

ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of Performance and Physiological Responses of Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*) fed a Nanoencapsulated Ghrelin-Mimetic Supplement

Mina Ahmadpour¹, Behrouz Heidari^{*1}, Mahvash Hadavi¹, and Abdolmajid Valipour¹

1- Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

ABSTRACT

Due to the limited stability of many bioactive compounds, the use of nanoencapsulation systems has received considerable attention as a novel approach to enhance the efficiency of dietary supplements in aquaculture. The aim of this study was to investigate the effect of nanoencapsulation of bioactive compounds within an alginate–chitosan system on the performance of Siberian sturgeon juveniles (*Acipenser baerii*). For this purpose, fish were fed for 60 days with different diets consisting of sturgeon feed supplemented with encapsulated and non-encapsulated ghrelin-mimetic peptide (A-Ghrelin), encapsulated and non-encapsulated iron nanoparticles, encapsulated and non-encapsulated combinations of A-Ghrelin and iron nanoparticles, and sturgeon feed as the control treatment. At the end of the feeding period, growth performance indices, whole-body chemical composition, serum iron concentration, hematological parameters, and immune-related indices were evaluated. The results showed that the Supplement treatment (A-Ghrelin and iron nanoparticles encapsulated within the alginate–chitosan system) improved growth performance, carcass composition, serum iron concentration, hematological parameters, and immune-related indices. Overall, the results of this study indicate that the simultaneous nanoencapsulation of A-Ghrelin and iron nanoparticles within an alginate–chitosan matrix, possibly through increasing the bioavailability of active compounds, controlled release of these compounds, and synergistic effects, can be considered an effective strategy for improving growth, physiological status, health, and nutritional efficiency of Siberian sturgeon. This nanoencapsulated supplement may be used as a promising functional additive in aquaculture.

ARTICLE INFO

Key words:

Acipenser baerii
A-Ghrelin
iron nanoparticles
alginate–chitosan
nanoencapsulation



Corresponding author:
Email address: Bheidari@guilan.ac.ir

Received: 06 July 2026 | Revised: 31 July 2026 | Accepted: 10 August 2026 | Published online: 24 August 2026

© Authors 2026. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

ارزیابی عملکرد و فیزیولوژی تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تحت تغذیه با مکمل شبه گرلینی نانوکپسوله شده

مینا احمدپور^۱، بهروز حیدری^{۱*}، مهوش هادوی^۱، عبدالمجید ولی پور^۱

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

چکیده

با توجه به محدودیت پایداری بسیاری از ترکیبات زیست فعال، استفاده از سامانه‌های نانوکپسوله‌سازی به‌عنوان راهکاری نوین برای افزایش کارایی مکمل‌های خوراکی در آبی‌پروری موردتوجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش، بررسی اثر نانوکپسوله‌سازی ترکیب زیست فعال در سامانه آلزینات-کیتوزان بر عملکرد رشد و فیزیولوژی تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) بود. بدین منظور، ۲۸۰ قطعه تاس ماهی سیبری با میانگین وزنی 0.9 ± 0.8 و میانگین قد 13.8 ± 0.65 به مدت ۶۰ روز با ۷ جیره غذایی مختلف شامل غذای ماهی ترکیب‌شده با پپتید شبه گرلینی (A-Ghrelin) کپسوله شده و غیر کپسوله، نانو آهن کپسوله شده و غیر کپسوله، ترکیب پپتید و نانو آهن کپسوله شده و غیر کپسوله و غذای ماهی خاویاری به‌عنوان شاهد تغذیه شدند. در پایان دوره، شاخص‌های رشد، ترکیب شیمیایی لاشه، غلظت آهن سرم و شاخص‌های خونی ارزیابی شدند. نتایج نشان داد تیمار (A-Ghrelin) Supplement و نانو آهن کپسوله شده در سامانه آلزینات-کیتوزان موجب بهبود شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه، غلظت آهن سرم و شاخص‌های هماتولوژی شد. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که نانوکپسوله‌سازی همزمان A-Ghrelin و نانو ذره آهن در بستر آلزینات-کیتوزان، احتمالاً از طریق افزایش فراهمی زیستی ترکیبات فعال و آزادسازی کنترل‌شده آن‌ها و ایجاد اثرات هم‌افزا، راهکاری مؤثر برای بهبود رشد، وضعیت فیزیولوژیک، سلامت و کارایی تغذیه‌ای تاس ماهی سیبری محسوب می‌شود و می‌تواند به‌عنوان یک مکمل عملکردی امیدبخش در آبی‌پروری مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: A-Ghrelin *Acipenser baerii*، نانو ذره آهن، نانوکپسوله‌سازی آلزینات-کیتوزان.

نوع مقاله

مقاله پژوهشی کامل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۴/۱۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۵/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۱۹

تاریخ چاپ الکترونیکی:

۱۴۰۵/۰۶/۰۲

*نویسنده مسئول:

Bheidari@guilan.ac.ir

مقدمه

آبزی پروری به سریع‌ترین بخش در حال رشد تولید مواد غذایی با منشأ حیوانی در جهان تبدیل شده است و نقش آن در تأمین امنیت غذایی، تغذیه، اشتغال و توسعه پایدار به‌طور چشمگیری افزایش یافته است (Boyd et al., 2020; FAO, 2024; Naylor et al., 2021). افزایش جمعیت جهان، محدودیت منابع طبیعی، کاهش ذخایر آبزیان وحشی و افزایش تقاضا برای پروتئین‌های باکیفیت، موجب شده است که توسعه پایدار آبزی پروری به یکی از مهم‌ترین راهبردهای جهانی برای تأمین غذای آینده تبدیل شود (Boyd et al., 2020; Naylor et al., 2021).

بر اساس گزارش FAO (۲۰۲۴)، تولید جهانی آبزیان برای نخستین بار از مرز ۲۲۰ میلیون تن عبور کرده و به بالاترین سطح ثبت‌شده در تاریخ رسیده است. اما این صنعت با چالش‌هایی از جمله افزایش هزینه خوراک، بروز بیماری‌ها، تنش‌های محیطی، تغییرات اقلیمی، کاهش کیفیت آب و فشارهای ناشی از تراکم بالای پرورش مواجه است. این عوامل می‌توانند رشد، سلامت، پاسخ ایمنی و بازده اقتصادی مزارع را تحت تأثیر قرار دهند، از این‌رو توسعه راهکارهای تغذیه‌ای نوین، افزودنی‌های عملکردی و فناوری‌های نوین خوراک از نیازهای اصلی صنعت آبزی پروری است که می‌تواند نقش مهمی در افزایش رشد، سلامت و بهره‌وری آبزیان ایفا کند (Dawood & Koshio, 2020; Glencross, 2020; Hosenifar, Sun, Wang, & Zhou, 2018).

در سال‌های اخیر، رویکرد آبزی پروری از تمرکز صرف بر افزایش تولید به سمت تولید پایدار تغییر یافته است، به گونه‌ای که علاوه بر افزایش تولید، حفظ سلامت آبزیان، بهبود بهره‌وری خوراک، کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، ارتقای رفاه آبزیان و کاهش اثرات زیست‌محیطی نیز به اهداف اصلی این صنعت تبدیل شده‌اند (Boyd et al., 2020; Hua et al., 2019; Naylor et al., 2021).

