



University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society



Aquatic Animals Nutrition

Vol. 11, No. 3, 2025, pages: 31-43
DOI: 10.22124/janb.2026.33458.1306

RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Effects of lysophospholipid in diet containing astaxanthin on immune indices, antioxidant enzymes, and carotenoid content in koi carp (*Cyprinus carpio* var. koi)

Arian Chalaki, Sakineh Yeganeh*, Batoul Adhami

Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran

Received 16 July 2025 Revised 19 September 2025 Accepted 21 September 2025 Published online 11 August 2026

KEYWORDS

Astaxanthin
Lysophospholipid
Koi fish
Immune indices
Antioxidant
enzyme
Carotenoid

ABSTRACT

Introduction: Ornamental fish are aquatic animals primarily reared in aquariums and decorative ponds for aesthetic purposes rather than human consumption. Among freshwater ornamental species, koi carp (*Cyprinus carpio* var. *koi*) is one of the most popular due to its remarkable diversity of colors and patterns, which significantly determine its market value. Therefore, understanding pigments and their dietary sources is essential in ornamental aquaculture. Carotenoids are the main compounds responsible for coloration in ornamental fish, however, fish species such as koi cannot synthesize them independently and must obtain them through feed. Astaxanthin, an important carotenoid with strong antioxidant properties, supports health, immunity, and skin coloration. Lysophospholipids may enhance fat-soluble compound absorption, improving astaxanthin uptake. This study evaluated their effects on pigment absorption, immunity, and antioxidant indices in koi carp.

Materials and Methods: A total of 150 koi carp (with an initial mean weight 3.63 ± 0.05 g) were purchased from a local farm and transferred to a private rearing facility. After a two-week acclimation period on a commercial ornamental fish diet, the fish were randomly distributed into 15 glass aquaria (60 L; $60 \times 45 \times 20$ cm) with 5 treatments, 3 replicates, and 10 fish per aquarium. Water quality was maintained by filtration, at temperature $26 \pm 1^\circ\text{C}$, pH 7.5 ± 0.5 , and dissolved oxygen 7 ± 0.5 mg/L. Synthetic astaxanthin (>98% purity) and lecithin-based lysophospholipid were added to the basal diet by spraying with canola oil. Treatments included: control, 0.01% astaxanthin, 0.02% astaxanthin, 0.01% astaxanthin + 0.1% lysophospholipid,

and 0.02% astaxanthin + 0.1% lysophospholipid. Fish were fed at 5% body weight, three times daily, for 56 days. At the end of the feeding trial, serum lysozyme, alternative complement activity (ACH_{50}), immunoglobulin, and antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx) were measured using standard spectrophotometric methods. Serum, skin, and fillet carotenoids were also assessed. Data were analyzed using One-Way ANOVA followed by Duncan's test in SPSS version 19, with significance set at $P < 0.05$.

Results: According to the immune parameters, lysozyme activity was significantly lower in the control and diet containing 0.01% astaxanthin compared to other groups ($P < 0.05$). Immunoglobulin and complement activities were also significantly influenced by the different diets, with the combined astaxanthin–lysophospholipid groups showing the highest values ($P < 0.05$). The highest CAT activity was recorded in fish fed the diet containing 0.01% astaxanthin supplemented with 0.1% lysophospholipid ($P < 0.05$). The lowest SOD activity was observed in the control and 0.01% astaxanthin groups, while the addition of lysophospholipid to diets containing astaxanthin significantly increased SOD activity ($P < 0.05$). Likewise, fish receiving the combination of lysophospholipid and astaxanthin, as well as the diet containing 0.02% astaxanthin, showed higher GPx activity than the control group ($P < 0.05$). Carotenoid accumulation in the skin and fillet was significantly higher in fish fed astaxanthin-supplemented diets, particularly when combined to lysophospholipid ($P < 0.05$).

Discussion: Assessment of immune parameters in fish is an important indicator of health and immune efficiency, since these markers reflect both innate and acquired defense capacity. In the present study, adding astaxanthin to lysophospholipid synergistically improved lysozyme, complement, and immunoglobulin activities. This effect was probably due to better astaxanthin absorption caused by lysophospholipid, which enhances bioavailability through mixed micelle formation and facilitation of lipid transport. Antioxidant enzymes such as SOD, CAT, and GPx play crucial roles in mitigating oxidative stress and maintaining fish health. Here, astaxanthin-containing diets increased antioxidant enzyme activities compared to the control, and the best antioxidant performance was observed with combination of 0.01% astaxanthin and 0.1% lysophospholipid. This suggests a synergistic effect between the two additives. Similar improvements in antioxidant capacity have been reported in trout, tilapia, shrimp, and other aquatic species. Astaxanthin also increased carotenoid deposition in koi skin and fillet, improving pigmentation and likely market value. The inclusion of lysophospholipid further enhanced carotenoid accumulation in tissues, probably by improving emulsification and intestinal uptake of this fat-soluble pigment. In contrast, lower serum carotenoid levels in combined treatments may indicate faster transfer from blood to target tissues.

Conclusion: Based on the present research, it can be stated that the combination of lysophospholipid and astaxanthin, particularly at the 0.01% level, likely enhanced tissue deposition of astaxanthin, which may reflect

improved bioavailability, and concurrently improved antioxidant capacity and immune function.

