شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۴، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰
صفحات ۳۷۴-۳۶۳

اثرات مکمل غذایی رنگدانه آستازانتین بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوی رودخانه‌ای شرق (*Macrobrachium nipponense*)

محمد اتفاق دوست[۱]، حمید علاف نویریان[۲*]، میر مسعود سجادی[۳]، بهرام فلاحتکار[۳]

۱. دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران
۲. دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران
۳. استاد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳

چکیده

رنگدانه آستازانتین یکی از مهمترین کاروتنوئیدها از نظر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی است و به دلیل تأثیرگذاری مطلوب بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، عملکردهای ایمنی و کارایی تغذیه، یک ریز مغذی مهم در رژیم غذایی آبزیان به شمار می‌آید. این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات رنگدانه آستازانتین بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های گوارشی میگوی رودخانه‌ای شرق (*Macrobrachium nipponense*) انجام شده است. در آزمایش حاضر، ۲۲۵ قطعه میگو با میانگین وزن ۰/۰۵ ± ۱/۴۰ گرم به مدت زمان ۵۶ روز با پنج جیره غذایی فرموله شده حاوی سطوح مختلف آستازانتین صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، مورد غذادهی قرار گرفتند. در پایان دوره پرورشی، نمونه‌های هپاتوپانکراس و روده از میگوهای مورد مطالعه جمع‌آوری گردیدند و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در نمونه‌ها توسط کیت‌های آزمایشی و روش اسپکتروفوتومتری مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج مطالعه نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در مقایسه با تیمار شاهد به طور قابل توجهی افزایش یافت، در حالی که سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی آلدهید در جیره‌های غذایی حاوی آستازانتین به طور معنی‌داری کاهش پیدا نمود ($P<0/05$). با این حال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز تحت تأثیر سطوح مختلف آستازانتین جیره غذایی قرار نگرفت ($P>0/05$). فعالیت آنزیم‌های گوارشی تحت تأثیر سطوح مختلف آستازانتین قرار گرفتند و با افزایش این رنگدانه در جیره غذایی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی به طور معنی‌داری افزایش نشان دادند ($P<0/05$). در نهایت، نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش سطوح آستازانتین در جیره غذایی موجب بهبود عملکرد شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در میگو رودخانه‌ای شرق می‌گردد و به کارگیری از جیره غذایی حاوی مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از این رنگدانه با هدف بهبود شاخص‌های ذکر شده در این میگو، پیشنهاد گردید.

واژگان کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آستازانتین، کاروتنوئیدها، ایمنی، میگوی رودخانه‌ای شرق

* نویسنده مسئول: حمید علاف نویریان
Email: navi@guilan.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 74, No. 3, Autumn 2021
pp. 363-374

Effects of dietary supplementation of astaxanthin on antioxidant status and digestive enzyme activities of the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*)

Mohammad Ettefaghdoost[1], Hamid Alaf Noveirian[2*], Mir Masoud Sajjadi[3], Bahram Falahatkar[3]

1. Ph. D student, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
2. Associate professor, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
3. Professor, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran

Received: 14-May-2021 **Accepted: 24-Jul-2021**

Abstract

Astaxanthin pigment is one of the most important carotenoids in terms of antioxidant properties, and an important micronutrient in the aquatics diet due to desirable effect on antioxidant activity, immunity functions, and feed efficiency. This study was conducted to evaluate the effects of astaxanthin pigment on antioxidant activity, and digestive enzymes of the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*). In the present experiment, two hundred and twenty-five prawns with mean weight of 1.40±0.05 g were fed by five formulated diets containing different astaxanthin levels, zero (control), 50, 100, 150 and 200 mg per kg for 56 days. At the end of the culture period, the hepatopancreas, and intestine samples of the studied prawns were collected then antioxidant parameters, and digestive enzymes of the samples were evaluated by experimental kits, and spectrophotometric method. The results of the study showed that total antioxidant capacity increased significantly compared to control treatment, while superoxide dismutase, catalase, and malondialdehyde decreased significantly in diets containing astaxanthin treatments ($P<0.05$). However, the antioxidant activity of glutathione peroxidase was not affected by different dietary astaxanthin levels ($P>0.05$). Digestive enzymes were affected by different astaxanthin levels, and with increasing dietary astaxanthin, digestive enzymes increased significantly ($P<0.05$). Finally, the results of this study showed that increasing dietary astaxanthin levels improved the activity of antioxidant parameters, and digestive enzymes of the oriental river prawn, and suggests that diet containing 150 mg/kg of this pigment to improve the mentioned parameters of this prawn.

Keywords: Antioxidant activity, Astaxanthin, Carotenoids, Immunity, Oriental river prawn

