

Different dietary levels of astaxanthin on growth indices, sex hormones and sexual maturity indices in pre-broodstock beluga (*Huso huso*)

Seyed Hassani M.H.*¹, Yousefi Jourdehi A.¹, Hallajian A.¹, Mohseni M.¹, Sohrabi T.¹, Yeganeh H.¹, Ghasemian S.¹, Fadakar Masouleh F.¹

*mirhamedhassani@yahoo.com

1-International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran

Received: October 2025

Accepted: February 2026

Published: July 2026



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introduction

Prolonged sexual maturation is a significant challenge in *Huso huso* aquaculture for both caviar and fry production. The most extended period of sexual maturation occurs during the II-III and III-IV stages (7–8 years), which are associated with substantial stagnation in capital investment. The decrease of the sexual maturation period and quality of gametes is greatly influenced by vitellogenesis quality that vitellogenesis is depended on time secretion of hormone 17 beta-estradiol. Under normal conditions, after temperature and photoperiod changes, hypothalamus secretes hypothalamic releasing hormone (GnRH), which releases gonadotropin hormones GTH₁ and GTH₂. GTH₁ in the ovary triggers follicle cell receptors to produce 17-beta-estradiol, (the main sex steroid). 17-beta-estradiol diffuses across the membrane of liver cells, attaches to estrogen receptors, activates vitellogenin transcription and translation, and allows that fish to enter stage IV sexual development. Astaxanthin, a small molecule containing hydroxyl and unsaturated ketone groups, is a 17β-estradiol secretion stimulator, steroidogenesis accelerator, estrogen and progesterone secretion enhancer that lead to a sexual maturity period reduction in fish. Few studies have been undertaken to determine the effect of astaxanthin on gonadal growth and sexual maturation indicators in sturgeon. This study conducted on growth indices, hormone secretion, and sexual maturity in sturgeon prebroodstocks at sexual maturation stage II fed by dietary astaxanthin.

Methodology

Astaxanthin was derived from Carophyll® pink 10% (DSM-Bright Science, BrighterLiving™, Netherlands; CAS No.: 7542-45-2) provided by Abzico Company, Yasuj, Kohlakoyeh and Boyer-Ahmad Province, Iran. The experimental diets were formulated based on the nutrition requirements of Siberian sturgeon broodstock and available references (protein was 50%, lipid 15%, and energy was 18 mj/ kg dry matter in Excel Solver program. AST₅₀, AST₁₀₀, AST₁₅₀, and AST₂₀₀ diets were created by supplementing 50, 100, 150, and 200 mg/kg astaxanthin, respectively. Twenty-seven pre-broodstock

fish with average weight and length of 16.16 ± 0.16 and 140.65 ± 13.2 cm at sexual maturity II were selected. The fish were fed 0.5% of their body weight for 645 days. the fish Gonadal development was examined with a monitor model (LG, 19M38HB, Korae) by making a longitudinal incision in the abdomen. sexual maturation hormones levels (testosterone, 17 beta estradiol and 17 alpha hydroxyprogesterone) were determined by blood sampling collected from caudal vein. Dry matter was measured by drying the sample at 105°C until constant weight was reached; crude protein was measured using the Kjeldahl method in three stages of digestion, distillation, titration, and multiplying the nitrogen obtained from each gram of dry matter by 6.25; ash was measured by burning the sample in an electric furnace (Muffle Furnaces, RHF 16/3/3216 P1 Model, England, Plymouth) at 550°C . Crude fat were measured by Soxhlet lipid extraction using ether solvent reaching a boiling point of $50\text{-}60^{\circ}\text{C}$ for 4-6 hours in a Soxhlet extractor (Gerhart Soxthoterm SOX Hamburg, Hamburg, German), and total energy were measured using a bomb calorimeter (Calorimeteradiabatic C-400 IKA, Heiterbeini, GMBIL, Brussels, Belgium) (AOAC, 1995). 17 alpha hydroxyprogesterone was determined in ng/gr using the Monobind ELISA kit, 17 beta estradiol and testosterone levels were determined using kits (Immunotech, France) and the II25 detector via radioimmunoassay (RIA) using a GammaCounter (LKB, France) in ng/ml using the modified method of Cattaldi *et al.* (1998).

Results

Fish fed the C_{200} diet exhibited the highest final weight, body weight gain percentage, and specific growth rate, along with the lowest feed conversion ratio ($p < 0.05$). There were no significant variations in estradiol, testosterone, and alpha-hydroxyprogesterone levels in fish during the first biometric period following the introduction of pre-broodstock to the pond (sexual maturation II) ($p > 0.05$). In second biometry, there was no significant difference in estradiol and testosterone hormones secretion after 10 months of feeding. Fish fed the AST_0 had an estradiol level of around 0.3 ± 0.05 ng/ml. However, fish fed the AST_{50} , AST_{100} , and AST_{150} had levels of 0.27 ± 0.01 , 0.25 ± 0.03 , and 0.25 ± 0.01 ng/ml, respectively ($p > 0.05$). Fish fed AST_{200} had higher levels (0.35 ± 0.04 ng/ml). The testosterone level in fish fed AST_0 was 0.27 ± 0.04 ng/ml. Testosterone levels decreased in fish fed AST_{50} , AST_{100} , and AST_{150} (0.17 ± 0.00 , 0.18 ± 0.006 , 0.18 ± 0.01 ng/ml), whereas increased in fish fed AST_{200} compared to AST_0 ($p > 0.05$). There was no significant difference in the amount of 17 alpha-hydroxyprogesterone between treatments, however the highest amount was seen in the blood serum of fish fed a AST_{200} . In third biometry, Broodstock fed by AST_{200} had the highest testosterone levels (0.71 ± 0.19 ng/mg), significantly higher than other treatments ($p < 0.05$). Fish fed with AST_{150} and AST_{200} showed the highest amounts of testosterone (0.78 ± 0.4 and 0.71 ± 0.19 ng/mg, respectively) ($p < 0.05$). also, Broodstock fed AST_{100} and AST_{200} showed highest 17-alpha-ydroxyprogesterone (42 ± 0.08 and 43 ± 0.08 ng/ml, respectively) compared to fish fed AST_0 dietary ($p < 0.05$). But, Estradiol hormone secretion in fish fed with AST_{50} , AST_{100} , and AST_{200} had a significant increase at last sampling stage and reached to 0.76 ± 0.092 ng/ml ($p < 0.05$). The testosterone level in fish fed a C_0 was 1.63 ± 0.24 ng/ml. No significant difference in testosterone secretion was seen in broodstock fed with C_0 compared to AST_{50} , C_{100} , and AST_{150} .

However, broodstock serum testosterone fed with C₂₀₀ increased and reached 7.5±1.1 ng/mL. Fish fed with AST₅₀, AST₁₀₀, and AST₁₅₀ had significantly lower levels of alpha-ydroxyprogesterone compare to AST₀. Fish fed with C₂₀₀ also had lower levels of alpha-hydroxyprogesterone in their serum compared to fish fed AST₀ diet ($p<0.05$). On the other hand, The results obtained from fish laparoscopic observations showed that the broodstock fed a diet containing C₂₀₀ were entering stage IV and immature oocytes and eggs were visible in the ovarian tissue, while the broodstock fed a diet lacking astaxanthin as well as the broodstock of AST₅₀, AST₁₀₀ and AST₁₅₀ treatments were stopped at stage III sexual maturation.

Conclusion and discussion

In agreement with our result, Xie *et al.* (2020) showed that astaxanthin supplementation at levels of 75 and 100 mg/kg improved growth parameters in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Similarly, astaxanthin supplementation in the diets of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Bacchetta *et al.*, 2019), and tiger shrimp (*Penaeus monodon*) (Niu *et al.*, 2015) increased growth and decreased feed conversion ratio. According to Zhang *et al.* (2013b), carotenoid pigments improve nutritional digestion, absorption, and feed utilization by enhancing digestive enzyme activity and increasing feed intake. Carotenoids have sexual maturation-stimulating properties that can induce vitellogenesis the of sex steroids synthesis increasing (17β-estradiol) and quicker oocyte maturation accelerate in rainbow trout (Örn *et al.*, 2003). Fish that were provided the C200 diet showed higher levels of estradiol and 17α-hydroxyprogesterone compared to those fed the AST₀ diet after 16 months of feeding. Laparoscopic observations confirmed that the fish fed AST₂₀₀ had passed the III stage of sexual maturation and vitellogenesis had occurred. Similar results were reported in the bull tongue shoe (*Cynoglossus semilaevis*) (Xu *et al.*, 2017), the large freshwater shrimp (*Macrobrachium rosenbergii*) (Tao *et al.*, 2025). In this study, broodstock fed with AST₂₀₀ showed a rapid decrease in 17α-hydroxyprogesterone levels as they near approach of stage IV. During oocyte maturation, HSDH-20β converts 17α-hydroxyprogesterone in granulosa cells to 17α-20β-hydroxy progesterone, it seems be, 17α-hydroxyprogesterone decreasing in C₂₀₀ treated broodstock may be due to oocyte maturation. At this stage, follicles are poised to produce steroids in order to stimulate ultimate maturation.

Conflict of interest

There is no conflict of interest between authors

Acknowledgment

This article is derived from the project "Investigation of the effect of dietary astaxanthin and HUFA fatty acids supplementation on gonads and reproductive indices in farmed female *Huso huso*" with code 990585-98001-007-12-32-12. The authors express their gratitude to all individuals who provided scientific and practical supports.

مقاله علمی - پژوهشی:

تأثیر سطوح مختلف آستاگزانتین جیره بر شاخص‌های رسیدگی جنسی مولدین فیل ماهی (*Huso huso*)

میرحامد سید حسنی*، ایوب یوسفی جوردھی، علی حلاجیان، محمود محسنی، تورج سهرابی، هوشنگ یگانه، سجاد قاسمیان، فاطمه فداکار ماسوله

*mirhamedhassani@yahoo.com

۱- انستیتو تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ چاپ: تیر ۱۴۰۵

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۴

چکیده

اثر مکمل آستاگزانتین جیره بر شاخص‌های رشد، گناد و شاخص‌های تولیدمثلی در فیل ماهی ماده پرورشی مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۱۵ عدد فیل ماهی ماده در سن ۳۲-۲۸ ماه در مرحله رسیدگی جنسی II، با متوسط وزن $16/16 \pm 0/16$ کیلوگرم و طول $140/65 \pm 13/2$ سانتی‌متر با جیره‌های حاوی ۵۰ درصد پروتئین، ۱۴ درصد چربی و ۱۸ مگاژول بر کیلوگرم انرژی:AST (فاقد آستاگزانتین و ۸/۵ درصد روغن ماهی) AST_{50} ، AST_{100} ، AST_{150} ، AST_{200} (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین) به مدت ۶۱۵ روز تغذیه شدند. در پایان دوره تغذیه فیل ماهیان تغذیه‌شده با جیره AST_{200} دارای بیشترین وزن نهایی ($45/60 \pm 2/10$ کیلوگرم)، درصد افزایش وزن ($183/46 \pm 32/6$ درصد)، رشد روزانه ($45/49 \pm 5/04$ گرم) و ضریب رشد ویژه ($0/16 \pm 0/01$ درصد/روز) بودند ($p < 0/05$). نمونه‌برداری برای وضعیت گناد و تغییرات هورمون‌های جنسی در چهار مرحله انجام شد. در آخرین مرحله نمونه‌برداری میزان ترشح هورمون استرادیول در مولدین تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی آستاگزانتین ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به طور معنی‌داری افزایش یافت و میزان تستوسترون سرم مولدین تغذیه‌شده با جیره دارای ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین در مقایسه با مولدین تیمار شاهد، بیشتر بود، اما میزان آلفا هیدروکسی پروژسترون در مولدین تغذیه‌شده با جیره ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین به طور معنی‌داری کمتر از مولدین تیمار شاهد بود ($p < 0/05$). نتایج به‌دست آمده از مشاهدات لاپاراسکوپی از گناد ماهیان نشان داد که مولدین تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین در مرحله ورود به مرحله IV بوده و اووسیت‌ها و تخم‌های نارس در بافت تخمدان قابل مشاهده بود. نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن مکمل آستاگزانتین به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم موجب افزایش ترشح هورمون‌های رسیدگی جنسی، رشد گناد و افزایش ترشح هورمون‌های جنسی در گونه فیل ماهی می‌شود. در شرایط عادی، تغییر از مرحله رسیدگی جنسی II به IV یا ۶-۵ سال به‌طول می‌انجامد درحالی‌که در این آزمایش این مرحله به ۳۳ ماه کاهش یافت.

