

تأثیر پپتیدهای کانولا، پروبیوتیک و پری بیوتیک بر عملکرد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و جمعیت برخی باکتری‌های هوازی انتهای روده باریک (ایلنوم) جوجه‌های گوشتی

صادق کریمزاده^۱، منصور رضایی^{۲*} و اسدالله تیموری یانسری^۳

۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق دکتری، استاد و دانشیار، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۲۶)

چکیده

هدف از این آزمایش بررسی تأثیر پپتیدهای منداب اصلاح شده روغنی کانادایی یا کانولا (استخراج شده با روش آبکافت یا هیدرولیز آنزیمی از کنجاله کانولا)، پروبیوتیک و پری بیوتیک بر عملکرد تولیدی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و جمعیت برخی باکتری‌های هوازی انتهای روده باریک (ایلنوم) در جوجه‌های گوشتی بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، چهار تکرار و ده قطعه جوجه‌خروس در هر تکرار انجام شد. جوجه‌های گوشتی با جیره بدون افزودنی غذایی (شاهد)، ۲۰۰ میلی‌گرم پادزی (آنتی بیوتیک)، ۱ گرم پری بیوتیک، ۴۰۰ میلی‌گرم پروبیوتیک و ۲۵۰ میلی‌گرم پپتید کانولا در کیلوگرم خوراک برای مدت ۴۲ روز تغذیه شدند. افزودن پپتیدهای کانولا و پروبیوتیک در جیره غذایی سبب افزایش وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های رشد (۱۱ تا ۲۸ روزگی) و کل دوره پرورش (۱ تا ۴۲ روزگی) در مقایسه با دیگر گروه‌ها شد ($P < 0/05$). بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری در مصرف خوراک مشاهده نشد. فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز روده جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۲۵۰ میلی‌گرم پپتیدهای کانولا در کیلوگرم خوراک بالاتر از دیگر گروه‌ها بود ($P < 0/05$). افزودن پپتیدهای کانولا و پروبیوتیک، شمار باسیلوس‌های انتهای روده باریک را در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی افزایش داد ($P < 0/05$). نتیجه‌گیری شد که پپتیدهای کانولا سبب افزایش وزن بدن، کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش فعالیت آمیلاز، لیپاز و پروتئاز روده و افزایش شمار باسیلوس‌های انتهای روده باریک در مقایسه با دیگر تیمارهای آزمایشی شد.

واژه‌های کلیدی: آنتی بیوتیک، باسیلوس‌های روده، پپتیدهای کانولا، ضریب تبدیل غذایی.

Effect of canola peptides, antibiotic, probiotic and prebiotic on performance, digestive enzymes activity and some ileal aerobic bacteria in broiler chicks

Sadegh Karimzadeh¹, Mansour Rezaei^{2*} and Asadolah Teimouri-Yansari³

1, 2, 3. Former Ph. D. Student, Professor and Associate Professor, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran

(Received: Dec. 6, 2016 - Accepted: May 16, 2017)

ABSTRACT

The aim of the present experiment was to evaluate the effect of canola peptides (produced by enzymatic hydrolysis of canola meal), antibiotic, probiotic and prebiotic on growth performance, digestive enzymes activity and some aerobic bacteria in broiler chicks. The experiment was conducted in a completely randomized design with 5 treatments 4 replicates of 10 male chicks each. Broiler chicks were fed on a diet with no feed additive (Control) or containing, 200 mg /kg antibiotic, 1 g /kg prebiotic, 400 mg/kg probiotic and 250 mg /kg canola peptides from day 1 to 42 of age. Results indicated that addition of canola peptides and probiotic to diet increased ($P < 0.05$) body weight gain and decreased feed conversion ratio during days 11 to 28 d and 1 to 42 of age compared to the other groups ($P < 0.05$). No significant differences observed among experimental treatments for feed intake. Digestive amylase, lipase and protease activity in chickens fed with 250 mg /kg canola peptides was greater than birds receiving other supplemented birds ($P < 0.05$). Adding canola peptides and probiotic increased ileal *Basiluss* count compared to the other experimental treatments. It is Concluded that canola peptides increased body weight gain, decreased feed conversion ratio, increased intestinal amylase, lipase and protease activity, and ileal *Basiluss* count compared to the other experimental treatments.

Keywords: Antibiotic, canola peptides, feed conversion ratio, intestinal *Basiluss*.

