Journal of Applied Microbiology in Food Industry (Volume 12 – Issue 1) … Pages 39 to 52

Study of the effects of canola bioactive peptides, prebiotics and probiotics on growth indices, blood biochemical indices and intestinal bacterial population of Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius kessler*)

Abdullah Mohammad Jafari[1], **Ali Taheri Mirqaed [1*]**, Morteza Yousefi [1], Hossein Ali Ebrahimzadeh Mousavi [1] and Seyyed Morteza Hosseini [1]
1. Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran

Received Date:2025.12.22 Accepted Date:2026.03.01

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of canola bioactive peptides, prebiotics and probiotics on growth, blood biochemical and intestinal bacterial population indices of Caspian Sea salmon. 300 Caspian Sea salmon with an average initial weight of 10 g were allocated to each fiberglass tank in a completely randomized design with 5 treatments, 3 replications and 20 fish. The fish were fed with control treatment, 500 mg prebiotic, 1 g probiotic, 500 mg and 1 g bioactive peptides per kg of feed for 56 days. The results of the experiment showed that the fish fed with canola bioactive peptides treatment had significantly better final weight, feed conversion ratio and survival rate than other treatments ($p<0.05$). Also, in fish fed with canola bioactive peptides treatment, the concentration of immunoglobulins A and M and blood cortisol increased and decreased, respectively, compared to other treatments ($p<0.05$). The number of Lactobacilli in the intestines of fish fed with canola bioactive peptides treatment increased compared to other treatments ($p<0.05$). Also, in fish fed with canola bioactive peptides, the number of intestinal coliforms decreased compared to other treatments ($p<0.05$). According to the results of the present study, canola bioactive peptides can be used as a functional food additive in the diet of Caspian salmon.

Keywords: Canola bioactive peptides, prebiotics, probiotics, intestinal lactobacilli count, immunoglobulins A and M, cortisol, Caspian Sea salmon

* mirghaed@ut.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

Study of the effects of canola bioactive peptides, prebiotics and probiotics on growth indices, blood biochemical indices and intestinal bacterial population of Caspian Sea salmon

EXTENDED ABSTRACT

Introduction:
The aquaculture industry continuously seeks functional feed additives to enhance growth, immunity, and disease resistance while reducing reliance on antibiotics. Bioactive peptides derived from plant protein hydrolysates have gained attention due to their low molecular weight, high absorbability, and biological properties including antioxidant, antimicrobial, and immunostimulatory effects. Canola meal is the second major oilseed product in many countries, but its use in aquafeed is limited by anti-nutritional factors such as sinapine, glucosinolates, phytate, and tannins. Enzymatic hydrolysis can convert canola protein into bioactive peptides, potentially improving its nutritional value. This study aimed to compare the effects of dietary canola bioactive peptides (at two levels), a prebiotic (AgriMOS), and a probiotic (Dipro) on growth indices, blood biochemical parameters (glucose, cortisol, IgA, IgM), and intestinal bacterial populations (total bacteria, *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli*) in Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius*).

Methods:

A total of 300 juvenile Caspian salmon with an average initial weight of 10 g were distributed in a completely randomized design comprising 5 treatments, 3 replicates per treatment, and 20 fish per 300 L fiberglass tank. The experimental treatments were: 1) Control (no additive), 2) Prebiotic (AgriMOS, containing β-glucan and mannan-oligosaccharides) at 500 mg/kg feed, 3) Probiotic (Dipro, containing Bacillus licheniformis and Bacillus subtilis, 3.2×10^9 cfu/g) at 1 g/kg feed, 4) Canola bioactive peptides at 500 mg/kg feed, and 5) Canola bioactive peptides at 1 g/kg feed. All additives were coated onto a commercial basal diet using fish oil. Fish were fed for 56 days. Canola bioactive peptides were produced via enzymatic hydrolysis (Alcalase) under optimized conditions (50 °C, pH 8, 4 h), followed by centrifugation, freeze-drying, and molecular weight distribution analysis using HPLC with a TSK gel column. Growth indices including body weight increase (BWI), specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), and survival rate were calculated. At the end of the trial, blood samples were collected from the caudal vein of 5 fish per replicate. Serum cortisol and immunoglobulins (IgA and IgM) were measured using ELISA kits, and glucose was measured by enzymatic-photometric method. Intestinal samples were taken for microbiological analysis (total count, *Lactobacillus, E. coli*) using selective media (MRS, Chromoagar, and count agar). Data were analyzed using GLM procedure in SAS, with Duncan's multiple range test ($p < 0.05$.(

Results:

The canola bioactive peptides had a molecular weight range of 180–3000 Da, comprising 54.90% di- and tripeptides (180–500 Da), 39.30% oligo- and polypeptides (500–>2500 Da), and 5.80% free amino acids (<180 Da). Both levels of canola bioactive peptides significantly improved growth and feed efficiency compared to the control, prebiotic, and probiotic groups ($p < 0.05$). The highest final weight (73.57 g and 58.68 g for 500 mg and 1 g/kg, respectively) and lowest FCR (1.16 and 1.10) were recorded in fish fed bioactive peptides. Mortality rate was lowest in the peptide groups (0.53% and 0.46%) compared to control (4.37%). Prebiotic and probiotic treatments also improved growth over control but were less effective than peptides. Fish fed canola bioactive peptides exhibited significantly lower serum glucose (121.7 and 120.35 mg/dL) and cortisol (33.0 and 33.9 ng/mL) compared to all other groups ($p < 0.05$). In contrast, serum IgM and IgA levels were significantly elevated in the peptide-fed fish (IgM: 2.95 mg/dL; IgA: 2.98 mg/dL) compared to control (IgM: 1.15, IgA: 2.25) and other treatments ($p < 0.05$). The prebiotic and probiotic groups showed intermediate values. The highest intestinal Lactobacillus counts were observed in fish fed canola bioactive peptides (3.54 and 3.56 log CFU/g) and probiotic (3.10 log CFU/g), all significantly higher than control (2.19 log CFU/g) ($p < 0.05$). Conversely, E. coli counts were significantly lower in peptide-fed groups (1.90 and 1.95 log CFU/g) compared to control (2.27 log CFU/g) ($p < 0.05$). Prebiotic and probiotic treatments also reduced E. coli but to a lesser extent. Total bacterial counts followed a similar trend.

