۱۲). استرس مزمن از طریق افزایش غلظت کورتیزول و تاثیر آن بر مهار بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، جلوگیری از تکثیر لنفوسیت‌ها و القای آپوپتوز آنها در خون، کلیه سر، طحال و تیموس می‌تواند بر سیستم ایمنی تاثیرات منفی دارد (۱۳)، همچنین ثابت شده است که افزایش کورتیزول باعث کاهش تولید IgM و افزایش حساسیت برخی از ماهی‌ها به عفونت‌های انگلی می‌شود (۴). در هنگام بروز استرس حاد میزان سطح لایزوزیم و پروتئین‌های کمپلمان C3 به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۱۴) و در صورت ادامه استرس حاد و تبدیل آن به استرس مزمن این اثرات بیشتر به‌صورت افزایش سطح کورتیزول، کاهش سطح لایزوزیم، کاهش پاسخ آنتی‌بادی از طریق کاهش ایمونوگلوبین‌ها خود را نشان داده (۱۵) که نشان از سرکوب عملکرد سیستم ایمنی دارد (۱۶).

از عوامل دیگری که بر سیستم ایمنی ماهیان تاثیر به سزایی دارند پدیده استرس اکسیداتیو است. استرس اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که دفاع آنتی‌اکسیدانی برای مبارزه با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) کافی نباشد. در واکنش‌های شیمیایی درون سلولی اکسیژن می‌تواند دو شکل شیمیایی داشته باشد، یک فرم اتمی (O) که یک رادیکال آزاد است و یک شکل مولکولی (O_2) که یک اتم با دو رادیکال آزاد است (۱۷). هنگامی که در واکنش‌های بیوشیمیایی کاهش جزئی در اکسیژن رخ دهد، واسطه‌های واکنشی که به‌عنوان رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال غیررادیکال (ROS) نظیر آنیون سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل (OH^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تولید می‌شود (۱۸) که یکی از محوری‌ترین حوزه‌های راکه تحت تاثیر قرار می‌دهند، سیستم ایمنی است (۱۹)، به‌طوری که در غلظت‌های بالا موجب تغییرات منفی در بافت (تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA) (۲۰) کاهش کیفیت اسپرم، زنده‌مانی تخمک و تضعیف باروری (۲۱) و تضعیف رشد و نمو (۲۲) می‌شوند. علاوه بر این محصولات پراکسیداسیون لیپیدی تولید شده نظیر مالون دی‌آلدئید (MDA) و آلدئیدهای غیر اشباع، موجب تغییر در عملکرد بیوشیمیایی پروتئین و دناتوره شدن آن می‌شوند. در واقع عدم تعادل بین میزان تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال غیررادیکال (ROS) و ظرفیت موجودات برای مقابله با این گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند باعث استرس اکسیداتیو (OS) شود، در صورتی که برای جلوگیری از عدم تعادل تولید ROS، ارگانیزم‌های هوازی می‌توانند تشکیل ROS را از طریق اجزای آنتی‌اکسیدانی، تولیدشده توسط سلول (منبع درون‌زا) یا به‌دست آمده از طریق منبع اکزوژن (جیره غذایی) کاهش دهند (۲۳). در این میان سوپراکسید دیسموتاز (SOD) یک متالوآنزیم است و می‌تواند رادیکال سوپر اکسید را به H_2O_2 تبدیل و H_2O_2 در مراحل دفاع آنتی‌اکسیدانی سم‌زدایی گردد. کاتالاز، هم در میتوکندری و هم در پراکسی‌زوم‌ها فعال است و موجب تجزیه H_2O_2 به H_2O و O_2 شده و مکانیزم‌های لازم را جهت حفظ تعادل ROS و آنتی‌اکسیدان‌های مربوطه داده که جهت عملکرد ایمنی ذاتی ضروری است (۲۴). مطالعات زیادی نشان داده است که هم عوامل استرس‌زای محیطی و هم عفونت می‌توانند تولید ROS و MDA را افزایش دهند و مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر GSH, SOD و کاتالاز می‌توانند اثرات منفی این محصولات را کاهش دهند (۲۵).

آستازانتین یک مولکول کوچک با گروه‌های هیدروکسیل و کتون غیراشباع است (۲۶). این ماده تنها رنگدانه افزودنی مجاز به جیره غذایی ماهیان پرورشی است (۲۷) که دارای خواصی نظیر پیش‌برنده‌های اختصاصی رتینوئیدهای پروویتامین A و تقویت‌کننده فعالیت آن (۲۸)، تولیدکننده آنتی‌بادی، سلول‌های ایمنی بدن و آنتی‌اکسیدان (۲۹) می‌باشد. خواص آنتی‌اکسیدانی آستازانتین ۱۰۰ تا ۵۰۰ برابر ویتامین E و ۱۵ برابر کاروتنوئیدها است (۳۰). ویژگی‌های ساختاری آستازانتین، از جمله سیستم پیوند مضاعف مزدوج و آرایش پلی‌ن گسترده، یک چارچوب بهینه برای توزیع الکترون ایجاد می‌کند و امکان مدولاسیون مؤثر فعالیت ROS را فراهم می‌کند (۳۱). مطالعات زیادی نشان داده است که آستازانتین جیره می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی طبیعی بدن مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زای سلولی و HSP را تقویت کرده، مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو را افزایش داده و آبشار التهابی و آپوپتوز را سرکوب کنند. افزایش فعالیت فاگوسیتیک در ماهی پس از درمان با دوزهای مختلف آستازانتین در برابر عفونت‌های مختلف ثبت شده است (۳۲،۳۳،۳۴). ماهیان پاکو (*Piaractus mesopotamicus*) (۳۵) و فلاندر زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) (۳۶) تحت درمان با داروهای گیاهی حاوی آستازانتین در چالنج با پاتوژن‌های بیماری‌زا، افزایش فعالیت لایزوزیم سرم را نشان دادند که نشان‌دهنده بهبود مکانیسم‌های دفاعی غیراختصاصی در برابر چالنج با پاتوژن‌ها بود. در مطالعات غیرمرتبط با مولدسازی ماهیان خاویاری آخمتووا و همکاران (۲۰۲۳) تصریح نمودند که افزودن ۴۰ میلی‌گرم آستازانتین به ازای هر کیلوگرم خوراک موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد (رشد روزانه)، هموگلوبین و افزایش میزان پروتئین لاشه در تاسماهی استرلیاد گردید که نشان‌دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی این مکمل و کمک به رشد بهتر و سلامت ماهی است. این در حالی است که تاکنون به نقش آستازانتین به عنوان یک ارتقاء دهنده سیستم ایمنی، آنتی‌اکسیدان و رشد در طی دوره مولدسازی فیلماهی پرداخته نشده است (۳۷). بنابراین در این مطالعه تأثیر مکمل آستازانتین جیره بر شاخص‌های رشد، ضریب تبدیل غذا، سیستم ایمنی و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی پیش مولدین فیلماهی ماده پرورشی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

انتخاب ماهیان

۸۵ قطعه فیلماهی از اوزان ۹ تا ۲۵ کیلوگرم مورد لاپراسکوپي قرار گرفتند و از میان آنها ۱۵ قطعه پیش مولد فیلماهی با متوسط وزن و طول 16 ± 0.1 و 16 ± 1.3 و 140 ± 0.65 سانتی‌متر در مرحله رسیدگی جنسی II انتخاب و در ۵ حوضچه بتنی مستطیلی شکل با ابعاد $3/45 \times 2/4$ متر مربع، مساحت $8/28$ متر مربع و ارتفاع $1/05$ متر از تاریخ ۱۳۹۹/۸/۱۲ لغایت ۱۴۰۲/۱۰/۱۵ در بخش آبرزی‌پروری انستیتو تحقیقات تاسماهیان دریای خزر (روستای شاقاجی، رشت، استان گیلان) در قالب ۵ تیمار (هر تیمار دارای سه تکرار و هر ماهی به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد) اجرا شد. جهت لاپراسکوپي ابتدا ماهیان در یک وان فایبرگلاس ۷۵۰ لیتری که ۵۰۰ لیتر آن آب‌گیری و دارای ۲۰۰ ppm پودر گل میخک به ازای هر لیتر آب بود بیهوش شدند (۳۸). در مرحله بعد ماهیان پس از ایجاد یک برش طولی در ناحیه شکم مورد لاپراسکوپي قرار گرفتند و رشد گنادی در آنها با استفاده از یک مانیتور مدل (LG, 19M38HB, Korea) مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس تصاویر به‌دست آمده و تجربیات میدانی از مراحل رشد گنادی در پیش مولدین فیلماهی، ماهیان دارای رسیدگی جنسی III و بالاتر حذف و ماهیان دارای رسیدگی جنسی II و اندکی بالاتر انتخاب و مورد وزن‌کشی قرار گرفته و طول آنها بوسیله یک متر نواری اندازه‌گیری و داده‌های مربوطه در

جداول مخصوص بیومتری ثبت گردید. پس از اتمام عملیات بیومتری ماهیان با استفاده از PIT تگ (تک پلاک گذاری زیرپوستی) پلاک گذاری گردیدند.

فرمولاسیون و ساخت جیره

آستازانتین (Carophyll® pink 10%, DSM-Bright Science, BrighterLiving™, Netherlands) با شماره استاندارد (CAS No.: 7542-45-2) از شرکت آزیکو، یاسوج، (استان کهلکویه و بویراحمد) تهیه شد. اجزای اولیه غذایی شامل آرد ماهی کیلکا، آرد سویا، گلو تن گندم، آرد گندم، روغن ماهی، روغن کانولا، لستین سویا، ویتامین پرمیکس، پرمیکس معدنی، ویتامین E، ویتامین C، مونوکلسیم فسفات، ال کارنتین، لایزین، بتافین و آستازانتین بود. جیره غذایی براساس نیازهای غذایی مولدین تاسماهی سبیری و بر اساس رفرنس^۷های موجود فرموله شد. میزان پروتئین ۵۰ درصد، چربی ۱۵ درصد و انرژی ۱۸ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک جیره غذایی در نظر گرفته (۴۰،۳۹) و در محیط (Microsoft Excell, 2013, Excel Solver (Michigan, USA) فرموله شد. عمده منبع تامین کننده پروتئین جیره، آرد ماهی کیلکا بود که ۴۹/۵ درصد جیره را تشکیل می داد. کنجاله سویا و آرد گندم به منظور تامین بخشی از پروتئین مورد نیاز و کربوهیدرات قابل هضم جهت استفاده بهینه از پروتئین موجود در آرد ماهی به میزان ۱۲ و ۱۱ درصد در نظر گرفته شد (۴۱). جهت تامین چربی و اسیدهای چرب لازم و کاهش رسوب چربی در محوطه تخمدانی و امعا و احشای ماهی در جیره از ۸/۵ درصد روغن ماهی استفاده شد (۴۰). نمونه جیره غذایی ساخته شده به آزمایشگاه فرستاده شد و ترکیب بیوشیمیایی و پروفایل اسیدآمینه آن تعیین گردید (جداول ۱ و ۲). به جیره پایه مکمل آستازانتین در سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم (A_{200} و A_{150} ، A_{100} ، A_{50}) اضافه شد (۴۲). جهت جلوگیری از افت اسیدهای آمینه به تمام جیره های غذایی ۱ درصد متیونین و لایزین (۴۳) و جهت استفاده موثر از منابع پروتئین و چربی جیره غذایی ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلو گرم ال کارنتین (۲۸) اضافه شد. جهت ساخت غذا ابتدا بعد اجزای ریز غذا (ویتامین ها، پرمیکس ها، دی کلسیم فسفات و غیره) با استفاده از همزن دو زبانه (Twin shell) به مدت ۱۵ دقیقه میکس شدند. سپس کلیه ترکیبات درشت (پودر ماهی، کنجاله سویا، آرد گندم، و غیره) با استفاده از دستگاه آسیاب به صورت کاملاً پودر درآمده و به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از دستگاه مخلوط کن با یکدیگر مخلوط شدند. اجزای درشت و ریز غذا به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از دستگاه همزن (Pooya Notash, Mashhad, Iran) به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط گردیدند. در مرحله بعد، آستازانتین با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن و در آب مقطر در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد محلول و سپس تا حد ممکن به صورت یکنواخت در جیره و اجزای خشک جیره پخش شد (۴۲)، سپس مجدداً کل غذا به مدت ۲۰ دقیقه با دست هم زده شد. در مرحله بعد لستین سویا با روغن ماهی و روغن گیاهی و جانوری مخلوط و به جیره اضافه شد (۴۱).