در این راستا، توسعه راهکارهای نوین تغذیه‌ای و استفاده از مکمل‌های عملکردی به یکی از مهم‌ترین رویکردهای بهبود تولید در آبزی پروری تبدیل شده است. این ترکیبات با افزایش قابلیت هضم مواد مغذی، بهبود کارایی متابولیکی، تقویت پاسخ‌های ایمنی، کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش مقاومت ماهیان در برابر تنش‌های محیطی، نقش مهمی در ارتقای عملکرد و پایداری سیستم‌های پرورش ایفا می‌کنند، از این‌رو، استفاده از پپتیدهای زیست فعال، نانو ذرات و سامانه‌های نانوکپسوله‌سازی گسترش یافته است (Boyd et al., 2020). تحقیقات گذشته نشان داده‌اند که استفاده از افزودنی‌های خوراکی نظیر اسیدهای چرب، ترکیبات زیست فعال مشتق از جلبک‌ها (Rodríguez-Viera et al., 2022)، گیاهان دارویی و عصاره‌های گیاهی (Ahmadifar et al., 2021) می‌تواند موجب بهبود رشد، کارایی خوراک و پاسخ‌های ایمنی در ماهیان شود. در سال‌های اخیر، گروه جدیدی از افزودنی‌های عملکردی موسوم به مواد محرک ترشح هورمون رشد (Growth Hormone Secretagogues; GHSs) نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند. این ترکیبات نخستین بار به‌عنوان پپتیدهای سنتزی محرک ترشح GH معرفی شدند و مشخص شد که قادرند در شرایط *in vitro*، آزادسازی هورمون رشد از سلول‌های هیپوفیز را تحریک کنند (Momany et al., 1981). متعاقباً، مطالعات انجام‌شده در ماهیان نشان داد که پپتیدهای سنتزی شبه‌گرلین، از جمله KP-102، GHRP-2 و Ipamorelin، از طریق فعال‌سازی گیرنده GHS-R موجب تحریک ترشح GH و فعال شدن محور GH-IGF-1 می‌شوند و از این طریق می‌توانند رشد و متابولیسم را بهبود بخشند (Kaiya, Kangawa, & Miyazato, 2013; Shepherd et al., 2000; Unniappan & Peter, 2004). یکی از شناخته‌شده‌ترین محرک‌های ترشح هورمون رشد، پپتید آزادکننده هورمون رشد-۶ (GHRP-6) است که به‌عنوان یکی از لیگندهای مصنوعی گیرنده GHS-R شناخته می‌شود (Martinez et al., 2016). این پپتید با تقلید از عملکرد گرلین درون‌زا، ترشح هورمون رشد را تحریک می‌کند و در تنظیم رشد، مصرف خوراک و فرآیندهای متابولیکی نقش دارد (Yahashi, Kang, Kaiya, & Matsuda, 2012). گرلین نیز به‌عنوان لیگاند طبیعی گیرنده GHS-R یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های محور GH-IGF-1 در مهره‌داران محسوب می‌شود و علاوه بر تحریک ترشح GH، در تنظیم اشتها، تعادل انرژی و پاسخ‌های ایمنی نقش اساسی دارد (Rodríguez-Viera et al., 2022).

اخیراً طراحی و توسعه آنالوگ‌های جدیدتر گرلین و پپتیدهای سنتزی با پایداری زیستی و کارایی بیشتر، از جمله A-Ghrelin، به‌عنوان راهبردی نوین برای ارتقای رشد و کارایی تولید در آبزی پروری مطرح شده است (Matinfar et al., 2025).

در کنار پپتیدهای محرک رشد، استفاده از ریزمغذی‌هایی که بتوانند کارایی متابولیکی و خون‌سازی را افزایش دهند نیز اهمیت ویژه‌ای یافته است. در میان ریزمغذی‌های ضروری مورد استفاده در آبزی‌پروری، آهن به دلیل نقش اساسی در رشد، تکامل و بقای آبزیان و همچنین مشارکت در فرایندهای حیاتی نظیر خون‌سازی، انتقال اکسیژن، تولید انرژی و تنظیم عملکرد سیستم ایمنی، یکی از مهم‌ترین عناصر تغذیه‌ای محسوب می‌شود (Jobling, 2012; Mukherjee, Saha, Bhattacharjee, Mallick, & Sarkar, 2022; Zafar & Khan, 2020).

در سال‌های اخیر، استفاده از نانو ذرات آهن به‌عنوان نسل جدید مکمل‌های معدنی در آبزی‌پروری مورد توجه فراوان قرار گرفته است، زیرا کاهش اندازه ذرات تا مقیاس نانو موجب افزایش سطح ویژه، بهبود پایداری، افزایش فراهمی زیستی و جذب مؤثرتر آهن در دستگاه گوارش نسبت به منابع معدنی متداول می‌شود (Zafar & Khan, 2020). مطالعات انجام شده در گونه‌های مختلف آبزی نشان داده‌اند که استفاده از نانو آهن در جیره غذایی می‌تواند موجب بهبود رشد، افزایش کارایی خوراک، تقویت خون‌سازی، افزایش غلظت هموگلوبین، ارتقای شاخص‌های هماتولوژی، بهبود پاسخ‌های ایمنی و افزایش مقاومت در برابر تنش‌های اکسیداتیو شود (Asad et al., 2024; Khan, Dutta, Ahmad, & Rather, 2024; Mukherjee et al., 2022). باوجود این مزایا، یکی از محدودیت‌های اصلی استفاده از نانو آهن، احتمال تجمع ذرات، اکسیداسیون سریع و کاهش پایداری آن در محیط دستگاه گوارش است. به همین دلیل، استفاده از سامانه‌های نانوکپسوله‌سازی، به‌ویژه پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر مانند آلژینات-کیتوزان، به‌عنوان راهکاری مؤثر برای محافظت از نانو ذرات، آزادسازی کنترل‌شده، افزایش جذب روده‌ای و کاهش اثرات نامطلوب احتمالی آن‌ها توسعه یافته است (Anal & Singh, 2007; Dash, Chiellini, Ottenbrite, & Chiellini, 2011).

آلژینات و کیتوزان به دلیل زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، غیر سمی بودن و قابلیت تشکیل نانو حامل‌های پایدار، کاربرد گسترده‌ای در آبزی‌پروری یافته‌اند. آلژینات با تشکیل ژل در حضور یون‌های دو ظرفیتی، بستر مناسبی برای رهایش کنترل شده ترکیبات فعال فراهم می‌کند، درحالی‌که پوشش کیتوزان موجب افزایش پایداری ساختاری، بهبود حفاظت از مواد کپسوله‌شده و افزایش جذب روده‌ای آن‌ها می‌شود (Wang et al., 2018; Zhao et al., 2011). مطالعات گذشته نشان دادند که نانو ذرات کیتوزان (Chitosan) به‌عنوان حامل ترکیبات زیست‌فعال، ازجمله پپتیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی باعث بهبود رشد، پاسخ‌های ایمنی و کارایی تغذیه‌ای آبزیان شده‌اند (Abdel-Ghany & Salem, 2020; El-Naggar, Medhat, & Taha, 2022). در میان آبزیان، ماهیان خاویاری دارای اهمیت زیستی و اقتصادی بالایی هستند (Hung, 2017)، با توجه به کاهش جمعیت ماهیان خاویاری در سراسر جهان (Fontagné et al., 2006)، پرورش آن‌ها در مزارع آبزی‌پروری رو به افزایش است (Mocanu, Savin, Popa, & Dima, 2022). یکی از رایج‌ترین گونه‌های ماهی خاویاری در آبزی‌پروری، تاس ماهی سبیری (*Acipenser baerii*) است. از دلایل تمایل به پرورش این گونه، می‌توان به رشد سریع، تحمل پرورش در تراکم بالا، مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و تولید گوشت و خاویار باکیفیت اشاره کرد (Gisbert & Williot, 2002). علاوه بر این به دلیل چرخه تولیدمثلی نسبتاً کوتاه‌تر در مقایسه با سایر گونه‌های خاویاری و همچنین مقاوم‌تر بودن آن نسبت به شرایط محیطی یکی از باارزش‌ترین گونه‌های آبزی‌پروری است (Mocanu et al., 2022).

اگرچه پیشرفت‌های چشمگیری در توسعه افزودنی‌های عملکردی و فناوری‌های نانو حاصل شده و اثربخشی بسیاری از این ترکیبات گزارش شده است اما پایداری زیستی و جذب روده‌ای ترکیبات زیست‌فعال همچنان از مهم‌ترین محدودیت‌های کاربرد آن‌ها در جیره آبزیان محسوب می‌شود. افزون بر این، شواهد علمی درباره کاربرد همزمان پپتیدهای شبه‌گرلین، نانو آهن و سامانه‌های نانوکپسوله‌سازی در ماهیان خاویاری، به‌ویژه تاس ماهی سبیری، بسیار محدود است. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف توسعه یک سامانه نوین نانوکپسوله‌سازی بر پایه آلژینات-کیتوزان برای انتقال پپتید A-Ghrelin و نانو آهن به‌عنوان ترکیبات زیست‌فعال و ارزیابی اثر آن‌ها در بچه ماهیان خاویاری سبیری انجام شد.

مواد و روش‌ها

بچه ماهیان

۲۸۰ قطعه بچه تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با میانگین وزنی 0.9 ± 0.5 و میانگین قد 13.8 ± 0.65 از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری مهندس صالح پاک در املش تهیه گردیدند. بچه ماهی‌ها جهت سازگاری به مدت دو هفته در شرایط یکسان نگهداری شدند. در طی این مدت پارامترهای آب مانند دمای آب (17.2 ± 1 درجه سانتی گراد)، اکسیژن محلول (7.6 ± 0.5 میلی گرم در لیتر)، شوری (۲-۱ ppt) و pH (7.9 ± 0.9) مرتب اندازه‌گیری شد.

تمام آزمایش‌های این مطالعه بر اساس دستورالعمل‌های کمیته حمایت از حقوق حیوانات دانشگاه گیلان (CEUG) و با شماره مجوز IR.GUILAN.REC.1402.044 در سال ۱۴۰۲ انجام شده است.