Corresponding author: Hamid Alaf Noveirian Email: navi@guilan.ac.ir

۱. مقدمه

تغذیه آبزیان از جمله موارد مهمی است که تاثیرگذاری قابل توجهی بر عملکرد رشد، ایمنی و گوارش آن‌ها دارد. در بحث تغذیه مشخص گردیده است که علاوه بر اجزای اصلی و مهم جیره غذایی همچون پروتئین، چربی و کربوهیدارت، سایر افزودنی‌ها نیز به منظور بهبود شاخص‌های ایمنی و گوارشی اهمیت فراوانی دارند که یکی از مهمترین افزودنی‌ها، رنگدانه‌های کاروتنوئیدی به شمار می‌آیند (Wade *et al.*, 2017; Nakano and Wiegertjes, 2020). در سال‌های اخیر، کاروتنوئیدها به عنوان یکی از مهمترین افزودنی‌ها در جیره غذایی آبزیان با هدف بهبود کیفیت تکثیر و پرورش آن‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. کاروتنوئیدها از جمله رنگدانه‌هایی هستند که عمدتاً به وسیله گیاهان، بعضی از باکتری‌ها و قارچ‌ها تولید می‌شوند ولی به شدت توسط طیف وسیعی از آبزیان در زنجیره غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Pereira da Costa and Campos Miranda-Filho, 2020). اگرچه رنگدانه‌های کاروتنوئیدی به عنوان افزودنی‌های جیره غذایی با هدف افزایش رنگ‌پذیری آبزیان شناخته می شوند، با این حال دارای عملکردهای مختلف دیگری نیز می‌باشند که از جمله آن‌ها می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی، تأثیر در رشد، بازماندگی، بهبود عملکرد ایمنی ذاتی، بالا بردن میزان تحمل در برابر تنش‌های ناشی از نوسانات فیزیکو-شیمیایی آب و محافظت نمودن از بافت‌ها در مقابل نور فرابنفش، اشاره نمود (Galasso *et al.*, 2017). مهم‌ترین رنگدانه کاروتنوئیدی شناخته شده که کاربرد بسیار گسترده‌ای در صنعت آبزی پروری دارد، رنگدانه آستازانتین است که محلول در چربی است و یک رنگدانه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی محسوب می‌شود و از طریق خنثی سازی رادیکال‌های آزاد تولیدی ناشی از فعالیت طبیعی سلول‌ها و استرس‌های محیطی، منجر به بهبود عملکرد ایمنی آبزیان می‌گردد. این رنگدانه افزون بر نقش آن در تغییر رنگ آبزیان مختلف، به طور ویژه‌ای بر عملکردهای زیستی مهم آن‌ها موثر است که از جمله این موارد می‌توان به پیش ساز برخی از ویتامین‌ها همچون ویتامین A، ممانعت از اکسیده شدن اسیدهای چرب ضروری غیر اشباع، محافظت از اثرات منفی نور فرابنفش، نقش در بروز واکنش‌های ایمنی، بهبود عملکرد تولید مثلی و غیره اشاره نمود که افزودن آن را به جیره غذایی بسیار پر اهمیت می‌کند (Shahidi and Brown, 1998; Galasso *et al.*, 2017; Wade *et al.*, 2017; Nakano and Wiegertjes, 2020).

میگوی رودخانه‌ای شرق (*Macrobrachium nipponense*)، گونه‌ای مهم و اقتصادی از میگوهای آب شیرین جنس بازوبلند (*Macrobrachium*) به شمار می‌آید که دارای پراکنش طبیعی در کشورهای شرقی و جنوب شرقی آسیا همچون چین، کره جنوبی، ویتنام، ژاپن، تایوان و میانمار است (Fu *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2019). مطالعات نشان داده که این گونه از غذای فرموله شده به خوبی استفاده کرده و دارای نرخ رشد خوب و سریعی در مدت زمانی کوتاه است، در نتیجه مطالعه مباحث مرتبط با احتیاجات غذایی این میگو، نیازمند توجه ویژه‌ای است و بهره‌گیری از جیره غذایی مطلوب و اختصاصی، موجب می‌گردد تا عملکرد ایمنی و کارایی تغذیه‌ای آن بهبود یافته و همچنین رشد بهینه آن در شرایط پرورشی تسریع شود (Ding *et al.*, 2017; Ettefaghdoost *et al.*, 2018; Lavajoo *et al.*, 2019). از آنجایی‌که تسریع رشد و بهبود پاسخ‌های ایمنی یکی از مهمترین مباحثی است که همواره باید مورد توجه قرار گیرد، محققان بر این باورند که تغذیه مناسب و استفاده از جیره‌های غذایی با حداکثر کارایی، به منظور کاهش هدررفت غذا و هزینه تغذیه بسیار ضروری است که این عامل در نهایت موجب افزایش تولید و بازده اقتصادی در پرورش آبزیان می‌شود (Mahfuzur *et al.*, 2018). به همین دلیل بر اساس آن‌چه پیش‌تر بدان اشاره شد، اهمیت قابل توجه رنگدانه های کاروتنوئیدی همچون آستازانتین در فرآیند آبزی‌پروری با هدف ایجاد رشد مطلوب، بهبود عملکردهای تغذیه‌ای، پاسخ‌های ایمنی، افزایش رنگ‌پذیری آن‌ها به منظور بازارپسندی بیشتر و همچنین بازماندگی بیشتر در برابر تنش‌های محیطی، موجب افزایش میزان تقاضاها برای استفاده از این

رنگدانه‌ها به عنوان افزودنی جیره‌های غذایی در محصولات مورد استفاده در آبزی پروری گردیده است (Shahidi and Brown, 1998; Kalinowski *et al.*, 2005; Meilisza *et al.*, 2017). به همین علت مطالعات بسیاری در ارتباط با این موضوع و اثرات مثبت رنگدانه آستازانتین روی سخت‌پوستان مختلف صورت گرفته است که می‌توان به پژوهش‌های Zhang و همکاران (۲۰۱۳)، Jin و همکاران (۲۰۱۴) و همچنین Cheng و Wu (۲۰۱۹) اشاره کرد.

در نهایت با توجه به ویژگی‌های قابل ملاحظه‌ای که در ارتباط با نقش مهم رنگدانه‌های کاروتنوئیدی همچون آستازانتین در فرآیند تغذیه و پرورش آبزیان، ذکر گردید. می‌توان با توجه به نقش آستازانتین در جیره غذایی میگوی رودخانه‌ای شرق، به فرمول اختصاصی و تجاری بهتری متناسب با اهداف پرورشی آن دست پیدا نمود تا عملکرد رشد و ایمنی آن در شرایط پرورشی، بهبود یابد. به همین دلیل لزوم انجام مطالعه‌ای در ارتباط با نقش افزودنی‌ها به جیره غذایی میگوی مذکور به عنوان یک گونه دارای پتانسیل اقتصادی و پرورش مناسب در منابع دارای آب شیرین کشور ایران، احساس شد. بنابراین، در پژوهش حاضر سعی گردید به بررسی تأثیرات رنگدانه آستازانتین روی وضعیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوی رودخانه‌ای شرق، پرداخته شود.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. میگوها و شرایط پرورشی