Discussion and Conclusion:

The superior growth performance and FCR in fish fed canola bioactive peptides can be attributed to the high proportion (≈55%) of di- and tripeptides, which are efficiently absorbed via intestinal peptide transporters (PepT1), enhancing nutrient uptake. The reduced cortisol levels indicate lower stress responses, possibly due to improved gut health and immunomodulation. The increase in serum IgM and IgA reflects stimulation of the humoral immune system, consistent with known bioactivities of plant-derived peptides. Furthermore, the prebiotic-like effect of these peptides promoting Lactobacillus and suppressing *E. coli* suggests a dual mechanism: direct antimicrobial action against pathogens and selective stimulation of beneficial commensals. Both tested levels (500 mg/kg and 1 g/kg) showed positive effects, with the lower dose being economically favorable. In conclusion, canola bioactive peptides produced by enzymatic hydrolysis are effective functional feed additives

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

for Caspian Sea salmon, improving growth, immunity, stress indicators, and gut microbiota composition. They offer a promising alternative to conventional prebiotics and probiotics in aquafeeds.

.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

مطالعه اثرات پپتیدهای زیست فعال کانولا، پری بیوتیک و پروبیوتیک بر شاخص های رشد، شاخص های بیوشیمیایی خون و جمعیت باکتریایی روده ماهی آزاد دریای خزر

(Salmo trutta caspius kessler)

عبدا... محمد جعفری[۱]، **علی طاهری میرقائد**[۱*]، مرتضی یوسفی[۱]، حسینعلی ابراهیم زاده موسوی[۱]، سید مرتضی حسینی[۱]

۱. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۱۲/۱۰

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر پپتیدهای زیست فعال کانولا، پری بیوتیک و پروبیوتیک بر شاخص های رشد، بیوشیمیایی خون و جمعیت باکتریایی روده ماهی آزاد دریای خزر بود. تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی آزاد دریای خزر با میانگین وزن اولیه ۱۰ گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار ، ۳ تکرار و ۲۰ قطعه به هر تانک فایبرگلاس اختصاص یافت. ماهی ها با تیمار شاهد، ۵۰۰ mg پری بیوتیک، ۱g پروبیوتیک، ۵۰۰ mg و ۱ g پپتیدهای زیست فعال در کیلوگرم خوراک به مدت ۵۶ روز تغذیه شدند. نتایج آزمایش نشان داد که ماهی های تغذیه شده با تیمار پپتیدهای زیست فعال کانولا به طور معنی داری وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی و نرخ بازماندگی بهتری نسبت به سایر تیمارها داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین ماهی های تغذیه شده با تیمار پپتیدهای زیست فعال کانولا، غلظت ایمنوگلوبین های A و M و کورتیزول خون در مقایسه با سایر تیمارها به ترتیب افزایش و کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). تعداد لاکتوباسیلوس های روده ماهی های تغذیه شده با تیمار پپتیدهای زیست فعال کانولا نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). همچنین تغذیه پپتیدهای زیست فعال کانولا، تعداد کلی فرم های روده ماهی ها در مقایسه با سایرتیمارها کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). با توجه به نتایج پژوهش حاضر، پپتیدهای زیست فعال کانولا می تواند به عنوان افزودنی غذایی فراسودمند در جیره ماهی آزاد دریای خزر استفاده شود.

کلید واژه ها : پپتیدهای زیست فعال کانولا، پری بیوتیک، پروبیوتیک، تعداد لاکتوباسیلوس های روده، ایمنوگلوبین های A و M، کورتیزول، ماهی آزاد دریای خزر

* mirghaed@ut.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

مقدمه

علم بیوتکنولوژی در سال‌های اخیر منجر به تولید فرآورده‌های مختلف غذایی شده است. یکی از این فرآورده‌ها، هیدرولیز پروتئین می‌باشد که منجر به تولید پپتیدها با وزن ملکولی پایین با قابلیت جذب بالا و محلول در آب خواهد شد. پپتیدها که نخستین بار در سال ۱۸۸۰ میلادی توسط ناگلی به عنوان محرک رشد باکتریایی در محیط کشت معرفی شدند که با اندازه کوچک نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای متابولیک موجود زنده ایفا خواهند کرد (۱). براساس مطالعات اخیر پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئین با روش‌های مختلف (آنزیمی و تخمیری)، داری ویژگی‌های فرا سودمند از جمله آنتی اکسیدانتی، محرک رشد، تقویت کننده‌ی سیستم ایمنی و ضدمیکروبی می باشند (۱، ۲، ۳ و ۴). همچنین نتایج حاصل از پژوهش ها نشان داد که پروتئین‌های هیدرولیز شده از منابع مختلف گیاهی می‌توانند اثرات مثبتی بر رشد، بازماندگی، ترشح آنزیم‌های گوارشی، مقاومت به آلودگی باکتریایی، متابولیت‌های خونی و ترکیب شیمیایی بدن داشته باشند. در این خصوص دن و همکاران در سال ۲۰۱۰، اثر سطوح مختلف پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کتان بر رشد، قابلیت هضم، ترکیب شیمیایی بدن و شاخص های بیوشیمیایی خون ماهی کپور معمولی را بررسی و سطح بهینه ۵ درصد را توصیه کردند(۵). همچنین در مطالعه هوروی و همکاران در سال ۲۰۰۵ ، افزایش استفاده از پروتئین هیدرولیز شده ماهی سبب افزایش جذب غذا در ماهی آزاد شد اما بهترین نرخ رشد با جیره‌های حاوی مقدار متوسط پروتئین هیدرولیز شده ماهی بدست آمد(۶). وجود درصد بالای پروتئین در بافت ماهیان نشان دهنده‌ی نیاز آن‌ها به اسیدهای آمینه جهت سنتز پروتئین می‌باشد که ضروری است از منابع موجود در جیره تأمین شوند. جذب اسید آمینه از طریق انتقال دهنده پپتیدها در سرتاسر دیواره سلولی روده انجام می شود که سرعت جذب با اندازه پپتیدها رابطه مستقیم دارد. این انتقال دهنده‌ها به صورت پروتئینی مسئول حمل انتخابی دی و تری‌پپتیدها در سرتاسر دیواره سلولی روده می‌باشند. یکی از این انتقال دهنده‌ها PepT1 است که در قسمت اپیتلیوم روده باریک حضور دارد. در این خصوص جنسیانا و همکاران در سال ۲۰۱۳، اثر پپتیدهای حاصل از منابع مختلف پروتئین گیاهی بر بیان ژن انتقال دهنده پپتیدها را در ماهی شانک[1] بررسی کردند (۷). براساس نتایج آن ها، اثر پپتیدهای حاصل از منابع مختلف پروتئین گیاهی بر بیان ژن انتقال دهنده پپتیدها (PepT1) متفاوت بود. بنابراین استفاده از تکنیک‌های هیدرولیز منابع مختلف پروتئین گیاهی و حیوانی با تسهیل هضم و جذب مواد مغذی در ماهی ها جهت افزایش بهره وری تولید، بسیار مهم و کاربردی می باشد(۸).کانولا دومین محصول دانه روغنی تولیدی کشور است اما به دلیل وجود برخی مواد ضد مغذی مانند سیناپین، گلوکوزینولات ها، فیتات و تانن سبب محدودیت مصرف آن در جیره حیوانات پرورشی شده است به طوری که مصرف زیاد آن منجر به اثرات منفی بر عملکرد رشد خواهد شد(۸). لذا در پژوهش حاضر جهت بهبود عملکرد رشد و افزایش شاخص های ایمنی و ضد میکروبی از پپتیدهای زیست فعال حاصل از هیدرولیز آنزیمی کنجاله کانولا به عنوان افزودنی غذایی در جیره ماهی آزاد دریای خزر استفاده شد (۹ و ۵).