به جهت تیمار بندی هفت استخر فایبرگلاس آماده گردید، سپس ۴۰ قطعه بچه ماهی در هر استخر قرار داده شد. ترتیب تیمارها در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱: ترکیب تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در پژوهش حاضر.

رديف	تیمارها
Supplement	غذای ماهی ترکیب‌شده با A-Ghrelin، نانوذره آهن، آلزینات سدیم و کیتوزان
A-Ghrelin+ AL-Cs	غذای ماهی ترکیب‌شده با A-Ghrelin همراه با آلزینات سدیم و کیتوزان
Nano Fe+ AL-Cs	غذای ماهی ترکیب‌شده با نانوذره آهن همراه با آلزینات سدیم و کیتوزان
A-Ghrelin	غذای ماهی ترکیب‌شده با A-Ghrelin
Nano Fe+ A-Ghrelin	غذای ماهی ترکیب‌شده با A-Ghrelin و نانوذره آهن
Nano Fe 1	غذای ماهی ترکیب‌شده با نانوذره آهن (۱ میلی گرم)
Control	شاهد (فقط غذای تجاری مخصوص ماهی خاویاری)

میزان A-Ghrelin اضافه شده به جیره ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم جیره بود. نانوذره آهن (Fe_2O_3) به میزان ۱ میلی گرم در کیلوگرم جیره بود (Ebrahimi, Changizi, Ghobadi, Shohreh, & Vatandoust, 2020).

تغذیه ماهیان

تغذیه ماهیان با استفاده از خوراک تجاری ماهی خاویاری ترکیب‌شده با A-Ghrelin و سایر مواد با توجه به تیمار موردنظر صورت گرفت. غذاهای ۴ بار در روز به مقدار ۳ تا ۵ درصد وزن بدن انجام گرفت (۸ صبح، ۱۲ ظهر، ۴ بعد ظهر و ۸ شب) (Morshedi et al., 2013).

پیتید کپسوله شده با نانو ذرات کیتوزان، آلزینات و آهن

نانو ذرات آهن (Fe_2O_3) با اندازه ذرات کمتر از ۵۰ نانومتر از شرکت مرک آلمان خریداری شد و نانوذرات کیتوزان-آلزینات و نانوکپسول‌های حاوی پیتید و/یا نانوذرات اکسید آهن (Fe_2O_3) به روش ژلاسیون یونی (Ionic Gelation) تهیه شدند. به طور خلاصه، ۵۰ میلی گرم کیتوزان در ۵۰ میلی لیتر بافر استات (pH 5.2، 0.1 M) حل شده و به مدت ۱ ساعت در دمای محیط با سرعت ۱۰۰۰ rpm هم زده شد. در فرمولاسیون‌های حاوی پیتید، ۱ میلی گرم پیتید به محلول افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۷۵۰ rpm هم زده شد. سپس ۱۰ میلی لیتر

محلول سدیم تری پلی فسفات (TPP) و ۱۰ میلی لیتر محلول سدیم آلزینات به صورت قطره قطره به محلول اضافه شدند. در فرمولا سیون های حاوی نانوذرات آهن، ۱۰ میلی لیتر سو سپانسیون نانوذرات Fe_2O_3 پس از تشکیل نانوذرات به مخلوط افزوده و به مدت ۱ ساعت هم زده شد. سو سپانسیون حاصل در $20^{\circ}C$ با سرعت ۶۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب به دست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه فریزدرایر خشک و به صورت پودر جمع آوری شد و تا زمان استفاده در دمای $-20^{\circ}C$ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

اندازه گیری شاخص های رشد

بیومتری ماهیان در روزهای ۱ و ۶۰ آزمایش انجام گرفت. پارامترهای رشد شامل درصد افزایش وزن (WG)، افزایش قد و میزان بقاء محاسبه گردید.

اندازه گیری فاکتورهای خونی

پس از بیهوش کردن ماهی ها با ضربه به سر و خون گیری، تعداد گلبول های قرمز (RBC)، تعداد گلبول های سفید (WBC)، تعداد لکوسیت های افتراقی (لنفو سیت ها، نوتروفیل ها و مونو سیت ها)، غلظت هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (HCT)، MCV، MCH، MCHC و میزان آهن خون اندازه گیری گردید.

برای بررسی شاخص های خونی، پس از خون گیری از ورید دمی ماهی ها، نمونه های خون در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد (هپارین) جمع آوری شدند. تعداد گلبول های قرمز و سفید خون با استفاده از محلول Lewis و لام نئوبار شمارش شدند. برای تعیین درصد لنفو سیت، نوتروفیل و مونو سیت، از هر نمونه گستره خون (Blood Smear) تهیه شد و پس از تثبیت با متانول، با رنگ گیم سا رنگ آمیزی شد. سپس لام ها با میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی $100\times$ بررسی و شمارش افتراقی گلبول سفید انجام شد. غلظت آهن سرم با استفاده از کیت رنگ سنجی و دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. هماتوکریت با استفاده از روش میکروهماتوکریت تعیین شد. هموگلوبین با استفاده از محلول درابکین (سیانومت هموگلوبین) در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد اندازه گیری شد. شاخص های MCH، MCV، MCHC بر اساس مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز و مطابق روابط استاندارد هماتولوژی محاسبه شدند (Blaxhall & Daisley, 1973; Fazio, 2019).

اندازه گیری ترکیب شیمیایی لاشه

پس از نمونه گیری از تیمارهای مختلف، لاشه ماهی های هر تیمار جمع آوری شدند. ابتدا نمونه ها همگن شدند، سپس در دستگاه فریزدرایر به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. مقدار رطوبت با خشک کردن نمونه در آون با دمای $105^{\circ}C$ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت، مطابق روش استاندارد AOAC، تعیین شد. درصد رطوبت از اختلاف وزن نمونه قبل و بعد از خشک شدن محاسبه گردید. پروتئین خام با استفاده از روش کج دال مطابق استاندارد AOAC اندازه گیری شد. در این روش ابتدا نیتروژن کل نمونه تعیین و سپس با استفاده از ضریب تبدیل ۶/۲۵ مقدار پروتئین خام محاسبه گردید. میزان چربی خام با استفاده از دستگاه سوکسله و با استفاده از دی اتیل اتر، مطابق روش استاندارد AOAC اندازه گیری شد. برای اندازه گیری خاکستر، نمونه های خشک شده در کوره در دمای $550^{\circ}C$ درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت قرار گرفتند تا تمام مواد آلی سوخته و تنها مواد معدنی باقی بمانند. مقدار خاکستر به صورت درصد وزن خشک محاسبه شد.

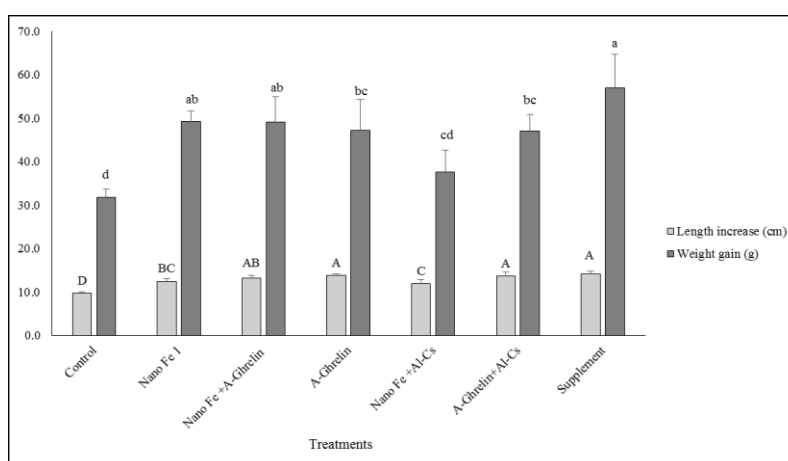
تجزیه و تحلیل آماری

داده ها با استفاده از نرم افزار Excel 2013 ثبت شدند و تجزیه و تحلیل داده ها توسط نرم افزار SPSS 22 انجام شد. برای بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^۱ استفاده گردید. پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها، آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و تست Tukey به عنوان post hoc استفاده شد.