پژوهش کنونی در فصل تابستان سال ۱۳۹۸ به مدت زمان ۸ هفته در مرکز آکواریوم فیشلند (رشت، گیلان، ایران)، انجام پذیرفت. نمونه‌های میگوی مورد پژوهش، به وسیله تله و همچنین تور با محدوده وزن ۰/۵۰ ± ۱/۵۰ گرم و طول کل ۰/۵۰ ± ۵ سانتی متر از رودخانه سیاه درویشان (طول جغرافیایی '۴۹°۳۰ شرقی؛ عرض جغرافیایی '۳۷°۲۵ شمالی، ارتفاع از سطح دریا ۱۵- متر، صومعه سرا، گیلان، ایران) که از جمله نواحی مهم زیست این میگو در بخش‌های جنوبی دریای خزر است، صید و به محل آزمایش منتقل گردیدند. میگوها به مدت زمان دو هفته در مخزن ۷۰۰ لیتری با هدف سازگاری یافتن با شرایط آزمایش، مورد نگهداری قرار گرفتند و در طی این مدت با جیره غذایی پایه میگوی رودخانه‌ای شرق بر اساس مقدار اشتها تغذیه شدند (Ettefaghdoost *et al.*, 2018). پس از طی دوره سازگاری، میگوها توسط ترازوی دیجیتال (A&D، مدل EK3200I، توکیو، ژاپن) مورد زیست سنجی قرار گرفتند. میگوهای زیست سنجی شده، با میانگین وزن ۰/۰۵ ± ۱/۴۰ گرم و طول کل ۰/۲۷ ± ۵ سانتی متر از میان نمونه‌های اندازه‌گیری شده، جداسازی شدند و سپس به طور کاملاً تصادفی در بین ۱۵ آکواریوم شیشه‌ای (۱۵ عدد میگو در هر آکواریوم) تقسیم گردیدند. حجم آبگیری مورد استفاده برای تیمارها، ۶۰ لیتر و منبع آب به کار رفته برای آکواریوم‌ها، آب شهری (کلرزدایی شده توسط هوادهی مداوم به مدت زمان ۲۴ ساعت) بود. فرآیند هوادهی در آکواریوم های نگهداری میگو در کل طول دوره آزمایش به طور پیوسته با استفاده از سنگ‌های هوا که به هواده مرکزی (Danner، مدل AP-100، نیویورک، آمریکا) اتصال یافته بود، انجام گرفت. آب آکواریوم‌های پرورشی به صورت یک روز در میان پیش از غذادهی به مقدار یک‌سوم ظرفیت آن و در زمان زیست سنجی تمام ظرفیت آن مورد تعویض قرار گرفت و با آب کلرزدایی شده جایگزین شد. دوره نوری در طول دوره پرورشی بر اساس ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم گردید که توسط لامپ فلورسنت (رنگ نور سفید) انجام پذیرفت.

۲.۲. تهیه جیره و طراحی آزمایش

در ابتدا، تنظیم جیره‌های غذایی مورد استفاده در این مطالعه بر طبق جیره پایه میگوی رودخانه‌ای شرق با استفاده از برنامه جیره‌نویسی (Lindo^{TM}، نسخه شماره ۱۰، ایلینوی، آمریکا) صورت پذیرفت و سپس به جیره‌های آماده شده، پودر آستازانتین DSM -CAROPHYLL® pink ۱۰ درصد (E161j*، پاریس، فرانسه) حل شده در آب مقطر به وسیله همزن مغناطیسی (INTLLAB^{TM}، مدل MS-500،

کوالالامپور، مالزی)، اسپری شد. پس از خشک شدن نمو نه های غذایی، این جیره ها در د مای ۱۶- در جه سانتی‌گراد فریزر منجمد و نگهداری شدند. جیره‌های مصرفی روزانه با توجه به حساس بودن رنگدانه آستازانتین به عوامل محیطی همچون نور و دما، درون یخچال (دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) و همچنین ظرف‌های پلاستیکی مشکی رنگ، مورد نگهداری قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی در این مطالعه شامل پنج جیره غذایی و سه تکرار با سطوح متفاوت آستازانتین صفر (بدون رنگدانه یا شاهد)، (سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه در کیلوگرم جیره) بر اساس جیره غذایی پایه میگوی رودخانه‌ای شرق بود. فرآیند غذادهی به میگوها به صورت دستی در چهار نوبت (ساعت‌های ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰) و میزان سه درصد غذادهی (میانگین وزن توده زنده) به مدت زمان ۸ هفته، انجام پذیرفت (Ettefaghdoost and Alaf Noveirian, 2017; Ding *et al.*, 2017). جدول ۱، اقلام غذایی و تجزیه تقریبی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه به منظور پرورش میگوی رودخانه‌ای شرق را نشان می‌دهد (AOAC, 2016).

۳.۲. تعیین وضعیت آنتی‌اکسیدانی

به منظور سنجش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، در ابتدا بخش هپاتوپانکراس نمونه میگوهای هر تکرار مورد جداسازی قرار گرفت و پس از آن نمونه‌های تهیه شده توسط آب مقطر (با میزان دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) شستشو گردید و بعد از توزین، مقدار نسبت های ۱ به ۹ با محلول بافر (Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و Triton X-100 ۰/۱ درصد، pH ۷/۸) به آن‌ها افزوده شد. سپس مرحله همگن سازی نمونه‌ها به‌وسیله هموژنایزر (IKA®، مدل-ULTRA TURRAX® t18، بادن-وورتمبرگ، آلمان) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. در ادامه نمونه‌ها به مدت زمان ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Hettich®، مدل ROTINA 420R، توتلینگن، آلمان) شدند و بخش رویی محلول به کمک سمپلر (Sartorius، مدل Biohit Proline®، گوتینگن، آلمان) جدا گردید. در نهایت، نمونه‌های آماده شده به میکروتیوب های ضدعفونی شده انتقال یافتند و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد (Esco Lexicon®، مدل UUS 668A-1، تورنتو، کانادا) نگهداری گردیدند. برای اندازه‌گیری شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی همچون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و مالون دی آلدهید از روش رنگ سنجی با کیت‌های شرکت ZellBio® GmbH (اولم، بادن-وورتمبرگ، آلمان) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و بررسی تغییرات جذب نوری در دستگاه BioTek® (مدل ELx800™، ورمونت، ایالات متحده آمریکا) استفاده گردید (Cheng and Wu, 2019; Han *et al.*, 2018; Jin *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013).