جدول ۱ ترکیب شیمیایی اجزای غذایی (n=۳) میانگین $\pm$ انحراف معیار (درصد ماده خشک)^۱

اجزای غذایی	ماده خشک (%)	پروتئین خام (%)	چربی (%)	خاکستر (%)	فیبر (%)	کربوهیدرات (%)	انرژی خام (مگاژول بر
-------------	--------------	-----------------	----------	------------	----------	----------------	----------------------

کیلوگرم)							
۲۰/۰ ± ۱/۶۲	۸/۰ ± ۰/۸۱	۰/۱۱ ± ۰/۰۱	۱۱/۳۸ ± ۱/۱	۹/۲۲ ± ۰/۸	۷۲/۱۱ ± ۱/۵	۹۴/۴۸ ± ۲/۵	پودر ماهی کیلکا ^۱
۲۰/۷۵ ± ۱/۲	۱۲/۱ ± ۱/۵	۰/۴۷ ± ۰/۰۳	۲/۶۲ ± ۰/۱	۱/۱۷ ± ۰/۵	۷۶/۷۶ ± ۱/۵	۹۵/۸۱ ± ۲/۵	گلوتن گندم ^۱
۱۶/۱۱ ± ۰/۵	۷۶/۰ ± ۲/۵	۱/۶ ± ۰/۲	۰/۷۵ ± ۰/۱	۰/۸۹ ± ۰/۳	۱۱/۳ ± ۰/۵	۹۱/۰۳ ± ۱/۴	آرد گندم ^۱
۱۵/۶۳ ± ۰/۵	۲۷ ± ۰/۵۶	۷/۸ ± ۰/۶	۹/۶۵ ± ۰/۳	۱/۵۵ ± ۰/۵	۴۳/۸ ± ۰/۵	۹۰/۲ ± ۱/۵	کنجاله سویا ^{۱۱}

جدول ۲: فرمولاسیون و ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های ساخته شده $\Pi=3$ ، میانگین $\pm$ انحراف معیار) (درصد ماده خشک)^۱

اجزای جیره غذایی (%)	جیره شاهد (فاقد استازانتین)	جیره حاوی ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم استازانتین	جیره حاوی ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم استازانتین	جیره حاوی ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم استازانتین	جیره حاوی ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم استازانتین
آرد ماهی کیلکا ^۲	۴۹/۵	۴۹/۵	۴۹/۵	۴۹/۵	۴۹/۵
آرد سویا ^۳	۱۱/۵	۱۱/۵	۱۱/۵	۱۱/۵	۱۱/۵
گلوتن گندم ^۳	۹	۹	۹	۹	۹
آرد گندم ^۴	۱۰/۳	۱۰/۳	۱۰/۳	۱۰/۳	۱۰/۳
روغن ماهی ^۲	۸/۵	۸/۵	۸/۵	۸/۵	۸/۵
روغن کانولا ^۵	۰	۰	۰	۰	۰
لستین سویا ^۶	۲	۲	۲	۲	۲
پرمیکس ویتامینی ^۷	۱	۱	۱	۱	۱
پرمیکس معدنی ^۷	۱	۱	۱	۱	۱
ویتامین E ^۷	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ویتامین C ^۷	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
مونو کلسیم فسفات ^۸	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ال کارنتین ^۸	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
متیونین ^۸	۱	۱	۱	۱	۱
لایزین ^۸	۱	۱	۱	۱	۱
بتافین ^۸	۱	۱	۱	۱	۱
بایندر ^۸	۲	۱/۹۹۵	۱/۹۹	۱/۹۸۵	۱/۹۸
استازانتین ^۹	۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۲
مجموع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
ترکیب بيو شیمیایی (%)					
ماده خشک ^{۱۰}	۸۲/۷۲ ± ۱/۲۵	۸۴/۷۳ ± ۰/۹۵	۸۴/۷۲ ± ۰/۷۵	۸۴/۷۳ ± ۰/۶۵	۸۴/۸۵ ± ۰/۵۵
پروتئین ^{۱۰}	۵۰/۰۶۱ ± ۰/۸۹	۵۰/۰۷ ± ۰/۹۱	۵۰/۶۲ ± ۰/۸۱	۵۰/۰۸ ± ۰/۷۵	۵۰/۰۱ ± ۰/۲۸
چربی ^{۱۰}	۱۴/۹۳ ± ۰/۶۵	۱۴/۸۵ ± ۰/۵۵	۱۴/۹۲ ± ۰/۳۵	۱۴/۹۴ ± ۰/۴۵	۱۴/۸۵ ± ۰/۳۵
فیبر ^{۱۰}	۰/۸۹ ± ۰/۰۶۵	۰/۸۹ ± ۰/۰۳۸	۰/۸۸ ± ۰/۰۵۴	۰/۹۳ ± ۰/۰۳۴	۰/۸۹ ± ۰/۰۳۵
عصاره عاری از ازلت ^{۱۰}	۱۰/۰۵ ± ۰/۷۵	۱۰/۰۶ ± ۰/۶۵	۱۰/۰۵ ± ۰/۴۵	۱۰/۰۸ ± ۰/۴۶	۱۰/۰۶ ± ۰/۳۸
خاکستر ^{۱۰}	۵/۶۷ ± ۰/۷۵	۵/۶۷ ± ۰/۳۵	۵/۶۵ ± ۰/۳۸	۵/۷۱ ± ۰/۲۸	۵/۶۷ ± ۰/۳۰

انرژی خام (مگاژول بر کیلوگرم) ^{۱۰}	۱۸/۰۵ ± ۰/۳۵	۱۸/۰۷ ± ۰/۶۵	۱۸/۰۵ ± ۰/۲۸	۱۸/۰۷ ± ۰/۳۵	۱۸/۰۵ ± ۰/۲۱
ترئونین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۱/۷۸ ± ۰/۲۱	۱/۷۹ ± ۰/۲۵	۱/۷۵ ± ۰/۱۵	۱/۷۷ ± ۰/۱۲	۱/۷۹ ± ۰/۱۱
والین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۲/۷۷ ± ۰/۱۲	۲/۷۸ ± ۰/۱۱	۲/۷۹ ± ۰/۱۳	۲/۷۶ ± ۰/۱۸	۲/۷۵ ± ۰/۱۲
متیونین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۱/۳۰ ± ۰/۱۴	۱/۳۱ ± ۰/۱۸	۱/۲۹ ± ۰/۱۷	۱/۳۰ ± ۰/۱۵	۱/۲۸ ± ۰/۱۱
ایزولوسین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۲/۴۸ ± ۰/۱۲	۲/۵۱ ± ۰/۱۵	۲/۴۹ ± ۰/۱۱	۲/۵۰ ± ۰/۱۲	۲/۵۱ ± ۰/۱۸
لوسین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۲/۹۶ ± ۰/۲۱	۲/۹۵ ± ۰/۲۳	۲/۹۴ ± ۰/۱۸	۲/۹۷ ± ۰/۲۱	۲/۹۵ ± ۰/۱۸
فنیل آلانین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۱/۸۶ ± ۰/۱۵	۱/۸۵ ± ۰/۱۷	۱/۸۴ ± ۰/۱۶	۱/۸۶ ± ۰/۲۳	۱/۸۶ ± ۰/۲۳
لایزین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۳/۱۱ ± ۰/۱۶	۳/۱۲ ± ۰/۱۵	۳/۱۱ ± ۰/۱۵	۳/۱۲ ± ۰/۱۶	۳/۱۱ ± ۰/۱۴
هیستیدین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۰/۷۶ ± ۰/۰۷	۰/۷۶ ± ۰/۰۵	۰/۷۴ ± ۰/۰۸	۰/۷۳ ± ۰/۰۹	۰/۷۵ ± ۰/۰۵
ارژینین (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۳/۰۸ ± ۰/۱۶	۳/۰۲ ± ۰/۱۵	۳/۰۵ ± ۰/۱۶	۳/۰۵ ± ۰/۲۰	۳/۰۶ ± ۰/۱۷
تریپتوفان (درصد ماده خشک جیره) ^{۱۱}	۰/۵۹ ± ۰/۰۷	۰/۵۷ ± ۰/۰۶	۰/۵۸ ± ۰/۰۶	۰/۵۷ ± ۰/۰۷	۰/۵۸ ± ۰/۰۶

۱- آزمایش شده در آزمایشگاه دانشگاه تهران (دانشکده منابع طبیعی کرج).

۲- شرکت تولید آرد ماهی خزر، کاشهر (استان گیلان).

۳- شرکت آرد زرین نشاسته، اصفهان (استان اصفهان)

۴- نانوايي

۵- شرکت طلای سفید گنبد، گنبد (استان گلستان).

۶- شرکت خوراک دام و طیور مازندران، گرگان

۷- ترکیب پرمیکس ویتامینه: دی - ال - آلفا توکوفرول استات: ۶۰ I.U، دی - ال - کوله کلسیفرول: I.U۳۰۰۰، تیامین: ۱۵ میلی - گرم در کیلوگرم، ریبوفلاوین: ۳۰ میلی - گرم در کیلوگرم، پیرودوکسین: ۱۵ میلی - گرم در کیلوگرم، ویتامین B₁₂ ۰/۰۵ میلی - گرم در کیلوگرم، نیکوتینیک اسید: ۱۷۵ میلی - گرم در کیلوگرم، اسیدفولیک: ۵ میلی - گرم در کیلوگرم، اسیداسکوربیک: ۵۰۰ میلی - گرم در کیلوگرم، اینوسیتول: ۱۰۰۰ میلی - گرم در کیلوگرم، بیوتین: ۲/۵ میلی - گرم در کیلوگرم، کلسیم پنتوتات: ۵۰ میلی - گرم در کیلوگرم، کولین - کلراید: ۲۰۰۰ میلی - گرم در کیلوگرم (شرکت سیانس، تهران). ارائه شده در بسته های ۵ کیلوگرمی - ۲: ترکیب پرمیکس معدنی: (کربنات کلسیم: ۴۰ درصد یا معادل ۲/۱۵ گرم در کیلوگرم، اکسید منیزیم: ۱/۲۴ گرم در کیلوگرم، سترات فریک: ۰/۲ گرم در کیلوگرم، یدید پتاسیم: ۰/۴ میلی - گرم در کیلوگرم، سولفات روی: ۰/۴ میلی - گرم در کیلوگرم، سولفات مس: ۰/۳ گرم در کیلوگرم، سولفات منگنز: ۰/۳ گرم در کیلوگرم، کلسیم فسفات دو ظرفیتی: ۵ گرم در کیلوگرم، سولفات کبالت: ۲ میلی - گرم در کیلوگرم، سلنیت سدیم: ۳ میلی - گرم در کیلوگرم، کلرید پتاسیم: ۰/۹ گرم در کیلوگرم، کلرید سدیم: ۰/۴ گرم در کیلوگرم (شرکت سیانس، قزوین). ارائه شده در بسته های ۵ کیلوگرمی.

۸- تولید خوراک دام اتحاد گیلان، سراوان (استان گیلان).