* Corresponding author E-mail: mrezaei2000@yahoo.com

Tel: +98 911 1557321

مقدمه

صنعت مرغداری یکی از زیر بخش‌های مهم و دارای رشد بالا در کشاورزی جهان و ایران به شمار می‌آید. امروزه نیز حدود ۶۰ درصد از مصرف سرائه گوشت هر ایرانی از گوشت مرغ تأمین می‌شود (USDA, 2016). متأسفانه استفاده نامناسب و زیاد از پادزی (آنتی بیوتیک)‌های محرک رشد در این صنعت سبب افزایش مقاومت پادزیستی باکتری‌ها شده است. به همین دلیل استفاده از پادزی‌های محرک رشد از سال ۱۹۹۵ در آغاز در دانمارک و پس از آن در ژانویه سال ۲۰۰۶ در اتحادیه اروپا در صنعت طیور ممنوع اعلام شد. با منع مصرف پادزی‌ها در تغذیه طیور، انتخاب جایگزین مناسب آن‌ها به یکی از چالش‌های صنعت مرغداری تبدیل شد (Alkhalaf *et al.*, 2010). استفاده از مواد مختلف از جمله پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزین احتمالی پادزی‌ها، توجه متخصصان تغذیه طیور را به خود جلب کرد. پروبیوتیک‌ها افزودنی‌های غذایی زنده میکروبی هستند که از راه بهبود تعادل میکروبی روده و تقویت سامانه ایمنی، تأثیر سودمندی بر میزبان دارند (Alkhalaf *et al.*, 2010). نتایج بررسی‌های مختلف نشان داده است، پاسخ جوجه‌های گوشتی به هنگام استفاده از فرآورده‌های پروبیوتیکی یکسان نیست و تحت تأثیر عامل‌های زیادی مانند نوع پروبیوتیک (سویه باکتری)، سطح مصرف در جیره، سن جوجه‌های گوشتی، شرایط بهداشتی گله و غیره تغییر می‌کند (Karimzadeh *et al.*, 2016b).

پری‌بیوتیک‌ها گروهی دیگر از افزودنی‌های معرفی شده به عنوان جایگزین پادزی‌ها هستند که اجزاء مواد خوراکی غیرقابل هضم دارند و سبب افزایش رشد یا فعالیت گونه‌های سودمند باکتریایی روده و کاهش جمعیت باکتری‌های زیانبار روده میزبان می‌شوند (Gibson & Roberfroid, 1995). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد افزودن پری‌بیوتیک‌ها به جیره غذایی تنها سبب تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های سودمند روده نمی‌شود بلکه می‌تواند منجر به افزایش رشد و فعالیت باکتری‌های زیانبار روده میزبان شود (Gibson & Roberfroid, 1995). به همین خاطر پژوهش‌ها به سوی افزودنی‌های

دیگری جهت گرفت تا بتواند ضعف‌های پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها را بپوشاند. یکی از مهم‌ترین و جدیدترین این افزودنی‌های غذایی پپتیدها هستند. پپتیدها فرآورده‌هایی هستند که پس از آبکافت (هیدرولیز) ناقص پروتئین‌ها با آنزیم، اسید، قلیا و یا هیدرولیز تخمیری به دست می‌آیند (Karimzadeh *et al.*, 2016a). آبکافت ناقص پروتئین‌های منابع گیاهی یا حیوانی، سبب تولید پپتیدهای با وزن مولکولی متفاوت و قابلیت انحلال زیاد در آب، می‌شود (Pasupuleti & Demain, 2010). بررسی‌ها و پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که در فرآیند آبکافت پروتئین‌ها با روش‌های شیمیایی (محلول‌های اسید و قلیا)، آنزیمی و تخمیری پپتیدهای با ویژگی‌های غذاهای فراسودمند مانند خاصیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی)، محرک سامانه ایمنی، ضد میکروبی، تعدیل فشارخون، ضد سرطان و ضد چاقی تولید می‌شود (Brij *et al.*, 2014). در روش هیدولیز آنزیمی پروتئین‌ها، فرآیند هیدرولیز به‌طور کامل قابل کنترل است و در نتیجه پپتیدهای با ویژگی‌های فعال زیستی تولید می‌شوند (Pasupuleti & Demain, 2010). بنابراین، از آبکافت آنزیمی پروتئین‌های گیاهی مانند کنجاله کانولا پپتیدهایی تولید شده است که به عنوان مواد طبیعی در تولید غذاهای فراسودمند کاربرد داشته و امکان استفاده در تغذیه حیوانات به دلیل قابلیت جذب بالا از روده باریک را دارند (Brij *et al.*, 2014). در این آزمایش با آبکافت آنزیمی کنجاله کانولا در شرایط آزمایشگاهی، پپتیدهایی با وزن مولکولی متفاوت تولید شد و اثر پپتیدهای استخراج شده به عنوان افزودنی غذایی با اثرگذاری پادزی، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و جمعیت برخی باکتری‌های هوازی انتهایی روده باریک جوجه‌های گوشتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه پپتید کانولا