*Corresponding author: skyeganeh@gmail.com; s.yeganeh@sanru.ac.ir





"مقاله پژوهشی"

تأثیر لیزوفسفولیپید در جیره حاوی آستازانتین بر فراسنجه‌های ایمنی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مقادیر کاروتنوئید در ماهی کوی (*Cyprinus carpio* var. *koi*)

آرین چالاکی، سکینه یگانه*، بتول ادهمی

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۳۰

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۵/۲۰

کلمات کلیدی

چکیده

در این تحقیق، تأثیر استفاده از لیزوفسفولیپید در جیره‌های حاوی رنگدانه آستازانتین بر شاخص‌های ایمنی، فعالیت‌های ضد اکسایشی و میزان تجمع کاروتنوئید در پوست، فیله و خون ماهی کوی (*Cyprinus carpio* var. *koi*) بررسی شد. به این منظور، ۱۵۰ عدد بچه‌ماهی با میانگین وزنی اولیه 0.05 ± 0.03 گرم در ۵ تیمار غذایی شامل جیره شاهد (فاقد آستازانتین و لیزوفسفولیپید)، ۰/۰۱٪ آستازانتین، ۰/۰۲٪ آستازانتین، ترکیب ۰/۰۱٪ آستازانتین + ۰/۰۱٪ لیزوفسفولیپید و ترکیب ۰/۰۱٪ آستازانتین + ۰/۰۲٪ لیزوفسفولیپید به مدت ۵۶ روز تغذیه شدند. نتایج نشان داد که فعالیت لایزوزیم در تیمارهای شاهد و ۰/۰۱٪ آستازانتین به طور معنی‌دار کمتر از دیگر تیمارها بود و با افزودن سطوح آستازانتین و مکمل لیزوفسفولیپید افزایش یافت ($P < 0.05$). فعالیت ایمونوگلوبولین و کمپلمان (ACH_{50}) نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و در تیمارهای ترکیبی آستازانتین و لیزوفسفولیپید به طور معنی‌دار افزایش یافت ($P < 0.05$). کمترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای شاهد و ۰/۰۱٪ آستازانتین مشاهده شد و افزودن لیزوفسفولیپید با افزایش معنی‌دار در این آنزیم همراه بود ($P > 0.05$). همچنین، ماهیان تغذیه‌شده با ترکیبی از لیزوفسفولیپید و آستازانتین و تیمار آستازانتین ۰/۰۲٪ فعالیت گلوکاتیون پراکسیداز بالاتری نسبت به شاهد نشان دادند ($P > 0.05$). میزان تجمع کاروتنوئید در پوست و فیله نیز در تیمارهای حاوی آستازانتین و به‌ویژه در حضور لیزوفسفولیپید بیشتر بود ($P < 0.05$). در مجموع، نتایج نشان می‌دهد که افزودن لیزوفسفولیپید به جیره حاوی آستازانتین می‌تواند با بهبود جذب و کارایی این رنگدانه، موجب افزایش بقا، تقویت دستگاه ایمنی، افزایش فعالیت ضد اکسایشی و بهبود کیفیت رنگ در ماهی کوی شود و رویکردی کاربردی در تغذیه و مدیریت پرورش این گونه زینتی به حساب آید.

مقدمه

ماهیان زینتی از جمله جانداران آبی هستند که عمدتاً به منظور زیباسازی محیط در آکواریوم‌ها و استخرهای تزئینی نگهداری می‌شوند. برخلاف ماهیان خوراکی، این گونه‌ها برای مصرف انسانی پرورش داده نمی‌شوند، بلکه هدف اصلی از نگهداری آن‌ها ایجاد جلوه بصری است (Perry, 2023). در این میان، ماهی کوی *Cyprinus carpio var. koi* یکی از محبوب‌ترین گونه‌های آب شیرین در میان ماهیان زینتی به شمار می‌رود. تنوع رنگی و الگویی این ماهی‌ها، آن‌ها را به یکی از پر فروش‌ترین و پرفروش‌ترین گونه‌ها در صنعت ماهیان زینتی تبدیل کرده است (Mahasri et al. 2011). موفقیت در تولید تجاری این ماهیان به شدت به میزان درخشش، شدت رنگ و الگوهای رنگی آن‌ها وابسته است (Sletvold et al. 2016). به همین دلیل، شناخت دقیق انواع رنگدانه‌ها و منابع غذایی آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای در صنعت پرورش ماهیان زینتی برخوردار است. رنگدانه‌های موجود در بدن ماهیان زینتی به‌طور عمده تحت تأثیر ترکیباتی به نام کاروتنوئیدها قرار دارند؛ ترکیباتی حیاتی که این ماهیان قادر به ساخت آن‌ها به‌طور مستقل نیستند و باید از طریق تغذیه مناسب دریافت شوند (Tripathi et al. 2024). ماهیان زینتی از جمله ماهی کوی، توانایی ساختن رنگدانه‌های کاروتنوئیدی مانند آستازانتین را ندارند و برای تأمین این ترکیبات زیستی ضروری، باید آن‌ها را از منابع غذایی خارجی دریافت کنند. آستازانتین به عنوان یک کاروتنوئید مهم، به‌واسطه ویژگی‌های ضد اکسایشی قوی، نقش برجسته‌ای در ارتقای سلامت عمومی، تقویت پاسخ ایمنی، و به‌ویژه افزایش شدت و یکنواختی رنگ در پوست ماهیان زینتی ایفا می‌کند (Tan et al. 2024).

از طرف دیگر، لیزوفسفولیپیدها (LPLs) گروهی از ترکیبات لیپیدی هستند و با دارا بودن ساختاری شبیه به فسفولیپیدها نقش‌های مهم و چندجانبه‌ای در فرآیندهای زیستی ایفا می‌کنند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که فسفولیپیدها، به همراه اسیدهای صفراوی، نقش مهمی در بهبود فرآیند امولسیون‌سازی و افزایش انحلال‌پذیری ترکیبات محلول در چربی دارند. این ویژگی‌ها منجر به جذب مؤثرتر کاروتنوئیدها به عنوان یک ترکیب محلول در چربی و دیگر لیپیدهای ضروری در دستگاه گوارش ماهی می‌شود (Omar and Chiodi, 2024). در مطالعه

Song و همکاران (۲۰۲۵)، اثر لیزوفسفاتییدیل کولین (LPC) به عنوان امولسیفایر بر کارایی آستازانتین در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) بررسی شد و بهبود رنگ پوست مشاهده شد. با توجه به اینکه دسترسی زیستی آستازانتین تحت تأثیر ترکیبات کمکی در خوراک قرار دارد، استفاده از ترکیباتی مانند لیزوفسفولیپیدها (LPLs) به عنوان عامل امولسیفایر طبیعی می‌تواند در بهبود جذب و انتقال این رنگدانه مؤثر باشد. بر این اساس، در مطالعه حاضر، تأثیر لیزوفسفولیپید بر جذب رنگدانه، ایمنی و شاخص‌های ضد اکسایشی ماهی کوی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و سیستم پرورش