لغات کلیدی: فیل ماهی، آستاگزانتین، شاخص‌های رشد، هورمون‌های جنسی، رسیدگی جنسی

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از گونه‌های برجسته ماهیان خاویاری است که در دریای خزر زیست می‌کند و به عنوان منبع اصلی خاویار بلوگا شناخته می‌شود (Kalbasi *et al.*, 2013). این گونه به دلیل تولید خاویار با کیفیت بالا و ارزش اقتصادی فراوان، در صنعت آبی‌پروری ایران جایگاه ویژه‌ای دارد. با این حال، رسیدگی جنسی دیر هنگام این ماهی که ممکن است تا ۱۰ سال به طول انجامد، از چالش‌های مهم در پرورش آن به‌شمار می‌آید (Kazemi *et al.*, 2020). در مرحله اول رسیدگی جنسی (I) که در مراحل اولیه رشد جسمی و در ماهیان جوان فیل ماهی پرورشی در سن کمتر از دو سال دیده می‌شود، اندام جنسی بسیار باریک با رنگ سفید متمایل در دو طرف محوطه شکمی و مجاور کلیه‌ها قرار دارد و در این مرحله تمایز بیضه یا تخمدان با چشم غیرمسلح امکان‌پذیر نخواهد بود. اما پس از سال دوم یا سوم پرورش اندام جنسی در مرحله دوم رسیدگی (II) قرار دارد. ذخیره چربی در اطراف تخمدان یا بیضه در این مرحله حجیم می‌گردد و تشخیص جنسیت با مشاهده اندام تناسلی از طریق بیوپسی، لاپاراسکوپی یا سونوگرافی امکان‌پذیر خواهد بود. با ورود به مرحله سوم (III) در ماهیان ماده، زرده‌سازی در تخمدان شروع می‌شود و اووسیت‌ها سایز گرفته و تخمدان حجیم می‌گردد و تخمک‌های سفیدرنگ در این مرحله در جنس ماده قابل مشاهده بوده و تیره‌شدن تخمک‌ها نشانه‌ای از پایان این مرحله است (Pourdehghani *et al.*, 2011). در شرایط پرورش ماهی در مزرعه مدت زمان لازم برای گذراندن مرحله II به III در فیل ماهی ماده ۳-۴ سال زمان خواهد برد. در مرحله چهارم رسیدگی جنسی (IV) اندام‌های جنسی به حداکثر حجم خود می‌رسند، در جنس ماده تخمک‌ها تیره می‌شوند و هسته از مرکز تخمک به سمت قطب حیوانی حرکت می‌کند. به طور کلی، مرحله رسیدگی جنسی II-III و III-IV (۷-۸ سال) در مزارع پرورش، طولانی‌ترین مرحله رسیدگی جنسی در تاسماهیان بوده که با خواب سرمایه همراه است (Kazemi *et al.*, 2020). کوتاه‌شدن دوره رسیدگی جنسی و افزایش کیفیت گامت‌ها به کیفیت مرحله زرده‌زایی و این روند به ترشح هورمون ۱۷

بتااسترادیول بستگی زیادی دارد (Ng and Idler, 1983; Mogazi Amiri *et al.*, 1996b; Barannikova *et al.*, 2009, Lu, 2004). هیپوتالاموس ماهی در شرایط و محیط‌های طبیعی و بعد از تغییرات دمایی و فتوپریود با تأثیر بر سیستم مرکز عصبی، اقدام به ترشح هورمون آزادکننده هیپوتالاموس یا GnRH می‌کند. GnRH در سنتز و آزادکننده هورمون‌های گنادوتروپین GTH_1 و GTH_2 نقش دارد. GTH_1 با جریان خون، به تخمدان می‌رسد و موجب تحریک گیرنده‌های سلول‌های فولیکول برای سنتز ۱۷-بتا استرادیول (استروئید جنسی اصلی) می‌شود که بعد در سرم خون آزاد می‌گردد و ۱۷ بتا استرادیول در سراسر غشاء سلول‌های کبدی پخش شده و به گیرنده‌های استروژن متصل شده، رونویسی و ترجمه ویتلوژنین را آغاز می‌کند و ورود ماهی به مرحله IV رسیدگی جنسی را تسهیل می‌سازد (Barannikova *et al.*, 2002). اما برخی تحقیقات نشان داده‌اند که بعضی از مکمل‌های غذایی تحریک‌کننده رسیدگی جنسی می‌توانند موجب تحریک ترشح ۱۷ بتا استرادیول و تحریک فرایند زرده‌زایی در ماهیان شوند (Yousefi *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2020; Cai *et al.*, 2023). آستاگزانتین یک مولکول کوچک با گروه‌های هیدروکسیل و کتون غیراشباع است (Naguib, 2000). این ماده تنها رنگدانه افزودنی مجاز به جیره غذایی ماهیان پرورشی بوده (Alishahi *et al.*, 2015) که دارای خواص نظیر پیش‌برنده‌های اختصاصی رتینوئیدهای پرو ویتامین A و تقویت‌کننده فعالیت آن (Torrisen *et al.*, 1990)، تولیدکننده آنتی‌بادی، سلول‌های ایمنی بدن و آنتی‌اکسیدان (Bell *et al.*, 2000) است. خواص آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین ۵۰۰-۱۰۰ برابر ویتامین E و ۱۵ برابر کاروتنوئیدهاست (Kiron, 2012). در واقع، اهمیت عمده آستاگزانتین نقش آن در فرایند تولیدمثل آبزبان است که می‌توان به تأثیر این مکمل بر هورمون‌های جنسی استروئیدی به‌ویژه ۱۷ بتا- استرادیول و ۱۱ کتوتستوسترون مؤثر در فرایند استروئیدوز (Wade *et al.*, 2017) اشاره کرد. تأثیر مفید آستاگزانتین در بلوغ نهایی و کیفیت لقاح و تخم میگوی هندی (*Penaeus*)

۱۶/۱۶ کیلوگرم و طول $13/2 \pm 1/65$ سانتی‌متر در مرحله رسیدگی جنسی II انتخاب شدند. برای لاپاراسکوپی ابتدا ماهیان در یک وان فایبرگلاس ۷۵۰ لیتری که ۵۰۰ لیتر آن آب‌گیری و دارای ۲۰۰ قسمت در میلیون پودر گل میخک به ازاء هر لیتر آب بود، بیهوش شدند. در مرحله بعد ماهیان پس از ایجاد یک برش طولی در ناحیه شکم مورد لاپاراسکوپی قرار گرفتند و رشد گنادی در آنها با استفاده از یک مانیتور مدل (LG, 19M38HB, Korae) 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 شده و ماهیان دارای رسیدگی جنسی II انتخاب شدند و مورد وزن‌کشی قرار گرفتند و طول آنها با استفاده از یک متر نواری (دقت یک سانتی‌متر) اندازه‌گیری شده و داده‌های مربوطه در جداول مخصوص زیست‌سنجی ثبت گردید. پس از اتمام عملیات زیست‌سنجی، ماهیان با استفاده از PIT تگ (تک پلاک گذاری زیرپوستی)، پلاک‌گذاری گردیدند. پس از انجام زیست‌سنجی و پلاک‌گذاری به یک حوضچه مخصوص نگهداری مولدین انتقال یافتند و به منظور پیشگیری از بروز هر گونه عفونت ناشی از جراحی به آنها آنتی‌بیوتیک دامی با نام تجاری اکسی‌وت ساخت ایران تزریق گردید (Hallajian et al., 2011). پس از گذراندن مدت زمان لازم برای جوش خوردن زخم‌ها (چهار هفته) که اکسی‌تتراسایکلین به میزان ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به حوضچه اضافه می‌شد، ماهیان با رعایت نکات بهداشتی به انستیتو تحقیقات ماهیان خاویاری دریای خزر برای اجرای پروژه منتقل گردیدند.

محل انجام آزمایش

آزمایش در پنج حوضچه بتنی مستطیل شکل با حجم کل $9/33$ متر مکعب در هر حوضچه در بخش آبی‌پروری انستیتو تحقیقات تاسماهیان دریای خزر (روستای شاقاجی، شهرستان رشت، استان گیلان) از تاریخ ۸ خرداد ۱۳۹۹ (۲۸ مه ۲۰۲۰) لغایت ۱۵ مهر ۱۴۰۲ (۷ اکتبر ۲۰۲۳) اجرا شد. در هر یک از این حوضچه‌ها، ۳ عدد فیل‌ماهی ماده در مرحله رسیدگی جنسی II با سنین ۳۲-۲۸ ماه رهاسازی

(*indicus*) (Paibulkichakul et al., 2008)، اسبدریایی (*Hippocampus guttulatus*) (Palma et al., 2017)، توتیای دریایی (*Lytechinus variegatus*) (George et al., 2001)، گیش‌ماهی راه راه (*Pseudocaranx dentex*) (Vassalo-Agius et al., 2001) و ماهی کاد اطلس (*Gadus morhua*) (Sawanboonchun et al., 2008) به‌اثبات رسیده است. گزارش‌ها حاکی از آن است که آستاگزانتین می‌تواند باعث تحریک جذب اسپرم، افزایش باروری، میزان لقاح، ارتقاء رشد و بلوغ گناد گردد. اما مطالعات کمی در مورد تاثیر آستاگزانتین بر رشد گناد و شاخص‌های رسیدگی جنسی در ماهیان خاویاری صورت گرفته است. در مطالعه Fadakar و همکاران (۲۰۱۷) پیش مولدین استرلیاد (*Acipenser rutinus*) (با میانگین وزنی $14/5 \pm 6/0$ گرم) به مدت ۶ ماه با جیره حاوی سطوح مختلف آستاگزانتین (۰، ۱۵، ۴۵ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) تغذیه شدند و مشاهده گردید که درصد لقاح در ماهیان تغذیه‌شده با جیره ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین به طور معنی‌داری از سایر تیمارها و تیمار فاقد آستاگزانتین، بیشتر بود. همچنین آستاگزانتین موجب افزایش بهبود سیستم ایمنی در پیش مولدین این گونه شده بود.

از این‌رو، در مطالعه حاضر، اقدام به ساخت جیره پایه (AST) متناسب با نیازهای پروتئینی پیش مولدین ماهیان خاویاری گردید و مکمل آستاگزانتین در سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (AST_{100} ، AST_{50} ، AST_{150} و AST_{200}) به آن اضافه شد و پیش‌مولدین فیل‌ماهی در مرحله رسیدگی جنسی II مورد تغذیه قرار گرفتند و اثرات آن بر شاخص‌های رشد، هورمون‌های جنسی و شاخص‌های تولید مثلی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

انتخاب ماهیان

ماهیان از پیش‌مولدین سایت تحقیقات کاربردی ماهیان خاویاری چابکسر انتخاب شدند. تعداد ۸۵ عدد فیل‌ماهی با وزن ۲۵-۹ کیلوگرم مورد لاپاراسکوپی قرار گرفتند و از میان آنها ۳۵ عدد پیش مولد فیل‌ماهی با متوسط وزن $0/16 \pm$