۴.۲. تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی، فرآیند غذادهی به مدت زمان ۴۸ ساعت پیش از نمونه‌گیری از میگوها متوقف شد تا باقی‌مانده مواد غذایی از دستگاه گوارش آن‌ها کاملاً تخلیه گردد. پس از انتخاب تصادفی میگوهای هر تکرار، عمل جداسازی بافت روده نمونه‌ها روی یخ و در دمای پایین‌تر از ۴ درجه سانتی‌گراد، به منظور کاهش حداقلی میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی انجام پذیرفت و مواد غذایی باقی‌مانده موجود در آن نیز خارج گردید. بعد از آن نمونه‌های تهیه شده با آب دوبار تقطیر (با میزان دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) شستشو شدند و پس از توزین آن‌ها با ترازوی دارای دقت ۰/۰۰۱ گرم (A&D، مدل GF-1000، توکیو، ژاپن)، به میزان نسبت های ۱ به ۹ با محلول بافر (Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و Triton X-100 ۰/۱ درصد) در محیط دارای pH ۷/۸ مخلوط و به درون میکروتیوب های ۲ میلی لیتری ریخته شدند، سپس فرآیند همگن‌سازی آن‌ها در حضور یخ به جهت مطمئن گردیدن از پایین بودن دمای آزمایش، به‌و سیله هموژنایزر در مدت زمان ۳۰ ثانیه صورت گرفت. پس از این مرحله، سوسپانسیون‌های به دست آمده با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه

در مدت زمان ۱۰ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. در نهایت، محلول رویی نمونه‌ها توسط سمپلر جداسازی گردید و با وارد نمودن آن‌ها به درون میکروتیوب های استریل، تا زمان سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد، مورد نگهداری قرار گرفتند.

جدول ۱- اقلام غذایی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی میگوی رودخانه‌ای شرق در مطالعه کنونی

	آستازانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم)				
	صفر	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰
ترکیبات جیره (درصد)					
آرد ماهی[۱]	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
آرد سویا	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
آرد گندم	۷	۷	۷	۷	۷
آرد ذرت	۷	۷	۷	۷	۷
پروتئین کازئین[۲]	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
مکمل ویتامینه[۳]	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل معدنی[۴]	۲	۲	۲	۲	۲
کلسترول[۵]	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
ویتامین C آبزیان[۶]	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
دی کلسیم فسفات[۷]	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
پرکننده (CMC)[۸]	۵/۲	۵/۱۹۵	۵/۱۹	۵/۱۸۵	۵/۱۸
کاروتنوئید (آستازانتین)[۹]	۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۲
تجزیه تقریبی (درصد ماده خشک)					
رطوبت	۹/۵۷	۹/۵۶	۹/۵۳	۹/۱۸	۹/۵۷
پروتئین	۴۴/۹۱	۴۴/۶۰	۴۴/۶۸	۴۴/۷۴	۴۴/۹۰
چربی	۴/۹۰	۵/۰۴	۴/۷۴	۴/۸۶	۴/۷۵
فیبر	۲/۹۱	۲/۸۵	۲/۷۸	۲/۸۳	۲/۷۷
خاکستر	۱۴/۷۱	۱۴/۷۸	۱۴/۱۲	۱۴/۵۴	۱۴/۵۲
عصاره عاری از ازت	۲۳	۲۳/۱۷	۲۴/۱۵	۲۳/۸۵	۲۳/۴۹
انرژی ناخالص (کیلوژول بر گرم)[۱۰]	۱۸/۱۸	۱۸/۲۷	۱۸/۲۴	۱۸/۰۳	۱۸/۲۹
کاروتنوئید کل (میلی گرم در کیلوگرم)	۴/۷۲	۵۲/۲۷	۱۰۷/۳۸	۱۵۵/۸۵	۱۹۸/۶۹

[۱]شرکت خوراک دام و آبزیان مازندران (ساری، مازندران، ایران)

[۲]شرکت لابراتوارهای Quelab (مونترآل، کبک، کانادا)

[۳]شرکت لابراتوارهای سیانس (قزوین، قزوین، ایران)- هر ۱۰۰۰ گرم مکمل ویتامینه شامل؛ ۱۶۰۰۰۰۰ واحد بین المللی رتینول، ۴۰۰۰۰۰ واحد بین المللی کوله کلسیفرول، ۴۰ گرم آلفا توکوفرول، ۲ گرم منادیون، ۶ گرم تیامین، ۸ گرم ریبوفلاوین، ویتامین ۱۲ گرم نیاسین، ۴۰ گرم پانتوتنیک اسید، ۴ گرم پیریدوکسین، ۲ گرم فولیک اسید، ۶۰ گرم اسکوربیک اسید، ۲۴۰ میلی گرم بیوتین، ۲۰ گرم اینوزیتول، ۲۰ گرم بوتیل هیدروکسی تولوئن

[۴]شرکت لابراتوارهای سیانس (قزوین، قزوین، ایران)- هر ۱۰۰۰ گرم مکمل معدنی شامل؛ ۲۰ گرم آهن، ۶۰ گرم روی، ۴۰۰۰ میلی گرم سلنیوم، ۲۰۰۰ میلی گرم کبالت، ۵۰۰۰ میلی گرم مس، ۴۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۸۰ میلی گرم ید، ۸۰۰۰۰ میلی گرم کولین کلراید