۹- CAS No.: 7542-45-2 تهیه شده از شرکت ابزیکو، یاسوج، (استان کهلکویه و بویر احمد)

۱۰- آزمایش شده در آزمایشگاه دانشگاه تهران (دانشکده منابع طبیعی کرج)

۱۱- آزمایش شده در آزمایشگاه دانشگاه تهران (دانشکده منابع طبیعی کرج)

تغذیه و پرورش ماهیان

مطالعه در ۹ حوضچه بتنی مستطیلی شکل با ابعاد ۳/۴۵ × ۲/۴ متر مربع، مساحت ۸/۲۸ متر مربع و ارتفاع ۱/۶۵ متر از تاریخ ۱۳۹۹/۸۵/۱۲ لغایت ۱۴۰۲/۱۰/۱۵ در بخش آبی - پروری انستیتو تحقیقات تاسماهیان دریای خزر (روستای شاقاجی، رشت، استان گیلان) اجرا شد. جهت تخلیه آسان آب و فضولات ناشی از مدفوع و باقیمانده غذا و غذاگیری آسان ماهیان، کف این تانک - های مستطیلی شکل صاف و لیسه - ای شد. ارتفاع آب در حد ۱/۳ متر تنظیم شد. آب این حوضچه - های بتنی با استفاده از مخلوطی از آب و چاه و رودخانه در فصول بهار، تابستان و پاییز در دمای ۱۸-۲۰ درجه سانتیگراد ثابت نگاه داشته و در فصل زمستان

به منظور زمستان‌گذرانی آب چاه قطع و از سیکل طبیعی دما استفاده گردید. در آغاز دوره تغذیه، ماهیان به منظور سازگاری با شرایط محیطی به مدت ۲ هفته در تانک‌ها نگهداری و با یک جیره پایه به میزان ۰/۵ درصد وزن بدن تغذیه شدند. بعد از طی این دوره ماهیان در فصول بهار، تابستان و پاییز به میزان ۰/۵ درصد وزن بدن تغذیه و در دوره زمستان‌گذرانی تغذیه متوقف می‌گردید. آب حوضچه‌های پرورش به میزان ۷۰ درصد دو بار در روز تعویض می‌شد. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل اکسیژن، درجه حرارت و pH سه بار در روز و آمونیاک هر هفته اندازه‌گیری شدند. دوره روشنایی و تاریکی با استفاده از فتوپریود طبیعی تامین گردید. دوره تغذیه ۶۴۵ روز به طول انجامید.

بیومتری و لاپراسکوپ ماهیان

جهت لاپراسکوپ از دستگاه لاپراسکوپ Digital, VIDEO CAMERA, STEMA مدل M-CAM1700 تلسکوپ ۳۰ درجه، ۴ میلی‌متری، به طول ۱۷/۵ سانتی‌متر، منبع تولید نور سرد هالوژن W250 و مانیتور ۲۰ اینچ ساخت آلمان در چهار مرحله در تاریخ‌های ۱۳۹۹/۱۲/۱۵، ۱۴۰۱/۲/۲۵، ۱۴۰۱/۸/۱۰ و ۱۴۰۱/۱۰/۵ استفاده شد. آب مخازن به نصف کاهش یافت. ماهیان به یک وان فایبرگلاس ۷۵۰ لیتری که ۵۰۰ لیتر آن آبگیری شده بود انتقال و به ازای هر لیتر ۲۰۰ ppm گل میخک اضافه شد. پس از بیهوشی کامل، ماهیان به میز جراحی انتقال و با تسمه‌های ویژه بسته شدند (۳۸). در ادامه پس از ضد عفونی ناحیه بین پلاک استخوانی دوم و سوم بوسیله بتادین، برشی در این ناحیه به قطر نیم سانتی‌متر ایجاد گردید. نوک تلسکوپ بسمت داخلی و کناری محوطه شکمی همزمان با تزریق سرم فیزیولوژی جهت ایجاد میدان دید هدایت گردید و وضعیت ظاهری گناد با استفاده از یک مانیتور بیست اینچ (LG, 19M38HB, Korea) که دارای ۱۰۰ برابر بزرگنمایی بود مورد بررسی قرار گرفت. در پایان لاپراسکوپ جهت جلوگیری از عفونت در ماهیان جراحی شده ۲ سی‌سی محلول تتراسایکلین ۵ درصد (Medicine Rrrfan, Iran, Tehran) در عضله پشتی تزریق گردید.

روش‌های آزمایشگاهی

ماده خشک، با خشک کردن نمونه در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت، پروتئین خام با استفاده از روش کدال در سه مرحله هضم، تقطیر، تیتراسیون و ضرب نمودن ازت به دست آمده از هر گرم ماده خشک در عدد ۶/۲۵، خاکستر با سوزاندن نمونه در کوره الکتریکی مدل (Muffle Furnaces, RHF 16/3/3216 P1 Model, England, Plymouth) در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد، چربی خام با استخراج چربی به روش سوکسله با استفاده از حلال اتر با رسیدن به نقطه جوش ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ تا ۶ ساعت در استخراج کننده سوکسله (Gerhart Soxthoterm SOX Hamburg, Hamburg, Germany) و انرژی کل با استفاده از بمب‌کالری متر (Calorimeteradiabatic C-400 IKA, Heiterbeini, GMBIL, Brussels, Belgium) اندازه‌گیری شد (۴۴). میزان ایمونوگلوبولین M پلاسما با استفاده از کیت Biosystems S.A (Barcelona, Spain) و روش کدورت سنجی، میزان ایمونوگلوبولین کل سرم با استفاده از روش رسوب با سولفات روی و قرائت جذب نوری (۴۵). فعالیت فرعی کمپلمان با پروتکل یانو (۱۹۹۲) و بر اساس روش همولیز گلبول قرمز خرگوش (RaRBC) (۴۶) و فعالیت لایزوزیم از طریق روش کدورت سنجی بر اساس روش الیس (۱۹۹۰) (۴۷) با اندکی اصلاحات اندازه‌گیری شد. سنجش سطوح هورمون ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون با استفاده از کیت Monobind (Elisa) بر

حسب نانوگرم در گرم در آزمایشگاه سلامت آزمون ایرانیان - رشت و سطوح ۱۷ بتا استرادیول و تستسترون با استفاده از کیت‌های (Immunotech, France) و ردیاب I_{25} از طریق روش رادیوایمنواسی (RIA) با استفاده از دستگاه گاماکانتر (LKB, France) بر حسب نانوگرم در میلی-لیتر (ng/ml) با استفاده از روش اصلاح‌شده کاتالیدی و همکاران (۱۹۹۸) (۴۸) انجام گرفت. میزان آنزیم کاتالاز با استفاده از کیت (ZellBio Catalase activity (CAT) Assay kit Test48/96 GmbH بر اساس سرعت تجزیه پراکسید هیدروژن به آب اکسیژنه متناسب با غلظت آنزیم کاتالاز و میزان جذب با میکروپلیت ریدر/الایزا ۴۰۵ نانومتر بر اساس روش لن و همکاران (۲۰۱۰) واحد (U/ml) اندازه‌گیری شد (۴۹). میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با استفاده از کیت (ZellBio GmbH(Super Oxide Dismutase (SOD)Assay kit 96/48 Tests بر اساس سرعت واحد فعالیت SOD بر اساس مقدار نمونه در ازای تجزیه ۱ میکرومول O_2 به H_2O_2 و O_2 در یک دقیقه و میزان جذب با میکروپلیت ریدر/الایزا ریدر ۴۲۰ نانومتر بر اساس روش بولان و همکاران (۱۹۹۱) بر اساس (U/ml) اندازه‌گیری شد (۵۰). میزان مالون دی‌آلدهید با استفاده از کیت سنجش MDA Biocore Diagnostik (ZellBio) بر اساس واکنش MDA و TBA در دمای بالا (۹۰-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) در محیط اسیدی و رنگ سنجی در طیف ۵۳۰-۵۴۰ نانومتر بر اساس روش یاگی (۱۹۸۹) بر اساس $\mu\text{mol/l}$ اندازه‌گیری شد (۵۱).

شاخص‌های رشد

با انجام زیست‌سنجی‌های در هنگام هر لاپراسکوپ و با توجه به اطلاعات به دست آمده از طول و وزن ماهیان و تشکیل بانک اطلاعاتی، محاسبات آماری شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذا بر اساس فرمول‌های فلاحتکار (۱۳۹۴) (۵۲) گردید:

شاخص وضعیت (CF) = $100 \times (\text{وزن ماهی}) / (\text{طول کل یا چنگالی})$

افزایش وزن (WG) (g) = وزن نهایی (g) - وزن اولیه (g).

افزایش وزن بدن (BWI) (درصد) = $((\text{افزایش وزن (g)} / \text{وزن ابتدایی (g)}) \times 100)$

ضریب رشد ویژه ((SGR)) (% در روز) = $100 \times [(\text{لگاریتم وزن نهایی} - \text{لگاریتم وزن اولیه}) / (\text{تعداد روز(زمان)})]$.

نرخ تبدیل غذایی (FCR) = $\text{غذای خشک مصرف شده (g)} / \text{افزایش وزن (g)}$.

نرخ کارایی پروتئین (PER) = $\text{وزن تر اضافه شده (افزایش بیوماس (g) به گرم)} / \text{مقدار پروتئین مصرفی (g)}$.

آنالیز آماری

داده‌های کسب شده در نرم‌افزار Excel ثبت و مورد پردازش قرار گرفت. نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون Kolmogorov-Smirnov و معنی دار بودن داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه مورد سنجش قرار گرفت و در صورت مشاهده اختلاف، تست Tukey برای مقایسه میانگین‌ها به عنوان Post-hoc اعمال شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار (SPSS, IBM Corp Version 26.0. Chicago, USA) انجام شد. سطح معنی دار بودن برای همه موارد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

کمیت فیزیکی و شیمیایی آب محیط پرورش

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب از قبیل اکسیژن محلول، درجه حرارت و pH روزانه با استفاده از دستگاه دیجیتال (YK-2001DO, Lutron, Taipei, Taiwan) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. (جدول ۳)

جدول ۳: شرایط فیزیکوشیمیایی آب تانک‌های پرورش در طی دوره تغذیه پیش‌مولدین فیلم‌های با جیره‌های فرموله‌شده (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

پارامترها	۱۴۰۱/۱/۲۵ - ۱۴۰۱/۸/۱۰	۱۴۰۱/۸/۱۰ - ۱۴۰۱/۱۲/۱۰	۱۴۰۱/۱۲/۱۰ - ۱۴۰۲/۷/۱۰	۱۴۰۲/۷/۱۰ - ۱۴۰۲/۱۰/۵
درجه حرارت (سانتی‌گراد)	18.4 ± 1.3^a	11.2 ± 1.5^b	19.1 ± 1.25^a	10.21 ± 1.25^b
اکسیژن محلول (میلی گرم در لیتر)	8.51 ± 1.5	8.85 ± 1.1	8.87 ± 1.12	8.37 ± 1.25
pH	7.1 ± 0.1	6.92 ± 0.35	6.7 ± 0.7	7.25 ± 0.3
امونیاک (میلی گرم در لیتر)	0.45 ± 0.1	0.51 ± 0.21	0.53 ± 0.2	0.55 ± 0.15

میانگین درجه حرارت در این دوره به ترتیب 18.4 ± 1.3 و 19.1 ± 1.25 درجه سانتیگراد بود. جهت زمستان‌گذرانی در فصل زمستان منحصر از آب رودخانه استفاده شد. درجه حرارت آب در این فصول به ترتیب 11.2 ± 1.5 و 10.21 ± 1.25 درجه سانتی‌گراد برآورد شد. میانگین اکسیژن محلول در کل دوره پرورش 8.65 ± 1.17 درجه سانتی‌گراد، pH 6.99 ± 0.36 و آمونیاک 0.66 ± 0.51 میلی گرم در لیتر ثبت گردید.

شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذای فیلم‌هایان در انتهای دوره پرورش در جدول ۴ آورده شده است. در پایان دوره آزمایش مولدین فیلم‌های تغذیه شده با جیره‌های C_{150} و C_{200} دارای بیشترین میانگین وزنی (23.7 ± 3.53 و 45.60 ± 2.25 کیلوگرم) بودند که به طور معنی‌داری بر مولدین تیمار شاهد (تیمار فاقد آستازانتین) برتری معنی‌دار آماری داشتند ($P < 0.05$). بیشترین ضریب چاقی از آن ماهیان تغذیه شده با جیره 100 میلی آستازانتین (C_{100}) به مقدار 0.19 ± 0.90 گزارش شد ($P < 0.05$). بیشترین درصد افزایش وزن بدن متعلق به مولدینی بود که با جیره حاوی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین تغذیه شده بودند (32.96 ± 18.34 درصد) ($P < 0.05$). بیشترین مقدار نرخ رشد ویژه متعلق به مولدین تغذیه شده با جیره حاوی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین (C_{200}) (0.1 ± 0.16 درصد در روز) بود که به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد (جیره فاقد آستازانتین) بود ($P < 0.05$). همچنین رشد روزانه در ماهیان تغذیه شده با جیره فوق $5/8 \pm 42/50$ گرم/روز) بطور معنی‌داری بیشتر از ماهیان تیمار شاهد ($10/16 \pm 22/72$ گرم / روز) ($P < 0.05$) و فاقد اختلاف معنی‌دار آماری با سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P > 0.05$). جیره حاوی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین کمترین مقدار ضریب تبدیل غذا را در مولدین ایجاد کرد ($2/30 \pm 0/95$) ($P < 0.05$). اختلاف معنی‌داری در نسبت بازده پروتئین در تیمارهای مختلف مشاهده نشد، اما مولدین تغذیه شده با جیره حاوی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین (C_{100}) دارای بیشترین نسبت بازده پروتئین ($0/97 \pm 0/5$) و مولدین تیمار شاهد دارای کمترین مقدار نسبت بازده پروتئین بودند ($0/43 \pm 0/13$) ($P > 0.05$).

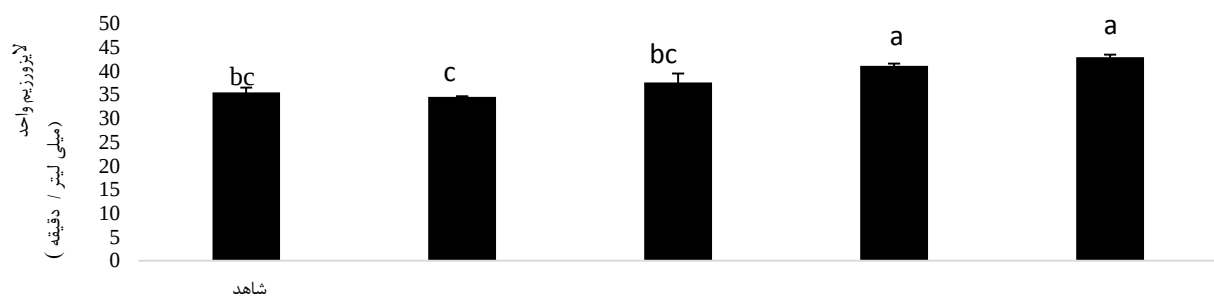
جدول ۵: شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذای پیش مولدین فیلماهی (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره های مختلف حاوی سطوح مختلف استازانتین در طی ۶۴۵ روز (n=3، میانگین $\pm$ انحراف معیار)

شاخص‌ها / جیره	جیره شاهد	جیره حاوی ۵۰	جیره حاوی ۱۰۰	جیره حاوی ۱۵۰	جیره حاوی ۲۰۰
	(فاقد استازانتین و نسبت‌های مختلف روغن ماهی به روغن کانولا (C))	استازانتین (C ₅₀)	کیلوگرم استازانتین (C ₁₀₀)	استازانتین (C ₁₅₀)	استازانتین (C ₂₀₀)
وزن اولیه (کیلوگرم)	۱۶/۳۲ $\pm$ ۱/۵۲	۱۶/۱۶ $\pm$ ۳/۰۱	۱۶/۲۳ $\pm$ ۳/۲۹	۱۶/۲۰ $\pm$ ۱/۷۰	۱۶/۱۶ $\pm$ ۱/۰۴
وزن نهایی (کیلوگرم)	۳۱/۰۳ $\pm$ ۷/۴۵ ^c	۳۴/۹۶ $\pm$ ۴/۴۲ ^{abc}	۳۹/۴۳ $\pm$ ۳/۰۵ ^{abc}	۴۳/۷۰ $\pm$ ۳/۵۳ ^{ab}	۴۵/۶۰ $\pm$ ۲/۲۵ ^a
طول اولیه (متر)	۱/۳۶ $\pm$ ۰/۱۵	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۰۴	۱/۵۱ $\pm$ ۰/۲۰	۱/۵۵ $\pm$ ۰/۲۵	۱/۲۳ $\pm$ ۰/۰۳
طول نهایی (متر)	۱/۶۱ $\pm$ ۰/۰۵	۱/۶۲ $\pm$ ۰/۰۶	۱/۶۴ $\pm$ ۰/۱۴	۱/۷۷ $\pm$ ۱/۱	۱/۷۶ $\pm$ ۰/۱۴
ضریب چاقی	۰/۷۲ $\pm$ ۰/۱۱	۰/۸۱ $\pm$ ۰/۱۹	۰/۹۰ $\pm$ ۰/۱۹	۰/۷۹ $\pm$ ۰/۱۱	۰/۸۴ $\pm$ ۰/۱۵
درصد افزایش وزن (درصد در طول دوره)	۸۹/۴۰ $\pm$ ۳۶/۹۲ ^b	۱۱۸/۰۰ $\pm$ ۱۴/۲۴ ^{ab}	۱۴۷/۸۸ $\pm$ ۳۸/۷۲ ^{ab}	۱۷۱/۰ $\pm$ ۳۲/۳۰ ^{ab}	۱۸۳/۴۶ $\pm$ ۳۲/۹۶ ^a
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۰۹ $\pm$ ۰/۰۳ ^b	۰/۱۲ $\pm$ ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۲ ^{ab}	۰/۱۵ $\pm$ ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱ ^a
رشد روزانه (گرم در روز)	۲۲/۷۲ $\pm$ ۱۰/۱۶ ^c	۲۹/۰۷ $\pm$ ۲/۴۲ ^{bc}	۳۵/۸۵ $\pm$ ۳/۷۴ ^{abc}	۴۲/۵۰ $\pm$ ۵/۸۰ ^{ab}	۴۵/۴۹ $\pm$ ۵/۰۴ ^a
ضریب تبدیل غذا	۵/۰۲ $\pm$ ۱/۸۷ ^b	۳/۹۳ $\pm$ ۰/۱۵ ^{ab}	۳/۰۵ $\pm$ ۰/۶۶ ^{ab}	۲/۷۳ $\pm$ ۰/۹۵ ^{ab}	۲/۳۰ $\pm$ ۰/۹۵ ^a
نسبت بازده پروتئین	۰/۴۳ $\pm$ ۰/۱۳	۰/۵۱ $\pm$ ۰/۰۴	۰/۶۷ $\pm$ ۰/۱۵	۰/۷۵ $\pm$ ۰/۱۴	۰/۹۷ $\pm$ ۰/۵۰

اعداد با حروف مختلف دارای اختلاف معنی دار آماری است ($P < 0.05$)

شاخص‌های سیستم ایمنی

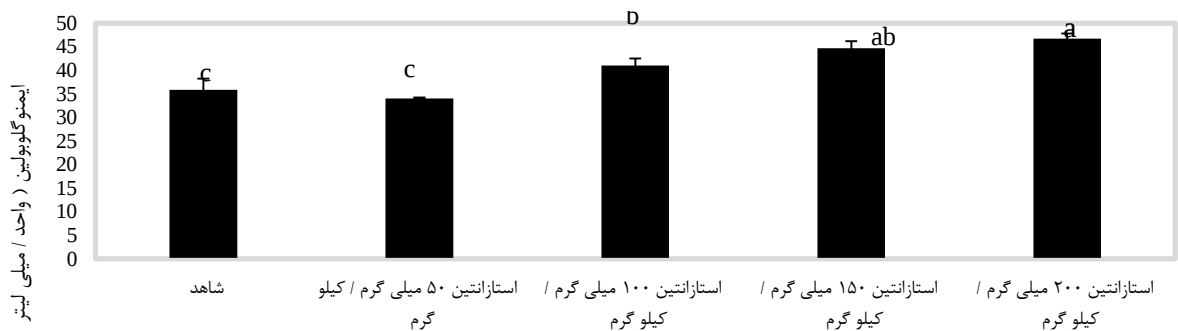
شاخص‌های سیستم ایمنی از جیره های غذایی ارائه شده به مولدین در طول دوره پرورش تاثیر پذیرفتند و به ترتیب در نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ نمایش داده شده است. میزان لایزوزیم در مولدین تغذیه شده در تیمار شاهد (فاقد استازانتین) $1.02 \pm$ و $35/52$ واحد / میلی لیتر / دقیقه بود، میزان لایزوزیم در ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم استازانتین (C₅₀ و C₁₀₀) به ترتیب برابر با $34/6 \pm 1/85$ و $37/65 \pm 1/85$ میلی لیتر در دقیقه ($P > 0.05$) و با افزایش استازانتین در جیره غذایی به مقدار ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، میزان لایزوزیم در سرم فیل ماهیان مولد به طور معنی داری افزایش و به ترتیب $41/15 \pm 0/5$ و $43 \pm 0/5$ واحد / میلی لیتر / دقیقه گزارش شد ($P < 0.05$). (نمودار ۱). میزان کمپلمان در ماهیان تیمار شاهد (فاقد استازانتین) $128/6 \pm 0/7$ واحد / میلی لیتر بود. اختلاف معنی داری در میزان کمپلمان در ماهیان تیمار شاهد و تیمار C₁₅₀ ($0/55 \pm$ و $129/65$ واحد / میلی لیتر) مشاهده نگردید ($P > 0.05$). در صورتی که میزان کمپلمان ماهیان تیمار C₁₀₀ به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد و میزان کمپلمان در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم استازانتین (C₁₅₀ و C₂₀₀) به طور معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($P < 0.05$). (نمودار ۲). میزان ایمونوگلوبولین M در ماهیان تیمار شاهد (فاقد استازانتین) $2/53 \pm 38/5$ میلی گرم / دسی لیتر بود، در صورتی که میزان ایمونوگلوبولین M در مولدین تغذیه شده با جیره های حاوی ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم استازانتین (C₂₀₀) به ترتیب برابر با $41 \pm 1/5$ ، $44/7 \pm 1/1$ و $46/7 \pm 1/1$ میلی گرم / دسی لیتر گزارش شد ($P < 0.05$). (نمودار ۳). با افزایش استازانتین به میزان ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر میزان ترشح ایمونوگلوبولین کل در پلاسما در مقایسه با جیره شاهد (فاقد استازانتین) به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$). میزان ایمونوگلوبولین کل در ماهیان تیمار شاهد برابر با $25/05 \pm 0/55$ میلی گرم در لیتر و در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی سه سطح استازانتین فوق به ترتیب $27/8 \pm 0/3$ ، $29/7 \pm 1/5$ و $28/85 \pm 1/35$ میلی گرم در لیتر برآورد شد ($P < 0.05$) (نمودار ۴).