¹ Kolmogorov-Smirnov test

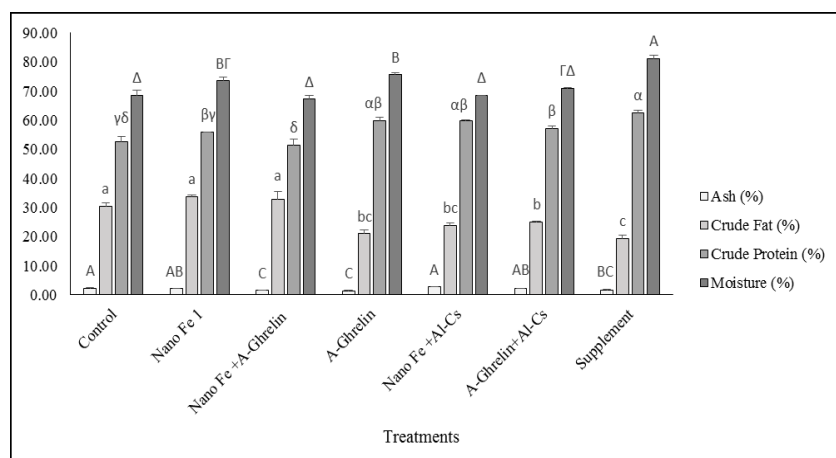
نتایج

پس از ۶۰ روز تغذیه ماهیان خاویاری سیبری با جیره‌های آزمایشی، اکثر تیمارها در شاخص‌های افزایش وزن (Weight Gain; WG) و افزایش طول بدن (Length Increase) دارای افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد بودند (شکل ۱) ($P < 0.05$). بالاترین افزایش وزن را تیمار مکمل (Supplement) داشت که با اکثر تیمارها و تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در رابطه با افزایش قد، ۴ تیمار حاوی پپتید A-Ghrelin بالاترین مقدار را نشان دادند که با تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$). کمترین افزایش وزن و قد در گروه شاهد مشاهده شد.



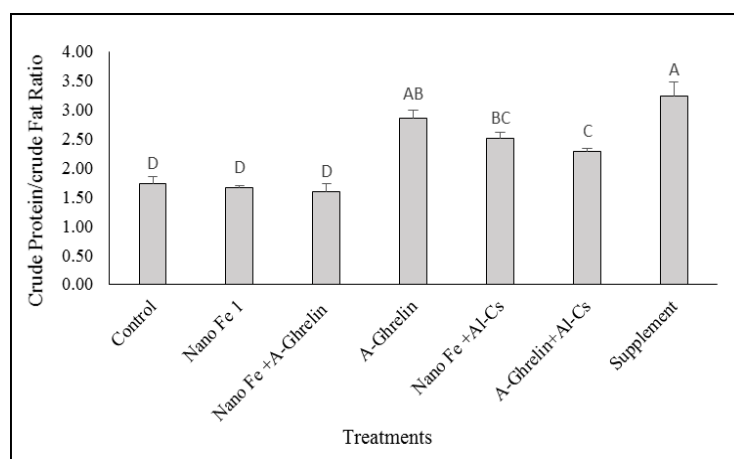
شکل ۱: اثر تیمارهای مختلف بر افزایش وزن (WG) و افزایش طول تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.

پس از ۶۰ روز تغذیه ماهیان خاویاری سیبری با جیره‌های آزمایشی، ترکیب شیمیایی لاشه تحت تأثیر تیمارهای غذایی قرار گرفت (شکل ۲). گرچه میزان خاکستر لاشه بین تیمارهای مختلف اختلاف چندانی نداشت ولی بیشترین مقدار متعلق به تیمار Nano Fe+AL-Cs و تیمار شاهد بود. کمترین مقدار متعلق به تیمار A-Ghrelin و Nano Fe+ A-Ghrelin بود. بیشترین مقدار چربی لاشه در ۳ تیمار شاهد، Nano Fe1 و Nano Fe+ A-Ghrelin مشاهده گردید. کمترین مقدار چربی لاشه متعلق به تیمار مکمل بود که با تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). بالاترین مقدار پروتئین در تیمار مکمل مشاهده گردید که با تیمار شاهد و اکثر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). کمترین مقدار پروتئین لاشه در تیمار Nano Fe+A-Ghrelin مشاهده گردید که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0.05$). بالاترین مقدار رطوبت لاشه در تیمار مکمل دیده شد که با تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). پایین‌ترین مقدار رطوبت در تیمارهای نانو آهن به همراه A-Ghrelin مشاهده گردید که با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت.



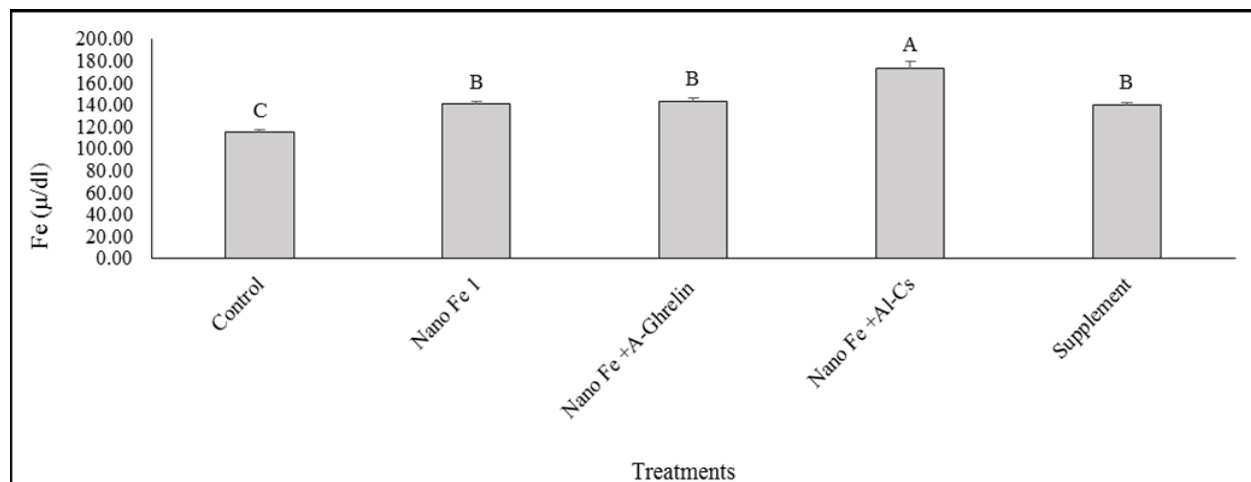
شکل ۲: اثر تیمارهای مختلف بر ترکیب لا شه (درصد خاکستر، چربی، پروتئین و رطوبت) تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.

در بررسی نسبت پروتئین به چربی بیشترین مقدار به ترتیب در تیمار مکمل (Supplement) و تیمار A-Ghrelin دیده شد که با شاهد و اکثر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۳) ($P < 0.05$). کمترین مقدار آن مربوط به ۳ تیمار شاهد، Nano Fe1 و Fe+ A-Ghrelin بود که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند ($P > 0.05$).



شکل ۳: اثر تیمارهای مختلف بر نسبت پروتئین خام به چربی خام لا شه تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.

میزان آهن در سرم خون ماهیان خاویاری سیبری پس از ۶۰ روز در تیمارهای حاوی نانوذره آهن و تیمار شاهد اندازه‌گیری شد (شکل ۴). غلظت آهن سرم در تمام تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$). بیشترین مقدار آهن در تیمار نانوذره آهن کپسوله شده با آلژینات و کیتوزان (Nano Fe+Al-Cs) مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$). سایر تیمارها گرچه نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشتند ولی فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند ($P > 0.05$).

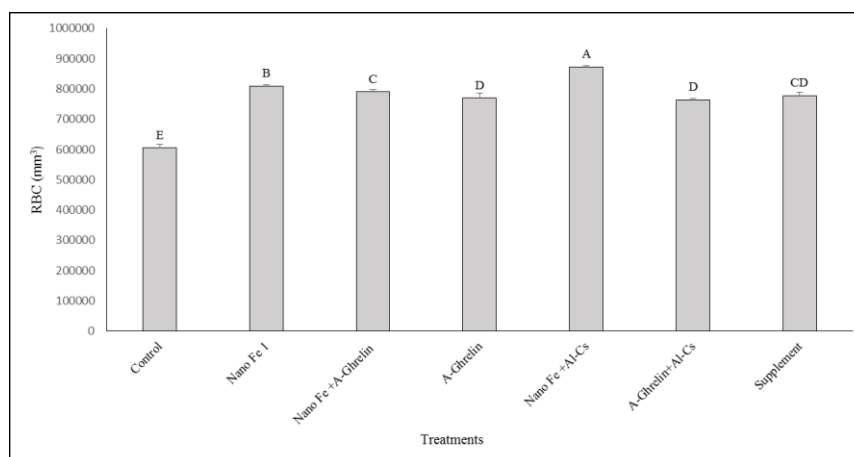


شکل ۴: اثر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن سرم خون تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.