مواد و روش ها

طرح آزمایشی و تیمارهای آزمایشی

جهت انجام این پژوهش، تعداد ۳۰۰ قطعه بچه ماهی آزاد دریای خزر(*Salmo trutta caspius kessler*) در ۱۵ تانک فایبرگلاس با حجم آب حدود ۳۰۰L^2 با تراکم ۲۰ عدد در هر واحد پرورشی با میانگین وزن اولیه ۱۰ g به مدت ۵۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. به منظور کاهش استرس ناشی از انتقال ماهیان به حوضچه‌ها و سازگاری با شرایط پرورشی

[1]. Liter

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

جدید، ضمن قطع غذادهی به مدت ۴۸ ساعت قبل از انتقال، ماهیان به مدت ۲ هفته با غذای فاقد تیمارهای آزمایشی تغذیه شدند. در طول دوره آزمایش آب بطور دائم درحال تعویض بود و شاخص های فیزیکی و شیمیایی آب شامل اکسیژن محلول، دما (۱۴/۱) و pH (۷/۸) در محدوده متناسب با پرورش ماهی اعمال گردید. تیمارهای آزمایشی شاهد(بدون افزودنی غذایی)،۵۰۰mg/kg پری بیوتیک اگری موس، ۱ g/kg پروبیوتیک دیپرو، ۵۰۰ mg/kg و ۱ g/kg پپتیدهای زیست فعال با روش چرب نمودن سطح خوراک به روغن ماهی (به مقدار یکسان برای تمام خوراک ها) به خوراک تجاری اضافه شدند. پروبیوتیک دیپرو[1] حاوی سویه های *باسیلوس لیکنی فورمیس*[2] و *باسیلوس سوبتیلیس*[3] با ۳/۲×۱۰[۹] cfu/g محصول شرکت تک ژن[4] ایران بود. پری بیوتیک اگری موس[5] حاوی بتاگلوکان و مانان اولیگوساکارید بود و از شرکت لالمند[6] فرانسه تهیه شده بود.

تولید پپتیدهای زیست فعال کانولا

تولید پپتیدهای زیست فعال کانولا براساس روش کریم زاده و همکاران (۱۳۹۴)[7] (۱۰). به شرح ذیل انجام شد. ابتدا پودر کنجاله کانولا در آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۵ مخلوط شده و pH مخلوط حاصل در سطح ۱۰ تنظیم شد. پس از حرارت دادن در دمای $45c^0$ به مدت ۳۰min در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. pH سوپرناتانت حاصل توسط محلول ۱ mol اسید کلریدریک در حد ۴/۵ تنظیم و سپس سانتریفیوژ شد. پروتئین ته نشین شده در آب مقطر حل و pH آن در سطح ۷ تنظیم شد. مایع حاصل ابتدا در دمای $-30c^0$ منجمد و سپس توسط دستگاه فریز درایر خشک شد تا پودر پروتئین خالص کانولا به دست آمد. به منظور تولید پپتید، پروتئین خالص کانولا در غلظت ٪ ۵ در رآکتور ۲۵۰ml حل شد و درجه حرارت و pH محلول قبل از شروع فرآیند هیدرولیز در حد اپتیمم فعالیت آنزیم تنظیم شد. ظرف مخصوص هیدرولیز بر روی صفحه مگنتیک داغ قرار داده شد و طی فرآیند هیدرولیز مخلوط به طور دائم بهم زده شد. هیدرولیز پروتئین خالص کانولا توسط آنزیم پروتاز تجاری آلکالاز محصول شرکت نووزایم دانمارک در دمای $50c^0$ و pH= ۸ طی مدت h ۴ با غلظت آنزیم به پروتئین ۱ به ۲۰ انجام شد. طی فرآیند هیدرولیز، pH مخلوط توسط هیدروکسید سدیم mol ۱ در سطح ۸ ثابت نگه داشته شد. بعد از اتمام هیدرولیز، pH توسط محلول mol ۱ کلریدریک در سطح ۴ تنظیم شد و سپس جهت غیر فعال سازی آنزیم، مخلوط در آب جوش به مدت m ۱۰ حرارت داده شد. جهت زدودن ناخالصی ها، مخلوط فوق به مدت min ۳۰ در ۸۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. مایع حاصل ابتدا در ظرف پتری دیش ریخته شد و در دمای $-30c^0$ منجمد شد. محلول منجمد توسط دستگاه فریز درایر خشک شد و در نهایت پودر پپتیدهای زیست فعال کانولا به دست آمد.