نمودار ۱: میزان لایزوزیم سرم در پایان دوره آزمایش



نمودار ۲: میزان کمپلمان (ACH₅₀) سرم در پایان دوره آزمایش



نمودار ۳: میزان ایمونوگلوبولین (IgM) سرم در پایان دوره آزمایش



نمودار ۴: میزان ایمونوگلوبولین تام (Ig) سرم در پایان دوره آزمایش

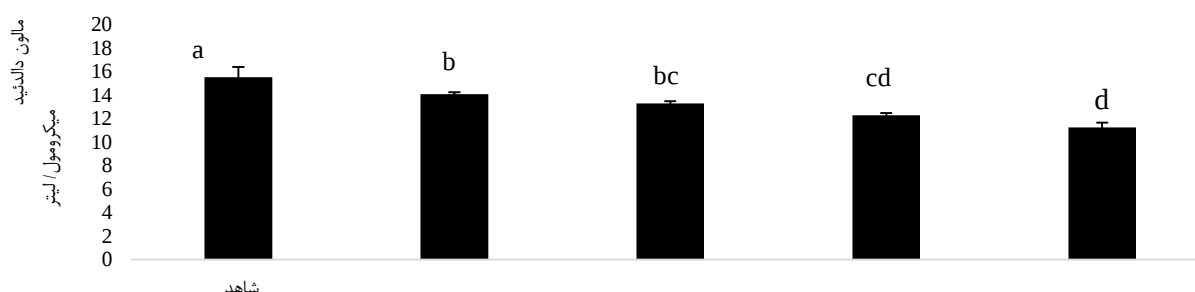
شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی

شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی از جیره‌های غذایی ارائه شده به مولدین در طول دوره پرورش تاثیر پذیرفت و به ترتیب در نمودارهای ۶، ۵ و ۷ نمایش داده شده است.

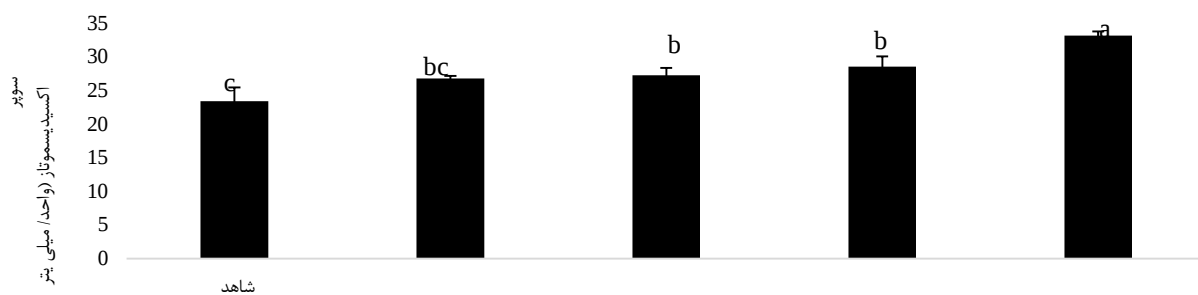
میزان سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در ماهیان تغذیه شده با جیره فاقد آستازانتین $2/09 \pm 23/4$ واحد / میلی لیتر بود. میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای C_{150} و C_{200} نسبت به تیمارهای دیگر روند افزایشی را نشان داد و به ترتیب برابر با $1/5 \pm 28/56$ و $0/6 \pm 32/16$ واحد / میلی لیتر بود. بیشترین مقدار آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی 200 میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین مشاهده شد که به طور معنی داری بالاتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P < 0/05$). (نمودار ۵).

در روندی مشابه میزان آنزیم کاتالاز (CAT) با افزایش میزان آستازانتین در جیره غذایی رابطه مستقیم داشت. میزان این آنزیم در ماهیان تغذیه شده با جیره C_0 (جیره فاقد آستازانتین) $0/4 \pm 2/5$ واحد / میلی لیتر بود. در صورتی که مقدار این آنزیم در تیمارهای C_{50} ، C_{100} ، C_{150} و C_{200} به ترتیب برابر با $0/26 \pm 3/4$ ، $0/15 \pm 3/63$ ، $0/15 \pm 3/76$ و $0/28 \pm 4/26$ واحد / میلی لیتر بود و مقادیر معنی دار و بالاتری را نسبت به تیمار شاهد ارائه دادند ($P < 0/05$).

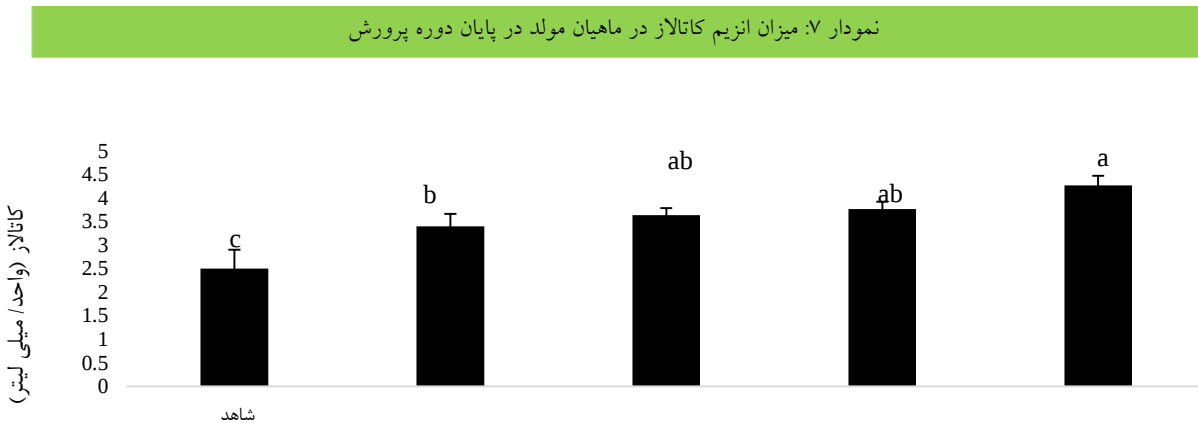
میزان مالون دی‌الدهید (MDA) پلاسما رابطه عکس با میزان آستازانتین جیره داشت. میزان آن در پلاسما فیلماهیان تغذیه شده با جیره فاقد آستازانتین $0/88 \pm 15/5$ میکرومول در لیتر بود. با الحاق آستازانتین در جیره مقدار آن کاهش یافت. میزان مالون دی‌الدهید در ماهیان تغذیه شده با تیمار C_{50} ($0/15 \pm 14/06$ میکرومول در لیتر) به طور معنی داری بالاتر از جیره فاقد آستازانتین بود ($P < 0/05$). میزان مالون دی‌الدهید پلاسما ماهیان تغذیه شده با جیره‌های C_{100} ، C_{150} و C_{200} به طور معنی داری در مقایسه با تیمار فاقد آستازانتین کاهش یافت و به ترتیب به $0/20 \pm 13/26$ ، $0/208 \pm 12/26$ و $0/40 \pm 11/28$ میکرومول در لیتر رسید ($P < 0/05$). (نمودار ۷).



نمودار ۵: میزان آنزیم مالون دی‌الدهید سرم در ماهیان مولد در پایان دوره پرورش



نمودار ۶: میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز سرم در ماهیان مولد در پایان دوره پرورش



بحث و نتیجه گیری

در این آزمایش ماهیان به مدت ۶۴۷ روز با جیره‌های شاهد (فاقد آستازانتین) و جیره‌های دارای ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش مولدین فیلماهی تغذیه شده با جیره‌های C₁₅₀ و C₂₀₀ دارای بیشترین میانگین وزن بودند. بیشترین درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه متعلق به مولدینی بود که با جیره حاوی ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین تغذیه شده بودند که به طور معنی داری بیشتر از درصدافزایش وزن مولدین تغذیه شده با تیمار شاهد بود، همچنین

رشد روزانه در ماهیان تغذیه شده با جیره فوق بطور معنی داری بیشتر از ماهیان تیمار شاهد بود. امروزه آستازانتین به دلیل اعمال فیزیولوژیکی متعدد در آبزیان مورد توجه قرار گرفته است (۵۳) و یکی از آنها تاثیر مثبت این ماده بر افزایش رشد آبزیان پرورشی از طریق تاثیر بر افزایش هضم و جذب اجزای غذایی و استفاده بهینه از مواد مغذی جیره است (۵۴). مطالعات کمی در مورد تاثیر آستازانتین بر بهبود شاخص های رشد و ضریب تبدیل غذا در پیش مولدین و مولدین ماهیان خاویاری صورت گرفته است. در مطالعه ای Xie و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که افزودن آستازانتین در سطوح ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم می تواند شاخص های رشد را در باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) تغذیه شده با جیره های پر چرب (۱۸ درصد چربی) در مقایسه با جیره شاهد و جیره دارای چربی کم (۱۰ درصد) بهبود بخشد (۵۵). افزودن آستازانتین به جیره غذایی میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) در سطوح ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش وزن نهایی، درصد افزایش وزن و سرعت رشد ویژه گردید و سطوح رشد بهینه در ۱۰۰-۲۰۰ میلی گرم آستازانتین به ازای هر کیلو گرم جیره به دست آمد. علاوه بر این، جیره های غنی شده با آستازانتین به طور معنی داری موجب افزایش مصرف خوراک شدند، اگر چه بر ضریب تبدیل غذا تاثیر معنی داری نداشتند (۵۶). در مورد چگونگی تاثیر مثبت آستازانتین بر بهبود شاخص های رشد آبزیان چند فرضیه وجود دارد. فرضیه اول آن است که رنگدانه های کاروتنوئید موجب افزایش سوخت و ساز و متابولیسم حیوانات آبزی از طریق افزایش فعالیت آنزیم گوارشی شوند که در نهایت منجر به افزایش هضم، جذب و استفاده از مواد مغذی می گردد (۵۷). فرضیه دوم که بیشتر در مورد سخت پوستان صدق می کند آن است که رنگدانه های کاروتنوئید می توانند موجب کوتاه شدن زمان پوست اندازی و تسریع متابولیسم NADPH شده که این دو عامل موجب کاهش مصرف انرژی و بهبود عملکرد رشد می گردند (۵۸). در این آزمایش جیره حاوی ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین کمترین مقدار ضریب تبدیل غذا را در مولدین ایجاد کرد (0.95 ± 0.23)، مطالعاتی نشان داده است که آستازانتین جیره توانایی تقویت فلور روده برای تجزیه اجزای غیرقابل هضم و تبدیل آن به مواد مغذی را جهت تغذیه موجود آبزی را دارا می باشد و در نتیجه می تواند منجر به افزایش عملکرد رشد جدا از عمل به عنوان منشاء رنگدانه شود (۵۹). جهت تایید فرضیه سوم گزارشهایی در دست است که آستازانتین جیره کارایی جذب چربی را در گونه *red porgy* (*Pagrus pagrus*) بهبود بخشیده و انرژی اضافی برای بهبود عملکرد رشد تامین نموده و موجب کاهش ضریب تبدیل غذا می گردد (۶۰). اما مطالعاتی نیز نشان داده است که مکمل آستازانتین تاثیر معنی داری بر بهبود شاخص های رشد و ضریب تبدیل غذا در مولدین گونه های مختلف ماهیان ندارد. مطالعات انجام شده روی گربه ماهی زرد (*Pleurogrammus olivaceus*) (۵)، فیله ماهی (۶۱) و ماهی زیتنی کاراسین (*Hyphessobrycon collistus*) (۶۲) نشان می دهند که این رنگدانه اثری بر میزان رشد این گونه ها نداشته که محققین آن را به عدم بیان ژن های مرتبط با رشد GH و IGF-1b در پاسخ به آستازانتین جیره، عدم جذب با توجه به سطوح آن در جیره و گونه ماهی و یا کوتاه بودن دوره تغذیه با مکمل غذایی نسبت می دهند (۶۳). عامل دیگری که در تاثیرگذاری آستازانتین بر فیزیولوژی ماهی و تاثیر آن بر فرایند رشد تاثیرگذار است ضرایب قابلیت هضم (ADC) کاروتنوئیدها (آستاکسانتین، کانتاگزانتین و لوتئین) است که در گونه های مختلف متفاوت است (۶۴). مطالعاتی نشان داده است که ضریب قابلیت هضم ظاهری ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کانتاکسانتین جیره در قزل آلائی رنگین کمان دارای ۶۱/۴۱ درصد و ضریب قابلیت هضم ۵۴ تا ۶۴ درصد برای کانتاکسانتین به ازای اضافه کردن ۱۳۰ میلی گرم در کیلوگرم کانتاکسانتین می باشد (۶۵). تاکنون مطالعه ای در خصوص قابلیت هضم آستازانتین در پیش مولدین و مولدین فیله ماهی صورت نگرفته اما با توجه به رشد معنی دار مولدین فیله ماهی تغذیه شده با سطوح ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم به نظر می رسد افزودن این مقدار آستازانتین اثرات مفیدی بر شاخص های رشد و ضریب تبدیل غذا در دوران مولدسازی داشته باشد.