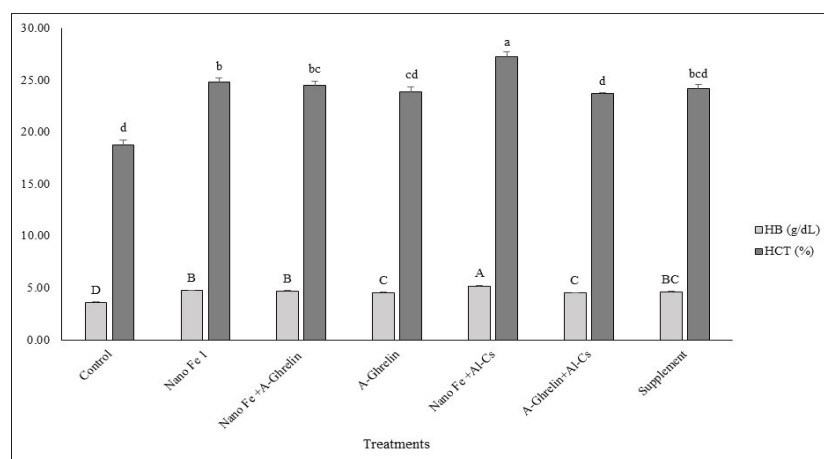
اثرات تیمارهای مختلف بر شاخص‌های خونی تاس ماهی سیبری در جدول ۲ آورده شده است. تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC) در تمام تیمارها نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد (شکل ۵) ($P < 0.05$). بیشترین مقدار این شاخص در تیمار نانو آهن کپسوله شده با آلزینات و کیتوزان (Nano Fe+AL-Cs) مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$). کمترین میزان گلبول‌های قرمز خون مربوط به تیمار شاهد بود. نتایج نشان داد که هر دو شاخص هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (HCT) افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد داشتند (شکل ۶) ($P < 0.05$). در شاخص Hb، کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار نانو آهن کپسوله شده با آلزینات و کیتوزان (Nano Fe+AL-Cs) بود که اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد و سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$). در شاخص HCT نیز روند مشابهی مشاهده شد. کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد و بیشترین مقدار متعلق به تیمار Nano Fe+AL-Cs بود.

جدول ۲: اثر تیمارهای مختلف بر شاخص های خونی تاس ماهی سیبری.

Treatments parameters	Control	Nano Fe 1	Nano Fe+ A- Ghreltin	Ghreltin	Nano Fe+ AL-Cs	A-Ghreltin+ AL- Cs	Supplement
RBC (mm ³)	605850±10394.5	809500±3535.5	790000±7071.1	770000±16970.6	872500±4949.7	764500±3535.5	777500±10606.6
HB (g/dL)	3.61±0.09	4.76±0.05	4.71±0.08	4.56±0.10	5.21±0.03	4.54±0.03	4.63±0.06
HCT (%)	18.80±0.45	24.80±0.42	24.55±0.35	23.90±0.42	27.25±0.49	23.75±0.07	24.20±0.42
MCHC (g/dL)	13.42±0.01	19.17±0.13	19.16±0.04	19.08±0.08	19.12±0.24	19.12±0.06	19.13±0.10
MCH (pg)	41.62±0.35	58.7±0.28	59.5±0.42	59.2±0	59.7±0	59.35±0.07	59.55±0.07
MCV (fL)	216.45±1.20	306±4.24	310.5±2.12	310±1.41	312±4.24	310.5±0.71	311±1.41
WBC (mm ³)	14700±210	18050±636.4	17850±636.4	20400±777.8	19150±424.3	16735±63.6	17075±1025.3
Monocytes (%)	3.85±0.49	6.5±0.71	6±1.41	5±1.41	4±1.41	3.5±0.71	4.5±0.71
Neutrophilis (%)	11.9±0.99	14.5±0.71	14.5±2.12	14.5±0.71	12.5±0.71	11.5±0.71	10.5±0.71
Lymphocytes (%)	53.55±1.48	79±0.00	78.5±0.71	80.5±2.12	83±2.83	84.5±2.1	85±1.41

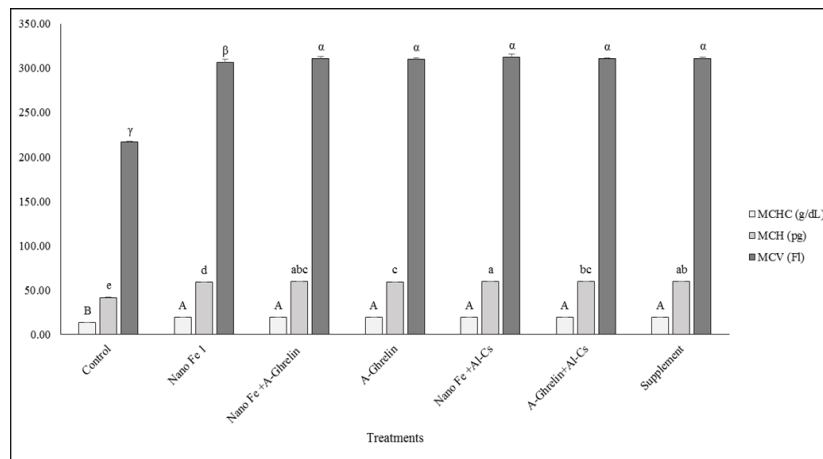


شکل ۵: اثر تیمارهای مختلف بر تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) خون تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.



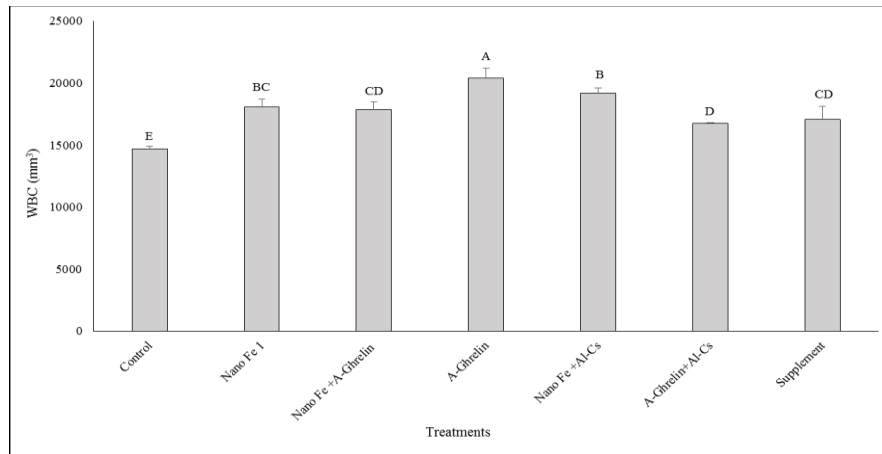
شکل ۶: اثر تیمارهای مختلف بر غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت خون تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.

در بررسی شاخص MCHC اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد و تمامی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند (شکل ۷) ($P < 0.05$). بیشترین میزان MCH در تیمار نانوذره آهن کپسوله شده با آلژینات و کیتوزان (Nano Fe+AL-Cs)، تیمار مکمل و تیمار نانوذره آهن به همراه A-Ghrelin مشاهده گردید. تمام تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند ($P < 0.05$). گرچه اختلاف چندانی بین تیمارهای مختلف دیده نشد اما تمام تیمارها افزایش معنی‌دار در میزان MCV نسبت به شاهد داشتند ($P < 0.05$).



شکل ۷: اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های گلبول قرمز ($MCHC$, MCH , MCV) خون تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.

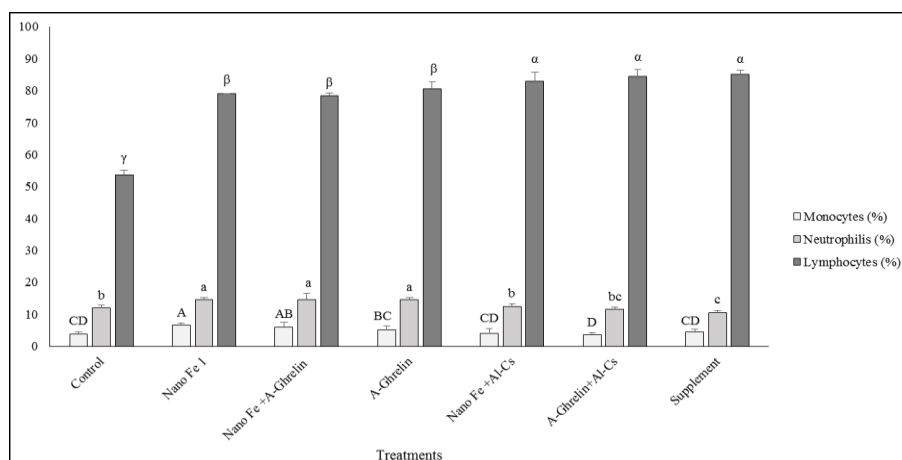
تعداد کل گلبول‌های سفید خون (WBC) پس از ۶۰ روز در تمام تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد (شکل ۸) ($P < 0.05$). بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار A-Ghrelin مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد و سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). کمترین تعداد گلبول سفید مربوط به تیمار شاهد بود.