۱۵۰ عدد ماهی کوی با وزن اولیه 0.05 ± 0.03 گرم و درازای متوسط 0.00 ± 0.07 سانتی‌متر از یک کارگاه پرورش ماهی واقع در قائم شهر خریداری شده و به سالن پرورش کارگاه شخصی انتقال یافتند. به منظور سازگاری با محیط جدید ماهیان به مدت دو هفته با غذای تجاری (شرکت تریپیکال فزوین حاوی پروتئین ۲۵٪، خاکستر ۱۲٪ و چربی ۸٪) و ویژه ماهی زینتی تغذیه شدند. پس از آدپتاسیون، ماهیان در ۵ تیمار و ۳ تکرار در ۱۵ آکواریوم با تراکم ذخیره‌سازی ۱۰ قطعه در هر واحد آزمایشی به صورت کاملاً تصادفی قرار داده شدند. برای انجام آزمایش، ۱۵ عدد آکواریوم شیشه‌ای (با ابعاد $20 \times 45 \times 60$ سانتی-متر) با حجم ۶۰ لیتر آماده شدند. دستگاه تصفیه مکانیکی و زیستی فعال بوده و دمای آب در محدوده 1 ± 26 درجه سانتی‌گراد، pH بین 0.5 ± 7.5 و غلظت اکسیژن محلول 0.5 ± 7 میلی‌گرم در لیتر حفظ شد. به منظور حفظ کیفیت آب، سیفون آب آکواریوم‌ها روزانه یک ساعت قبل از غذادهی انجام شده و ۳۰٪ آن با آب جدید جایگزین شد. در هر آکواریوم یک صافی اسفنجی قرار گرفت تا ضمن هوادهی موجب بهبود کیفیت آب شود.

تهیه جیره و غذادهی

آستازانتین مورد استفاده در این آزمایش از نوع صنعتی با خلوص بالای ۹۸٪ تهیه شده از شرکت آکوا، به شکل پودری و قابل حل در چربی بود. لیزوفسفولیپید (شامل ترکیباتی مانند لیزوفسفاتییدیل کولین و دیگر فسفولیپیدهای قابل

نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر خوانش شد. یک واحد از سوپراکسید دیسموتاز به میزان مهار ۵۰٪ از واکنش احیای ۲-۴ یدوفنیل ۳/۴ نیتروفنل ۵ فنیل تترازولیوم تحت شرایط آزمایش تعریف شد. فعالیت کاتالاز (CAT) با تجزیه آب اکسیژنه و کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۳۰ ثانیه و به ازای هر میلی گرم پروتئین در عصاره آنزیمی اندازه گیری شد. در این آزمایش، از بافر فسفات سدیم ۲۰ میلی مولار در pH=۷ و ۲۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۳۰٪ به عنوان پذیرنده الکترون استفاده شد (Rahmati et al. 2021). فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) نیز مطابق روش Lawrence و Burk (۱۹۷۶) مخلوط واکنش شامل ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH 7)، ۰/۲ میلی مولار NADPH، ۱ میلی مولار EDTA، ۱ میلی مولار سدیم آزید، ۱ U/mL گلوکاتایون ردوکتاز و ۱ میلی مولار GSH بود. جذب نوری به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام شد.

اندازه گیری کاروتنوئید خون

برای اندازه گیری کاروتنوئیدهای موجود در خون، از روش Barbosa و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد. در این روش، ۲۰۰ میکرولیتر سرم با ۴۰۰ میکرولیتر اتانول (با غلظت ۹۵٪) به خوبی مخلوط شد و سپس یک میلی لیتر هگزان به آن اضافه شد و به مدت یک دقیقه با ورتکس مخلوط شد. هگزان با استفاده از سانتریفیوژ در دور rpm ۴۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. همچنین، جذب نوری کاروتنوئیدها در هگزان با طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری شد.

اندازه گیری کاروتنوئید پوست و فیله

برای اندازه گیری رنگ پوست و فیله، از روش اسپکتروفتومتری ارائه شده توسط Torrissen (۱۹۸۹) استفاده شد. به این منظور، یک گرم از نمونه پوست و فیله به دقت از ناحیه جانبی ماهیان جدا شد و درون لوله آزمایش قرار گرفت (برای تمام ماهیان از محل یکسانی نمونه گرفته شد). سپس ۱۰ میلی لیتر استون (با خلوص ۹۸٪) و سه گرم سدیم سولفات بی آب به نمونه اضافه شد و نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از آن، فاز مایع جدا شده و جذب نوری آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۵۰ نانومتر

جذب به شکل مایع) به عنوان یک افزودنی تغذیه ای تجاری با پایه لسیتین، از شرکت بهین دارو (ایران) تأمین شد. از غذای تجاری ماهی کوی به عنوان جیره پایه استفاده شد و لیزوفسفولیپید و آستازانتین به صورت مخلوط در روغن کانولا در سطوح مورد نظر به جیره افشانه شدند. به منظور یکسان کردن شرایط در تیمار شاهد و تیمارهای بدون لیزوفسفولیپید به اندازه یکسان روغن کانولا افشانه شد. تیمارهای مورد آزمایش به صورت ۱- تیمار شاهد بدون رنگدانه و لیزوفسفولیپید، ۲- تیمار حاوی ۰/۰۱٪ رنگدانه آستازانتین، ۳- تیمار حاوی ۰/۰۲٪ رنگدانه آستازانتین، ۴- تیمار حاوی ۰/۰۱٪ آستازانتین و ۰/۰۱٪ لیزوفسفولیپید، ۵- تیمار حاوی ۰/۰۲٪ آستازانتین و ۰/۰۱٪ لیزوفسفولیپید بودند (Song et al. 2025). همچنین، برای اطمینان از تأثیر سطح آستازانتین بر رنگ ماهی کوی سطح بهینه آستازانتین در این گونه، از پژوهش Lalita و همکاران (۲۰۲۲) استفاده شد. غذادهی ماهیان روزانه ۳ بار در ساعات ۹، ۱۲ و ۱۸ با جیره های آزمایشی به میزان ۵٪ وزن بدن به مدت ۵۶ روز انجام شد.