[۵]شرکت سیگما آلدریچ (سنت لوئیس، میزوری، ایالات متحده آمریکا)

[۶]شرکت لابراتوارهای سیانس (قزوین، قزوین، ایران)- هر ۱۰۰۰ گرم ویتامین C شامل؛ ۵۰۰ گرم Stay-C 35

[۷]شرکت ارس تابان (آمل، مازندران، ایران)

[۸]شرکت کیمیا تهران اسید (تهران، تهران، ایران)

[۹]شرکت تولیدات غذایی DSM (پاریس، ایل-دو-فرانس، فرانسه)- Carophyll® pink شامل؛ ۱۰ درصد آستازانتین (E161j*)

[۱۰]محاسبه انرژی ناخالص بر اساس؛ پروتئین (۲۳/۶ کیلوژول بر گرم)، چربی (۳۷/۶ کیلوژول بر گرم)، کربوهیدرات (۱۶/۷ کیلوژول بر گرم)

از روش جذب نوری و کیت‌های آزمایشی شرکت پارس آزمون (کرج، البرز، ایران) برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم های گوارشی پروتئاز در طول موج ۴۵۰ نانومتر، آلفا-آمیلاز در طول موج ۵۴۰ نانومتر و لیپاز در طول موج ۴۰۵ نانومتر استفاده گردید. میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی بر اساس واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شدند (Castro *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2018; Weilong *et al.*, 2019).

۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در ابتدا به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و برای همگنی واریانس‌ها از آزمون لون (Levene) استفاده گردید. تجزیه و تحلیل نتایج، با آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) به کمک نرم افزار آماری (IBM SPSS، نسخه ۲۲، ایلینوی، آمریکا) صورت گرفت. سپس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple range) در سطح اطمینان ۹۵ در صد، به جهت مقایسه میانگین تیمارها استفاده گردید. در نهایت از نرم افزار (مایکروسافت ورد، نسخه ۲۰۱۳، ردموند، آمریکا) برای رسم نمودن جدول‌ها استفاده گردید، همچنین نتایج درون متن به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± Standard deviation) بیان شده است.

۳. نتایج

۱.۳. شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج حاصل شده از اندازه‌گیری شاخص های آنتی‌اکسیدانی در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس این نتایج، شاخص‌های ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی آلدهید در تیمارهای حاوی رنگدانه آستازانتین، تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد از خود نشان دادند ($P<۰/۰۵$). در حالی‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تحت تأثیر سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). شاخص ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با افزایش مقادیر آستازانتین جیره غذایی، افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد در حالی‌که سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی آلدهید به طور معنی‌داری در تیمارهای حاوی رنگدانه آستازانتین کاهش یافت ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲- مقایسه میانگین (± انحراف معیار) شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی میگوی رودخانه‌ای شرق (*Macrobrachium nipponense*) نسبت به اثر سطوح متفاوت آستازانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در پایان دوره پرورش (۸ هفته آزمایش؛ n= ۳)

شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی	آستازانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم)					One- way ANOVA		
	صفر	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	F	d.f.	P
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (U/mg protein)	۲/۴۵±۰/۲۸^{c}	۲/۸۲±۰/۲۲^{bc}	۳/۲۱±۰/۱۵^{ab}	۳/۶۲±۰/۲۶^{a}	۳/۵۴±۰/۱۹^{a}	۱۴/۳۴۳	۴	۰/۰۰۰
سوپراکسید دیسموتاز (U/mg protein)	۷/۲۰±۰/۳۹^{a}	۴/۸۶±۰/۶۰^{b}	۵/۰۹±۰/۲۹^{b}	۵/۲۸±۰/۳۴^{b}	۶/۷۳±۰/۴۰^{a}	۱۹/۱۸۴	۴	۰/۰۰۰
گلوتاتیون پراکسیداز (U/mg protein)	۳۱/۴۸±۱/۱۹	۳۱/۳۷±۲/۰۳	۲۸/۲۹±۱/۸۳	۲۸/۷۲±۱/۰۴	۲۹/۳۴±۱/۷۷	۲/۵۶۱	۴	۰/۱۰۴
کاتالاز (U/mg protein)	۱۳/۹۷±۰/۷۰^{a}	۹/۸۶±۰/۹۶^{c}	۷/۹۲±۰/۱۹^{d}	۸/۷۸±۰/۶۴^{cd}	۱۲/۱۵±۰/۷۵^{b}	۳۸/۳۲۰	۴	۰/۰۰۰
مالون دی آلدهید (nmol/mg protein)	۹/۴۳±۰/۲۳^{a}	۷/۶۹±۰/۳۹^{b}	۶/۴۴±۰/۴۲^{cd}	۶/۳۲±۰/۵۴^{d}	۷/۲۵±۰/۶۶^{bc}	۲۱/۱۱۹	۴	۰/۰۰۰

اعداد با حروف نامشابه، نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ردیف‌های مختلف با یکدیگر است (p <۰/۰۵).

۲.۳. فعالیت آنزیم‌های گوارشی

در جدول ۳ نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گوارشی نشان داده شده است که بر اساس آن، فعالیت آنزیم‌های گوارشی تحت تأثیر سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین قرار گرفتند و با افزایش آستازانتین جیره غذایی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده میگوی رودخانه‌ای شرق به طور معنی‌داری افزایش نشان داد ($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان این آنزیم‌ها در تیمارهای ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین مشاهده گردید در حالی‌که کمترین میزان آن در تیمار شاهد به دست آمد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۳- مقایسه میانگین (± انحراف معیار) فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده میگوی رودخانه‌ای شرق (*Macrobrachium nipponense*) نسبت به اثر سطوح متفاوت آستازانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در پایان دوره پرورش (۸ هفته آزمایش؛ n= ۳)