در آزمایش حاضر شاخص‌های سیستم ایمنی از جیره های غذایی ارائه شده به مولدین در طول دوره پرورش تاثیر پذیرفتند. مولدین تغذیه شده با جیره های حاوی ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین (C_{200} و C_{150}) لایوزیم و کمپلمان بالاتری نسبت به ماهیانی داشتند که از جیره فاقد آستازانتین تغذیه کرده بودند. لایوزیم یکی از عوامل دفاعی است که به طور گسترده ای در سطوح اندام های محیطی از جمله آبشش، روده و سیستم گردش خون وجود دارد. این ماده به عنوان یک آنزیم موکولیتیک با منشاء لکوسیتیک در نظر گرفته می شود (۶۶)، اما مطالعات نشان داده است که در کبد و همچنین در بافت های خارج کبدی نیز ساخته می شود (۶۷). لکوسیت ها، نوتروفیل ها و مونوسیت ها و تا حدودی ماکروفاژها با لایوزیم در عملیات باکتری کشی مشارکت دارند. این آنزیم علاوه بر دارا بودن پتانسیل بالای ضدباکتریایی و فعالیت در مقابل باکتری های گرم مثبت و منفی دارای خاصیت ضد عفونی کننده و ضد ویروسی نیز می باشند (۶۶). در کل فعالیت لایوزیم و کمپلمان دلالت بر سلامت عمومی و سیستم همورال ماهی دارد (۶۸) و کمپلمان نقش اصلی را در ایمنی ذاتی، نقش تسهیل کننده فرآیند شیمیوتاکسیس و opsonisation و از بین بردن پاتوژن ها را در بدن دارد (۶۹). همچنین با سیستم ایمنی اکتسابی مرتبط است، زیرا فعال سازی آن باعث تقویت تکثیر سلول های B می شود (۷۰). مطالعات Cheng و همکاران (۲۰۱۹) در گونه *swamp crayfish* (*Procambarus clarkia*) تغذیه شده با جیره های حاوی ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آستازانتین نشان داد که پس از هشت هفته تغذیه، دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آستازانتین، وزن بدن، نرخ افزایش، بقا و میزان فعالیت لایوزیم سرم را افزایش داده و نتیجه گرفتند که فعالیت ضد میکروبی لایوزیم در موجودات آبی ارتباط مستقیمی با عملکرد ایمنی و سلامت ماهی داشته و ایمنی آبیان ارتباط مستقیمی با افزایش لایوزیم دارد (۷۱). در مطالعه فداکار و همکاران (۱۳۹۶) که در آن تاسماهی استرلیاد با جیره های حاوی سطوح ۰، ۱۵، ۴۵ و ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین تغذیه شده مشخص گردید که ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین می تواند لایوزیم سرم را به طور معنی داری افزایش دهد. محققین اذعان نمودند که از آن جا که بتاکاروتنها در ساخت ویتامین A دخیل بوده و کاهش دهنده اکسیژن آزاد هستند این خصلت می تواند بر سیستم ایمنی از طریق مسیرهای آنتی اکسیدانی و هم مسیرهای رتیونیک تاثیر گذاشته و موجب تحریک فعالیت فاگوسیتوزها و لکوسیت ها شده و از آن جا که لایوزیم توسط لکوسیت ها ترشح می شود (۷۲) فعالیت لایوزیم همراه با شاخص های فاگوسیتوزی در ماهیان تغذیه شده توسط بتاکاروتن و آستازانتین افزایش می یابد (۷۳). هر چند در آن مطالعه شاخص کمپلمان و ایمونوگلوبولین M در مولدین تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح مختلف آستازانتین اختلاف معنی داری را با مولدین تیمار شاهد نشان نداد اما مطالعات انجام شده در گونه کپور طلایی (*Carassius auratus*) تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آستازانتین نشان از افزایش معنی دار کمپلمان C_3 و C_4 در تیمار ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم در مقایسه با تیمار شاهد در مواجه با باکتری *Aeromonas hydrophilia* داشت که نشان دهنده این موضوع بود که مکمل آستازانتین می تواند ایمنی ذاتی ماهی کپور را افزایش دهد (۷۴). کمپلمان نقش مهمی در شناسایی پاتوژن های بالقوه، فعال کردن پاسخ های ایمنی ذاتی و پاکسازی پاتوژن های بالقوه ایفا می کند (۷۵). ایمونوگلوبولین ها (Igs) دسته ای از آنتی بادیهای هترودیمری هستند که پاتوژن های با ویژگی گسترده را خنثی می کنند (۷۶). در ماهیان ایمونوگلوبولین تام توسط لنفو سیت های B سنتز می شود (۷۷). اطلاعات کمی در مورد تاثیر آستازانتین بر تولید ایمونوگلوبولین تام در ماهی در دست است. اما نتایج به دست آمده از امار و همکاران (۲۰۰۰) بر این نکته اذعان دارد که با افزایش بتاکاروتن در جیره میزان محتوای ایمونوگلوبولین تام به طور معنی داری در سرم قزل آلائی رنگین کمان افزایش می یابد (۷۳). همچنین شواهدی وجود دارد که آستازانتین جیره می تواند تولید ایمونوگلوبولین آزمایشگاهی را توسط سلول های خونی انسان افزایش دهد (۷۸). ناکانیشی و همکاران (۲۰۱۵) (۷۹) در ماهی

سی‌باس تصریح نمودند که آستازانتین از طریق مکانیسم تعدیل‌کننده ایمنی موجب فعال شدن لنفوسیت های T می‌شود که مهم‌ترین عامل تنظیم‌کننده تمایز و تکثیر لنفوسیت های B محیطی است که Igs تولید می‌کنند که با نتایج به‌دست‌آمده در خصوص ارتباط مستقیم افزایش آستازانتین در جیره غذایی و افزایش ایمونوگلوبین M در مطالعه حاضر هماهنگ است.

سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی به عنوان اولین دفاع سلولی در برابر استرس اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماهی شامل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی است (۸۰). کاتالاز و سوپراکسید دیسموتازاز طریق تبدیل رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و سپس به آب و اکسیژن مولکولی می‌توانند رادیکال‌های آزاد بیش از حد را حذف نموده و نقش مهمی در دفاع ایمنی در برابر عوامل استرس‌زای محیطی از جمله آلودگی‌های شیمیایی و عفونت های بیماری‌زا دارند (۸۱). در مطالعه حاضر ارتباط مستقیمی میان افزایش آستازانتین جیره و افزایش کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز پلاسما مشاهده شد و بیشترین میزان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز پلاسما سرم خون متعلق به ماهیانی بود که با جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین تغذیه شده بودند در صورتی که نتایج مختلفی از تاثیر آنتی‌اکسیدان آستازانتین در روند تغییرات فعالیت این دو آنزیم گزارش شده است. عبدل‌گاود و همکاران (۲۰۱۹) در تغذیه سوف زرد (*Perca flavescens*) با کاروتنوئید سنتتیک (کانتاگزانتین و لیکوپن) نشان دادند که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم رنگدانه دارای کمترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) پس از ۶۰ روز تغذیه بودند (۸۲) که مشابه با نتایج به دست‌آمده از ماهی کاراسین (*Hyphessobrycon callistus*) (۸۳) و قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) (۸۴) بود که محققین آن را به مصرف سریع این آنتی‌اکسیدان‌ها در تبدیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن داخل سلولی (O_2^-) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و اکسیژن (O_2) بود که به دلیل دارا بودن ۱۱ پیوند دوگانه مزدوج و ساختار پلی‌لن خود بود قادر بودند الکترون‌ها را در اختیار رادیکال‌های آزاد قرار داده و یا الکترون‌های جفت‌نشده رادیکال‌های آزاد را جذب و از پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب DNA جلوگیری کند. در صورتی که لایگرین و همکاران (۱۹۹۹) در تغذیه آزاد ماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) نشان داد که مکمل غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی فعالیت و مقدار تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زا مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش داده که برای محافظت سلول در برابر H_2O_2 و O_2^- ضروری هستند (۸۵) و یا نشان‌دهنده افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول بوده (۸۶) که مشابه با نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر و گونه‌های کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۸۷)، سرماری شمالی (*Channa argus*) (۸۶) و شانک ماهی صخره‌ای (*Plectropomus leopardus*) (۸۹) می‌باشد که احتمالاً به دلیل فعال کردن فاکتورهای رونویسی مانند NF- κ B و Nrf2 است که موجب افزایش پاسخ ایمنی، التهاب و پاسخ‌های استرس اکسیداتیو است (۹۰).

مالون دی‌آلدهید (MDA) ماده‌ای سمی است که در اثر تجزیه پراکسیدهای لیپید تولید می‌شود و از طریق اتصال نوکلئوفیلیک با پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و آمینو فسفولیپیدها، می‌تواند منجر به آسیب سلولی و بافت‌ها شود (۹۱). در این مطالعه میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) پلاسما رابطه عکس با میزان آستازانتین جیره داشت. مطالعات در گونه قزل‌آلای رنگین کمان (۹۲) و پمپانوی طلایی (۹۳) نشان داده بود که مولکول آستازانتین می‌تواند از طریق اکسیژن کربونیل خود الکترون‌های آزاد اسکلت کربن مولکول‌های رادیکال را جذب کند و میل ترکیبی آنها را با اکسیژن کاهش داده، از پراکسیداسیون لیپیدی کاسته، یا آن را به تاخیر اندازد (۹۴) و منجر به کاهش مالون دی‌آلدهید که محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی است شود (۹۵). یافته‌های مشابهی قبلاً توسط یونار (۲۰۱۲)، ژانگ و همکاران (۲۰۱۳) (۹۶ و ۹۷) در گونه‌های قزل‌آلای رنگین کمان و جیرائو و همکاران ۲۰۱۲ در تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) با استعمال آستازانتین و کاهش مالون دی‌آلدهید کبد به دست آمده بود (۹۸).

با توجه به داده‌های فوق به نظر می‌رسد که آستازانتین جیره می‌تواند موجب افزایش شاخص‌های رشد، ارتقای سیستم ایمنی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی فیلماهی شود و از بافت بدن، بخصوص تخمدان و گنادهای جنسی در برابر اکسیده شدن لبیده‌ها، پروتئین‌ها و DNA محافظت کند.