شکل ۸: اثر تیمارهای مختلف بر تعداد گلبول‌های سفید (WBC) خون تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.

در رابطه با مونوسیت اختلاف چندانی در اکثر تیمارها با شاهد دیده نشد. بیشترین میزان مونوسیت در تیمار Nano Fe 1 مشاهده گردید که با تیمار شاهد و اکثر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۹) ($P < 0.05$). کمترین میزان مونوسیت در تیمار A-Ghrelin+AL-Cs مشاهده گردید که با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت. بیشترین درصد نوتروفیل در سه تیمار A-Ghrelin و Nano Fe + A-Ghrelin و Nano Fe 1 مشاهده گردید که دارای اختلاف معنی‌دار با شاهد بودند ($P < 0.05$). کمترین مقدار نوتروفیل در تیمار Supplement مشاهده گردید که با

تیمار شاهد و اکثر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). برر سی لنفوسیت نشان داد که تمام تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$). بیشترین افزایش لنفوسیت در سه تیمار Supplement، A-Ghrelin+AL-Cs و Nano Fe+AL-Cs مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و سایر تیمارها داشتند ($P < 0.05$) درحالی‌که بین این سه تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).



شکل ۹: اثر تیمارهای مختلف بر درصد نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت خون تاس ماهی سیبری. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($p < 0.05$) است.

بحث و نتیجه‌گیری

رشد یکی از مهم‌ترین شاخص‌های ارزیابی کارایی جیره‌های غذایی در ارزی‌پروری است و نتیجه‌نهایی تعامل میان مصرف خوراک، قابلیت هضم، جذب مواد مغذی، تنظیم متابولیسم، وضعیت هورمونی و سلامت عمومی ماهی محسوب می‌شود (Hardy, Kaushik, Mai, & Bai, 2022; Jobling, 2012). در مطالعه حاضر، تیمار Supplement که شامل پپتید A-Ghrelin به همراه نانو آهن کپسوله‌شده در سامانه آلزینات-کیتوزان است، بیشترین افزایش وزن و یکی از بالاترین مقادیر افزایش طول بدن را نشان داد. این برتری احتمالاً ناشی از اثر هم‌افزایی A-Ghrelin، نانو آهن و سامانه نانو کپسوله در بهبود استفاده از مواد مغذی است. A-Ghrelin با تحریک محور GH-IGF-1 می‌تواند سنتز پروتئین، رشد عضلانی و فرآیندهای آنابولیک را تقویت کند (Kaiya et al., 2013; Reindl & Sheridan, 2012). درحالی‌که نانو آهن با افزایش فراهمی زیستی و جذب آهن، از فرآیندهای متابولیسمی مرتبط با رشد حمایت می‌کند (Elabd et al., 2022; Mohammady et al., 2024). همچنین، سامانه آلزینات-کیتوزان با محافظت از ترکیبات فعال، آزادسازی کنترل‌شده و افزایش تماس با مخاط روده، فراهمی زیستی آن‌ها را بهبود می‌دهد (Anal & Singh, 2007; Dash et al., 2011). این نتایج با گزارش Matinfar و همکاران (۲۰۲۵) درباره بهبود رشد و کارایی تغذیه‌ای در اثر کپسوله‌سازی A-Ghrelin همخوانی دارد.

ترکیب شیمیایی لاشه نیز نشان‌دهنده نحوه تخصیص مواد مغذی میان رشد عضلانی و ذخیره انرژی است (Hardy et al., 2022; Jobling, 2012). تیمار Supplement بیشترین پروتئین خام و کمترین چربی خام را داشت که بیانگر هدایت بیشتر مواد مغذی جذب‌شده به سمت سنتز پروتئین و رشد بافت بدون چربی به‌جای ذخیره لیپیدی است. این الگو نشان‌دهنده بهبود تقسیم بندی مواد غذایی (nutrient

(partitioning) و افزایش کارایی استفاده از مواد مغذی است (Glencross, 2020; Kaushik & Seiliez, 2010). در مقابل، بیشترین چربی خام در گروه شاهد مشاهده شد که نشان می‌دهد در نبود مکمل، سهم بیشتری از انرژی دریافتی به صورت ذخیره چربی تجمع یافته است. اگرچه تیمار Nano Fe+AL-Cs بیشترین مقدار خاکستر لاشه را نشان داد، اما بهترین عملکرد رشد و بیشترین پروتئین لاشه مربوط به تیمار Supplement بود. این یافته نشان می‌دهد که افزایش ذخایر معدنی به‌تنهایی عامل تعیین‌کننده رشد نیست و بهبود عملکرد رشد بیشتر به استفاده مؤثر از مواد مغذی، سنتز پروتئین و تنظیم متابولیسم وابسته است ((Glencross, 2020)

(Glencross, 2020). همچنین، افزایش رطوبت همراه با افزایش پروتئین و کاهش چربی در تیمار Supplement با الگوی معمول تغییرات ترکیب بدن ماهیان مطابقت دارد و نشان‌دهنده افزایش سهم بافت بدون چربی و بهبود کیفیت لاشه است (Fontagné et al., 2006; Shearer, 1994). این الگو ناشی از رابطه معکوس میان آب و چربی در ترکیب بدن ماهیان است، به‌طوری‌که با کاهش رسوب لیپید و افزایش سهم بافت‌های بدون چربی، درصد رطوبت لاشه افزایش می‌یابد (Glencross, 2020; Shearer, 1994).

بالاترین نسبت پروتئین به چربی در تیمارهای Supplement و A-Ghrelin مشاهده شد که نشان‌دهنده تخصیص بیشتر مواد مغذی به سنتز پروتئین و کاهش ذخیره چربی است (Desouky, Sayed, Abasubong, & Zhang, 2024; Konnert, Gerrits, Gussekloo, & Schrama, 2022). اگرچه بین این دو تیمار اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد، نسبت پروتئین به چربی در تیمار مکمل اندکی بیشتر بود که احتمالاً ناشی از اثر توأم پپتید A-Ghrelin، نانو آهن و سامانه نانو کپسوله آلزینات-کیتوزان در بهبود پایداری، فراهمی زیستی و جذب این ترکیبات بوده است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که نانو کپسوله سازی با پلیمرهای زیست سازگار نظیر آلزینات و کیتوزان، با محافظت از ترکیبات زیست فعال در برابر شرایط دستگاه گوارش، آزاد سازی کنترل شده و افزایش فراهمی زیستی، می‌تواند کارایی جذب آن‌ها را بهبود بخشد (Anal & Singh, 2007; McClements, 2012; Zhao et al., 2011). در مقابل، پایین‌ترین نسبت پروتئین به چربی در تیمار دریافت‌کننده نانو آهن و A-Ghrelin غیر کپسوله مشاهده شد که احتمالاً به دلیل پایداری کمتر پپتید، آزاد سازی غیر کنترل شده نانو آهن و در نتیجه کاهش فراهمی زیستی این ترکیبات نسبت به فرم نانو کپسوله بوده است. این یافته‌ها با نتایج Matinfar و همکاران (۲۰۲۵) و Konnert و همکاران (۲۰۲۲) همخوانی دارد و با این دیدگاه سازگار است که بهبود کارایی استفاده از مواد مغذی و تغییر در الگوی تخصیص آن‌ها به سمت سنتز پروتئین، می‌تواند با بهبود کیفیت لاشه و کاهش تجمع چربی همراه باشد (Glencross, 2020; Kaushik & Seiliez, 2010).

آهن یکی از عناصر ضروری در ماهیان است که در سنتز هموگلوبین، تشکیل گروه هم، انتقال الکترون، متابولیسم انرژی و عملکرد سیستم ایمنی نقش مهمی دارد (Bury, Walker, & Glover, 2003). در مطالعه حاضر بیشترین آهن سرم در تیمار نانو آهن کپسوله شده با آلزینات-کیتوزان (Nano Fe+AL-Cs) مشاهده گردید که نشان‌دهنده افزایش جذب و فراهمی زیستی آهن در اثر نانو کپسوله سازی است. سامانه آلزینات-کیتوزان با محافظت از نانو ذرات آهن، افزایش تماس با مخاط روده و آزاد سازی کنترل شده، جذب و استفاده زیستی آهن را بهبود می‌دهد (Anal & Singh, 2007; Giacomello et al., 2020; Lang, Wang, Sun, Chen, & Liu, 2020). اگرچه تیمار Supplement نیز حاوی نانو آهن کپسوله شده بود، غلظت آهن سرم آن کمتر از Nano Fe+Al-Cs بود که احتمالاً به دلیل مصرف بیشتر آهن در فرآیندهای آنابولیک مرتبط با تحریک محور GH-IGF-1 و رشد بافتی است (Jobling, 2012; Triantaphyllopoulos, Cartas, & Miliou, 2020).