فعالیت آنزیم‌های گوارشی	آستازانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم)					One- way ANOVA		
	صفر	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	F	d.f.	P
پروتئاز (U/mg protein)	۱/۳۹±۰/۰۴^{d}	۱/۵۲±۰/۰۱^{c}	۱/۵۸±۰/۰۲^{bc}	۱/۶۳±۰/۰۱^{ab}	۱/۶۶±۰/۰۶^{a}	۲۴/۴۹۳	۴	۰/۰۰۰
آمیلاز (U/mg protein)	۱/۸۳±۰/۱۱^{d}	۲/۲۲±۰/۱۴^{c}	۲/۴۳±۰/۰۸^{b}	۲/۷۱±۰/۰۹^{a}	۲/۶۰±۰/۰۶^{ab}	۳۹/۸۳۵	۴	۰/۰۰۰
لیپاز (U/mg protein)	۰/۷۴±۰/۰۴^{c}	۰/۸۳±۰/۰۲^{b}	۰/۸۶±۰/۰۱^{b}	۰/۹۱±۰/۰۳^{a}	۰/۹۳±۰/۰۲^{a}	۲۳/۹۸۶	۴	۰/۰۰۰

اعداد با حروف نامشابه، نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ردیف‌های مختلف با یکدیگر است ($p <۰/۰۵$).

۴. بحث و نتیجه گیری

رنگدانه آستازانتین به عنوان یکی از مهمترین رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و ریز مغذی اصلی در جیره غذایی آبزیان شناخته می‌شود و علاوه بر آن کاروتنوئید غالب و اصلی در سخت‌پوستانی همچون میگوها محسوب می‌گردد که به صورت زیستی تشکیل نشده و به همین دلیل میگوها باید این رنگدانه‌ها را از طریق رژیم غذایی خود، دریافت نمایند ولی با این وجود سخت‌پوستان از توانایی تبدیل کاروتنوئیدها به یکدیگر برخوردار هستند (Mao *et al.*, 2017). در مطالعه حاضر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی میگوها تحت تأثیر سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین جیره غذایی قرار گرفتند که نتایج این مطالعه با پژوهش Han و همکاران (۲۰۱۸) روی اثر مقادیر مختلف رنگدانه آستازانتین جیره غذایی (سطوح صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم در کیلوگرم) به مدت زمان ۵۶ روز بر خرچنگ آبی ژاپنی (*Portunus trituberculatus*) با میانگین وزن ۳۱/۶۵ گرم، دارای همخوانی بود که در آن تیمارهای تغذیه شده با رنگدانه، تفاوت معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد، از خود نشان دادند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش سطوح آستازانتین جیره غذایی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. این یافته‌ها با مطالعات Zhang و همکاران (۲۰۱۳) مشابهت داشت که ایشان با بررسی اثر مقادیر مختلف رنگدانه آستازانتین با میزان سطوح ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین روی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*)، پس از پایان دوره پرورشی به این نتیجه دست یافتند که میگوهای تغذیه شده با میزان ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم آستازانتین، بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را از خود نشان دادندکه با تحقیقات مشابه انجام شده روی میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) همچون Jin و همکاران

(۲۰۱۴)، Chien و همکاران (۲۰۰۳) و Pan و همکاران (۲۰۰۳) همخوانی داشت. در مطالعات ایشان با افزایش مقادیر آستازانتین جیره غذایی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. به طور کلی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، بیانگر فعالیت تمامی آنتی‌اکسیدان‌های (آنزیمی و غیرآنزیمی) موجود در بدن است که در برابر هر گونه عوامل مفید یا مضر، میزان این شاخص ممکن است روند افزایشی یا کاهشی نشان دهد. در واقع ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، شاخصی مهم به منظور ارزیابی تعادل میان عوامل اکسیداتیو و آنتی اکسیداتیو است و افزایش آن نشان دهنده بالا رفتن مقاومت آبزی در برابر تنش های اکسیداتیو است (Sahin *et al.*, 2014; Zhi *et al.*, 2018). این نتایج نشان می‌دهد که با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، در تیمارهای تغذیه شده با رنگدانه‌های کاروتنوئیدی، خواص مؤثر آنتی‌اکسیدانی این رنگدانه ها قابل اثبات است.

در این مطالعه با افزایش سطوح آستازانتین در جیره غذایی، شاخص‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و مالون دی آلدهید به طور معنی‌داری کاهش نشان دادند. در ارتباط با این موضوع، پژوهش Zhang و همکاران (۲۰۱۳) روی این شاخص‌ها در میگوی پاسفید به این نتیجه رسیدند که با افزایش سطوح آستازانتین جیره غذایی، آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش خواهد یافت. همچنین مطالعات Jin و همکاران (۲۰۱۴) روی میگوی ببری سیاه، Cheng و Wu (۲۰۱۹) روی خرچنگ قرمز (*Procambarus clarkii*) نیز کاهش معنی‌دار مالون دی آلدهید را در تیمارهای حاوی رنگدانه آستازانتین نسبت به تیمار شاهد گزارش نمودند که این نتیج با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز از جمله شاخص‌های مهم و اولین خط ایمنی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در برابر مسمومیت های ناشی از رادیکال‌های آزاد محسوب می‌گردند که این عوامل در طی فرآیند های اکسیداتیو (جذب انرژی تحریک کننده اکسیژن منفرد) با ممانعت از شکل‌گیری و همچنین کنترل نمودن رادیکال‌های آزاد، نقش قابل ملاحظه‌ای در محافظت نمودن از بخش های مختلف سلول ها دارند (Abele and Puntarulo, 2004; Wilhelm Filho *et al.*, 1993). کاهش سوپر اکسید دیسموتاز در این مطالعه و همچنین تحقیقات بیان شده، نشان دهنده عملکرد مشابه رنگدانه های کاروتنوئیدی همچون آستازانتین در پاکسازی نمودن رادیکال‌های سوپراکسید آنیون از طریق خاصیت احیاکنندگی آن است و براین اساس، سطوح کمتری از آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز صرف واکنش‌های خنثی سازی و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Girao *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013). همچنین کاهش معنی‌دار کاتالاز در تیمارهای تغذیه شده با رنگدانه آستازانتین و نتایج مشابه گزارش شده در مطالعات مختلفی که پیش‌تر ذکر گردید، نشان دهنده عدم نیاز به این آنزیم با توجه به تولید پایین‌تر متابولیت هیدروژن پراکساید در پی کاهش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در طی این فرآیند است که به دنبال حذف گردیدن رادیکال های سوپراکسید آنیون به وسیله رنگدانه کاروتنوئیدی انجام پذیرفته است (Girao *et al.*, 2012; Sahin *et al.*, 2014). همین‌طور که پیش‌تر به آن اشاره شد با افزایش سطوح آستازانتین جیره غذایی، مالون دی آلدهید به طور معنی‌داری کاهش یافت که این نتایج تایید کننده نتایج به دست آمده توسط سایر پژوهشگران است. نقش مؤثر رنگدانه های کاروتنوئیدی در خاتمه دادن به واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون چربی‌ها که با واسطه رادیکال‌های آزاد انجام می‌گردد به اثبات رسیده است (Da Silva *et al.*, 2015). در نتیجه استفاده از رنگدانه های کاروتنوئیدی همچون آستازانتین موجب کاهش سطح پراکسیداسیون چربی‌ها و محافظت نمودن از این ساختارها در برابر رادیکال‌های آزاد حاصل شده از آن می‌گردد.