1. Kazemi, R., pourdehghani, M., Dazhandian, S., Hallajian, A., Yousefi Jourdehi, A., Yazdani Sadati, M.H., Mohseni, M., Mohamadi Parashkooh, H., Yegane, H., 2007. The possibility of artificial reproduction of *Huso huso* via GnRH to larvae production. *Iranian Fisheries Science Research Institute*. 110pp.
2. Shepherd, B. S., Rees, C. B., Binkowski, F. P., & Goetz, F. W. (2012). Characterization and evaluation of sex-specific expression of suppressors of cytokine signaling (SOCS)-1 and-3 in juvenile yellow perch (*Perca flavescens*) treated with lipopolysaccharide. *Fish & shellfish immunology*, 33(3), 468-481.
3. Dong, M., Seemann, F., Humble, J. L., Liang, Y., Peterson, D. R., Ye, R., & Lam, Y. W. (2017). Modification of the plasma complement protein profile by exogenous estrogens is indicative of a compromised immune competence in marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Fish & shellfish immunology*, 70, 260-269.
4. Saeij, J. P., Verburg-van Kemenade, L. B., van Muiswinkel, W. B., & Wiegertjes, G. F. (2003). Daily handling stress reduces resistance of carp to *Trypanoplasma borreli*: in vitro modulatory effects of cortisol on leukocyte function and apoptosis. *Developmental & Comparative Immunology*, 27(3), 233-245.
5. Liu, F., Shi, H. Z., Guo, Q. S., Yu, Y. B., Wang, A. M., Lv, F., & Shen, W. B. (2016). Effects of astaxanthin and emodin on the growth, stress resistance and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Fish & Shellfish Immunology*, 51, 125-135.
6. Ringø, E., Olsen, R. E., Vecino, J. G., Wadsworth, S., & Song, S. K. (2012). Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review. *Journal of Marine Science: Research and Development*, 2(1), 104.
7. Gou, C., Wang, J., Wang, Y., Dong, W., Shan, X., Lou, Y., & Gao, Y. (2018). Hericium caput-medusae (Bull.: Fr.) Pers. polysaccharide enhance innate immune respons, immune-related genes expression and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish & Shellfish Immunology*, 72, 604-610.
8. Magnadóttir, B. (2006). Innate immunity of fish (overview). *Fish & shellfish immunology*, 20(2), 137-151.
9. Ichiki, S., Kato-Unoki, Y., Somamoto, T., & Nakao, M. (2012). The binding spectra of carp C3 isotypes against natural targets independent of the binding specificity of their thioester. *Developmental & Comparative Immunology*, 38(1), 10-16.
10. Ellis, A. (1977). The leucocytes of fish: a review. *Journal of fish biology*, 11(5), 453-491.
11. Pisano, E., Coscia, M. R., Mazzei, F., Ghigliotti, L., Coutanceau, J. P., Ozouf-Costaz, C., & Oreste, U. (2007). Cytogenetic mapping of immunoglobulin heavy chain genes in Antarctic fish. *Genetica*, 130, 9-17.
12. Kiron, V. (2012). Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal feed science and technology*, 173(1-2), 111-133.
13. Sahoo, P. K., & Mukherjee, S. C. (2003). Immunomodulation by dietary vitamin C in healthy and aflatoxin B1-induced immunocompromised rohu (*Labeo rohita*). *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 26(1), 65-76.

14. Demers, N. E., & Bayne, C. J. (1997). The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Developmental & Comparative Immunology*, 21(4), 363-373.
15. Franco, R., & Martínez-Pinilla, E. (2017). Chemical rules on the assessment of antioxidant potential in food and food additives aimed at reducing oxidative stress and neurodegeneration. *Food Chemistry*, 235, 318-323.
16. Dhabhar, F. S. (2008). Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection versus immunopathology. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 4(1), 2.
17. Davies, K. J. (1995, November). Oxidative stress: the paradox of aerobic life. In Biochemical Society Symposia (Vol. 61, pp. 1-31). Portland Press Limited.
18. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). Free radicals in biology and medicine. Oxford university press, USA.
19. Biller, J. D., & Takahashi, L. S. (2018). Oxidative stress and fish immune system: phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90, 3403-3414.
20. Hematyar, N., Rustad, T., Sampels, S., & Kastrup Dalsgaard, T. (2019). Relationship between lipid and protein oxidation in fish. *Aquaculture Research*, 50(5), 1393-1403.
21. Samarin, A. M., Samarin, A. M., & Policar, T. (2019). Cellular and molecular changes associated with fish oocyte ageing. *Reviews in Aquaculture*, 11(3), 6 -19-630..
22. Kim, J. H., Park, H. J., Kim, K. W., Hwang, I. K., Kim, D. H., Oh, C. W., & Kang, J. C. (2017). Growth performance, oxidative stress, and non-specific immune responses in juvenile sablefish, *Anoplopoma fimbria*, by changes of water temperature and salinity. *Fish Physiology and Biochemistry*, 43, 1421-1431.
23. Hoseinifar, S. H., Yousefi, S., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F., & Carnevali, O. (2020). Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2), 198-217.
24. Devi, G., Harikrishnan, R., Paray, B. A., Al-Sadoon, M. K., Hoseinifar, S. H., & Balasundaram, C. (2019). Effect of symbiotic supplemented diet on innate-adaptive immune response, cytokine gene regulation and antioxidant property in Labeo rohita against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & shellfish immunology*, 89, 687-700.
25. Dawood, M. A., Zommara, M., Eweedah, N. M., & Helal, A. I. (2020). The evaluation of growth performance, blood health, oxidative status and immune-related gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed dietary nanoselenium spheres produced by lactic acid bacteria. *Aquaculture*, 515, 734571.
26. Naguib, Y. M. (2000). Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(4), 1150-1154.
27. Alishahi, M., Karamifar, M., & Mesbah, M. (2015). Effects of astaxanthin and *Dunaliella salina* on skin carotenoids, growth performance and immune response of *Astronotus ocellatus*. *Aquaculture international*, 23, 1239-1248.
28. Torrisen, O. J., Hardy, R. W., Shearer, K. D., Scott, T. M., & Stone, F. E. (1990). Effects of dietary canthaxanthin level and lipid level on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 88(3-4), 351-362.
29. Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R., & Sargent, J. R. (2000). Depletion of α -tocopherol and astaxanthin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects autoxidative defense and fatty acid metabolism. *The Journal of nutrition*, 130(7), 1800-1808.
30. Mularczyk, M., Michalak, I., & Marycz, K. (2020). Astaxanthin and other nutrients from *Haematococcus pluvialis*—Multifunctional applications. *Marine drugs*, 18(9), 459.

31. Sandmann, G. (2019). Antioxidant protection from UV-and light-stress related to carotenoid structures. *Antioxidants*, 8(7), 219.
32. Harikrishnan, R., & Balasundaram, C. (2005). Antimicrobial activity of medicinal herbs in vitro against fish pathogen, *Aeromonas hydrophila*. *Fish Pathology*, 40(4), 187-189.
33. Sahu, S., Das, B. K., Mishra, B. K., Pradhan, J., & Sarangi, N. (2007). Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology*, 23(1), 80-86.
34. Harikrishnan, R., Heo, J., Balasundaram, C., Kim, M. C., Kim, J. S., Han, Y. J., & Heo, M. S. (2010). Effect of traditional Korean medicinal (TKM) triherbal extract on the innate immune system and disease resistance in *Paralichthys olivaceus* against *Uronema marinum*. *Veterinary parasitology*, 170(1-2), 1-7.
35. Martins, M. L., Moraes, F. R., Miyazaki, D. M. Y., Brum, C. D., Onaka, E. M., Fenerick, J. J., & Bozzo, F. R. (2002). Alternative treatment for *Anacanthorus penilabiatus* (*Monogenea: Dactylogyridae*) infection in cultivated pacu, *Piaractus mesopotamicus* (*Osteichthyes: Characidae*) in Brazil and its hematological effects. *Parasite*, 9(2), 175-180.
36. Harikrishnan, R., Heo, J., Balasundaram, C., Kim, M. C., Kim, J. S., Han, Y. J., & Heo, M. S. (2010). Effect of *Punica granatum* solvent extracts on immune system and disease resistance in *Paralichthys olivaceus* against lymphocystis disease virus (LDV). *Fish & shellfish immunology*, 29(4), 668-673.
37. Akhmedzhanova, A., Ponomarev, S., Fedorovkyh, Y., Levina, O., Starikova, T., & Dutikov, E. (2022). The effectiveness of the use of astaxanthin in production feeds for promising aquaculture objects. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 363, p. 03001). EDP Sciences.
38. Hallajian, A., Kazemi, R., Yousefi, A. (2011). The effect of clove powder on duration of anesthesia and recovery in 4-year-old farmed *Huso huso*, *Fisheries Journal of Islamic Azad University, Azadshahr Branch*, 5: 133-140.
39. Leng, X., Zhou, H., Tan, Q., Du, H., Wu, J., Liang, X., & Wei, Q. (2019). Integrated metabolomic and transcriptomic analyses suggest that high dietary lipid levels facilitate ovary development through the enhanced arachidonic acid metabolism, cholesterol biosynthesis and steroid hormone synthesis in Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *British journal of nutrition*, 122(11), 1230-1241.
40. Luo, L., Wei, H., Ai, L., Liang, X., Wu, X., Xing, W., & Xue, M. (2019). Effects of early long-chain n-3HUFA programming on growth, antioxidant response and lipid metabolism of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt). *Aquaculture*, 509, 96-103.
41. Mohseni, M., Bahmani, M., Pourali, H., Arshad, A., Alizadeh, M., Jamalzad, F., Sofiani, N., Haghighian, M., Zahedifar, M., 2005. Determining of nutritional requirement *Huso huso* from the larval stage to the market stage, *Iranian Fisheries Science Research Institute*. 245 pp.
42. Tizkar, B., Soudagar, M., Bahmani, M., Hosseini, S. A., Chamani, M., Seidavi, A., & Ponce-Palafox, J. T. (2016). Effects of dietary astaxanthin and β -carotene on gonadosomatic and hepatosomatic indices, gonad and liver composition in goldfish *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) broodstocks. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(2), 363-370.
43. Ng, W. K., Hung, S. S., & Herold, M. A. (1996). Poor utilization of dietary free amino acids by white sturgeon. *Fish Physiology and Biochemistry*, 15, 131-142.
44. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), (1995). *Official Methods of Analysis*, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA, 345p.
45. Affonso, C. M., da Silva, L. C., Lima, F. G., & Soares, S. (2004). MW and MVar management on supply and demand side for meeting voltage stability margin criteria. *IEEE TRANSACTIONS on power systems*, 19(3), 1538-1545.
46. Yano, T. (1992). Assay of hemolytic complement activity. *Techniques in fish immunology*, 131-141.
47. Ellis, A.E., 1990. Lysozyme assays. In: Stoka, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S. Van Muiswisal, W.B. (Eds). *Techniques In Fish Immunology*. SOS Publications. 101-103.

48. Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A., & Cataudella, S. (1998). Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 121(4), 351-354.
49. Zelen, I., Mitrović, M., Jurišić-Škevin, A., & Arsenijević, S. (2010). Activity of superoxide dismutase and catalase and content of malondialdehyde in seminal plasma of infertile patients. *Medicinski preglod*, 63(9-10), 624-629.
50. Bolann, B. J., & Ulvik, R. J. (1991). Improvement of a direct spectrophotometric assay for routine determination of superoxide dismutase activity. *Clinical chemistry*, 37(11), 1993-1999.
51. Yagi, K. (1998). Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Free radical and antioxidant protocols*, 101-106.
52. Fallahatkar, 2015, Fish Feed and feeding, *Institute of Applied Scientific Higher Education of Jihad Agriculture Publications*, 334pp.
53. Lu, Q., Li, H., Zou, Y., Liu, H., & Yang, L. (2021). Astaxanthin as a microalgal metabolite for aquaculture: A review on the synthetic mechanisms, production techniques, and practical application. *Algal research*, 54, 102178.
54. Amar, E. C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N., & Watanabe, T. (2000). Effects of dietary β -carotene on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science*, 66(6), 1068-1075.
55. Xie, S., Yin, P., Tian, L., Yu, Y., Liu, Y., & Niu, J. (2020). Dietary supplementation of astaxanthin improved the growth performance, antioxidant ability and immune response of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed high-fat diet. *Marine Drugs*, 18(12), 642.
56. Eldessouki, E. A., Diab, A. M., Selema, T. A. A., Sabry, N. M., Abotaleb, M. M., Khalil, R. H., ... & Abdel-Tawwab, M. (2022). Dietary astaxanthin modulated the performance, gastrointestinal histology, and antioxidant and immune responses and enhanced the resistance of *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture International*, 30(4), 1869-1887.
57. Zhang, Z., Zhang, X., & Tan, T. (2014). Lipid and carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* under irradiation/high-temperature and dark/low-temperature cultivation. *Bioresource technology*, 157, 149-153.
58. Mao, L., Wang, D., Liu, F., & Gao, Y. (2018). Emulsion design for the delivery of β -carotene in complex food systems. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(5), 770-784.
59. James, R., Sampath, K., Thangarathinam, R., & Vasudevan, I. (2006). Effect of dietary spirulina level on growth, fertility, coloration and leucocyte count in red swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 58.
60. Kalinowski, C. T., Socorro, J., & Robaina, L. E. (2015). Effect of dietary canthaxanthin on the growth and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture Research*, 46(4), 893-900.
61. Faghani, T., Soltani, M., Shamsae, M., & Matinfar, A. (2013). The effect of dietary natural Astaxanthin (*Haematococcus pluvialis*) on the growth parameters, carcasses and liver chemical composition in juvenile beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1758) (in Farsi). *Journal of Marine Biology*, 5(3), 69-78. <https://doi.org/10.4025/actasciani.msci.v31i3.5228>
62. Wang, Y. J., Chien, Y. H., & Pan, C. H. (2006). Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture*, 261(2), 641-648.
63. Abdel-Ghani, M. A., Yanagawa, Y., Balboula, A. Z., Sakaguchi, K., Kanno, C., Katagiri, S., & Nagano, M. (2019). Astaxanthin improves the developmental competence of in vitro-grown oocytes and modifies the steroidogenesis of granulosa cells derived from bovine early antral follicles. *Reproduction, Fertility and Development*, 31(2), 272-281.
64. Meilisza, N., Jusadi, D., Zairin Jr, M., Artika, I. M., Priyo Utomo, N. B., Kadarini, T., & Suprayudi, M. A. (2017). Digestibility, growth and pigmentation of astaxanthin, canthaxanthin or

- lutein diets in Lake Kurumoi rainbowfish, *Melanotaenia parva* (Allen) cultured species. *Aquaculture research*, 48(11), 5517-5525.
65. Choubert, G., de la Noüe, J., & Blanc, J. M. (1991). Apparent digestibility of canthaxanthin in rainbow trout: effect of dietary fat level, antibiotics and number of pyloric caeca. *Aquaculture*, 99(3-4), 323-329.
 66. Saurabh, S., & Sahoo, P. K. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture research*, 39(3), 223-239.
 67. Bayne, C. J., & Gerwick, L. (2001). The acute phase response and innate immunity of fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(8-9), 725-743.
 68. Tort, L., Sunyer, J. O., Gómez, E., & Molinero, A. (1996). Crowding stress induces changes in serum haemolytic and agglutinating activity in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 51(1-2), 179-188.
 69. Holland, M. C. H., & Lambris, J. D. (2002). The complement system in teleosts. *Fish & shellfish immunology*, 12(5), 399-420.
 70. Morgan, B. P., Marchbank, K. J., Longhi, M. P., Harris, C. L., & Gallimore, A. M. (2005). Complement: central to innate immunity and bridging to adaptive responses. *Immunology letters*, 97(2), 171-179.
 71. Cheng, Y., & Wu, S. (2019). Effect of dietary astaxanthin on the growth performance and nonspecific immunity of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Aquaculture*, 512, 734341.
 72. Fadakar, A., Bahmani, M., Yousefi Jourdehi, A., 2017. Determining carotenoid astaxanthin residual in different stages embryonic and larval development and its effect on some safety indicators in farmed sterlet fish (*Acipenser Rutinus*). *Journal of Aquaculture Development*, 11, 79-89
 73. Amar, E. C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N., & Watanabe, T. (2000). Effects of dietary β carotene on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science*, 66(6), 1068-1075.
 74. Wu, M., Xu, H., Shen, Y., Qiu, W., & Yang, M. (2011). Oxidative stress in zebrafish embryos induced by short- term exposure to bisphenol A, nonylphenol, and their mixture. *Environmental toxicology and chemistry*, 30(10), 2335-2341.
 75. Zhao, C., Men, X., Dang, Y., Zhou, Y., & Ren, Y. (2023). Probiotics mediate intestinal microbiome and microbiota-derived metabolites regulating the growth and immunity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Microbiology spectrum*, 11(2), e03980-22.
 76. Mashoof, S., & Criscitiello, M. F. (2016). *Fish immunoglobulins*. *Biology*, 5(4), 45.
 77. Adedeji, A. O., Severson, W., Jonsson, C., Singh, K., Weiss, S. R., & Sarafianos, S. G. (2013). Novel inhibitors of severe acute respiratory syndrome coronavirus entry that act by three distinct mechanisms. *Journal of virology*, 87(14), 8017-8028.
 78. Jyonouchi, H., Sun, S., & Gross, M. (1995). Effect of carotenoids on in vitro immunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells: Astaxanthin, a carotenoid without vitamin A activity, enhances in vitro immunoglobulin production in response to antigen-dependent stimulant and antigen.
 79. Nakanishi, T., Shibasaki, Y., & Matsuura, Y. (2015). T cells in fish. *Biology*, 4(4), 640-663.
 80. Zhou, C., Ge, X., Lin, H., & Niu, J. (2014). Effect of dietary carbohydrate on non-specific immune response, hepatic antioxidative abilities and disease resistance of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*). *Fish & shellfish immunology*, 41(2), 183-190.
 81. Lortz, S., Tiedge, M., Nachtwey, T., Karlsen, A. E., Nerup, J., & Lenzen, S. (2000). Protection of insulin-producing RINm5F cells against cytokine-mediated toxicity through overexpression of antioxidant enzymes. *Diabetes*, 49(7), 1123-1130.
 82. Abd El-Gawad, E. A., Wang, H. P., & Yao, H. (2019). Diet supplemented with synthetic carotenoids: effects on growth performance and biochemical and immunological parameters of yellow perch (*Perca flavescens*). *Frontiers in physiology*, 10, 1056.

83. Wang, Y. J., Chien, Y. H., & Pan, C. H. (2006). Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture*, 261(2), 641-648.
84. Zhang, J., Li, X., Leng, X., Zhang, C., Han, Z., & Zhang, F. (2013). Effects of dietary astaxanthins on pigmentation of flesh and tissue antioxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 21, 579-589.
85. Lygren, B., Hamre, K., & Waagbø, R. (1999). Effects of dietary pro-and antioxidants on some protective mechanisms and health parameters in Atlantic salmon. *Journal of Aquatic Animal Health*, 11(3), 211-221.
86. Li, M. Y., Sun, L., Niu, X. T., Chen, X. M., Tian, J. X., Kong, Y. D., & Wang, G. Q. (2019). Astaxanthin protects lipopolysaccharide-induced inflammatory response in *Channa argus* through inhibiting NF- κ B and MAPKs signaling pathways. *Fish & shellfish immunology*, 86, 280-286.
87. Rama, S., & Manjabhat, S. N. (2014). Protective effect of shrimp carotenoids against ammonia stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 107, 207-213.
88. Li, M., Rahman, M. M., Wu, B., & Lin, Y. C. (2017). Effects of dietary canthaxanthin on growth and body colour of blood parrot cichlid *Amphilophus citrinellus* $\times$ *Paraneetroplus synspilus*. *Aquaculture international*, 25, 705-713.
89. Zhu, X., Hao, R., Zhang, J., Tian, C., Hong, Y., Zhu, C., & Li, G. (2022). Dietary astaxanthin improves the antioxidant capacity, immunity and disease resistance of coral trout (*Plectropomus leopardus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 122, 38-47.
90. Kaulmann, A., & Bohn, T. (2014). Carotenoids, inflammation, and oxidative stress—implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. *Nutrition research*, 34(11), 907-929.
91. Munoz, M., Cedeno, R., Rodríguez, J., van der Knaap, W. P., Mialhe, E., & Bachere, E. (2000). Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 191(1-3), 89-107.
92. Dose, J., Matsugo, S., Yokokawa, H., Koshida, Y., Okazaki, S., Seidel, U., & Esatbeyoglu, T. (2016). Free radical scavenging and cellular antioxidant properties of astaxanthin. *International journal of molecular sciences*, 17(1), 103.
93. Xie, J. J., Chen, X., Niu, J., Wang, J., Wang, Y., & Liu, Q. Q. (2017). Effects of astaxanthin on antioxidant capacity of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) in vivo and in vitro. *Fisheries and aquatic sciences*, 20, 1-8.
94. Mortensen, A., Skibsted, L. H., Sampson, J., Rice-Evans, C., & Everett, S. A. (1997). Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS letters*, 418(1-2), 91-97.
95. Elia, A. C., Prearo, M., Dörr, A. J. M., Pacini, N., Magara, G., Brizio, P., & Abete, M. C. (2019). Effects of astaxanthin and canthaxanthin on oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 82(13), 760-768.
96. Yonar, M. E. (2012). The effect of lycopene on oxytetracycline-induced oxidative stress and immunosuppression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Fish & shellfish immunology*, 32(6), 994-1001.
97. Zhang, J., Li, X., Leng, X., Zhang, C., Han, Z., & Zhang, F. (2013). Effects of dietary astaxanthins on pigmentation of flesh and tissue antioxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 21, 579-589.
98. Girao, P. M., Pereira da Silva, E. M., & de Melo, M. P. (2012). Dietary lycopene supplementation on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles submitted to confinement: effects on cortisol level and antioxidant response. *Aquaculture Research*, 43(5), 789-798.

The effect different levels of astaxanthin on growth indices, non-specific immune system and antioxidant capacity of *Huso huso* broodstock

Abstract.

Astaxanthin is an approved additive in aquatic diet which has properties such as specific precursors of provitamin A retinoids, antibody and immune cell producer, antioxidant system booster and growth stimulant. In this study, different levels of astaxanthin effect on growth indices, food conversion ratio, immune system and antioxidant capacity of farmed female *Huso huso* broodstock was investigated. 15 *Huso huso* (pre brood stock female, sexual maturation = II, average weight and length=16.16 kg $\pm$ 0.16 and 140.65 $\pm$ 13.2 cm) were fed by diet containing 50% protein, 14% lipid and 18 MJ/kg energy in five treatments (each treatment included 3 fish) C (without astaxanthin), C₅₀, C₁₀₀, C₁₅₀ and C₂₀₀ (50, 100, 150 and 200 mg/kg of astaxanthin) (5 treatments: each treatment include 3 fish) for 674 days. At the end of the breeding period, fish were in sexual stage III to IV and IV. fish fed with C₂₀₀ had the highest final weight, body weight gain percentage, specific growth rate and the lowest food conversion ratio (P<0.05). lysozyme and immunoglobulin M in fish fed with C₁₅₀ and C₂₀₀ diets was higher significant than other experimental treatments (P<0.05). Complement were increased by increasing diet astaxanthin and highest Complement was recorded in fish fed C₂₀₀ (P<0.05). total immunoglobulin in fish fed C100, C150 and C200 was significantly higher than C50 and C treatment (P<0.05). The examination of antioxidant enzymes showed a significant increase in serum superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) with increasing astaxanthin in diet, and the highest amount was recorded in the fish fed by C₂₀₀, while the serum malondialdehyde (MDA) was opposite relationship with diet astaxanthin (P<0.05). The results of this study was revealed a 200 mg/kg astaxanthin supplementation led to growth indicators increase and improving immune system antioxidant capacity in *Huso huso* broodstock for the brood stock stage.

Key word: *Huso huso*, Astaxanthin, Growth indices, Immune system.