مورد نیاز و کربوهیدرات قابل هضم برای استفاده بهینه از پروتئین موجود در آرد ماهی به میزان ۱۲ و ۱۱ درصد در نظر گرفته شد (Mohseni *et al.*, 2005). برای تامین چربی و اسیدهای چرب لازم و کاهش رسوب چربی در محوطه تخمدانی و امعاء و احشاء ماهی، از ۸/۵ درصد روغن ماهی در جیره استفاده شد (Luo *et al.*, 2019). نمونه جیره غذایی آماده شده به آزمایشگاه ارسال شد و ترکیب بیوشیمیایی و پروفایل اسیدآمینه آن تعیین گردید (جداول ۱ و ۲). به جیره پایه مکمل آستاگزانتین در سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم (AST₅₀، AST₁₀₀، AST₁₅₀ و AST₂₀₀) اضافه شد (Tizkar *et al.*, 2016). برای جلوگیری از افت اسیدهای آمینه، به تمام جیره‌های غذایی ۱ درصد متیونین و لایزین (Ng *et al.*, 1995) و برای استفاده موثر از منابع پروتئین و چربی جیره غذایی، ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آل کارنتین اضافه شد. برای ساخت غذا ابتدا اجزاء ریز غذا (ویتامین‌ها، پرمیکس‌ها، دی کلسیم فسفات و ...) با استفاده از همزن دوتیغه^۱ به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط شدند. سپس کلیه ترکیبات درشت (پودر ماهی، کنجاله سویا، آرد گندم، و ...) با استفاده از دستگاه آسیاب کاملاً پودر شدند و به مدت ۲۰ دقیقه، اجزاء درشت و ریز غذا با استفاده از دستگاه همزن (Pooya Notash, Mashhad, Iran) به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط گردیدند. در مرحله بعد، آستاگزانتین با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن و در آب مقطر در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد محلول و سپس تا حد ممکن به طور یکنواخت در جیره و اجزاء خشک جیره پخش شد. سپس مجدداً کل غذا به مدت ۲۰ دقیقه با دست هم‌زده شد. در مرحله بعد لسیتین سویا با روغن ماهی و روغن گیاهی و جانوری مخلوط شده و به جیره اضافه شد (Mohseni *et al.*, 2005)

زیست‌سنجی و لاپاراسکوپی ماهیان

برای لاپاراسکوپی از دستگاه لاپاراسکوپی Digital VIDEO CAMERA, STEMA مدل M-CAM1700 تلسکوپ ۳۰ درجه، ۴ میلی‌متری، به طول ۱۷/۵ سانتی‌متر،

شدند. هر ماهی به عنوان یک تکرار از تیمار سه‌تایی در نظر گرفته شد. آب حوضچه‌ها از دو منبع مختلف تامین شد (آب رودخانه سفیدرود و آب چاه نیمه‌عمیق با دبی ۴/۷۵ لیتر در دقیقه). این ترکیب تامین آب به منظور حفظ شرایط مطلوب برای رشد ماهیان و کنترل کیفیت آب در نظر گرفته شد. هر حوضچه مجهز به سیستم انتقال اکسیژن برای تامین سطح مناسب اکسیژن محلول در آب بود. همچنین یک فیلتر مکانیکی در هر حوضچه نصب شد تا آب از ذرات معلق تصفیه شده و کیفیت آب حفظ شود. شاخص‌های کیفی آب (دما، اکسیژن محلول، pH و سطح آمونیاک)، روزانه پایش می‌شدند تا شرایط محیطی ثابت و بهینه برای رشد و تکثیر ماهیان فراهم گردد.

در طول دوره پرورش، ماهیان به میزان ۰/۵ درصد وزن بدن بر اساس در فصول بهار، تابستان و پاییز در دو وعده غذایی در ساعات ۸ صبح و ۱۶ بعد از ظهر تغذیه شدند و برای القاء بلوغ جنسی، دوره‌های زمستان‌گذرانی برای ماهیان اعمال گردید.

تهیه جیره غذایی

آستاگزانتین (Carophyll® pink 10%, DSM-Bright Science, BrighterLiving™, Netherlands) با شماره استاندارد (CAS No.: 7542-45-2) از شرکت آزیکو، یاسوج، (استان کهگیلویه و بویراحمد) تهیه شد. اجزاء اولیه غذایی شامل آرد ماهی کیلکا، آرد سویا، گلوتن گندم، آرد گندم، روغن ماهی، روغن کانولا، لسیتین سویا، ویتامین پرمیکس، پرمیکس معدنی، ویتامین E، ویتامین C، مونوکلسیم فسفات، آل کارنتین، لایزین، بتافین و آستاگزانتین، بود. جیره غذایی حاوی پروتئین ۵۰ درصد، چربی ۱۵ درصد و انرژی ۱۸ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک جیره غذایی در نظر گرفته شد (Leng *et al.*, 2019; Luo *et al.*, 2019) و در محیط (Microsoft Excel Solver (Excell, 2013, Michigan, USA فرموله شد. عمده منبع تامین‌کننده پروتئین جیره، آرد ماهی کیلکا بود که ۴۹/۵ درصد جیره را تشکیل می‌داد. کنجاله سویا و آرد گندم به منظور تامین بخشی از پروتئین

¹ Twin shell

کناری محوطه شکمی همزمان با تزریق سرم فیزیولوژی برای ایجاد میدان دید، هدایت گردید و وضعیت ظاهری گناد با استفاده از یک مانیتور بیست اینچ (LG, 19M38HB, Korea) با ۱۰۰ برابر بزرگنمایی، مورد بررسی قرار گرفت. در خاتمه لاپاراسکوپ برای جلوگیری از عفونت در ماهیان جراحی شده، ۲ میلی لیتر محلول تتراسایکلین ۵ درصد (Medicine Rrrfan, Iran, Tehran) در عضله پشتی تزریق گردید (Hallajian *et al.*, 2011).

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 ۱۴۰۲/۱۰/۵ استفاده شد. آب مخازن به نصف کاهش یافت. ماهیان به یک وان فایبرگلاس ۷۵۰ لیتری که ۵۰۰ لیتر آن آبگیری شده بود، منتقل شده و به ازاء هر لیتر، ۲۰۰ قسمت در میلیون گل میخک اضافه شد. پس از بیهوشی کامل، ماهیان به میز جراحی منتقل شده و با تسمه‌های ویژه بسته شدند. در ادامه، پس از ضدعفونی ناحیه بین پلاک استخوانی دوم و سوم به وسیله بتادین، برشی در این ناحیه به قطر ۰/۵ سانتی‌متر ایجاد گردید. نوک تلسکوپ به سمت داخلی و

جدول ۱: فرمولاسیون و ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های ساخته شده (n=3، میانگین± انحراف معیار) (درصد ماده خشک)

Table 1: Formulation and biochemical composition of prepared diet (3n= mean ± standard deviation) (percentage of dry matter)

	Control (0 mg/kg ast)	Ast50 (50 mg/kg ast)	Ast100 (100 mg/kg ast)	Ast150 (150 mg/kg ast)	Ast200 (200 mg/kg ast)
Fish Meal Anchovy ¹	50	50	50	50	50
Soy bean meal ²	11	11	11	11	11
Wheat gluten ²	9	9	9	9	9
Wheat meal ³	10	9.995	9.99	9.985	9.98
Fish oil ¹	11	11	11	11	11
Canola oil ⁴	0	0	0	0	0
Soy lecithin ⁵	2	2	2	2	2
Vitamin premix ⁶	1	1	1	1	1
mineral premix ⁶	1	1	1	1	1
Vitamin E ⁶	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamin C ⁶	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Mono Calcium Phosphate ⁷	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
L-Carnitine ⁷	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Methionine ⁷	0	0	0	0	0
Lysine ⁷	0	0	0	0	0
Betaine ⁷	1	1	1	1	1
Binder ⁷	2	2	2	2	2
Astaxantine ⁷	0	0.005	0.01	0.015	0.02
Total	100	100	100	100	100
Biochemical composition (%)					
Dry Matter	81.72±1.5	81.56±0.95	81.72±0.75	81.73±0.65	81.85±0.55
Protien	48.5±0.89	48.35±0.95	48.56±0.91	48.21±0.81	48.25±0.75
Lipid	16.93±0.65	16.85±0.55	16.92±0.35	16.94±0.45	16.85±0.36
fiber	0.89±0.065	0.89±0.038	0.88±0.054	0.93±0.034	0.89±0.035
Nitrogen free extract	10.05±0.75	10.06±0.65	10.05±0.45	10.08±0.46	10.06±0.38
Ash	5.67±0.75	5.66±0.35	5.65±0.38	5.71±0.28	5.67±0.30
Gross energy (MJ/kg)	18.55±0.35	18.57±0.65	18.55±0.28	18.57±0.35	18.55±0.21
Threonine (% / dry matter)	1.78±0.21	1.79±0.25	1.75±0.15	1.77±0.12	1.79±0.11
Valine (% / dry matter)	2.77±0.12	2.78±0.11	2.79±0.13	2.76±0.18	2.75±0.12
Methionine (% / dry matter)	1.3±0.14	1.31±0.18	1.29±0.17	1.30±0.15	1.28±0.11
Isoleucine (% / dry matter)	2.48±0.12	2.51±0.15	2.49±0.11	2.50±0.12	2.51±0.18
Leucine (% / dry matter)	2.96±0.21	2.95±0.23	2.94±0.18	2.97±0.21	2.95±0.18

	Control (0 mg/kg ast)	Ast50 (50 mg/kg ast)	Ast100 (100 mg/kg ast)	Ast150 (150 mg/kg ast)	Ast200 (200 mg/kg ast)
Phenylalanine (% / dry matter)	1.86±0.15	1.85±0.17	1.84±0.16	1.86±0.23	1.79±0.28
Lysine (% / dry matter)	3.11±0.16	3.12±0.15	3.11±0.15	3.15±0.18	3.17±0.16
Histidine (% / dry matter)	0.76±0.07	0.74±0.09	0.74±0.08	0.73±0.09	0.75±0.05
Arginine (% / dry matter)	3.08±0.16	3.02±0.15	3.05±0.16	3.05±0.2	3.06±0.17
Tryptophan ((% / dry matter)	0.59±0.07	0.57±0.06	0.58±0.06	0.57±0.07	0.58±0.06

۱- شرکت تولید آرد ماهی خزر، کياشهر (استان گيلان).

۲- شرکت آرد زرين نشاسته، اصفهان (استان اصفهان)

۳- شرکت ايران آرد (شهر صنعتی رشت، استان گيلان، ايران).

۴- شرکت خوراک دام و طیور مازندران، گرگان

۵- ترکیب پرمیکس ویتامینه: دی - ال - آلفا توکوفرول استات: ۶۰ I.U، دی - ال - کوله کلسیفرول: ۳۰۰۰ I.U، تیامین: ۱۵ میلی-گرم در کیلوگرم، ریوفلاوین: ۳۰ میلی-گرم در کیلوگرم، پیرویدوکسین: ۱۵ میلی-گرم در کیلوگرم، ویتامین B12 ۰/۰۵ میلی-گرم در کیلوگرم، نیکوتینیک اسید: ۱۷۵ میلی-گرم در کیلوگرم، اسید فولیک: ۵ میلی-گرم در کیلوگرم، اسید اسکوربیک: ۵۰۰ میلی-گرم در کیلوگرم، اینوسیتول: ۱۰۰۰ میلی-گرم در کیلوگرم، بیوتین: ۲/۵ میلی-گرم در کیلوگرم، کلسیم پنتوتنات: 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 منیزیوم: ۱/۲۴ گرم در کیلوگرم، سترات فریک: ۰/۲ گرم در کیلوگرم، دیدید 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.

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

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

1- Khazar Fish Meal Manufacturing Company, Kiashahr (Gilan Province).

2- Zarrin -Neshasteh Meal Company, Isfahan (Isfahan Province).

3- Iran Ard Meal Company (Rasht Industrial City, Gilan Province, Iran).

4- Mazandaran Livestock & Poultry Feed Company, Gorgan.

5- Vitamin Premix Composition: DL- α -Tocopherol Acetate: 60 I.U., DL-Cholecalciferol: 3000 I.U., Thiamine: 15 mg/kg, Riboflavin: 30 mg/kg, Pyridoxine: 15 mg/kg, Vitamin B12: 0.05 mg/kg, Nicotinic Acid: 175 mg/kg, Folic Acid: 5 mg/kg, Ascorbic Acid: 500 mg/kg, Inositol: 1000 mg/kg, Biotin: 2.5 mg/kg, Calcium Pantothenate: 50 mg/kg, Choline Chloride: 2000 mg/kg (Sians Company, Tehran). Supplied in 5 kg packages. Mineral Premix Composition: (Calcium Carbonate: 40% or equivalent to 2.15 g/kg, Magnesium Oxide: 1.24 g/kg, Ferric Citrate: 0.2 g/kg, Potassium Iodide: 0.4 mg/kg, Zinc Sulfate: 0.4 mg/kg, Copper Sulfate: 0.3 g/kg, Manganese Sulfate: 0.3 g/kg, Dibasic Calcium Phosphate: 5 g/kg, Cobalt Sulfate: 2 mg/kg, Sodium Selenite: 3 mg/kg, Potassium Chloride: 0.9 g/kg, Sodium Chloride: 0.4 g/kg (Sians Company, Qazvin). Supplied in 5 kg packages.