نقش فرآیند های دخیل در گوارش در متابولیسم آبزیان دارای اهمیت فراوانی است، چون مشخص کننده تمامی احتیاجات مواد مغذی به منظور انجام کارکردهای مختلف فیزیولوژیک و زیستی است. به همین دلیل بررسی

فیزیولوژی گوارش و آنزیم های مرتبط با آن، از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. از آنجایی‌که بازده خالص تمامی فرآیندهای گوارشی به طور قابل توجهی به نوع و عملکرد آنزیم‌های گوارشی بستگی دارد، مطالعه میزان فعالیت آن ها موجب آگاهی بیشتر از کارآیی خوراک، چگونگی بهره‌گیری از ترکیبات مختلف مواد مغذی در جیره غذایی و بررسی توانایی هضم آبزی می‌گردد که این عوامل می‌تواند کمک شایانی را به آبزی‌پروران برای انتخاب ترکیباب غذایی مناسب با هدف ساخت جیره‌های غذایی، مختص به هر گونه پرورشی، نماید (Štrus *et al.*, 2019; McGaw and Curtis, 2013; Caruso *et al.*, 2009). در پژوهش حاضر با افزایش سطوح آستازانتین جیره غذایی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا نمود که با تحقیقات Wang و همکاران (۲۰۱۸) در ارتباط با اثر رنگدانه آستازانتین روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوی ژاپنی (*Marsupenaeus japonicus*) با میانگین وزن ۱/۴۱ گرم و همچنین Weilong و همکاران (۲۰۱۹) بر تاثیرات آستازانتین روی این آنزیم‌های در میگوی ژاپنی با میانگین وزن ۲/۸ گرم، همخوانی داشت. از آنجایی که فعالیت آنزیم‌های گوارشی به عنوان شاخصی مهم در وضعیت تغذیه و تنظیم رشد آبزیان محسوب می‌گردند، از این طریق می‌توان به ترکیب‌بندی مطلوب جیره غذایی گونه‌های مختلف ماهیان و سخت پوستان دست یافت. بر این اساس تشابه یافته‌های به دست آمده از مطالعات مختلف اشاره شده، بیانگر نقش قابل توجه رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در بهبود فرآیندهای مرتبط با تغذیه آبزیان است (Göçer *et al.*, 2006).

در نهایت، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزایش میزان رنگدانه آستازانتین جیره غذایی موجب بهبود فعالیت وضعیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین فعالیت آنزیم‌های گوارشی میگوی رودخانه‌ای شرق خواهد شد که بیانگر نقش قابل توجه رنگدانه آستازانتین در افزایش کارایی ایمنی آنتی‌اکسیدانی و همچنین بهبود عملکرد تغذیه‌ای است. در نتیجه با مشاهده و بررسی یافته‌های به دست آمده، افزودن میزان این رنگدانه کاروتنوئیدی تا سطوح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین به جیره غذایی با هدف بهبود شاخص‌های ایمنی آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی این میگو، پیشنهاد می‌گردد.

۵. منابع

References

Abele, D., Puntarulo, S., 2004. Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*138(4), 405-415.

AOAC. 2016. Official Methods of Analysis, 20th Ed. (Editor: Dr. George W. Latimer, Jr.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. USA. pp.3172.

Castro, C., Couto, A., Pérez-Jiménez, A., Serra, C. R., Díaz-Rosales, P., Fernandes, R., Corraze, G., Panserat, S., Oliva-Teles, A., 2016. Effects of fish oil replacement by vegetable oil blend on digestive enzymes and tissue histomorphology of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry* 42(1), 203-217.

Cheng, Y., Wu, S. 2019. Effect of dietary astaxanthin on the growth performance and nonspecific immunity of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Aquaculture* 512734341.

Chien, Y. H., Pan, C. H., Hunter, B., 2003. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. *Aquaculture* 216, 177-191.

Caruso, G., G Denaro, M., Genovese, L. 2009. Digestive enzymes in some teleost species of interest for Mediterranean aquaculture. *The Open Fish Science Journal* 2(1),74-86.

Da Silva, F. O., Tramonte, V. L., Parisenti, J., Lima-Garcia, J. F., Maraschin, M., da Silva, E. L., 2015. *Litopenaeus vannamei* muscle carotenoids versus astaxanthin: a comparison of antioxidant activity and in vitro protective effects against lipid peroxidation. *Food Bioscience* 9, 12-19.