تعیین وزن مولکولی پپتیدهای زیست فعال کانولا

توزیع وزن مولکولی پپتیدهای زیست فعال کانولا با استفاده از ژل تی اس کی[8] همراه با دستگاه کرماتوگرافی مایع با کارایی بالا[9] انجام شد. استونیتریل در آب (۱:۱، حجم/حجم) حاوی تری فلورو اسید استیک (٪ ۰/۱، حجم/حجم) به عنوان فاز متحرک استفاده شد. جذب در ۲۲۵ نانومتر با سرعت جریان ml ۰/۵ در دقیقه تحت انجام شد. آلبومین سرم گاوی (۶۶۰۰۰ دالتن)، سیتوکروم c (۱۲۳۸۴ دالتن)، باکترسین (دالتن۱۴۲۳) و گلوتاتیون (۳۰۷ دالتن) به عنوان استاندارد وزن مولکولی مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش شاخص های رشد

برای آگاهی از عملکرد تیمار های آزمایشی بر چگونگی رشد ماهیان، در انتهای دوره پرورش اقدام به اندازه‌گیری شاخص های رشد شامل افزایش وزن بدن (BWI)، نرخ رشد ویژه (SGR) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) ماهیان در

[2].Dipro
[3]. *Bacillus Licheni formis*
[4] *Bacillus subtilis*
[5].Tag gen zist
[6]. Agrimos

[7].lallmand
[8]. Karimzadeh *et al*
[9].TSK gel
[10] .High-performance liquid chromatography

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

تیمارهای مختلف آزمایش و شاهد بر اساس منابع موجود (۲۵) از معادلات ریاضی محاسبه شده است.

افزایش وزن بدن (BWI): $BWI = BWf - BWi$

نرخ رشد ویژه (SGR): $SGR = [(LnWt - LnW0) \div t] \times 100$

ضریب تبدیل غذایی (FCR): $FCR = F/(Wt - W0)$

BWf= متوسط وزن نهایی.

BWi= متوسط وزن اولیه.

t= تعداد روزهای پرورش.

W0= میانگین وزن اولیه (گرم).

Wt= میانگین وزن نهایی (گرم).

F = مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی.

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون

در پایان آزمایش جهت خون‌گیری از تیمارهای آزمایشی، ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و سپس با عصاره پودر گل میخک (۱۷۰ ppm) بیهوش شدند (۲۹). پس از خشک نمودن بدن ماهی از آب و موکوس اضافی، بوسیله سرنگ از ورید ساقه دمی خون‌گیری انجام شد. خون استحصالی از هر ماهی درون تیوپ‌ها ۱/۵ cc فاقد ماده ضد انعقاد خون ریخته و نمونه‌ها در یک مخزن حاوی یخ، به آزمایشگاه هماتولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ظرف مدت سه ساعت منتقل شدند. کورتیزول با استفاده از کیت سنجش کورتیزول به روش ELISA مستقیم[1] با استفاده از کیت (مونوبایند[2]، کالیفرنیا، آمریکا) اندازه گیری شد (۲۶). در آزمایش حاضر جهت اندازه‌گیری میزان گلوکز از کیت تشخیص کمی گلوکز (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) به روش آنزیمی-فتومتری در طول موج ۵۴۰ استفاده گردید. همچنین سنجش میزان ایمونوگلوبولین M (IgM) در نمونه های سرم بر اساس روش کدورت سنجی (۲۷) با استفاده از کیت سنجش ایمونوگلوبولین (Biosystems ساخت شرکت اسپانیا) در طول موج ۳۴۰ انجام شد (۲۸).

بررسی جمعیت باکتریایی روده

به منظور بررسی تغییرات در ترکیب میکروبیوتای روده ماهی آزاد در انتهای دوره به طور تصادفی تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب شدند. پس از ضدعفونی کردن و شستشو با آب مقطر، نمونه‌ها با تیغ اسکالپل استریل، کالبدگشایی و روده آن‌ها خارج شد. نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین و جهت هموژن کردن به هاون‌های چینی استریل منتقل شد. پس از هموژن کردن نمونه‌های روده با استفاده از محلول نمکی استریل (۰/۸۷ NaCl) رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-7} تهیه شد. از هر رقت حجمی معادل ۰/۱ میلی‌لیتر به محیط کشت کانت آگار جهت تعیین تعداد کل باکتری‌ها، محیط کشت MRS جهت تعیین تعداد لاکتوباسیلوس ها و محیط کشت کروم آگار جهت تعیین اشریشیاکلی منتقل و در سطح پخش شدند(۱۰) در همه موارد پس از اتمام زمان انکوباسیون، کلنی‌ها بعد از شمارش، در عکس رقت مورد استفاده ضرب شده و سپس لگاریتم آن ها محاسبه تا لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (log CFU/g) به دست آید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به دست آمده درقالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLMو با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه دانکن در سطح معنی دار ٪ ۵ انجام شد.

مدل آماری آزمایش به صورت زیر است:

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$

X_{ij} : ارزش هر مشاهده

μ: میانگین مشاهدات

T_i: اثر تیمار

e_{ij}: خطای آزمایشی

[11]. Direct Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay

[12]. Monobind

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

نتایج

ترکیب پپتیدهای زیست فعال کانولا

نتیجه حاصل از هیدرولیز پروتئین‌ها بسته به نوع منبع پروتئینی مورد استفاده و روش هیدرولیز، حاوی نسبت‌های متفاوتی از دی و تری پپتیدها، اولیگو پپتیدها، پلی پپتیدها واسیدهای آمینه آزاد می‌باشد. با توجه به جدول۱، پپتیدهای زیست فعال استخراج شده از کنجاله کانولا به روش آنزیمی در دامنه وزن مولکولی ۱۸۰ تا ۳۰۰۰ دالتون بود و حاوی ٪ ۵۴/۹۰ دی و تری پپتید (۱۸۰ تا ۵۰۰ دالتون)، ٪ ۳۹/۳۰ اولیگوپپتید و پلی پپتید (۵۰۰ تا بیش از ۲۵۰۰ دالتون) و ٪ ۵/۸۰ اسید آمینه (کمتر از ۱۸۰ دالتون) بود.