اندازه گیری شاخص های ایمنی

اندازه گیری فعالیت لایزوزیم سرم بر اساس روش پیشنهاد شده توسط Esteban و همکاران (۲۰۱۵) انجام شد. در این روش، محاسبه لایزوزیم به روش کدورت سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای این منظور، از باکتری لیوفیلیزه *Micrococcus lysodeikticus* حل شده در بافر فسفات پتاسیم به عنوان سوبسترا استفاده شد. جذب این محلول در برابر بلانک (بافر فسفات پتاسیم) در طول موج ۴۵۰ نانومتر و به مدت ۱۰ دقیقه ثبت شد و کاهش جذب نوری ناشی از تجزیه دیواره باکتری میکروکوکوس اندازه گیری شد. اندازه گیری (ACH50) با استفاده از همولیز گلبول های قرمز خرگوش، بر اساس روش Yano و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. همچنین، اندازه گیری ایمونوگلوبولین کل بر اساس روش Siwicki (۱۹۹۳) انجام شد.

اندازه گیری شاخص های ضداکسایشی

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بر اساس روش Marklund و Marklund (۱۹۷۴)، با استفاده از کیت شرکت کیازیست اندازه گیری شد و در طول موج ۵۶۰

اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان کاروتنوئید، از ضریب خاموشی ۲۵۰۰ استفاده شد. همچنین، برای اندازه‌گیری کاروتنوئید فیله، ۲۰ گرم از فیله به‌خوبی آسیاب شده و یک گرم از آن به همان روش ذکرشده برای پوست آزمایش شد. ضمناً، برای جلوگیری از تخریب نوری و حفظ پایداری کاروتنوئیدها، تمامی مراحل آزمایش در تاریکی نسبی و شرایط ایمن از لحاظ نور انجام شد.

سنجش آماری داده‌ها

سنجش آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد. طرح آزمایشی از نوع کاملاً تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار برای هر تیمار بود. برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف آستازانتین و لیزوفسفولیپید بر شاخص‌های مورد مطالعه، از آزمون واریانس یک‌طرفه

(One-Way ANOVA) در سطح معنی‌داری ۵٪ ($\alpha = 0.05$) استفاده شد. در موارد تفاوت معنی‌دار بین تیمارها، آزمون چنددامنه‌ای دانکن (Duncan's Multiple Range Test) برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از فراسنجه‌های ایمنی طبق جدول ۱ نشان داد که فعالیت لایزوزیم در تیمارهای شاهد و ۰/۰۱٪ آستازانتین به طور معنی‌داری کمتر از دیگر تیمارها بود و با افزودن سطوح آستازانتین و مکمل لیزوفسفولیپید افزایش یافت ($P < 0.05$). فعالیت ایمونوگلوبولین و کمپلمان نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و در تیمارهای ترکیبی آستازانتین و لیزوفسفولیپید به طور معنی‌دار افزایش یافت ($P < 0.05$).

جدول ۱ فراسنجه‌های ایمنی ماهیان کوی (*Cyprinus carpio* var. *koi*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف آستازانتین و لیزوفسفولیپید طی ۵۶ روز

Table 1 Immune indices of Koi (*Cyprinus carpio* var. *koi*) fed with different levels of astaxanthin and lysophospholipid for 56 days

Indices	Control	0.01% asx	0.02% asx	0.01% asx+ 0.1% lys	0.02% asx+ 0.1% lys
Lysozyme (u/mL/min)	29.65 ± 1.20 ^b	30.5 ± 1.31 ^b	34.75 ± 1.20 ^a	33.1 ± 0.42 ^a	39.76 ± 0.66 ^a
Total Immunoglobulin (mg/dL)	54.15 ± 0.77 ^c	54.65 ± 1.06 ^{bc}	56.15 ± 1.06 ^{bc}	60.15 ± 2.19 ^a	58.45 ± 1.62 ^{ab}
ACH50 (u/mL)	122.5 ± 0.70 ^c	124.5 ± 0.70 ^{bc}	123.5 ± 0.7 ^{bc}	129 ± 1.41 ^a	127 ± 2.82 ^{ab}

The numbers (mean ± standard deviation) in a row with different letters have a significant difference ($P < 0.05$). Asx: astaxanthin, lys: lysophospholipid

طبق جدول ۲، بیشترین مقادیر آنزیم کاتالاز با افزودن سطح ۰/۰۱٪ لیزوفسفولیپید به ۰/۰۱٪ آستازانتین به دست آمد ($P < 0.05$). کمترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای شاهد و ۰/۰۱٪ آستازانتین مشاهده شد و در تیمارهای ترکیب‌شده با لیزوفسفولیپید افزایش معنی‌دار در این آنزیم در مقایسه با شاهد مشاهده شد ($P > 0.05$). همچنین، ماهیان تغذیه‌شده با ترکیبی از لیزوفسفولیپید و آستازانتین و تیمار آستازانتین ۰/۰۲٪ فعالیت گلوکاتیون پراکسیداز بالاتری نسبت به شاهد نشان دادند ($P > 0.05$). نتایج میزان کاروتنوئید طبق جدول ۳ نشان داد که کاروتنوئید کل سرم تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار گرفته است ($P < 0.05$). تیمارهای دریافت‌کننده آستازانتین

مقادیر بالاتری از کاروتنوئید سرم نسبت به شاهد داشتند. اگرچه، افزودن لیزوفسفولیپید به جیره حاوی آستازانتین به کاهش این مقادیر در سرم خون منجر شد ($P < 0.05$). بیشترین غلظت کاروتنوئید پوست در تیمارهای ۰/۰۲٪ آستازانتین و تیمارهای ترکیبی آستازانتین و لیزوفسفولیپید مشاهده شد، در حالی‌که گروه شاهد کمترین مقدار را نشان داد ($P < 0.05$). میزان کاروتنوئید فیله نیز به‌طور معنی‌دار در تیمارهای ترکیبی حاوی آستازانتین و لیزوفسفولیپید افزایش یافت در حالی‌که گروه شاهد کمترین سطح را نشان داد ($P < 0.05$).