6- Livestock Feed Production of Gilan Union, Saravan (Gilan Province).

7- CAS No.: 7542-45-2, prepared/supplied by Abziko Company, Yasuj (Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province).

هورمون‌های جنسی

برای تعیین میزان استروئیدهای جنسی، عملیات خون‌گیری از سیاهرگ دمی واقع در پشت باله مخرجی ماهیان صورت گرفت. بدین منظور، با استفاده از سرنگ‌های ۵ سی‌سی هپارینه، خون از محل مورد نظر نمونه‌برداری شد و به آزمایشگاه فیزیولوژی و بیوشیمی موسسه انتقال یافت. پس از انتقال نمونه‌های خون به آزمایشگاه مربوطه، جداسازی پلازما از سلول‌های خونی با استفاده از سانتریفوژ

شرکت Heraeus sepatech، مدل Labofuge200،

کشور آلمان)، به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور انجام شد و پلاسمای حاصل به ویال‌های شماره‌گذاری شده با مشخصات کامل انتقال یافت و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و به آزمایشگاه برای تعیین میزان ۱۷ بتا استرادیول، ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون و تستسترون انتقال یافت (Yousefi et al., 2014)

جدول ۲: شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذای پیش مولدین فیلماهی (*Huso huso*) تغذیه شده باجیره های مختلف حاوی سطوح مختلف استازانتین پس از ۶۱۵ روز (n=3، میانگین ± انحراف معیار)

Table 2: Growth indices and feed conversion ratios of pre- *Huso huso* prebroodstocks fed different diets containing different levels of astaxanthin over 645 days (n=3, mean ± standard deviation)

Index / Diet	Control (0 mg/kg ast)	Ast50 (50 mg/kg ast)	Ast100 (100 mg/kg ast)	Ast150 (150 mg/kg ast)	Ast200 (200 mg/kg ast)
Initial weight (kg)	16.33±1.52	16.16±3.01	16.33±2.29	16.20±1.70	16.16±1.04
Final weight (kg)	31.03±7.45 ^b	34.96±4.42 ^{ab}	39.43±3.05 ^{ab}	43.74±3.50 ^a	45.60±2.10 ^a
Initial length (m)	1.36±0.15	1.33±0.41	1.55±0.20	1.55±0.25	1.30±0.13
Final length (m)	1.61±0.57	1.62±0.66	1.64±0.14	1.77±0.11	1.76±0.14
Condition factor	0.72±0.11	0.81±0.19	0.90±0.19	0.79±0.11	0.84±0.15
BWI (percentage during the period)	89.40±3.6 ^b	111.8.00±1.42 ^{ab}	147.88±38.72 ^{abc}	171.50±22.30 ^{ab}	183.46±32.6 ^a
SGR (percentage per day)	0.09±0.03 ^b	0.12±0.01 ^{ab}	0.13±0.024 ^{ab}	0.15±0.018 ^{ab}	0.16±0.01 ^a
Daily growth (gr / day)	22.72±10.16 ^c	29.05±2.42 ^{bc}	35.85±3.74 ^{abc}	42.50±5.83 ^{ab}	45.49±5.04 ^a
FCR	4.89±1.91	3.87±0.15	3.01±0.66	2.69±0.58	2.69±0.33
PER	0.43±0.14	0.51±0.02	0.68±0.15	0.76±0.14	0.74±0.10

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار است. (p<0.05)

Different English letters in each row indicate a statistically significant difference (p<0.05)."

Calorimeteradiabatic C-400 IKA, Heiterbeini,)

ماده خشک جیره غذایی از طریق خشک کردن نمونه در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت، پروتئین خام جیره غذایی با استفاده از روش کلدال 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 ۵۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴-۶ ساعت در استخراج کننده سوکسله (Gerhart Soxthoterm SOX Hamburg, Hamburg, German) و انرژی کل با استفاده از بمب کالری متر

روش‌های آزمایشگاهی

افزایش وزن (WGg) = وزن نهایی (g) - وزن اولیه (g).
 درصد افزایش وزن بدن (BWI) = ((افزایش وزن (g) / وزن ابتدایی (g)) × ۱۰۰)
 ضریب رشد ویژه (SGR) (% در روز) = [(لگاریتم وزن نهایی - لگاریتم وزن اولیه) / تعداد روز (زمان)] × ۱۰۰
 نرخ تبدیل غذایی (FCR) = غذای خشک مصرف شده (g) / افزایش وزن (g).
 نسبت بازده پروتئین (PER) = وزن تر اضافه شده (افزایش بیوماس) (g) به گرم / مقدار پروتئین مصرفی (g).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های کسب‌شده در نرم‌افزار Excel ثبت شدند و مورد پردازش قرار گرفتند. نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون Kolmogorov-Smirnov و معنی‌دار بودن داده‌ها از طریق تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه مورد سنجش قرار گرفت و در صورت مشاهده اختلاف، تست Tukey برای مقایسه میانگین‌ها به عنوان Post-hoc اعمال شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار (SPSS, IBM Corp Version 26.0. Chicago, USA) انجام شد. سطح معنی‌دار بودن برای همه موارد، $0/05$ در نظر گرفته شد.

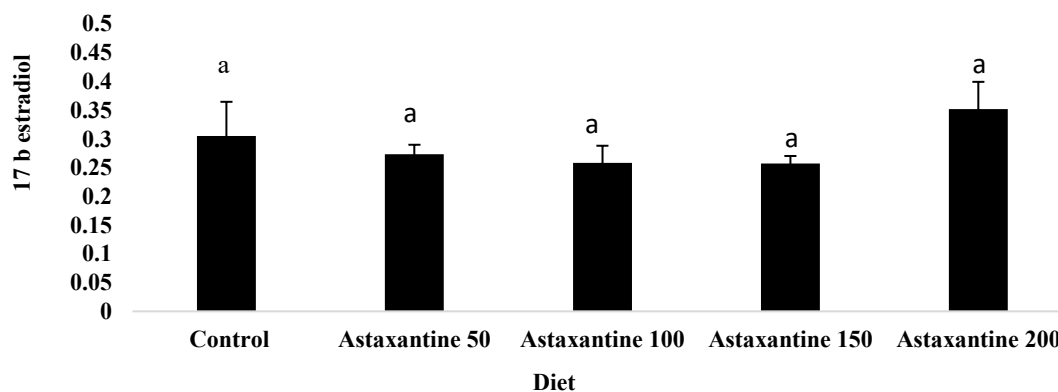
نتایج

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذای فیلم‌های در انتهای دوره پرورش در جدول ۲ ارائه شده است. در پایان دوره آزمایش، مولدین فیلم‌های تغذیه‌شده با جیره‌های AST_{150} و AST_{200} دارای بیشترین میانگین وزنی ($43/74 \pm 3/50$ و $10/2 \pm 45/60$ کیلوگرم) بودند که به طور معنی‌داری بر مولدین تیمار شاهد (تیمار فاقد آستاگزانتین)، برتری معنی‌دار آماری داشتند ($p < 0/05$). بیشترین درصد افزایش وزن بدن متعلق به مولدینی بود که با جیره AST_{200} تغذیه شده بودند ($183/46 \pm 32/96$ درصد) ($p < 0/05$). بیشترین مقدار نرخ رشد ویژه متعلق به مولدین تغذیه‌شده با جیره حاوی 200 میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین (AST_{200}) ($0/16 \pm 0/01$ درصد در روز) بود که به طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد (جیره فاقد آستاگزانتین) بود ($p < 0/05$). همچنین رشد روزانه در ماهیان تغذیه‌شده با جیره مذکور ($45/49 \pm 5/04$ گرم/روز) به طور معنی‌داری بیشتر از ماهیان تیمار شاهد ($22/72 \pm 10/16$ گرم/روز) و ماهیان تیمار AST_{50} ($29/05 \pm 2/42$ گرم/روز) ($p < 0/05$) و فاقد اختلاف معنی‌دار آماری با سایر تیمارهای آزمایشی بود ($p < 0/05$). جیره AST_{200} کمترین مقدار ضریب تبدیل غذا را در مولدین ایجاد کرد ($2/30 \pm 0/95$) ($p < 0/05$). اختلاف

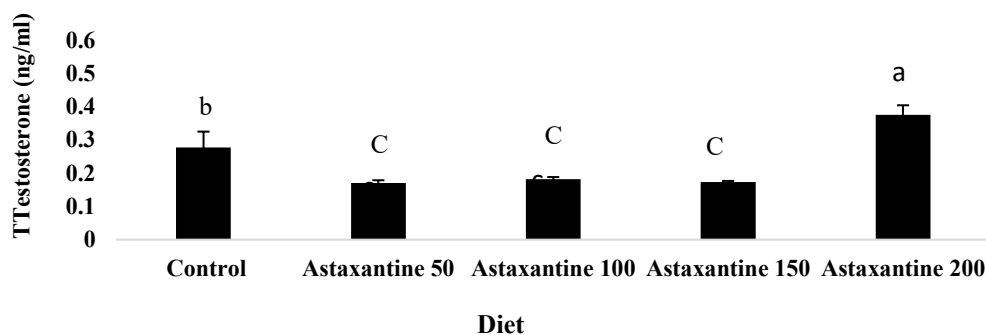
معنی‌داری در نسبت بازده پروتئین در تیمارهای مختلف مشاهده نشد، اما مولدین تغذیه‌شده با جیره AST_{200} دارای بیشترین نسبت بازده پروتئین ($0/74 \pm 0/1$) و مولدین تیمار شاهد دارای کمترین مقدار نسبت بازده پروتئین بودند ($0/44 \pm 0/14$) ($p < 0/05$).

تغییرات هورمون‌های رسیدگی جنسی در طول دوره آزمایش

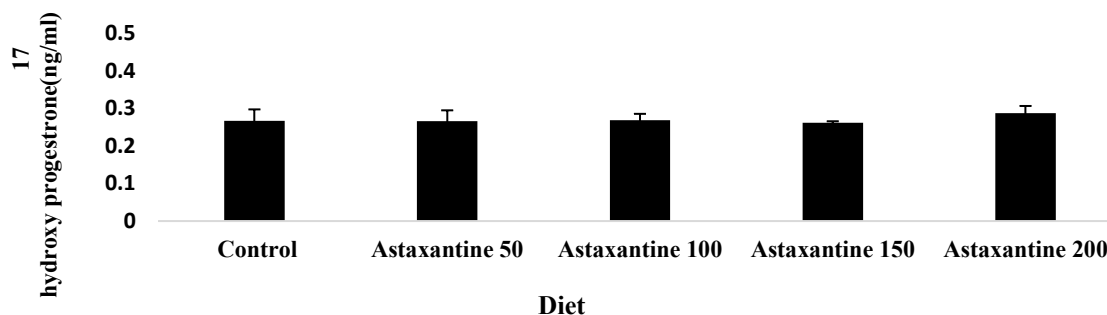
در اولین دوره زیست‌سنجی ($1399/12/25$) که مصادف با معرفی ماهیان مولد در رسیدگی جنسی II به حوضچه‌های پرورش بود، اختلاف معنی‌داری در میزان استرادیول، تستسترون و آلفا هیدروکسی پروژسترون مشاهده نشد. میانگین این هورمون‌ها در ماهیان معرفی شده به حوضچه‌های بتنی به ترتیب برابر با $0/264 \pm 0/016$ ، $0/158 \pm 0/026$ و $0/30 \pm 0/011$ نانوگرم در میلی‌لیتر بود ($p < 0/05$). بعد از هشت ماه تغذیه و ۴ ماه قطع غذا ($1401/2/25$) اختلاف معنی‌داری در میزان ترشح هورمون‌های استرادیول و تستسترون مشاهده نشد. میزان استرادیول در ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد حدود $0/3 \pm 0/05$ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. این مقدار در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی AST_{50} ، AST_{100} و AST_{150} کاهش یافته ($0/27 \pm 0/01$ ، $0/25 \pm 0/03$ و $0/25 \pm 0/01$ نانوگرم در میلی‌لیتر) و در فیل ماهیان تغذیه‌شده با جیره AST_{200} افزایش یافت ($0/35 \pm 0/04$ نانوگرم در میلی‌لیتر). میزان تستسترون در ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد برابر با $0/27 \pm 0/04$ نانوگرم در میلی‌لیتر بود (شکل ۱). در روندی مشابه با هورمون استرادیول، میزان تستسترون در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های AST_{50} ، AST_{100} و AST_{150} کاهش یافت ($0/17 \pm 0/00$ ، $0/18 \pm 0/006$ ، $0/18 \pm 0/01$ نانوگرم در میلی‌لیتر) و در ماهیان تغذیه‌شده با جیره AST_{200} روندی افزایشی نشان داد (شکل ۲). اختلاف معنی‌داری در میزان 17 آلفا هیدروکسی پروژسترون در تیمارهای مختلف مشاهده نشد، اما بیشترین مقدار آن در سرم خون ماهیان تغذیه‌شده با جیره C_{200} مشاهده شد (شکل ۳) ($p < 0/05$).