جدول ۱: توزیع وزن مولکولی پپتیدهای زیست فعال کانولا

ردیف	دامنه وزن مولکولی (دالتون)	پپتیدهای زیست فعال (درصد)
۱	>۳۰۰۰	۰/۰۹
۲	۲۰۰۰-۳۰۰۰	۰/۸۹
۳	۱۰۰۰-۲۰۰۰	۱۱/۶۳
۴	۵۰۰-۱۰۰۰	۲۶/۶۹
۵	۱۸۰-۵۰۰	۵۴/۹۰
۶	۱۸۰ >	۵/۸۰

شاخص‌های رشد

باتوجه به نتایج جدول ۲، وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. به طوری که بیشترین وزن و کمترین ضریب تبدیل غذایی متعلق به پپتیدهای زیست فعال کانولا بود($p<۰/۰۵$). همچنین ماهی های تغذیه شده با تیمارهای پپتیدهای زیست فعال کانولا دارای کمترین تلفات بود($p<۰/۰۵$). بنابراین در پژوهش حاضر استفاده از پپتیدهای زیست فعال کانولا به عنوان افزودنی غذایی در جیره ماهی آزاد دریای خزر سبب بهبود شاخص های رشد شد.

جدول ۲. اثر پپتیدهای زیست فعال کانولا، پری بیوتیک و پروبیوتیک بر شاخص های رشد و تلفات ماهی آزاد دریای خزر

شاخص	شاهد	پری بیوتیک	پروبیوتیک	پپتید mg/kg ۵۰۰	پپتید ۱g/kg	خطای استاندارد میانگین ها	سطح احتمال
وزن نهایی (گرم)	۴۰/۵۹^{c}	۴۵/۶۷^{b}	۴۵/۱۴^{b}	۵۷/۷۳^{a}	۵۸/۶۸^{a}	۸/۲۱	<۰/۰۰۱
ضریب تبدیل غذایی	۱/۴۲^{a}	۱/۲۸^{b}	۱/۳۰^{b}	۱/۱۶^{c}	۱/۱۰^{c}	۰/۷۹	۰/۰۰۱
تلفات (درصد)	۴/۳۷^{a}	۲/۳۳^{b}	۲/۱۲^{b}	۰/۵۳^{c}	۰/۴۶^{c}	۵/۳۰	<۰/۰۰۲

^{abc}: میانگین‌هایی که در هر ردیف با حروف متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی داری می‌باشند *($p<۰/۰۵$)*.

شاخص های بیوشیمیایی خون

باتوجه به نتایج جدول ۳، استفاده از پپتیدهای کانولا در جیره غذای ماهی آزاد دریای خزر و بررسی اثرات آن بر شاخص های بیوشیمیایی خون نشان داد که غلظت گلوگز و کورتیزول خون ماهی های تغذیه شده با تیمارهای پپتیدهای زیست فعال کانولا نسبت به سایرگروه ها کاهش یافت و در مقابل غلظت ایمنوگلوبین A (IgA) و ایمنوگلوبین M (IgM) خون افزایش یافت.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

جدول ۳. اثر پپتیدهای زیست فعال کانولا، پری بیوتیک و پروبیوتیک بر غلظت گلوکز و کوتیزول، IgA و IgM خون ماهی آزاد دریای خزر

شاخص	شاهد	پری بیوتیک	پروبیوتیک	پپتید mg/kg ۵۰۰	پپتید 1 g/kg	خطای استاندارد میانگین ها	سطح احتمال
IgM (میلی گرم در دسی لیتر)	^{c}۱/۱۵	^{c}۱/۱۳	^{b}۱/۲۹	^{b}۱/۳۰	۲/۹۵^{a}	۰/۳۳	۰/۰۰۱
IgA (میلی گرم در دسی لیتر)	^{c}۲/۲۵	^{c}۲/۲۷	^{b}۲/۴۰	۲/۴۴^{b}	۲/۹۸^{a}	۰/۱۸	۰/۰۰۳
گلوکز	^{a}۱۹۵/۱	^{b}۱۳۹/۵	^{b}۱۳۶/۳	^{c}۱۲۱/۷	^{c}۱۲۰/۳۵	۲/۹	۰/۰۰۱
کورتیزول	^{a}۴۶/۵	^{b}۴۲/۲	^{b}۴۱/۷	^{c}۳۳/۰	^{c}۳۳/۹	۳/۲	۰/۰۰۱

^{abc}: میانگین‌هایی که در هر ردیف با حروف متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی داری می‌باشند *(p<۰/۰۵)*.

جمعیت باکتریایی روده

با توجه به نتایج جدول ۴، تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت کل باکتری های، لاکتو*باسیلوس ها* و *اشریشیاکلی* روده معنی‌دار بود (p<۰/۰۵)، به طوری که جمعیت لاکتو *باسیلوس های* روده ماهی های تغذیه شده با تیمارهای پپتید زیست فعال کانولا و پروبیوتیک در مقایسه با سایر تیمار ها به طور معنی داری بالا تر بود (p<۰/۰۵). در حالی که تیمار شاهد پایین ترین جمعیت لاکتو*باسیلوس ها* را داشت (p<۰/۰۵). همچنین جمعیت *اشریشیاکلی* روده ماهی های تغذیه شده با تیمارهای پپتیدهای زیست فعال کانولا، پری بیوتیک و پروبیوتیک نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری پایین تر بود (p<۰/۰۵).

جدول۴. اثر پپتیدهای زیست فعال کانولا، پری بیوتیک و پروبیوتیک بر جمعیت باکتریایی روده ماهی آزاد دریای خزر (log۱۰ cfu/g)

	شاهد	پری بیوتیک	پروبیوتیک	پپتید پپتید ۵۰۰mg/kg	1 g/kg	خطای استاندارد میانگین ها	سطح احتمال
کل باکتری	۴/۸۹^{ab}	۴/۷۶^{b}	۵/۰۸^{a}	۵/۱۹^{a}	۵/۱۵^{a}	۰/۰۵	۲<.000
لاکتو*باسیلوس*	۲/۱۹^{c}	۳/۰۷^{b}	۳/۱۰^{b}	۳/۵۶^{a}	۳/۵۴^{a}	۰/۰۷۲	<.0001
اشریشیاکلی	۲/۲۷^{a}	۱/۹۵^{b}	۱/۹۲^{b}	۱/۹۵^{b}	1/۹۰^{b}	۰/۲۴۵	<.0001

^{abc}: میانگین‌هایی که در هر ردیف با حروف متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی داری می‌باشند *(p<۰/۰۵)*.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