جدول ۲ فراسنجه‌های ضد اکسایشی ماهیان کوی (*Cyprinus carpio* var. *koi*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف آستاگزانتین و لیزوفسفولیپید طی ۵۶ روز

Table 2 Antioxidant indices of Koi (*Cyprinus carpio* var. *koi*) fed with different levels of astaxanthin and lysophospholipid for 56 days

Indices	Control	0.01% asx	0.02% asx	0.01% asx+ 0.1% lys	0.02% asx+ 0.1% lys
CAT (u/mL)	88.25 ± 1.90 ^c	89.15 ± 0.63 ^c	94.5 ± 0.98 ^b	99.4 ± 2.68 ^a	94 ± 0.84 ^b
SOD (u/mL)	58.9 ± 3.11 ^b	60.8 ± 1.97 ^b	64.95 ± 0.21 ^{ab}	69.65 ± 3.18 ^a	72.55 ± 4.31 ^a
GPx (u/mL)	210.5 ± 2.12 ^c	216.5 ± 14.84 ^{bc}	236.50 ± 7.77 ^{ab}	249.5 ± 9.19 ^a	231.5 ± 4.94 ^{abc}

The numbers (mean ± standard deviation) in a row with different letters have a significant difference (P<0.05). Asx: astaxanthin, lys: lysophospholipid

جدول ۳ مقدار کاروتنوئید سرم، پوست و فیله ماهیان کوی (*Cyprinus carpio* var. *koi*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف آستاگزانتین و لیزوفسفولیپید طی ۵۶ روز

Table 3 Carotenoid content of serum, skin and fillet of Koi (*Cyprinus carpio* var. *koi*) fed with different levels of astaxanthin and lysophospholipid for 56 days

Indices	Control	0.01% asx	0.02% asx	0.01% asx+ 0.1% lys	0.02% asx+ 0.1% lys
Serum total carotenoid (µg/mL)	16.25 ± 1.48 ^d	26.85 ± 0.77 ^a	24.45 ± 0.91 ^b	21.30 ± 0.56 ^c	15.15 ± 0.49 ^d
Skin carotenoid (mg/mL)	0.06 ± 0.01 ^c	0.12 ± 0.01 ^b	0.18 ± 0.01 ^a	0.18 ± 0.01 ^a	0.21 ± 0.01 ^a
Fillet carotenoid (mg/mL)	0.0004 ^d 0.0031±	± 0.0008 ^c 0.0047	± 0.0004 ^{cd} 0.0035	± 0.0009 ^b 0.0063	0.0008 ^a 0.0092 ±

The numbers (mean ± standard deviation) in a row with different letters have a significant difference (P<0.05). Asx: astaxanthin, lys: lysophospholipid

بحث

دهد (Mettelman et al. 2023). مطالعه بر روی کوی تغذیه شده با سطوح مختلف آستاگزانتین (صفر تا ۱۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) نشان داد این ترکیب قادر است فعالیت فراسنجه‌های ایمنی ذاتی مانند لایزوزیم و کمپلمان و همچنین سطوح ایمونوگلوبولین‌ها را بهبود بخشد (Pei et al. 2019). از طرفی، ترکیب جیره غذایی و به‌ویژه میزان چربی نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی دارد. Sen و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که فسفولیپیدها و اسیدهای چرب غیراشباع در بهبود سیالیت و نفوذپذیری غشای یاخته‌ای نقش داشته که در نتیجه، موجب ارتقای ایمنی ماهی می‌شود. فسفولیپیدها همچنین در ساختن ایکوزانوئیدها نقش دارند. این ترکیبات در حفظ عملکردهای فیزیولوژیک مختلف از جمله پاسخ ایمنی نقش‌آفرین هستند (Chen et al. 2023). با توجه به نتایج حاضر،

سنجش فراسنجه‌های ایمنی در ماهیان به‌عنوان شاخصی کلیدی برای ارزیابی وضعیت سلامت و کارایی دستگاه ایمنی اهمیت دارد، زیرا این شاخص‌ها بازتابی از توانایی دفاعی ذاتی و اکتسابی در برابر عوامل بیماری‌زا هستند. تعیین سطوح بهینه آستاگزانتین در تغذیه ماهیان زینتی از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا این ترکیب علاوه بر بهبود رنگ‌دانه‌سازی، در ایمنی و سلامت نیز نقش دارد. در مطالعه حاضر، افزودن آستاگزانتین توام با مکمل لیزوفسفولیپید فعالیت لایزوزیم، کمپلمان و ایمونوگلوبولین را به میزان چشمگیری بهبود بخشید. با تقویت فعالیت بیگانه‌خواری، افزایش جمعیت لنفوسیت‌های T کمک‌کننده و تقویت پاسخ‌های پادتنی اختصاصی، فراسنجه‌های ایمنی هومورال و یاخته‌ای را تحت تأثیر قرار