شکل ۱: میزان ترشح هورمون ۱۷ بتا استرادیول در دومین نمونه برداری (شکل های آنتن مانند نشان دهنده انحراف معیار هستند)
 Figure 1: 17 beta estradiol hormone secretion in the second sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)



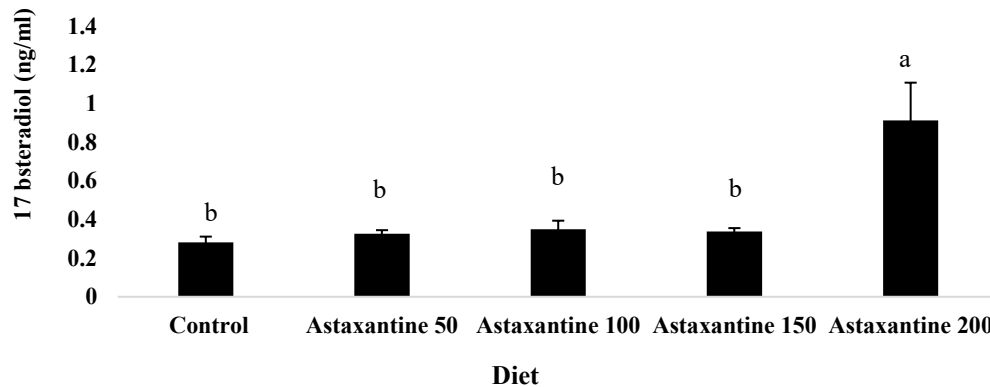
شکل ۲: میزان ترشح هورمون تستسترون در دومین نمونه برداری (شکل های آنتن مانند نشان دهنده انحراف معیار هستند)
 Figure 2: Testosterone hormone secretion in the second sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)



شکل ۳: میزان ترشح هورمون ۱۷ - آلفا هیدروکسی پروژسترون در دومین نمونه برداری (شکل های آنتن مانند نشان دهنده انحراف معیار هستند)
 Figure 3: 17 - Alpha-hydroxyprogesterone hormone secretion in the second sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)

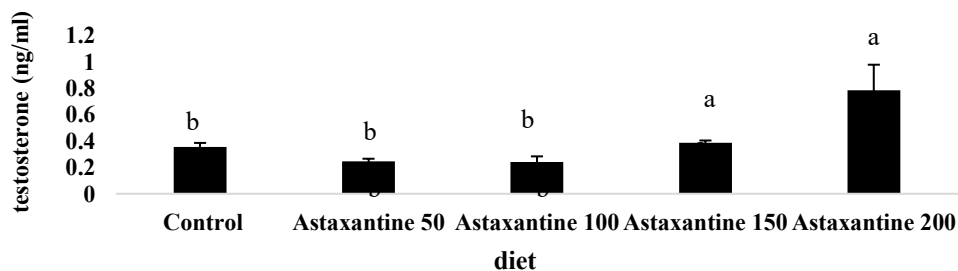
تغذیه شده با جیره‌های AST_{150} و AST_{200} افزایش یافت ($0/78 \pm 0/4$ و $0/71 \pm 0/19$ نانوگرم در میلی‌گرم). ($p < 0/05$) میزان تغییرات هورمون $17\text{-}\alpha$ هیدروکسی پروژسترون قابل توجه بود. میزان هورمون $17\text{-}\alpha$ هیدروکسی پروژسترون در ماهیان تغذیه شده با جیره AST_0 حدود $0/12 \pm 0/01$ نانوگرم در میلی‌لیتر بود در حالی که در مولدین تغذیه شده با جیره‌های حاوی AST_{100} و AST_{200} به ترتیب به $0/42 \pm 0/08$ و $0/43 \pm 0/08$ نانوگرم در میلی‌لیتر رسید که دارای اختلاف معنی‌دار آماری با میزان ترشح این هورمون در ماهیان تغذیه شده با جیره AST_0 بود ($p < 0/05$) (شکل‌های ۴ الی ۶).

از تاریخ $1401/2/25$ لغایت $1401/8/10$ ماهیان به مدت ۶ ماه به میزان $0/5$ درصد وزن بدن تغذیه شدند. میزان استرادیول در ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد حدود $0/28 \pm 0/03$ نانوگرم در میلی‌لیتر بود و در میان ماهیان تغذیه شده از جیره‌های مختلف غذایی دارای نوسانی حدود $0/28 - 0/71$ نانوگرم در میلی‌گرم بود. بیشترین مقدار آن در مولدین تغذیه شده با جیره AST_{200} مشاهده شد ($0/71 \pm 0/19$ نانوگرم در میلی‌گرم) که به طور معنی‌داری بر سایر تیمارها برتری معنی‌دار داشت ($p < 0/05$). میزان تستسترون در ماهیان تغذیه شده با جیره AST_0 برابر با $0/35 \pm 0/05$ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. در پیش مولدین



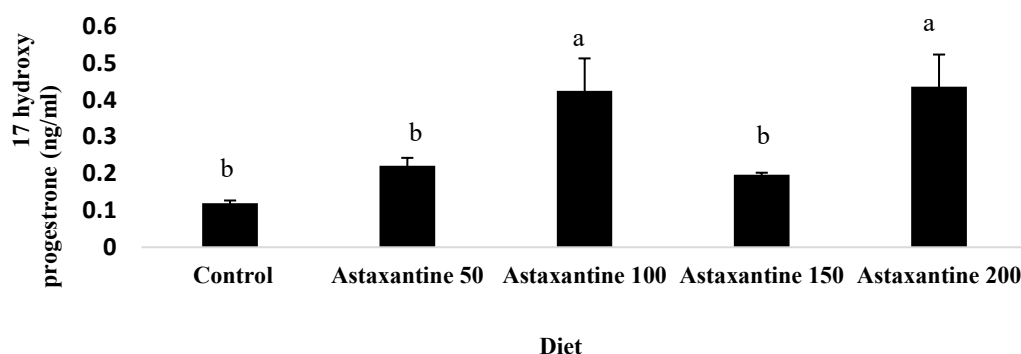
شکل ۴: میزان ترشح هورمون $17\text{-}\beta$ استرادیول در سومین نمونه برداری (شکل‌های آنتن مانند نشان دهنده انحراف معیار هستند)

Figure 4: Level of 17 beta estradiol hormone secretion in the third sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)



شکل ۵: میزان ترشح هورمون تستسترون در سومین نمونه برداری (شکل‌های آنتن مانند نشان دهنده انحراف معیار هستند)

Figure 5: Testosterone hormone secretion in the third sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)



شکل ۶: میزان ترشح هورمون ۱۷ - آلفا هیدروکسی پروژسترون در سومین نمونه برداری (شکل‌های آنتن‌مانند نشان‌دهنده انحراف معیار هستند)

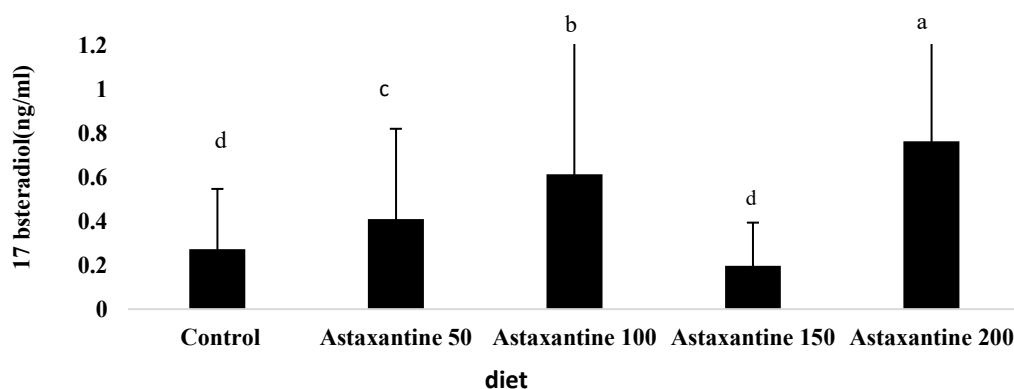
Figure 6: 17 - Alpha-hydroxyprogesterone hormone secretion in the third sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)

تغذیه شده با جیره‌های AST_0 ، AST_{50} و AST_{150} تفاوت چندانی با میزان آلفا هیدروکسی پروژسترون اندازه‌گیری شده در دوره قبل ($1401/8/10$) نداشت (0.14 ± 0.03)، اما میزان آلفا هیدروکسی پروژسترون در مولدین تغذیه‌شده با جیره AST_{200} در مقایسه با شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در دوره قبل به طور معنی‌داری کاهش یافته بودند (0.11 ± 0.01) در مقایسه با 0.43 ± 0.08 نانوگرم در میلی‌لیتر ($p < 0.05$). همچنین میزان آلفا هیدروکسی پروژسترون در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های AST_{50} ، AST_{100} و AST_{150} به طور معنی‌داری کمتر از میزان آلفا هیدروکسی پروژسترون در مولدین تیمار شاهد بود در حالی که سرم ماهیان مولد تغذیه‌شده با جیره AST_{200} هورمون آلفا هیدروکسی، پروژسترون کمتری نسبت به ماهیان تغذیه‌شده یا جیره AST_0 داشت ($p < 0.05$) (شکل‌های ۷ الی ۹).

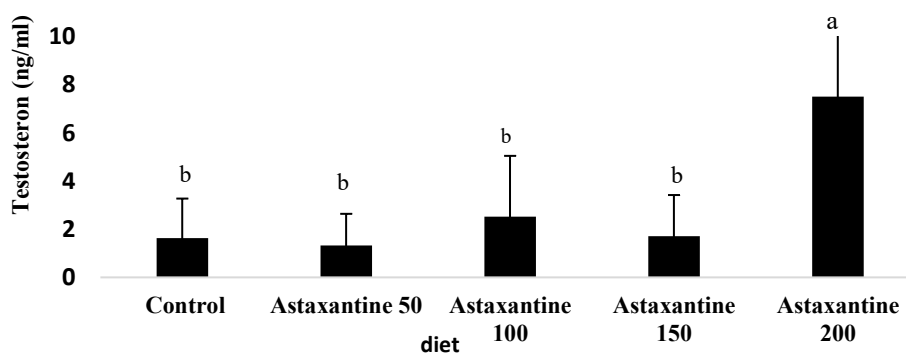
مشاهدات لاپاراسکوپی و رسیدگی جنسی

تغییرات رسیدگی جنسی ماهیان در اولین دوره لاپاراسکوپی ($1399/12/15$) حاکی از آن بود که ماهیان تقریباً در مرحله رسیدگی جنسی یکسانی (مرحله رسیدگی جنسی II) قرار داشتند (شکل ۱۰).