Ding, Z., Kong, Y., Zhang, Y., Li, J., Cao, F., Zhou, J., Ye, J., 2017. Effect of feeding frequency on growth, body composition, antioxidant status and mRNA expression of immunodependent genes before or after ammonia-N stress in juvenile oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*. *Fish & Shellfish Immunology* 68, 428-434.

Ettefaghdoost, M., Alaf Noveirian, H., 2017. The effect of different feeding rates on growth indices, feed conversion ratio and body composition of oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849). *Iranian Scientific Fisheries Journal* 25(5), 97-112. (In Persian)

Ettefaghdoost, M., Alaf Noveirian, H., Falahatkar, B., 2018. Growth performance, feed efficiency and whole-body chemical composition of the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*, fed different dietary protein to lipid ratio. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 17(3), 585-602.

Fu, H., Gong, Y., Wu, Y., Xu, P., Wu, C., 2004. Artificial interspecific hybridization between *Macrobrachium* species. *Aquaculture* 232(1-4), 215-223.

Galasso, C., Corinaldesi, C., Sansone, C., 2017. Carotenoids from marine organisms: biological functions and industrial applications. *Antioxidants*6(4), 96-107.

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.

Göçer, M., Yanar, M., Kumlu, M., Yanar, Y., 2006. The effects of red pepper, marigold flower, and synthetic astaxanthin on pigmentation, growth, and proximate composition of *Penaeus semisulcatus*. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 30(4), 359-365.

Han, T., Li, X., Wang, J., Wang, C., Yang, M., Zheng, P., 2018. Effects of dietary astaxanthin (AX) supplementation on pigmentation, antioxidant capacity and nutritional value of swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture* 490, 169-177.

Huang, Y. H., Zhang, M., Li, Y. M., Wu, D. L., Liu, Z. Q., Jiang, Q. C., Zhao, Y. L., 2019. Effects of salinity acclimation on the growth performance, osmoregulation and energy metabolism of the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense* (De Haan). *Aquaculture Research* 50(2), 685-693.

Jin, N., Wen, H., Li, C. H., Liu, Y. J., Tian, L. X., Chen, X., Huang, Z., Lin, H.Z., 2014. Comparison effect of dietary astaxanthin and β-carotene in the presence and absence of cholesterol supplementation on growth performance, antioxidant capacity and gene expression of *Penaeus monodon* under normoxia and hypoxia condition. *Aquaculture* 422, 8-17.

Kalinowski, C., Robaina, L., Fernandez-Palacios, H., Schuchardt, D., Izquierdo, M., 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture* 244(1-4), 223-231.

Lavajoo, F., Amrollahi Biuki, N., Khanipour, A. A., Mirzajani, A., Gutiérrez Fruitos, J., and Akbarzadeh, A., 2019. Natural diet of *Macrobrachium nipponense* shrimp from three habitats in Anzali Wetland, Iran. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 17(2), 101-111.

McGaw, I. J., Curtis, D. L. 2013. A review of gastric processing in decapod crustaceans. *Journal of Comparative Physiology B* 183(4), 443-465.

Mahfuzur, R., Lutzu, G. A., Alam, A., Sarker, P., Chowdhury, M. K., Parsaeimehr, A., Liang, Y., Daroch, M. 2018. Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *Journal of Applied Phycology* 30(1), 197-213.

Mao, X., Guo, N., Sun, J., Xue, C., 2017. Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production* 143, 814-823.

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.

Nakano, T. and Wiegertjes, G., 2020. Properties of Carotenoids in Fish Fitness: A Review. *Marine Drugs* 18(11), 568-577.

Pan, C. H., Chien, Y.H., Hunter, B., 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 297, 107-118.

Pereira da Costa, D., Campos Miranda-Filho, K., 2020. The use of carotenoid pigments as food additives for aquatic organisms and their functional roles. *Reviews in Aquaculture* 12(3), 1567-1578.

Sahin, K., Yazlak, H., Orhan, C., Tuzcu, M., Akdemir, F., Sahin, N., 2014. The effect of lycopene on antioxidant status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared under high stocking density. *Aquaculture* 418, 132-138.

Shahidi, F., Brown, J. A., 1998. Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *Critical Reveiws in Food Science* 38(1), 1-67.

Štrus, J., Žnidaršič, N., Mrak, P., Bogataj, U., Vogt, G., 2019. Structure, function and development of the digestive system in malacostracan crustaceans and adaptation to different lifestyles. *Cell and Tissue Research* 377(3), 415-443.

Wade, N.M., Gabaudan, J. and Glencross, B.D., 2017. A review of carotenoid utilisation and function in crustacean aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 9(2),141-156.

Wang, W., Ishikawa, M., Koshio, S., Yokoyama, S., Hossain, M. S., Moss, A. S., 2018. Effects of dietary astaxanthin supplementation on juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture* 491, 197-204.

Weilong, W., Ishikawa, M., Koshio, S., Yokoyama, S., Dawood, M. A., Hossain, M. S., Moss, A. S., 2019. Effects of dietary astaxanthin and vitamin E and their interactions on the growth performance, pigmentation, digestive enzyme activity of kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*). *Aquaculture Research* 50(4), 1186-1197.

Wilhelm Filho, D., Giulivi, C., Boveris, A., 1993. Antioxidant defences in marine fish—I. Teleosts. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 106(2), 409-413.

Zhang, J., Liu, Y. J., Tian, L. X., Yang, H. J., Liang, G. Y., Yue, Y. R., Xu, D. H., 2013. Effects of dietary astaxanthin on growth, antioxidant capacity and gene expression in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 19(6), 917-927.

Zhi, W., Cai, C. F., Cao, X. M., Zhu, J. M., He, J., Wu, P., Ye, Y. T., 2018. Supplementation of dietary astaxanthin alleviated oxidative damage induced by chronic high pH stress, and enhanced carapace astaxanthin concentration of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Aquaculture* 483(1), 230-237.