افزودن آستازانتین در سطوح پایین مورد استفاده بدون لیزوفسفولیپید نتوانسته برخی شاخص‌های ایمنی را تقویت کند. بهبود این فراسنجه‌ها در تیمارهای ترکیبی احتمالاً به دلیل افزایش دسترسی زیستی آستازانتین توسط لیزوفسفولیپید اتفاق افتاده است. ترکیبات فسفولیپیدی و لیزوفسفولیپیدی از طریق تشکیل میسل‌های مختلط و تسهیل انتقال لیپیدها، زیست‌دسترسی آستازانتین را افزایش می‌دهند (Liu et al. 2018). به نظر می‌رسد که این امر با ایجاد اثر هم‌افزایی سبب بهبود بالاتر ایمنی در تیمارهای ترکیبی آستازانتین و لیزوفسفولیپید شده است. فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی از جمله CAT، SOD، GPx نقش مهمی در کاهش استرس اکسیداتیو و حفظ سلامت ماهیان ایفا می‌کند (Melo et al. 2024). مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت این آنزیم‌ها تحت تأثیر عوامل محیطی از جمله ترکیب جیره غذایی (به‌ویژه سطوح بالای چربی) قرار دارد و می‌تواند به‌عنوان شاخص زیستی برای ارزیابی شرایط سلامت ماهی استفاده شود (Sukhovskaya et al. 2023). در مطالعه حاضر، تیمارهای حاوی آستازانتین نسبت به گروه شاهد افزایش محسوسی در فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی داشتند. این اثر مثبت به خصوص در سطح ۰/۱٪ لیزوفسفولیپید همراه با ۰/۰۱٪ آستازانتین مشاهده شد که بهترین نتایج را از نظر شاخص‌های ضداکسایشی به همراه داشت. بنابراین، می‌توان اذعان داشت که در گونه مورد بررسی، ترکیبی از سطوح مذکور به عنوان سطح پیشنهادی برای دستیابی به تقویت دفاع ضداکسایشی قابل توصیه است. تأثیر مثبت استفاده از آستازانتین بر ظرفیت ضداکسایشی در مطالعات مختلف آبریان گزارش شده است. برای مثال، در قزل‌آلای رنگین‌کمان، تغذیه با ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستازانتین پوشش‌دار با نانولیپوزوم منجر به بیشترین فعالیت سرمی آنزیم‌های ضداکسایشی شامل CAT، SOD، GPx شد که نشان‌دهنده بهبود ظرفیت ضداکسایشی بود (Besharat et al. 2024). در پامپانوی طلایی (*Trachinotus ovatus*) نیز سطوح بالاتر از ۰/۰۱٪ آستازانتین موجب افزایش ظرفیت ضداکسایشی کبد شد و سطح فعالیت SOD و ظرفیت ضداکسایشی کل به‌طور معنی‌دار بهبود یافت (Liu et al. 2024). با توجه به دیگر مطالعات، تغذیه با لیزوفسفولیپیدها منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی از جمله SOD و

CAT شد. این افزایش به‌ویژه در سطوح ۰/۱٪ تا ۰/۳٪ در تیلپای قرمز (*Oreochromis niloticus* × *O. Mossambicus*) و در سطح ۰/۱٪ مصرف لیزوفسفولیپید در میگوی وانامی مشاهده شد (Yan et al. 2025; Sallam et al. 2024). نتایج مطالعه حاضر، با یافته‌های Taghavizadeh و همکاران (۲۰۲۰) همخوانی دارد که بهبود وضعیت ضداکسایشی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با لیزوفسفولیپید را گزارش کردند و این اثرات را به توانایی محصول غذایی در کاهش آسیب اکسیداتیو و افزایش وضعیت ضداکسایشی نسبت دادند. به طور مشابه، Huang و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که افزودن فسفولیپید به جیره لارو هیبرید هامور (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*) ظرفیت ضداکسایشی ماهی را افزایش داده است و این نتایج را به نقش فسفولیپیدها در کاهش تجمع چربی مرتبط دانستند. با وجود این، باید توجه داشت که سطح بهینه ممکن است در هر گونه متفاوت باشد و نمی‌توان نتایج را به طور مستقیم به دیگر ماهیان تعمیم داد و این امر بر لزوم مطالعات بیشتر تأکید دارد. تاکنون تأثیر توأم آستازانتین و لیزوفسفولیپید بر ظرفیت ضداکسایشی ماهیان ارزیابی نشده است. به نظر می‌رسد که در مطالعه حاضر افزودن لیزوفسفولیپید توانسته با افزایش هضم چربی‌ها سبب متعادل ساختن فعالیت ضداکسایشی شود. در مطالعه‌ای بر ماهی کوی افزایش چربی جیره با کاهش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مرتبط با ایمنی همچون SOD و کاتالاز CAT همراه بوده است (Song et al. 2025). سطوح بالای چربی در جیره می‌تواند موجب بروز استرس اکسیداتیو شود، با وجود این، لیزوفسفولیپیدها با تقویت سیستم ضداکسایشی نقش مهمی در کاهش این اثرات ایفا می‌کنند (Zhang et al. 2022).

مصرف آستازانتین منجر به افزایش کاروتنوئیدها در بدن می‌شود. بنابراین سطح آن‌ها در بدن می‌تواند بازتابی از دریافت غذایی و میزان زیست‌فراهمی باشد (Weber and Grune, 2023). کاروتنوئیدها از جمله آستازانتین، لوتئین و زآزانتین به‌عنوان رنگ‌دانه‌های طبیعی با خواص ضداکسایشی قوی در ماهیان و سخت‌پوستان وجود دارند و علاوه بر ارتقای سلامت با ایجاد رنگ قرمز و زرد در گوشت و پوست، نقش مهمی در بازارپسندی این آبریان ایفا

خوراک تا حد معین می‌تواند موجب بهبود زیست‌فراهمی و رسوب آستازانتین در بافت شود (Bjerkeng et al., 1997; Breithaupt, 2007). با وجود این، نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد که این رابطه خطی نیست و در سطوح بالای چربی به دلیل اشباع مسیرهای حمل، تغییر سوخت و ساز یا حتی افزایش اکسایش، رسوب آستازانتین یکنواخت افزایش نمی‌یابد (Choubert and Storebakken, 1989; Ytrestøyl and Bjerkeng, 2007). در مطالعه‌ای گزارش شد که افزودن مکمل آستازانتین همراه با ۹٪/۵ چربی جیره موجب بهبود معنی‌دار رنگ پوست و افزایش رشد در ماهیان شد. با وجود این، افزایش بیشتر سطح چربی در خوراک به صورت خطی موجب افزایش رسوب و اثر آستازانتین نشد، که احتمالاً ناشی از اشباع مسیرهای جذب و یا افزایش تخریب اکسایشی بوده است (Zhang et al., 2022). بنابراین، برای چربی و لیزوفسفولیپید باید مقدار بهینه مشخص شود.