بحث

در پژوهش حاضر با توجه به گزارشات پژوهشگران در خصوص نقش پپتیدها در افزایش جذب مواد مغذی و بهبود شاخص های رشد (۱۴) سعی شده تا از پپتیدها با وزن مولکولی پایین به عنوان افزودنی غذایی در جیره ماهی آزاد دریای خزر استفاده شود. براساس نتایج این پژوهش، استفاده از پپتیدهای زیست فعال کانولا به عنوان افزودنی غذایی در جیره ماهی آزاد دریای خزر سبب بهبود شاخص های رشد و افزایش بازماندگی ماهی شد ($p<۰/۰۵$). رشد و توسعه موجودات نتیجه مستقیم جذب مواد مغذی می‌باشد لذا عوامل مختلفی ازجمله انتقال دهنده‌های پپتیدها نقش به سزای در بازده جذب مواد مغذی دارند. انتقال دهنده‌های پپتیدها، پروتئین‌های متصل به غشای سلول می‌باشند که مسئول انتقال انتخابی پپتیدهای کوچک در سرتاسر دیواره سلولی هستند. این گروه از انتقال دهنده‌ها براساس عملکرد و محل فعالیت دارای انواع مختلفی می باشند که mRNA نوع Pep T1 در روده ماهی قزل آلا دارای فراوانی بیشتری می باشد. براساس نتایج مطالعات انجام شده میزان فراوانی mRNA این ژن در مراحل مختلف توسعه و ترکیبات مختلف جیره از جمله استفاده اسیدهای آمینه، پپتیدها و فاکتورهای رشد، متفاوت می‌باشد (۱۴). لذا در این پژوهش بهبود شاخص های رشد به دلیل تسهیل جذب مواد مغذی با استفاده از پپتیدهای وزن مولکولی پایین که حاصل هیدرولیز پروتئین کنجاله کانولا است، باشد. همچنین براساس بررسی منابع ، در استفاده از پپتیدها درجیره غذایی بیشتر به جنبه‌های درمانی آن توجه می‌شود. بطوریکه در اکثر این پژوهش ها، از موجوداتی که دچار تنش‌های مختلف (ازجمله بیماری، عبور از یک مرحله زندگی و غیره) بودند، استفاده شد زیرا کاهش مصرف خوراک به همراه چنین تنش‌های منجر به کاهش جذب مواد مغذی خواهد شد. در برخی از این مطالعات با یک چنین رویکردی مشخص شد که کاهش اشتها و سوء تغذیه در این شرایط ممکن است به علت کاهش ارتفاع پرزهای روده باریک و تغییر میکروبیوتایدستگاه گوارش باشد. در این خصوص کریم‌زاده و همکاران (۱۳۹۶) که از پپتیدها در جیره غذایی جوجه گوشتی استفاده کردند نیز افزایش طول پرزهای روده و بهبود باکتری های مفید روده را گزارش نمودند (۱۵). لذا با توجه به این نتایج می‌توان بیان کرد که بهبود رشد و ضریب تبدیل غذایی در پژوهش حاضر به علت بهبود دستگاه گوارشی موجود و افزایش قابلیت هضم و جذب برخی از مواد مغذی باشد. از آنجا که در این گونه پژوهش ها نوع منبع پروتئینی و درجه هیدرولیز تأثیر بسزایی در نتایج خواهند داشت (۱۴) باید ذکر شود که در اکثر مطالعات موجود از منابع پروتئینی مختلف با درجه هیدرولیز پایین تر بعنوان جایگزین بخشی از منابع پروتئینی جیره استفاده شده است (۵ و ۶) با این وجود نتایج حاصل از پژوهش حاضر که از پروتئین هیدرولیز شده با درجه بالای هیدرولیز که حاوی مقادیر بالاتری از دی و تری پپتید ها (٪۵۴) استفاده شد، با یافته سایر پژوهشگران حتی آن‌هایی که از پروتئین هیدرولیز شده با درجه پایین در جیره غذایی گونه‌های پرورشی مورد مطالعه استفاده نموده بوند، همخوانی نشان داد.

همچنین اوتاسزوسکا و همکاران در سال ۲۰۱۰ در یک بررسی مقایسه‌ایی تأثیر اسیدهای آمینه آزاد و دی پپتیدها در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا بر بیان ژن انتقال دهنده پپتیدها را مورد مطالعه قرار دادند. براساس نتایج گزارش شده ماهی های تغذیه شده با تیمار پپتید نسبت به تیمار شاهد از نظر رشد و بقا از شرایط بهتری برخوردار بودند (۱۴). کورتیزول یکی از شاخص های مورد بررسی در این پژوهش است که واکنش اولیه آن در پاسخ به شرایط تنش محیط پرورشی ماهی با افزایش رهاسازی آن در خون می‌باشد. لذا با توجه نقش پپتیدها در تقویت سیستم ایمنی و بهبود شرایط که در مطالعات دیگر ثابت شده است (۵) انتظار بر این بود که استفاده آن در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر سبب کاهش سطح کورتیزول در سرم خون شود. که این اتفاق در خون ماهی های تغذیه شده با تیمار پپتیدهای زیست فعال کانولا مشاهده شد. در این خصوص باید به این نکته اشاره نمود که بر اساس برخی از نتایج گزارش شده در این ضمینه، غلظت کورتیزول در سرم خون بعد از خوردن غذا افزایش