افزایش شاخص‌های اریترو سیتی در تیمارهای دریافت‌کننده نانو آهن نشان‌دهنده بهبود خون سازی و ظرفیت انتقال اکسیژن است. بیشترین مقادیر Hb، RBC و HCT در تیمار Nano Fe+AL-Cs مشاهده شد که احتمالاً ناشی از فراهمی زیستی بالاتر آهن و آزاد سازی تدریجی آن در سامانه آلزینات-کیتوزان است (Clauss, Dove, & Arnold, 2008; Khan et al., 2024). در تیمار Supplement نیز این شاخص‌ها نسبت به شاهد افزایش یافتند، اما مقادیر آن‌ها اندکی پایین‌تر بود که احتمالاً به مصرف بخشی از آهن جذب شده در مسیرهای رشد و

سنتز پروتئین مربوط است. افزایش همزمان Hb، RBC، MCH، MCV و HCT همراه با عدم تغییر معنی دار MCHC نشان می‌دهد که مکمل‌ها موجب بهبود اریتروپوئیز و عملکرد اریتروسیت‌ها بدون ایجاد تغییرات پاتولوژیک شدند (Campbell, 2015; Clauss et al., 2008; Fazio, 2019). این یافته‌ها با مطالعات پیشین درباره اثرات مثبت نانو آهن بر شاخص‌های خونی و وضعیت فیزیولوژیک آبزیان مطابقت دارد (Elabd et al., 2022; Mohammady et al., 2024).

افزایش تعداد گلبول‌های سفید در تمامی تیمارها نسبت به شاهد نشان‌دهنده تحریک سیستم ایمنی توسط مکمل‌های غذایی بود (Dawood, 2021; Hoseinifar et al., 2018). بیشترین مقدار WBC در تیمار A-Ghrelin مشاهده شد که احتمالاً ناشی از اثر تنظیمی گرلین بر عملکرد سلول‌های ایمنی از طریق گیرنده GHSR است (Baatar, Patel, & Taub, 2011; Kojima & Kangawa, 2005). اگرچه تیمار Supplement بالاترین WBC را نداشت، افزایش لنفوسیت‌ها همراه با مقادیر متعادل نوتروفیل و مونوسیت نشان‌دهنده ایجاد یک پاسخ ایمنی متوازن بود. افزایش لنفوسیت‌ها در تیمارهای حاوی سامانه نانوکپسوله، به‌ویژه Supplement، احتمالاً به دلیل افزایش پایداری، جذب و فراهمی زیستی A-Ghrelin و نانو آهن است (Aworunse et al., 2024; Rinaudo, 2006). همچنین، افزایش ملایم نوتروفیل‌ها در برخی تیمارها بیانگر تقویت پاسخ ایمنی ذاتی و ظرفیت فاگوسیتوز است، درحالی‌که تغییرات محدود مونوسیت‌ها نشان‌دهنده نبود پاسخ التهابی شدید است (Ángeles Esteban, 2012; Uribe, Folch, Enríquez, & Moran, 2011). در مجموع، برتری تیمار Supplement نسبت به تیمارهای حاوی اجزای منفرد نشان می‌دهد که ترکیب A-Ghrelin، نانو آهن و سامانه نانوکپسوله آلزینات-کیتوزان احتمالاً از طریق اثرات هم‌افزا موجب بهبود وضعیت هماتولوژیک و ایمنی شده است. A-Ghrelin علاوه بر نقش در تنظیم رشد، دارای اثرات تعدیل‌کننده ایمنی است، درحالی‌که آهن برای تکثیر لنفوسیت‌ها و فعالیت‌های ایمنی وابسته به سلول ضروری است (Beard, 2001; Dixit et al., 2004; Kell & Pretorius, 2014). بنابراین، افزایش فراهمی زیستی این ترکیبات در سامانه آلزینات-کیتوزان می‌تواند عامل اصلی بهبود همزمان شاخص‌های خونی و پاسخ ایمنی در تیمار Supplement باشد.

نتیجه گیری نهایی

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که مکمل نانوکپسوله حاوی A-Ghrelin و نانو آهن علاوه بر بهبود رشد و متابولیسم، موجب ارتقای شاخص‌های هماتولوژی و تقویت پاسخ ایمنی سلولی در تاس ماهی سیبری شد و می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی خوراکی عملکردی امیدبخش در آبی‌پروری مورد استفاده قرار گیرد.

تأییدیه اخلاقی: تمام آزمایش‌های این مطالعه بر اساس دستورالعمل‌های کمیته حمایت از حقوق حیوانات دانشگاه گیلان (CEUG) و با شماره مجوز IR.GUILAN.REC.1402.044 انجام شده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: این اثر تحت حمایت مالی بنیاد علم ایران (INSF) برگرفته شده از طرح شماره «۴۰۲۵۸۲۱» انجام شده است.

سهم نویسندگان: مینا احمدپور: نمونه برداری و انجام کارهای آزمایشگاهی، نگارش مقاله. بهروز حیدری: استاد راهنما و مدیر علمی پروژه، طراحی و نظارت بر پژوهش، اصلاح و ویرایش نسخه نهایی مقاله. مهوش هادوی: نمونه برداری، انجام تکنیک‌های آزمایشگاهی و تجزیه و تحلیل داده‌ها. عبدالمجید ولی‌پور: نگارش نسخه اولیه مقاله و آنالیز آماری.

منابع

Abdel-Ghany, H. M., & Salem, M. E. S. (2020). Effects of dietary chitosan supplementation on farmed fish; a review. *Reviews in Aquaculture*, 12(1), 438-452.

- Ahmadifar, E., Pourmohammadi Fallah, H., Yousefi, M., Dawood, M. A., Hoseinifar, S. H., Adineh, H. Doan, H. V. (2021). The gene regulatory roles of herbal extracts on the growth, immune system, and reproduction of fish. *Animals*, 11(8), 2167.
- Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in food science & technology*, 18(5), 240-251.
- Ángeles Esteban, M. (2012). An overview of the immunological defenses in fish skin. *International scholarly research notices*, 2012(1), 853470.
- Asad, F., Batool, N., Nadeem, A., Bano, S., Anwar, N., Jamal, R., & Ali, S. (2024). Fe-NPs and Zn-NPs: Advancing Aquaculture Performance Through Nanotechnology. *Biological Trace Element Research*, 202(6), 2828.
- Aworunse, O. S., Iheagwam, F. N., Agbetuyi-Tayo, P. T., Onwaeze, O., Fabiyi, M. B., & Ejoh, S. A. (2024). Chitosan and Nanotechnology Fundamentals. In *Nanochitosan-Based Enhancement of Fisheries and Aquaculture: Aligning With Sustainable Development Goal 14–Life Below Water* (pp. 35-63): Springer.
- Baatar, D., Patel, K., & Taub, D. D. (2011). The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. *Molecular and cellular endocrinology*, 340(1), 44-58.
- Beard, J. L. (2001). Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *The Journal of nutrition*, 131(2), 568S-580S.
- Blaxhall, P., & Daisley, K. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5(6), 771-781.
- Boyd, C. E., D'Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., . . . Tomasso Jr, J. R. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the world aquaculture society*, 51(3), 578-633.
- Bury, N. R., Walker, P. A., & Glover, C. N. (2003). Nutritive metal uptake in teleost fish. *Journal of experimental biology*, 206(1), 11-23.
- Campbell, T. W. (2015). Exotic animal hematology. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 18(1), xi-xii.
- Clauss, T. M., Dove, A. D., & Arnold, J. E. (2008). Hematologic disorders of fish. *Veterinary clinics of North America: Exotic animal practice*, 11(3), 445-462.
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., & Chiellini, E. (2011). Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in polymer science*, 36(8), 981-1014.
- Dawood, M. A. (2021). Nutritional immunity of fish intestines: important insights for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 642-663.
- Dawood, M. A., & Koshio, S. (2020). Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 987-1002.
- Desouky, H. E., Sayed, N. M., Abasubong, K. P., & Zhang, Z. (2024). A review on protein utilization and its interactions with carbohydrate and lipid from a molecular perspective in aquaculture: An implication beyond growth. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 108(6), 1650-1664.
- Dixit, V. D., Schaffer, E. M., Pyle, R. S., Collins, G. D., Sakthivel, S. K., Palaniappan, R., . Taub, D. D. (2004). Ghrelin inhibits leptin-and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *The Journal of clinical investigation*, 114(1), 57-66.
- Ebrahimi, P., Changizi, R., Ghobadi, S., Shohreh, P., & Vatandoust, S. (2020). Effect of Nano-Fe as Feed Supplement on Growth Performance, Survival Rate, Blood Parameters and Immune Functions of the Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*). *Russian Journal of Marine Biology*, 46, 493-500.
- El-Naggar, M., Medhat, F., & Taha, A. (2022). Applications of chitosan and chitosan nanoparticles in fish aquaculture. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 26(1), 23.
- Elabd, H., Youssuf, H., Mahboub, H. H., Salem, S. M., Hussein, W. A., Khalid, A., . . . Faggio, C. (2022). Growth, hemato-biochemical, immune-antioxidant response, and gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) received nano iron oxide-incorporated diets. *Fish & shellfish immunology*, 128, 574-581.
- FAO, F. (2024). The state of world fisheries and aquaculture 2024: blue transformation in action. In: *Food and Agriculture Organization (FAO)*.
- Fazio, F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*, 500, 237-242.
- Fontagné, S., Bazin, D., Brèque, J., Vachot, C., Bernarde, C., Rouault, T., & Bergot, P. (2006). Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae. *Aquaculture*, 257(1-4), 400-411.
- Giacomello, E., Sava, G., Vita, F., Delhom, N., Mahl, P., & Bergamo, A. (2020). Chitosan-coated alginate micro-particles delivery of active principles through conventional pelleted food-A study in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International journal of biological macromolecules*, 165, 82-92.