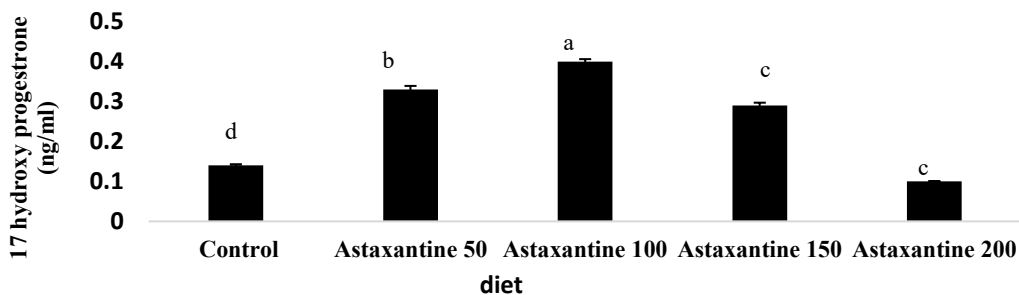
به منظور زمستان‌گذرانی از تاریخ $1401/8/10$ لغایت $1402/1/5$ غذادهی قطع گردید، سپس از تاریخ $1402/1/5$ لغایت $1402/8/5$ مولدین به میزان 0.5 درصد وزن بدن به مدت ۷ ماه تغذیه شدند و به منظور زمستان‌گذرانی به مدت دو ماه تغذیه مولدین قطع گردید. در پایان دوره بررسی هورمون‌های جنسی ($1402/1/5$) ماهیان، تغییرات ذیل مشاهده شد: میزان استرادیول در ماهیان تغذیه‌شده با جیره AST_0 حدود 0.27 ± 0.013 نانوگرم در میلی‌لیتر بود و تغییر چندانی با میزان استرادیول اندازه‌گیری‌شده در دوره قبل ($1401/8/10$) (0.28 ± 0.03 نانوگرم در میلی‌لیتر) نداشت. میزان ترشح هورمون استرادیول در مولدین تغذیه‌شده با جیره‌های AST_{50} ، AST_{100} و AST_{200} به طور معنی‌داری افزایش یافت و میزان ترشح استرادیول در ماهیان تغذیه‌شده با جیره AST_{200} به 0.76 ± 0.092 نانوگرم در میلی‌لیتر رسید ($p < 0.05$). میزان تستوسترون در ماهیان تغذیه‌شده با جیره AST_0 $1/63 \pm 0/24$ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. اختلاف معنی‌داری در میزان ترشح تستوسترون در مولدین تغذیه‌شده با جیره AST_0 و مولدین تغذیه‌شده با جیره‌های AST_{50} ، AST_{100} و AST_{150} مشاهده نشد، اما میزان تستوسترون سرم مولدین تغذیه‌شده با جیره AST_{200} به طور معنی‌داری افزایش یافت و به $7/5 \pm 1/1$ نانوگرم در میلی‌گرم رسید ($p < 0.05$). میزان آلفا هیدروکسی پروژسترون در سرم فیلماهیان مولد



شکل ۷: میزان ترشح هورمون ۱۷ بتا استرادیول در چهارمین نمونه برداری (شکل‌های آنتن‌مانند نشان‌دهنده انحراف معیار هستند)
 Figure 7: Level of 17 beta estradiol hormone secretion in the Fourth sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)



شکل ۸: میزان ترشح هورمون تستسترون در چهارمین نمونه برداری (شکل‌های آنتن‌مانند نشان‌دهنده انحراف معیار هستند)
 Figure 8: Testosterone hormone secretion in the Fourth sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)



شکل ۹: میزان ترشح هورمون ۱۷ - آلفا هیدروکسی پروژسترون در چهارمین نمونه برداری (شکل‌های آنتن‌مانند نشان‌دهنده انحراف معیار هستند)

Figure 9: 17 - Alpha-hydroxyprogesterone hormone secretion in the Fourth sampling (Antenna-like shapes represent the standard deviation)

تغییرات رسیدگی جنسی ماهیان در سومین دوره لاپراسکوپي (۱۴۰۱/۸/۱۰) که از تاریخ ۱۴۰۱/۲/۲۵ لغایت ۱۴۰۱/۸/۱۰ به مدت شش ماه به میزان ۰/۵ درصد وزن بدن تغذیه شده بودند، حاکی از تاثیر جیره‌های غذایی بر رشد و نمو غدد جنسی همراه با تغییرات ذیل بود. تغییرات چندان در پیشرفت و تکامل گندهای جنسی ماهیان تغذیه‌شده با تیمار شاهد و جیره های حاوی آستاژانتین در سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم مشاهده نشد، اما تمامی پیش مولدین تغذیه‌شده با جیره حاوی ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آستاژانتین، از مرحله رسیدگی جنسی III عبور کردند و به‌نظر رسید که زرده‌زایی در آنها انجام شده بود (شکل ۱۲).



شکل ۱۲: تخمدان فیلماهیان ماده مرحله ۳ رسیدگی جنسی در مانیتور لاپراسکوپي

Figure 12: female *Huso huso* Ovary sexual maturity stage III on laparoscopic monitor

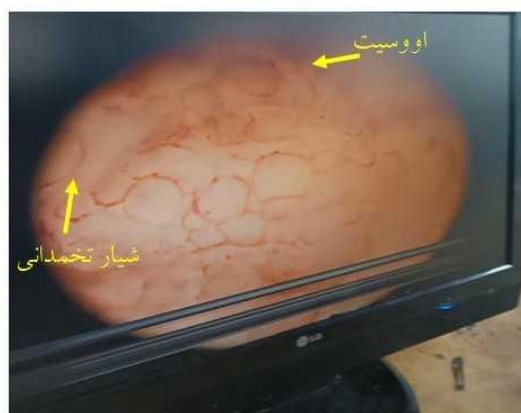
آخرین لاپراسکوپي در تاریخ ۱۴۰۲/۱۰/۵ انجام گرفت. در این دوره مولدین به مدت ۵ ماه جهت زمستان‌گذرانی از تاریخ ۱۴۰۱/۹/۱ لغایت ۱۴۰۲/۱/۱ و از تاریخ ۱۴۰۲/۸/۱ لغایت ۱۴۰۲/۱۰/۸ قطع غذا شدند. نتایج حاصله از مشاهدات لاپراسکوپي و نمونه‌برداری بافتی، حاکی از تاثیر معنی‌دار جیره‌های غذایی بر رشد و نمو غدد جنسی بود که با تغییرات ذیل همراه بود: مولدین تغذیه شده با جیره AST₂₀₀ در مرحله ورود به مرحله IV بوده و اووسیت‌ها و تخم‌های نارس در بافت تخمدان قابل مشاهده بود (شکل ۱۳).



شکل ۱۰: مشاهده تخمدان فیلماهیان ماده مرحله ۲ رسیدگی جنسی در مانیتور لاپراسکوپي

Figure 10: female *Huso huso* Ovary at sexual maturity stage II on laparoscopic monitor

تغییرات رسیدگی جنسی ماهیان در دومین دوره لاپراسکوپي (۱۴۰۱/۲/۲۵) حاکی از آن بود که اگرچه پیش‌مولدین فیلماهی به مدت ده ماه با جیره‌های مورد نظر تغذیه شده بودند، ولی چرخه رسیدگی جنسی در مولدین فیلماهی تغییر زیادی نکرده بود. با این حال، فیلماهیان تغذیه‌شده با جیره AST₂₀₀ به مرحله جنسی دو فراتر رفت و به طور قابل توجهی در حال ورود به مرحله رسیدگی جنسی ۳ بودند. مشاهدات لاپراسکوپي نشان داد که در این ماهیان، اووسیت‌هایی با لکه‌های چربی تشکیل شد که این نشانه‌ای از بلوغ جنسی بیشتر و آمادگی برای تخم‌ریزی بود (شکل ۱۱).



شکل ۱۱: تخمدان فیلماهیان ماده مرحله ۲ رسیدگی جنسی پیشرفته در مانیتور لاپراسکوپي

Figure 11: female *Huso huso* Ovary advanced sexual maturity stage II on laparoscopic monitor

شاخص‌های رشد را در باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) بهبود بخشید. در روندی مشابه، افزودن آستاگزانتین به جیره غذایی ماهی *Pacu* (*Piaractus mesopotamicus* Wade et al., 2019) و میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) (Wade et al., 2017)، موجب افزایش رشد و کاهش ضریب تبدیل غذا شده بود. به نظر می‌رسد که رنگدانه‌های کاروتنوئید از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی موجب افزایش هضم، جذب و استفاده از مواد مغذی و در نتیجه به افزایش مصرف خوراک منجر گردید (Zhang et al., 2013a). به علاوه، در سخت‌پوستان موجب کوتاه‌شدن زمان پوست‌اندازی و تسریع متابولیسم¹ NADPH می‌گردد که این دو عامل موجب کاهش مصرف انرژی و بهبود عملکرد رشد می‌گردد (Mao et al., 2018). در این آزمایش، جیره 200 AST کمترین مقدار ضریب تبدیل غذا را در مولدین ایجاد کرد (2/30 ± 0/95) در حالی که بالاترین ضریب تبدیل غذا متعلق به مولدین تغذیه‌شده با جیره 0 AST بود. برخی مطالعات نشان می‌دهد که آستاگزانتین جیره، از توانایی تقویت فلور روده برای تجزیه اجزاء غیرقابل هضم و تبدیل آن به مواد مغذی برای تغذیه موجود آبی برخوردار است و منجر به افزایش عملکرد رشد جدا از عمل به عنوان منشأ رنگدانه می‌شود (James et al., 2006). ولی باید به این نکته توجه داشت که تاثیر آستاگزانتین یک تاثیر وابسته به گونه است که در مطالعه Fadakar و همکاران (2017) در تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) و Noori و Razi (2017) در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با عدم تاثیر معنی‌دار آستاگزانتین در بهبود افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، عامل شرایط، میزان بقاء و ضریب تبدیل خوراک در گونه‌های مذکور مورد تایید قرار گرفت. در روندی مشابه و مطابق با نتایج به‌دست‌آمده در تاسماهی استرلیاد و قزل‌آلای رنگین‌کمان، رنگدانه‌های کانتاگزانتین و لیکوپن نیز تاثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد، استفاده از خوراک و بقاء سوف زرد (*Perca flavescens*)



شکل ۱۳: تخمدان فیله‌هایان ماده مرحله ۴ رسیدگی جنسی در مانیتور لاپاراسکوپی

Figure 13: female *Huso huso* Ovary sexual maturity stage IV on laparoscopic monitor

بحث

در آزمایش حاضر فیله‌هایان به مدت ۳۳ ماه پرورش، به مدت ۶۱۵ روز تغذیه و در دوره‌های زمستان‌گذرانی قرار گرفتند. زمستان‌گذرانی در ماهیان خاویاری پرورش‌یافته در حوضچه‌های بتنی نه‌تنها به کاهش هزینه‌های تغذیه و مدیریت منابع بلکه با فراهم آوردن شرایط مناسب به رشد و تولیدمثل مولدین ماهیان خاویاری کمک می‌کند (Tuncelli et al., 2025). در پایان دوره آزمایش، مولدین فیله‌های تغذیه‌شده با جیره‌های 150 AST و 200 AST دارای بیشترین میانگین وزنی بودند. بیشترین درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه متعلق به مولدینی بود که با جیره 200 AST تغذیه شده بودند که به طور معنی‌داری بیشتر از درصد افزایش وزن مولدین تغذیه‌شده با 0 AST بود. امروزه آستاگزانتین به دلیل اعمال فیزیولوژیک متعدد در آبزبان مورد توجه قرار گرفته است (Lu et al., 2021) و یکی از آنها تاثیر مثبت این ماده بر افزایش رشد آبزبان پرورشی از طریق تاثیر بر افزایش هضم و جذب اجزاء غذایی و استفاده بهینه از مواد مغذی جیره است (Amar et al., 2000). در مطالعه Xie و همکاران (2020) افزودن آستاگزانتین در سطوح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم،

¹ یک مولکول ضروری که برای بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی سلولی به‌ویژه در فرایندهای احیاء و حفظ تعادل آنتی‌اکسیدانی، نقش مهمی دارد.