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

می‌یابد. مطالعات تکمیلی مشخص نمود که تأثیر غذاهای حاوی پروتئین بیشتر، در مقابل کربوهیدرات این موضوع را تشدید خواهد کرد (۱۷ و ۱۸). بندیک و همکاران (۲۰۰۵) در طی بررسی مکانیسم آزاد سازی کورتیزول دریافتند که استفاده از پپتیدهای حاصل از پروتئین هیدرولیز شده توانایی بیشتری در کاهش سطح کورتیزول خواهد داشت (۱۹). در این پژوهش نیز ما شاهد روند مشابه‌ای بوده‌ایم و کمترین مقدار کورتیزول را در سرم خون گروهی از ماهیان که در جیره‌شان ازپپتیدهای استفاده شد، مشاهده گردید. همچنین دن و همکاران (۲۰۱۰) نقش پروتئین هیدرولیز شده پودر کتان را در جیره غذایی ماهی کپور بر سیستم ایمنی مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که سطح کورتیزول در سرم خون ماهیانی که از مقدار بیشتری پروتئین هیدرولیز شده تغذیه شدند، پایین تر بود و دلیل آن را به حضور بیشتر پپتیدهای کوچکتر در جیره مورد استفاده نسبت دادند (۵). در واقع پپتیدهای زیست فعال موجود در پروتئین هیدرولیز شده قبل از جذب و ورود به سرم خون یک اثر تحریک کنندگی بر مخاط دستگاه گوارش خواهند داشت (۱۹). علاوه براین حضور پپتیدهای زیست فعال در معده ممکن است سبب تحریک آزادسازی هورمون‌های روده‌ای مانند کوله-سیستوکینین شود و درنتیجه فعالیت ترشحی محور «هیپوتالاموس، هیپوفیز و آدرنال» تحریک کند (۲۰). البته باوجود اطلاعات موجود در خصوص نقش محور «هیپوتالاموس، هیپوفیز و آدرنال» در ترشح و آزاد سازی کورتیزول، نحوه عملکرد و عوامل تأثیر گذار بر این محور به روشنی مشخص نمی‌باشد اما آنچه که مسلم است افزودنی مورد استفاده در پژوهش حاضر، حاوی درصد بالایی از (۵۴/۹۰٪) پپتیدها با وزن ملکولی پایین می‌باشد لذا به استناد پژوهش های مشابه می‌توان یک چنین اثرای را انتظار داشت. متعاقب کاهش کورتیزول در نتیجه افزایش پپتیدها در جیره غذایی میزان گلوکز نیزکاهش یافت و کمترین مقدار آن در گروه‌هاپپتیدهای زیست فعال کانولا مشاهده شد. این موضوع در راستای افزایش میزان و قابلیت جذب پپتیدها می-باشد که بواسطه پپتیدهای زیست فعال کانولا در اختیار ماهی قرار گرفت. لذا جهت تامین انرژی لازم برای سوخت ساز پس از کاهش کورتیزول، مقدار گلوکز نیزکاهش یافت که بازتاب این موضوع را می‌توان در حصول نتایج بهتر در شاخص‌های رشد در گروه پپتیدهای زیست فعال کانولا مشاهده نمود.

ایمنوگلوبولین‌ها به عنوان بخشی از سیستم دفاعی موجودات در برابر عوامل بیماری‌زا مطرح می‌باشند. ایمنوگلوبولین نوع M و A در آبزیان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (۲۱). در مطالعاتی که از محرک‌های ایمنی در تغذیه موجودات استفاده شده است غلظت آن ها در خون افزایش نشان می‌دهد (۲۱). براساس نتایج بدست آمده در این مطالعه استفاده از پپتیدهای زیست فعال کانولا در جیره ماهی آزاد دریای خزر موجب افزایش غلظت IgM و IgA در سرم خون شد و بیشترین مقدار آن در گروهی از ماهیان که در جیره آن‌ها از پپتیدهای زیست فعال کانولا استفاده شد، مشاهده شد که مشابه یافته‌های سایر محققین می‌باشد (۲۲). پروتئین‌ها حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات زیست فعال می‌باشند که می‌تواند اثرات مطلوبی بر سیستم ایمنی موجودات بگذارد (۲۳) این اثرات را می‌توان به پپتیدهای موجود در پروتئین نسبت داد که در نتیجه هضم در دسترس موجود قرار می‌گیرد (۲۴). لذا تولید پپتیدها با وزن ملکولی کوچک که هدف این پژوهش بود (۵۴/۹۰٪ با وزن مولکولی در دامنه ۱۸۰ da[1] تا ۵۰۰ da) می‌تواند سبب بروز یک چنین پاسخی شده باشد.

نتایج حاصل از جمعیت باکتریایی روده نشان داد که استفاده از پپتیدهای زیست فعال کانولا در جیره ماهی آزاد دریای خزر می تواند جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و اشریشیاکلی را به ترتیب افزایش و کاهش دهد. در واقع پپتیدهای زیست فعال کانولا به‌عنوان یک محیط کشت خوب برای رشد لاکتوباسیلوس‌ها عمل کرد. پپتیدها به ویژه

[13]. Dalton

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

اولیگو پپتیدها و پلی پپتیدها دارای ویژگی پربیوتیکی هستند و بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا داخل روده گیرنده‌هایی دارند که می‌توانند به پپتیدها متصل و از روده دفع شوند همچنین به دلیل ماهیت شیمیایی آن‌ها، در بخش‌های بالایی دستگاه گوارش هضم و جذب نمی‌شوند و هنگامی که وارد کولون و روده کور می‌شوند به عنوان سوبسترای باکتری‌های این ناحیه از دستگاه گوارش عمل می‌کنند. با توجه به اینکه پپتیدها دارای ویژگی پربیوتیکی هستند می‌توانند سبب افزایش جمعیت باکتری‌های مفید روده شوند و باکتری‌های مفید روده با تولید متابولیت‌هایی مانند باکتریوسین و اسید لاکتیک سبب کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا روده میزبان شوند (۱۰). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داد که تغذیه با پپتیدها، جمعیت باکتریایی مفید موجود در دستگاه گوارش حیوان را حفظ و ویژگی باکتری‌های مولد اسید لاکتیک تا حد زیادی به فرآورده‌های حاصل از متابولیسم آن‌ها نسبت داده می‌شود. پپتیدها با کاهش جمعیت باکتریایی گرم منفی بیماری‌زا مانند اشریشیاکلی و از طریق کاهش pH سبب افزایش جمعیت باکتری‌های گرم مثبت مفید مانند لاکتوباسیل‌های روده می‌شوند(۱۵).

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر استفاده از مقادیر ۵۰۰ mg/kg و 1 g/kg پپتیدهای زیست فعال کانولا در جیره ماهی آزاد دریای خزر سبب افزایش عملکرد رشد و بهبود شاخص های ایمنی و جمعیت باکتریایی مفید روده شد. لذا پیشنهاد می شود از پپتیدهای زیست فعال کانولا به عنوان افزودنی غذایی فراسودمند در جیره ماهی آزاد دریای خزر استفاده شود.