- Gisbert, E., & Williot, P. (2002). Advances in the larval rearing of Siberian sturgeon. *Journal of Fish Biology*, 60(5), 1071-1092.
- Glencross, B. D. (2020). A feed is still only as good as its ingredients: An update on the nutritional research strategies for the optimal evaluation of ingredients for aquaculture feeds. *Aquaculture nutrition*, 26(6), 1871-1883.
- Hardy, R. W., Kaushik, S. J., Mai, K., & Bai, S. C. (2022). Fish nutrition—History and perspectives. In *Fish nutrition* (pp. 1-16): Elsevier.
- Hoseinifar, S. H., Sun, Y.-Z., Wang, A., & Zhou, Z. (2018). Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in microbiology*, 9, 2429.
- Hua, K., Cobcroft, J. M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D. R., Mangott, A., Zenger, K. (2019). The future of aquatic protein: implications for protein sources in aquaculture diets. *One Earth*, 1(3), 316-329.
- Hung, S. S. (2017). Recent advances in sturgeon nutrition. *Animal Nutrition*, 3(3), 191-204.
- Jobling, M. (2012). National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp: The National Academies Press, Washington, DC, 2011, 376+ XVI pp, 128 (Hardback), ISBN: 978-0-309-16338-5. In: Springer.
- Kaiya, H., Kangawa, K., & Miyazato, M. (2013). What is the general action of ghrelin for vertebrates?—Comparisons of ghrelin's effects across vertebrates. *General and Comparative Endocrinology*, 181, 187-191.
- Kaushik, S. J., & Seiliez, I. (2010). Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture research*, 41(3), 322-332.
- Kell, D. B., & Pretorius, E. (2014). Serum ferritin is an important inflammatory disease marker, as it is mainly a leakage product from damaged cells. *Metallomics*, 6(4), 748-773.
- Khan, S. K., Dutta, J., Ahmad, I., & Rather, M. A. (2024). Nanotechnology in aquaculture: Transforming the future of food security. *Food chemistry: X*, 24, 101974.
- Kojima, M., & Kangawa, K. (2005). Ghrelin: structure and function. *Physiological reviews*, 85(2), 495-522.
- Konnert, G. D., Gerrits, W. J., Gussekloo, S. W., & Schrama, J. W. (2022). Balancing protein and energy in Nile tilapia feeds: A meta-analysis. *Reviews in Aquaculture*, 14(4), 1757-1778.
- Lang, X., Wang, T., Sun, M., Chen, X., & Liu, Y. (2020). Advances and applications of chitosan-based nanomaterials as oral delivery carriers: A review. *International journal of biological macromolecules*, 154, 433-445.
- Martinez, R., Carpio, Y., Morales, A., Lugo, J. M., Herrera, F., Zaldivar, C., Estrada, M. P. (2016). Oral administration of the growth hormone secretagogue-6 (GHRP-6) enhances growth and non-specific immune responses in tilapia (*Oreochromis sp.*). *Aquaculture*, 452, 304-310.
- Matinfar, M., Heidari, B., Valipour, A., Rahdari, T., Ramezanzpour, S., Hadavi, M., & Asghari, S. M. (2025). Superior growth performance in carp fry achieved with chitosan-alginate encapsulated A-ghrelin versus free peptide: Evidence from physiological, molecular, and morphological analyses. *PLOS one*, 20(6), e0327235.
- McClements, D. (2012). Requirements for food ingredient and nutraceutical delivery systems. In *Encapsulation technologies and delivery systems for food ingredients and nutraceuticals* (pp. 3-18): Elsevier.
- Mocanu, E. E., Savin, V., Popa, M. D., & Dima, F. M. (2022). The effect of probiotics on growth performance, haematological and biochemical profiles in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). *Fishes*, 7(5), 239.
- Mohammady, E. Y., Elashry, M. A., Ibrahim, M. S., Elarian, M., Salem, S. M., El-Haroun, E. R., & Hassaan, M. S. (2024). Nano Iron Versus Bulk Iron Forms as Functional Feed Additives: Growth, Body Indices, Hematological Assay, Plasma Metabolites, Immune, Anti-oxidative Ability, and Intestinal Morphometric Measurements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Biological Trace Element Research*, 202(2), 787-799.
- Momany, F., Bowers, C., Reynolds, G., Chang, D., Hong, A., & Newlander, K. (1981). Design, synthesis, and biological activity of peptides which release growth hormone in vitro. *Endocrinology*, 108(1), 31-39.
- Morshedi, V., Kochanian, P., Bahmani, M., Yazdani-Sadati, M., Pourali, H., Ashouri, G., Azodi, M. (2013). Compensatory growth in sub-yearling Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* Brandt, 1869: Effects of starvation and refeeding on growth, feed utilization and body composition. *Journal of Applied Ichthyology*, 29(5), 978-983.
- Mukherjee, K., Saha, A., Bhattacharjee, S., Mallick, A., & Sarkar, B. (2022). Nanoscale iron for sustainable aquaculture and beyond. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 44, 102440.
- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Buschmann, A. H., Bush, S. R., Cao, L., Klinger, D. H., . . . Troell, M. (2021). A 20-year retrospective review of global aquaculture. *Nature*, 591(7851), 551-563.
- Reindl, K. M., & Sheridan, M. A. (2012). Peripheral regulation of the growth hormone-insulin-like growth factor system in fish and other vertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 163(3-4), 231-245.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7), 603-632.

- Rodríguez-Viera, L., Martí, I., Martínez, R., Perera, E., Estrada, M. P., Mancera, J. M., & Martos-Sitcha, J. A. (2022). Feed supplementation with the GHRP-6 peptide, a ghrelin analog, improves feed intake, growth performance and aerobic metabolism in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Fishes*, 7(1), 31.
- Shearer, K. D. (1994). Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture*, 119(1), 63-88.
- Shepherd, B., Eckert, S., Parhar, I., Vijayan, M. M., Wakabayashi, I., Hirano, T., Chen, T. (2000). The hexapeptide KP-102 (D-ala-D-beta-Nal-ala-trp-D-phe-lys-NH (2)) stimulates growth hormone release in a cichlid fish (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of endocrinology*, 167(3), R7-10.
- Triantaphyllopoulos, K. A., Cartas, D., & Miliou, H. (2020). Factors influencing GH and IGF-I gene expression on growth in teleost fish: how can aquaculture industry benefit? *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1637-1662.
- Unniappan, S., & Peter, R. E. (2004). In vitro and in vivo effects of ghrelin on luteinizing hormone and growth hormone release in goldfish. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286(6), R1093-R1101.
- Uribe, C., Folch, H., Enríquez, R., & Moran, G. (2011). Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinarní medicína*, 56(10), 486.
- Wang, E., Wang, X., Wang, K., He, J., Zhu, L., He, Y., Huang, X. (2018). Preparation, characterization and evaluation of the immune effect of alginate/chitosan composite microspheres encapsulating recombinant protein of *Streptococcus iniae* designed for fish oral vaccination. *Fish & shellfish immunology*, 73, 262-271.
- Yahashi, S., Kang, K. S., Kaiya, H., & Matsuda, K. (2012). GHRP-6 mimics ghrelin-induced stimulation of food intake and suppression of locomotor activity in goldfish. *Peptides*, 34(2), 324-328.
- Zafar, N., & Khan, M. A. (2020). Effects of dietary iron on growth, haematology, oxidative stress and hepatic ascorbic acid concentration of stinging catfish *Heteropneustes fossilis*. *Aquaculture*, 516, 734642.
- Zhao, L.-M., Shi, L.-E., Zhang, Z.-L., Chen, J.-M., Shi, D.-D., Yang, J., & Tang, Z.-X. (2011). Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28(3), 353-362.