نتیجه‌گیری

هدف از افزودن لیزوفسفولیپید در این تحقیق بهبود هضم چربی و در نتیجه، افزایش کارایی جذب آستازانتین بود. با توجه به نتایج حاضر می‌توان عنوان کرد که ترکیب لیزوفسفولیپید و آستازانتین به خصوص در سطح ۰/۰۱٪ احتمالاً با افزایش زیست‌فراهمی این کاروتنوئید و تقویت ظرفیت ضداکسایشی و ایمنی علاوه بر افزایش سلامت موجب افزایش رسوب رنگدانه در پوست و فیله شده و می‌تواند در تغذیه و پرورش تجاری ماهیان زینتی به‌عنوان روشی مؤثر و اقتصادی استفاده شود.

منابع

- Barbosa, M., Morais, R., Choubert, G. 1999. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 176: 331-341.
- Besharat, M., Islami, H.R., Soltani, M., Mousavi, S.A. 2024. Effects of dietary nanoliposome-coated astaxanthin on haematological parameters, immune responses and the antioxidant status of

می‌کنند (Weber and Grune, 2023; Tan et al., 2024). یکی از مهم‌ترین اثرات آستازانتین در کوی، بهبود شدت رنگ است که نقشی کلیدی در ارزش بازاری این گونه دارد. در مطالعه کنونی، با افزودن آستازانتین، مقدار کاروتنوئید در پوست و فیله در ماهی کوی بهبود یافت. این درحالی است که افزودن لیزوفسفولیپید به جیره حاوی آستازانتین سبب افزایش قابل توجهی در این مقادیر شد. احتمالاً این امر به دلیل افزایش ظرفیت امولسیفیه کردن و بهبود تشکیل میسل‌های کوچکتر در دستگاه گوارش تحت اثر لیزوفسفولیپید است که منجر به جذب مؤثرتر آستازانتین می‌شود. لیزوفسفولیپیدها به دلیل داشتن ساختار آمفی‌فیلیک، می‌توانند سبب پراکنش بهتر ترکیبات لیپوفیلک در محیط آبی شوند و انتقال رنگدانه‌ها به سطح بافت پوششی روده را تسهیل کنند (Ibarz et al. 2023). کاروتنوئیدها لیپیدهای محلول هستند و جذب آن‌ها در روده ماهی با حضور چربی همراه است. از طرفی، مقدار کاروتنوئید در سرم این ماهیان با افزودن لیزوفسفولیپید به آستازانتین روندی کاهشی نشان داد. کاهش غلظت کاروتنوئید در سرم ممکن است نشان‌دهنده انتقال سریع و مؤثر آن‌ها از خون به بافت‌های هدف باشد. مطالعات نشان داده‌اند که عوامل تغذیه‌ای مانند ترکیب چربی جیره می‌توانند بر جذب آستازانتین تأثیر بگذارند و زیست‌فراهمی آن را تغییر دهند. برای مثال، Song و همکاران (۲۰۲۵) نشان دادند که افزودن لیزوفسفاتییدیل کولین به جیره باعث افزایش جذب آستازانتین و بهبود رنگ در میگوی وانامی شده است. از آنجا که آستازانتین یک کاروتنوئید محلول در چربی است، حضور چربی در جیره نقش کلیدی در تشکیل میسل‌های مخلوط و انتقال آن به یاخته‌های روده دارد. به همین دلیل افزایش سطح چربی

- rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Medicine and Science* 10: 1461. DOI: 10.1002/vms3.1461
- Bjerkeng, B., Følling, M., Lagocki, S., Storebakken, T., Olli, J.J., Alsted, N. 1997. Bioavailability of all-E-astaxanthin and Z-isomers of astaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 157: 63-82. DOI: 10.1016/S0044-8486(97)00146-4

- Chen, H.C., Chang, W.C., Chuang, J.Y., Chang, K.Y., Liou, J.P., Hsu, T.I. 2023. The complex role of eicosanoids in the brain: Implications for brain tumor development and therapeutic opportunities. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* 1878: 188957. DOI: 10.1016/j.bbcan.2023.188957
- Choubert, G., Storebakken, T. 1989. Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary carotenoid concentrations. *Aquaculture* 81: 69-77. DOI: 10.1016/0044-8486(89)90231-7
- Esteban, M.Á., Cuesta, A., Chaves-Pozo, E., Meseguer, J. 2015. Phagocytosis in teleosts. Implications of the new cells involved. *Biology* 4: 907-922. DOI: 10.3390/biology4040907
- Huang, Y., Xu, J., Sheng, Z., Chen, N., Li, S. 2021. Integrated response of growth performance, fatty acid composition, antioxidant responses and lipid metabolism to dietary phospholipids in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*) larvae. *Aquaculture* 541: 736728. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735813
- Ibarz, A., Sánchez-Lozano, G., Bamba, J., Pérez-Sánchez, J., Kaushik, S. 2023. Physiological benefits of dietary lysophospholipid supplementation in a marine fish model: deep analyses of modes of action. *Animals* 13: 1381. DOI: 10.3390/ani13081381
- Lalita, A., Lili, W., Pratiwy, F.M. 2022. The effect of differences in the addition of astaxanthin and several sources of natural β -carotene in increasing color intensity of koi fish (*Cyprinus carpio* L.). *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research* 18: 38-47. DOI: 10.9734/ajfar/2022/v18i230438
- Lawrence, R.A., Burk, R.F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 71: 952-958. DOI: 10.1016/0006-291X(76)90728-6
- Liu, Y., Wang, J., Chen, Q., Li, X. 2024. Dual-function analysis of astaxanthin on golden pompano (*Trachinotus ovatus*): Growth performance and antioxidative regulation. *Aquaculture Research* 55: 3489-3503. DOI: 10.1002/aqr.5678
- Liu, Y., Chen, G., Li, X., Xu, C., Zhou, Q. 2018. Lysophospholipid enhances intestinal health and disease resistance in aquatic animals. *Fish and Shellfish Immunology* 77: 113-120. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.03.039
- Mahasri, G., Widyastuti, P., Sulmartiwi, L. 2011. Leukocyte profile of koi fish (*Cyprinus carpio*) which infested by *Ichthyophthirius multifiliis* on the different infestation degree with cohabitation methode. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 3: 91. DOI: 10.20473/jipk.v3i1.11629
- Marklund, S., Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry* 47: 469-474. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x
- Melo, N., de Souza, S.P., Konig, I., de Jesus Paula, D.A., Ferreira, I.S., Luz, R.K., Murgas, L.D.S. 2024. Sensitivity of different organs and tissues as biomarkers of oxidative stress in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) submitted to fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 291: 111595. DOI: 10.1016/j.cbpa.2024.111595
- Mettelman, R.C., Souquette, A., Van de Velde, L.A., Vegesana, K., Allen, E.K., Kackos, C.M., Trifkovic, S., DeBeauchamp, J., Wilson, T.L., St. James, D.G., Menon, S.S. 2023. Baseline innate and T cell populations are correlates of protection against symptomatic influenza virus infection independent of serology. *Nature*