تشکر و قدر دانی

پژوهشگران از سرکار خانم دکتر مریم تاج آبادی مدیر عامل محترم شرکت تک ژن زیست و همچنین مهندس نادری کارشناس محترم شرکت پاک گستر پرند به خاطر در اختیار قرار دادن پروبیوتیک دیپرو و پری بیوتیک اگری موس تشکر می نمایند.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

منابع

1. Wang, J., Yan, X., Lu, R., Meng, X., Nie, G. Peptide transporter 1 (PepT1) in fish: A review. Aquaculture and Fisheries. 2017; 1-14.
2. Che, L., Robinson, D. Industrial choice for protein production by large scale cell cultures. Curr Opin Biotechnol. 2001; 12: 180.
3. Pasupuleti, V.K. Proteins power up. Food Technology. 2006; 2: 55.
4. Sobharani, P., Agrawal, R. Supplementation of adjuvants for increasing the nutritivevalue and cell viability of probiotic fermented milk beverage. International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics.2009; 1: 14.
5. Gui D, Liu W, Shao X, Xu W. Effects of different dietary levels of cottonseed meal protein hydrolysate on growth, digestibility, body composition and serum biochemical indices in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Animal Feed Science and Technology. 2010 Mar 30;156(3-4):112-20.
6. Hevroy, E.M., Espe, M.,Waagbo, R., Sandnes, K., Ruud, M., Hemre, G.I. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmon salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition. 2005; 11: 301.
7. Genciana, T., Lidia, R., Marisol, I., AnnaGiulia, C., Silvia, M., Giovanni, B., Marco, S. PepT1 mRNA expression levels in sea bream (*Sparus aurata*) fed different plant protein sources. Biomedical and Life Sciences. 2013; 2: 17.
8. Lacki, K., Duvnjak, Z. Decrease of phenolic content in canola meal using a polyphenol oxidase preparation from Trametesversicolor: effect of meal saccharification. Biotechnology Techniques. 1998; 12(1): 31.
9. ValdezOrtiz, A., Fuentes-Gutiérrez, C.I., Germán-Báez, L.J., Gutiérrez-Dorado, R., Medina-Godoy, S. Protein hydrolysates obtained from Azufrado (*Sulphur yellow*) beans (*Phaseolus vulgaris*): Nutritional, ACE-inhibitory and antioxidative Characterization. LWT, Food Science and Technology.2012; 46: 91.
10. Karimzadeh, S., Rezaei, M., Teimouri, A. Effects of Canola Bioactive Peptides on Performance, Digestive Enzyme Activities, Nutrient Digestibility, Intestinal Morphology and Gut Microflora in Broiler Chickens. Poultry Science Journal. 2016; 4 (1): 27.
11. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology Biochem. 2004; 30: 21.
12. Refstie, S., Olli, J.J., Standal, H. Feed intake, growth, and protein utilization by post-smolt Atlantic salmon (*Salmon salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. Aquaculture. 2004; 239: 331.
13. Oliva-Teles, A., Cerqueira, A.L., Gonc, A.P. The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. Aquaculture. 1999; 179: 195.
14. Ostaszewska, T., Kamaszewski, M., Grochowski, P., Dabrowski, K.,Verri, T., Aksakal, E., Szatkowska, I., Nowak, Z., Dobosz, S. The effect of peptide absorption on PepT1 gene expression and digestive system hormones in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A. 2010; 155: 107.
15. Karimzadeh, S., Rezaei, M., Teimouri, A. Effect of canola meal peptides, antibiotic, probiotic and prebiotic on intestinal morphology and gut bacterial population in broiler chicks. Applied Microbiology in Food Industries. 2017; 2: 16.
16. Duncan, J.R., Prasse, K.W., Mahaffey, E.A. Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology. 3rd ed. Ames. USA. Iowa State University Press. 1994; PP: 112.
17. Nuttall, F.Q., Gannon, M.C., Ahmad, M. Elevation of serum cortisol concentration following ingestion of a high protein meal in normal subjects. Clin Res. 1997; 27:680A.
18. Gibson, E.L., Checkley, S., Papadopoulos, A., Poon, L., Daley, S., Wardle, J. Increased salivary cortisol reliably induced by a protein-rich midday meal. Psychosom Med. 1999; 61: 214.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]

19. Benedict, C., Hallschmid, M., Scheibner, J., Niemeyer, D., Schultes, B., Merl, V., Fehm, H.L., Born, J., Kern, W. Gut protein uptake and mechanisms of meal-induced cortisol release. J Clin Endocrinol Metab. 2005; 90 (3): 1692.

20. Abelson, J.L., Young, E.A. Hypothalamic-pituitary adrenal response to cholecystokinin-B receptor agonism is resistant to cortisol feedback inhibition. Psychoneuroendocrinology. 2003; 28: 169.

21. Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, M.A. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.). Vet Immunol Immunopathol. 2004; 101(3-4): 203.

22. Hong-gang, T., Tian-xing, W., Zhan-yu, Z., Xiao-dong, P. Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). Journal of Zhejiang University SCIENCE B. 2008; 9: 686.

23. Pascual, C., Zenteno, E., Cuzon, G., Sánchez, A., Gaxiola, G., Taboada, G., Suárez, J., Maldonado, T., Rosas, C. Litopenaeus vannamei juveniles energetic balance and immunological response to dietary protein. Aquaculture. 2004; 236(1-4):431.

24. Kotzamanis, Y.P., Gisbert, E., Gatesoupe, F.J., Zambonino, I.J., Cahu, C. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to Vibrio anguillarum in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol. 2007; 147(1): 205.

25. Ronyai, A., peteri, A., Radics, F. Cross breeding of starlet and lena river sturgeon. Aquaculture Hungrica szarwas. 1990; 6:13-18.

26. Deane, E.E., Woo, N.Y. Ontogeny of thyroid hormones, cortisol, hsp70 and hsp90 during silver sea bream larval development. Life sciences. 2003; 72(7): 805-818.

27. Yamamoto, T., Yonemasu, K. Multiple molecular forms of serum immunoglobulin M in a patient withWaldenstro¨m's macroglobulinemia. Clinica Chimica Acta. 1999; 289: 173–176.

28. Narayanan, S. Method-Cmparison Studies on immunoglobulins. Clin chem. 1982; 28: 1528-1531.

29. Rastiannasab A., Hosseini, S.A., Sharif Rohani, M., Gandomkar, H., Nekoyiefard, A., Gorjipour, E. The control of recovery process with clove tree (*Eugenia caryophyllata*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Scientific fisheries Journal. 2014; 23; 117-123.

.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-06-07]