به بهبود عملکرد میتوکندری، کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش ترشح استرادیول در فولیکول‌ها می‌گردند (He *et al.*, 2025). در ماهی، آستاگزانتین با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی خود، به کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، کاهش مالون‌دی‌آلدئید (Young *et al.*, 1982) تنظیم مسیرهای سیگنالینگ MAPK و افزایش بیان ژن‌های مرتبط با میوز تخمک‌ها (*map2k1*, *ppp3ca*, *chp2*) و *smc1a1*، کمک می‌کند که موجب کاهش آپوپتوز سلول‌های گرانولوزا و کاهش آترزی فولیکولی، بهبود کیفیت تخمک‌ها و افزایش ترشح استرادیول و در نهایت تکمیل فرایند زرده‌سازی می‌شود (Young *et al.*, 1982; Qiang *et al.*, 2022) که با نتایج به‌دست آمده در زیست‌سنجی سوم (۱۴۰۱/۸/۱۰) و پس از ۶۱۵ روز تغذیه، هماهنگ است که در آن میزان استرادیول و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون در پیش‌مولدین تغذیه‌شده با جیره AST₂₀₀ به طور معنی‌داری بالاتر از پیش‌مولدین تیمار AST₀ بود و مشاهدات لاپراسکوبی بر این نکته اذعان داشت که مولدین تغذیه‌شده با جیره AST₂₀₀ از مرحله رسیدگی جنسی III عبور کردند و زرده‌زایی در آنها انجام شده بود. در تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) جیره غذایی حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین باعث افزایش محتوای هورمون (۱۷ بتا استرادیول)، سطوح رونوشت ژن‌های گیرنده آنها و کاهش آپوپتوزیز گردید و محققین نتیجه گرفتند که آستاگزانتین ممکن است سنتز هورمون‌های استروئیدی جنسی از جمله ۱۷ بتا استرادیول را تسریع و در نهایت موجب تسریع بلوغ غدد جنسی در این گونه گردد (Qiang *et al.*, 2022). نتایج مشابهی از کفشک زبان‌گاوی (*Cynoglossus semilaevis*) (Xu *et al.*, 2017)، میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) (Tao *et al.*, 2025) گزارش شده است.

در مطالعه حاضر، در زیست‌سنجی مورخ ۱۴۰۱/۸/۱۰ یک روند افزایشی در ترشح ۱۷ بتا استرادیول، تستسترون و ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد که این امر سنتز بیشتر پروژسترون، تستسترون و ۱۷ بتا استرادیول را در ابتدای رشد فولیکول تخمدان و تحریک تولید آنها در سلول‌های گرانولوزا و تکا با سطوح

نداشتند که محققین آن را به عدم بیان ژن‌های مرتبط با رشد GH و *igf-1b* در پاسخ به منابع رنگدانه جیره، عدم جذب با توجه به سطوح آن در جیره و گونه ماهی یا کوتاه بودن دوره تغذیه با مکمل غذایی نسبت دادند (Abd El-*Gawad et al.*, 2019). عامل دیگری که در تاثیرگذاری آستاگزانتین بر فیزیولوژی ماهی و تاثیر آن بر فرایند رشد تاثیرگذار است، ضرایب قابلیت هضم (ADC) کاروتنوئیدها (آستاگزانتین، کانتاگزانتین و لوتئین) است که در گونه‌های مختلف متفاوت است (Meiliszka *et al.*, 2017). در برخی مطالعات ضریب قابلیت هضم ظاهری کانتاکسانتین ۶۱/۴۱ درصد در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم الحاق (Choubert and Storebakken., 1996) و به ازاء ۱۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ۶۴-۵۴ درصد (Choubert *et al.*, 1991) در گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان است. در مطالعه حاضر، فیلم‌هایان پیش‌مولد به مدت ۶۱۵ روز از جیره‌های حاوی سطوح آستاگزانتین تغذیه نمودند و آستاگزانتین اثرات مفیدی بر بهبود شاخص‌های رشد در سطوح ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در دوران مولدسازی داشت.

در مطالعه حاضر، نتایج حاصله از سطوح هورمون‌های جنسی فیلم‌هایان حاکی از تاثیر معنی‌دار جیره‌های غذایی بر رشد و نمو غدد جنسی بود. در ماهیان ماده استخوانی و غضروفی چرخه تولیدمثل شامل فرآیندهای زرده‌زایی، بلوغ نهایی تخمک (تخمک‌گذاری) و فعالیت‌های تخم‌ریزی است. برای طی این فرایندها عوامل خارجی (دوره نوری و دما)، هماهنگی هورمونی و تغذیه مناسب موجب تحریک GnRH در مغز ماهی شده، GnRH موجب تحریک ترشح گنادوتروپین‌ها (GTH) در هیپوفیز از طریق گیرنده‌های GnRH شده و از طریق تاثیر بر غدد جنسی و آزاد کردن هورمون‌های استروئیدی از قبیل ۱۷ بتا استرادیول، تستسترون، ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون و پروستاگلاندین‌ها موجب زرده‌سازی، بلوغ تخمک و فعالیت های تخم‌ریزی می‌شوند (Adams *et al.*, 2002). در انسان، آستاگزانتین با فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ AMPK، موجب افزایش بیان پروتئین‌های PGC-1 α ، NRF1 و TFAM می‌شود که به ترتیب در بیوزن میتوکندری و تولید ATP نقش دارند. این تغییرات منجر

تأثیر بهتری در القاء زرده‌سازی و بلوغ نهایی تخمک‌های مولدین داشت که احتمالاً به دلیل افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب اکسیداتیو در تخمدان در طول رشد گناد است (Qiang *et al.*, 2022). مطالعات نشان داده است که تعداد پیوندهای مزدوج در ساختار آستاگزانتین موجب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن شد و به این ماده اجازه داد که رادیکال‌های آزاد اکسیژن را به طور موثر از بافت تخمدان حذف و آسیب‌های وارده را کاهش دهد (Lee and Min, 1990) و در نهایت موجب رشد فولیکول و تخمک‌گذاری گردد (Zhang *et al.*, 2017). در مطالعه حاضر، یک کاهش ناگهانی در میزان ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون در مولدین تغذیه شده با جیره AST200 و آماده ورود به مرحله IV مشاهده شد که آن را می‌توان به تبدیل این هورمون به ۱۷ الفا ۲۰ بتا دی هیدروکسی پروژسترون برای بلوغ نهایی تخمک‌ها نسبت داد. در این حالت فولیکول‌ها آماده تولید استروئیدهای القاء‌کننده بلوغ نهایی هستند (Nagahama., 1994).

در مطالعه حاضر، رشد فولیکولی در پیش‌مولدین فیل‌ماهی که با جیره غذایی AST200 تغذیه شده بودند، بهبود یافت و ماهیان به مرحله رسیدگی جنسی III-IV رسیدند. به نظر می‌رسد که جیره غذایی حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم، باعث تسریع در فرآیند زرده‌سازی، افزایش تکثیر سلولی گرانولوزا و بلوغ فولیکول‌ها شده بود. با این حال، برای درک بهتر تأثیر آستاگزانتین بر رشد فولیکول‌ها و تخمک‌ها، باید آزمایش‌های بیشتری انجام شود که شامل بررسی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سرم خون و تأثیر آن بر رشد فولیکول‌ها و تخمک‌ها در پیش‌مولدین فیل‌ماهی باشد. همچنین نیاز است که مطالعاتی در مورد طول و میزان زیست‌فراهمی آستاگزانتین در گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری و فیل‌ماهی انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پروژه "بررسی اثر مکمل آستاگزانتین و اسیدهای چرب HUFA جیره بر گناد و شاخص‌های تولید مثلی در فیل‌ماهی ماده پرورشی" با کد ۹۹۰۵۸۵-

مختلف آستاگزانتین مورد تایید قرار می‌دهد. مطالعات انجام شده در خارماهی دهان‌بزرگ (*Micropterus salmoides*) (Tao *et al.*, 2024)، تیلاپیای نیل (Qiang *et al.*, 2022) و کفشک‌ماهی زبان‌گاوی (Xu *et al.*, 2017) نشان داد که آستاگزانتین جیره عمدتاً اثرات تنظیمی خود را بر رشد و بلوغ غدد جنسی از طریق مکانیسم بازخورد هورمون‌های استروئیدی از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد (HPG)، افزایش ناگهانی تستسترون و سنتز تستسترون به ۱۷ بتا استرادیول (Tao *et al.*, 2025) و سنتز ویتلوژنین در کبد اعمال می‌کند که برای رشد تخمک ضروری است (Prisco *et al.*, 2008). در طول این فرآیند، اثرات دی‌هیدروپروژسترون (DOC) و ۱۱ دی‌هیدروکورتیکوسترون (DHC-11) بیشتر با سنتز کورتیکوسترون (CORT) و تنظیم انرژی و استرس مرتبط است (Wynne-Edwards *et al.*, 2019).

نتایج آخرین زیست‌سنجی پیش‌مولدین تغذیه شده با جیره‌های AST₅₀، AST₁₀₀ و AST₁₅₀ نشان داد که ماهیان در مرحله رسیدگی جنسی II-III قرار داشتند و پیش‌مولدین تغذیه‌شده با جیره AST₂₀₀ از مرحله رسیدگی جنسی III عبور کرد و زرده‌زایی در آنها انجام شده بود. همچنین در زیست‌سنجی مشخص گردید که میزان ترشح استرادیول و تستسترون در ماهیان تغذیه‌شده با جیره AST₂₀₀ (۰/۷۶±۰/۰۹۲ و ۵±۱/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) به طور معنی‌داری بالاتر از پیش‌مولدین تیمار شاهد است، اما میزان ۱۷ آلفا هیدروکسی پروژسترون در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های C₅₀، C₁₀₀ و C₁₅₀ به طور معنی‌داری بالاتر از مولدین جیره شاهد و در ماهیان تغذیه‌شده با جیره C₂₀₀ به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. به نظر می‌رسد که جیره‌های AST₅₀، AS₁₀₀ و AS₁₅₀ موجب ترشح هرچه بیشتر استرادیول و تستسترون از لایه فولیکولی تخمک به همراه ترشح همزمان ۱۷-آلفا هیدروکسی پروژسترون در جهت حرکت به سمت رشد تخمک و تامین انرژی است. ضمن آن‌که ماهیان این تیمارها در مرحله II-III رسیدگی جنسی بودند. این در حالی بود که افزودن آستاگزانتین به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم

AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA, 345 P.

Bacchetta, C., Rossi, A.S., Cian, R.E., Drago, S.R. and Cazenave, J., 2019. Dietary β -carotene improves growth performance and antioxidant status of juvenile *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture Nutrition*, 25(4), 761-769. DOI:10.1111/anu.12893

Barannikova, I.A., Dyubin, V. P., Bayunova, L.V. and Semenkova, T.B., 2002. Steroids in the control of reproductive function in fish. *Neuroscience and Behavioral physiology*, 32, 141-148. DOI:10.1023/A:1013923308125.

Barannikova, I., Bayunova, L. and Semenkova, T., 2004. Serum levels of testosterone, 11-ketotestosterone and oestradiol-17b in three species of sturgeon during gonadal development and final maturation induced by hormonal treatment. *Journal of Fish Biology*, 64: 1330-1338. DOI:10.1111/j.0022-1112.2004.00395.x

Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R. and 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. DOI:10.1093/jn/130.7.1800.

Cai, P., Yuan, H., Gao, Z., Qiao, H., Zhang, W., Jiang, S. and Fu, H., 2023. 17 β -estradiol induced sex reversal and gonadal

۹۸۰۰۱-۰۰۷-۱۲-۳۲-۱۲ است. نویسندگان از تمام یاری‌کنندگان علمی و عملی برای انجام مطالعه حاضر، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Abd El-Gawad, E.A., Wang, H.P. and 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. DOI:10.3389/fphys.2019.01056.

Adams, B.A., Vickers, E.D., Warby, C., Park, M., Fischer, W.H., Grey Craig, A. and Sherwood, N.M., 2002. Three forms of gonadotropin-releasing hormone, including a novel form, in a basal salmonid, *Coregonus clupeaformis*. *Biology of Reproduction*, 67(1), 232-239. DOI:10.1016/0044-8486(91)90252-3

Alishahi, M., Karamifar, M. and 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. DOI:10.1007/s10499-015-9880-0.

Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N. and Watanabe, T., 2000. Effects of dietary β carotene on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science*, 66(6), 1068-1075. <http://org/10.1046/j.1444-2906.2000.00170.x>

- transcriptome analysis in the oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*): mechanisms, pathways, and potential harm. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(10), 8481. DOI:10.3390/ijms24108481
- Choubert, G., de la Noüe, J. and 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. DOI:10.1016/0044-8486(91)90252-3
- Choubert, G. and Storebakken, T., 1996.** Digestibility of astaxanthin and canthaxanthin in rainbow trout as affected by dietary concentration, feeding rate and water salinity. In *Annales de zootechnie*, 45(5), 445-453. DOI:10.1051/animres:19960506.
- Fadakar, A., Bahmani, M. and Yousefi Jordehi, A., 2017.** Determination of residual levels of the carotenoid astaxanthin in different stages of embryonic and larval growth and development and its effect on some immune indices in farmed sterlet (*Acipenser Rutinus*). *Journal of Aquaculture Development*, 11(4), 79-89. DOI:20.1001.1.23223545.1396.11.4.2.5.
- Falahatkar, B., 2015.** Aquatic Animal Nutrition and Feed Formulation, Publications of Jihad Agricultural Applied Scientific Higher Education Institute, 334 P.
- George, S.B., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L., Smiley, J. and Plank, L., 2001.** Carotenoids in the adult diet enhance egg and juvenile production in the sea urchin *Lytechinus variegatus*. *Aquaculture*, 199(3-4), 353-369. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00578-6.
- Hallajian, A., Kazemi, R. and Yousefi, A., 2011.** The effect of clove powder on the duration of anesthesia and recovery from anesthesia in 4-year-old farmed beluga (*Huso huso*). *Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch*, 5(2), 132-140. DOI:10.13140/RG.2.1.3156.4963
- He, J., Zhong, Y., Li, Y., Liu, S. and Pan, X., 2025.** Astaxanthin alleviates oxidative stress in mouse Preantral follicles and enhances follicular development through the AMPK signaling pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(5), 2241. DOI:10.1186/s13048-024-01472-7
- James, R., Sampath, K., Thangarathinam, R. and 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. DOI:10.46989/001c.20433
- Kalbasi, M.R., Abdollahzadeh, E. and Salari-Joo, H., 2013.** A review on aquaculture development in Iran. *Ecopersia*, 1(2), 159-178. DOI:20.1001.1.23222700.2013.1.2.4.6
- Kazemi, R., Yarmohammadi, M., Hallajian, A. and Tizkar, B., 2020.** Determination of gender and sexual maturity stages of reared great sturgeon (*Huso huso*) using blood plasma sex steroid ratios. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(4), 2185-2198. DOI:10.22092/ijfs.2020.122235

- Kiron, V., 2012.** Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal feed science and technology*, 173(1-2), 111-133. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2011.12.015.
- Lee, S.H. and Min, D.B., 1990.** Effects, quenching mechanisms, and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photooxidation of soybean oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(8), 1630-1634. DOI:10.1021/jf00098a002
- Leng, X., Zhou, H., Tan, Q., Du, H., Wu, J., Liang, X. and 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. DOI:10.1017/S0007 114519002010.
- Lu, Q., Li, H., Zou, Y., Liu, H. and 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. DOI:10.1016/j.algal.2020.102178
- Lu, X., 2009.** Determining Sexual Maturity in White Sturgeon (*Acipenser Transmontanus*) to Maximize Yield and Quality of Caviar (Doctoral dissertation, Washington State University).180 P.
- Luo, L., Wei, H., Ai, L., Liang, X., Wu, X., Xing, W. and 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. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.05.032.
- Mao, L., Wang, D., Liu, F. and 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. DOI:10.1080/10408398 .2016.1223599
- Meilisza, N., Jusadi, D., Zairin Jr, M., Artika, I.M., Priyo Utomo, N.B., Kadarini, T. and 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 DOI:10.1111/are.13372.
- Mohseni, M., Bahmani, M., Pourali, H., Arshad, A., Alizadeh, M., Jamalzad, F., Sofiani, N., Haghghian, M. and Zahedifar, M., 2005.** Determining the nutritional requirements of *Huso huso* from the larval stage to the market stage. *Iranian Fisheries Research and Education Institute*, 245 P.
- Mojazi Amiri, B., Maebayashi, M., Hara, A., Adachi, S. and Yamauchi, K., 1996.** Ovarian development and serum sex steroid and vitellogenin profiles in the female cultured sturgeon hybrid, the bester. *Journal of Fish Biology*, 48(6), 1164-1178. DOI:10.1111/j.1095-8649.1996.tb01812.x

- Nagahama, Y., 1994.** Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *International Journal of Developmental Biology*, 38, 217-217.
- Naguib, Y.M., 2000.** Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(4), 1150-1154. DOI:10.1021/jf991106k.
- Ng, T.B. and Idler, D.R., 1983.** Yolk formation and differentiation in teleost fishes. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. and Donaldson, E.M. (Eds.), *Fish Physiology*. Vol. IXA, Academic Press, New York, pp. 373-404.
- Ng, W. K., & Hung, S. S. O. (1995).** Estimating the ideal dietary indispensable amino acid pattern for growth of white sturgeon, *Acipenser transmontanus* (Richardson). *Aquaculture Nutrition*, 1(2), 85-94. DOI: 10.1111/j.1365-2095.1995. tb00023.x
- Nash, J. P., Cuisset, B. D., Bhattacharyya, S., Suter, H. C., Le Menn, F., Kime, D. E. 2000.** An enzyme linked immunosorbant assay (ELISA) for testosterone, estradiol, and 17, 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one using acetylcholinesterase as tracer: application to measurement of diel patterns in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 22(4), 355-363. DOI: 10.1023/ A:1007850014021
- Niu, J., Chen, X., Lu, X., Jiang, S. G., Lin, H. Z., Liu, Y.J., Tian, L. and X., 2015.** Effects of different levels of dietary wakame (*Undaria pinnatifida*) on growth, immunity and intestinal structure of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 435, 78-85. DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.08.013.
- Noori, A. and, Razi, A., 2017.** Effects of dietary astaxanthin on the growth and skin and muscle pigmentation of sexually immature rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Teleostei: Salmonidae). *Iranian Journal of Ichthyology*, 4(4), 361-374. DOI:10.22034/iji.v4i4.234
- Örn, S., Holbech, H., Madsen, T.H., Norrgren, L. and Petersen, G.I., 2003.** Gonad development and vitellogenin production in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to ethinylestradiol and methyltestosterone. *Aquatic toxicology*, 65(4), 397-411. DOI:10.1016/S0166-445X(03)00177-2.
- Paibulkichakul, C., Piyatiratitivorakul, S., Sorgeloos, P. and Menasveta, P., 2008.** Improved maturation of pond-reared, black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using fish oil and astaxanthin feed supplements. *Aquaculture*, 282(1-4), 83-89. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.06.006.
- Palma, J., Andrade, J.P. and Bureau, D.P., 2017.** The impact of dietary supplementation with astaxanthin on egg quality and growth of long snout seahorse (*Hippocampus guttulatus*) juveniles. *Aquaculture nutrition*, 23(2), 304-312. DOI:10.1111/anu.12394.
- Pourdehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Bahmani, M., Hallajian, A. and Yarmohammadi, M., 2011.** The process of artificial reproduction and breeding of sturgeon. *Sturgeon Scientific Extension Journal* 2(2), 1-16.

- Prisco, M., Liguoro, A., Ricchiari, L., Del Giudice, G., Angelini, F. and Andreuccetti, P., 2008.** Immunolocalization of 3 β -HSD and 17 β -HSD in the testis of the spotted ray *Torpedo marmorata*. *General and Comparative Endocrinology*, 155(1), 157-163. DOI:10.1016/j.ygcen.2007.04.016
- Qiang, J., Tao, Y.F., Lu, S.Q., Ma, J.L., He, J. and Xu, P., 2022.** Role of astaxanthin as a stimulator of ovarian development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its potential regulatory mechanism: ameliorating oxidative stress and apoptosis. *Aquaculture Nutrition*, 2022(1), 1245151. DOI:10.1155/2022/1245151
- Sawanboonchun, J., Roy, W.J., Robertson, D.A. and Bell, J.G., 2008.** The impact of dietary supplementation with astaxanthin on egg quality in Atlantic cod broodstock (*Gadus morhua*, L.). *Aquaculture*, 283(1-4), 97-101. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.06.024
- Tao, M., Zhou, H., Wei, J. and Xu, Q., 2024.** Effects of Astaxanthin on Ovarian Development of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture Nutrition*, 2024(1), 2662809. DOI:10.1155/anu/2662809
- Tao, M., Wei, J., de Cruz, C., Wang, J., Du, H., Zhou, H. and Xu, Q., 2025.** Dietary effects of astaxanthin on gonadal development in female broodstock of *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Reports*, 42, 102841. DOI:10.1016/j.aqrep.2025.102841
- Tizkar, B., Soudagar, M., Bahmani, M., Hosseini, S.A., Chamani, M., Seidavi, A. and 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. DOI:10.3856/vol44-issue2-fulltext-17.
- Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K.D., Scott, T.M. and 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. DOI:10.1007/s10499-015-9880-0.
- Tuncelli, G., Momin, M. and Memis, D., 2025.** Impact of early and late maturation on the reproductive performance broodstocks of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Aquaculture International*, 33(5), 322. DOI:10.1007/s10499-025-02016
- Vassallo-Agius, R., Imaizumi, H., Watanabe, T., Yamazaki, T., Satoh, S. and Kiron, V., 2001.** The influence of astaxanthin supplemented dry pellets on spawning of striped jack. *Fisheries Science*, 67(2), 260-270. DOI:10.1046/j.1444-906.2001.00248.x
- Wade, N.M., Cheers, S., Bourne, N., Irvin, S., Blyth, D. and Glencross, B.D., 2017.** Dietary astaxanthin levels affect colour, growth, carotenoid digestibility and the accumulation of specific carotenoid esters in the Giant Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*.

- Aquaculture Research*, 48(2), 395-406.
DOI:10.1111/are.12888
- Wynne-Edwards, K.E., Lee, K., Zhou, R. and Edwards, H.E., 2019.** Sex differences in substrates and clearance products of cortisol and corticosterone synthesis in full-term human umbilical circulation without labor: Substrate depletion matches synthesis in males, but not females. *Psychoneuroendocrinology*, 109, 104381. DOI:10.1016/j.psyneuen.2019.104381
- Xie, S., Yin, P., Tian, L., Yu, Y., Liu, Y. and 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. DOI:10.3390/md18120642.
- Xu, H.G., Zhao, M., Zheng, K.K., Wei, Y.L., Yan, L. and Liang, M.Q., 2017.** Antarctic krill (*Euphausia superba*) meal in the diets improved the reproductive performance of tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) broodstock. *Aquaculture Nutrition*, 23(6), 1287-1295 DOI:10.1111/anu.12503
- Young, G., Kagawa, H. and Nagahama, Y., 1982.** Oocyte maturation in the amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*): In vitro effects of salmon gonadotropin, steroids, and cyanoketone (an inhibitor of 3 β -hydroxy- Δ 5-steroid dehydrogenase). *Journal of Experimental Zoology*, 224(2), 265-275. DOI:10.1002/jez.14022 40217
- Yousefi, A., Sudagar, M., Bahmani, M., Hosseini, S. A., Dehghani, A.A. and Yazdani Sadati, M.A., 2014.** Comparison of the effects of phytoestrogens genistein and Equol levels of sex steroid hormones in farmed female beluga (*Huso huso*). *Journal of Animal Environment*, 5(2), 51-75. DOI:10.1007/s10695-013-9829-z
- Zhang, D., Wu, Y., Yuan, Y., Liu, W., Kuang, H., Yang, J. and Xu, C., 2017.** Exposure to 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid induces oxidative stress and apoptosis in mouse testis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 141, 18-22. DOI:10.1016/j.pestbp.2016.10.006
- Zhang, J., Liu, Y. J., Tian, L. X., Yang, H. J., Liang, G. Y., Yue, Y. R., & Xu, D. H. (2013a).** Effects of dietary astaxanthin on growth, antioxidant capacity and gene expression in P acific white shrimp *L itopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 19(6), 917-927. Doi: 10.1111/anu.12037
- Zhang, J., Li, X., Leng, X., Zhang, C., Han, Z., & Zhang, F., 2013b.** Effects of dietary astaxanthin on pigmentation of flesh and tissue antioxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 21(3), 579-589. DOI: 10.1007/s10499 -012-9590-9
- Zheng, X., Liu, W., Liu, J., Zhang, C., Zhang, L., Gao, F. and Chi, C., 2020.** Dietary supplementation with icariin affects estrogen synthesis, vitellogenesis, and oocyte development in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Frontiers in Marine Science*, 7, 161. DOI:10.3389/fmars.2020.00161