- Immunology 24: 1511-1526. DOI: 10.1038/s41590-023-01550-0
- Omar, E., Chiodi, C. 2024. Fat digestion and absorption: Normal physiology and pathophysiology of malabsorption, including diagnostic testing. Nutrition in Clinical Practice 39: S6-S16. DOI: 10.1002/ncp.10841
- Pei, J., Liu, W., Han, L. 2019. Research on evaluation index system of Chinese city safety resilience based on Delphi method and cloud model. International Journal of Environmental Research and Public Health 16: 3802. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph16203802>
- Perry, W.B. 2023. The environmental impact of keeping a tropical aquarium in Northern Europe. Journal of Fish Biology 103: 695-703. DOI: 10.1111/jfb.15258
- Rahmati, R., Nayeibi, B., Ayati, B. 2021. Investigating the effect of hydrogen peroxide as an electron acceptor in increasing the capability of slurry photocatalytic process in dye removal. Water Science and Technology 83: 2414-2423. DOI: 10.1111/jfb.15258
- Sallam, A.E., Kotit, A.M., Almisherfi, H.M. 2024. Dietary lysophospholipid improves growth performance, antioxidant capacity and immunity response of red tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. Mossambicus*). Egyptian Journal of Aquatic Research 50: 424-429. DOI: 10.1016/j.ejar.2024.04.002
- Sen, S., Sirobhushanam, S., Johnson, S.R., Song, Y., Tefft, R., Gatto, C., Wilkinson, B.J. 2016. Growth-environment dependent modulation of *Staphylococcus aureus* branched-chain to straight-chain fatty acid ratio and incorporation of unsaturated fatty acids. PloS One 11: e0165300. DOI: 10.1371/journal.pone.0165300
- Siwicki, A.I. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and monocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish Diseases Diagnosis and Prevention Methods. 105-111.
- Sletvold, N., Trunschke, J., Smit, M., Verbeek, J., Ågren, J. 2016. Strong pollinator-mediated selection for increased flower brightness and contrast in a deceptive orchid. Evolution 70: 716-724. DOI: 10.1111/evo.12881
- Song, H., Liang, Y., Yang, Y., Liu, C., Liu, Y., Mu, X., Wang, X. 2025. Dietary supplementation with whole-fat or defatted Antarctic krill powder improves the growth performance, body coloration, and immune capability of red-white koi carp (*Cyprinus carpio* var. *koi*). Animals 15: 1561. DOI: 10.3390/ani15111561
- Sukhovskaya, I.V., Lysenko, L.A., Fokina, N.N., Kantserova, N.P., Borvinskaya, E.V. 2023. Survival, growth performance, and hepatic antioxidant and lipid profiles in infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a diet supplemented with dihydroquercetin and arabinogalactan. Animals 13: 1345. DOI: 10.3390/ani13081345.
- Taghavizadeh, M., Shekarabi, S.P.H., Mehrgan, M.S., Islami, H.R. 2020. Efficacy of dietary lysophospholipids (Lipidol™) on growth performance, serum immuno-biochemical parameters, and the expression of immune and antioxidant-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 525: 1-11. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735315
- Tan, K., Zhang, H., Zheng, H. 2024. Carotenoid content and composition: A special focus on commercially important fish and shellfish. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 64: 544-561. DOI: 10.1080/10408398.2022.2101889.
- Torrissen, O.J. 1989. Pigmentation of salmonids: Interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout. Aquaculture 79: 363-374. DOI: 10.1016/0044-8486(89)90478-X

- Tripathi, G., Dubey, P., Ahmad, S., Farooqui, A., Mishra, V. 2024. Role of algal-derived bioactive compounds in human health. *Recent Patents on Biotechnology* 18: 190-209. DOI: 10.2174/1872208317666230623141740
- Weber, D., Grune, T. 2023. Carotenoid basics: from food to skin. *Redox Experimental Medicine* DOI: 10.20517/rem.2023.03
- Yan, H., Wang, Y., Liang, H., Duan, Y., Wang, J., Zhou, C., Huang, Z. 2025. Effects of lysophospholipids on the antioxidant capacity, digestive performance, and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei*. *Biology* 14: 90. DOI: 10.3390/biology14010090.
- Yano, T. 1992. Assays of hemolytic complement activity. *Techniques in fish Immunology* 131-141.
- Ytrestøyl, T., Bjerkeng, B. 2007. Dose response in uptake and deposition of intraperitoneally administered astaxanthin in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture* 263: 179-191. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.10.021
- Zhang, W., Dan, Z., Zhuang, Y., Zheng, J., Gong, Y., Liu, Y., Mai, K., Ai, Q. 2022. Effects of dietary lipid levels on growth, digestive enzyme activities, antioxidant capacity, and lipid metabolism in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) at three different stages. *Aquaculture Nutrition* 104226. DOI: 10.1155/2022/104226.