برای تولید پپتیدهای کانولا، در آغاز پودر کنجاله کانولا در آب مقطر با نسبت یک به پانزده مخلوط و با

نسبت به دیگر پپتیدها شد. پپتیدهای استخراج شده از کنجاله کانولا به روش آنزیمی در دامنه وزن مولکولی ۱۸۰ تا ۳۰۰۰ دالتون بود و حاوی ۵۴/۹۰ درصد دی و تری پپتید (۱۸۰ تا ۵۰۰ دالتون)، ۳۹/۳۰ درصد اولیگوپپتید و پلی پپتید (۵۰۰ تا بیش از ۲۵۰۰ دالتون) و ۵/۸۰ درصد اسید آمینه (کمتر از ۱۸۰ دالتون) بود (جدول ۱).

جدول ۱. توزیع وزن مولکولی پپتیدهای کانولا به دست آمده

از آبکافت آنزیمی به مدت ۴ ساعت

Table 1. Molecular weight distribution of canola peptide at 4 h

Molecular weight range (Da)	Peptide fraction (%) (Mean \pm Standard deviation)
>3000	0.09 \pm 0.004
3000-2000	0.89 \pm 0.033
2000-1000	11.63 \pm 0.36
1000-500	26.69 \pm 0.19
500-180	54.86 \pm 0.49
<180	5.81 \pm 0.76

تیمارهای آزمایشی

این آزمایش با ۲۰۰ قطعه جوجه خروس گوشتی سوپه تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار و ده قطعه در هر پن به مدت ۴۲ روز در مزرعه تحقیقات طیور شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی شهر کرج در زمستان سال ۱۳۹۳ انجام شد. جوجه‌های گوشتی با تیمارهای، (۱) شاهد (بدون افزودنی غذایی)، (۲) ۲۰۰ میلی گرم پادزی ویرجینیامایسین در هر کیلوگرم خوراک، (۳) ۱ گرم پری بیوتیک تجاری آگری موس (Agrimos) در هر کیلوگرم خوراک، (۴) ۴۰۰ میلی گرم پروبیوتیک تجاری دیپرو (Dipro) در هر کیلوگرم خوراک و (۵) ۲۵۰ میلی گرم پپتید کانولا در هر کیلوگرم خوراک تغذیه شدند. پروبیوتیک دیپرو حاوی سویه‌های *باسیلوس لیسنی فورمیس* (*Bacillus Licheni formis*) و *باسیلوس سوبتیلیس* (*Bacillus subtilis*) با 3×10^9 cfu/g محصول شرکت تک ژن زیست ایران بود. پری بیوتیک آگری موس حاوی بتاگلوکان و مانان اولیگوساکارید بود و از شرکت لالمنند فرانسه تهیه شد. جیره آزمایشی با استفاده از نرم افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم شد. در تنظیم جیره آزمایشی از جدول‌های انجمن تحقیقات ملی (NRC) برای مواد خوراکی و همچنین نیازهای ارائه شده در راهنمای

افزودن هیدروکسید پتاسیم، pH مخلوط در سطح ۱۰ تنظیم شد. پس از گرما دادن در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. pH سوپرناتانت به دست آمده توسط محلول ۱ مولار اسید کلریدریک در حد ۴/۵ تنظیم و آنگاه سانتریفیوژ شد. پروتئین ته نشین شده در آب مقطر حل و pH آن در سطح هفت تنظیم شد. مایع به دست آمده در آغاز در دمای ۳۰- درجه سلسیوس منجمد و سپس توسط دستگاه خشک کن تصعیدی (فریزدرایر) خشک شد تا پودر پروتئین خالص کنجاله کانولا تولید شود. به منظور تولید پپتید، پروتئین خالص کنجاله کانولا در غلظت ۵ درصد در راکتور ۲۵۰ میلی لیتری حل شد و پیش از آغاز فرآیند آبکافت، دما و pH محلول در حد بهینه (اپتیمم) فعالیت آنزیم تنظیم شد. ظرف مخصوص آبکافت روی صفحه آهنربایی داغ قرار داده شد و طی فرآیند آبکافت مخلوط به طور مداوم به هم زده شد. آبکافت پروتئین خالص کنجاله کانولا توسط آنزیم پروتئاز تجاری آلکالاز محصول شرکت نووزایم دانمارک با غلظت آنزیم به پروتئین یک به ۲۰ در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و با pH ۸، در مدت چهار ساعت انجام شد. در فرآیند آبکافت، pH مخلوط با هیدروکسید سدیم ۱ مولار در سطح هشت ثابت نگه داشته شد. پس از پایان آبکافت، pH محلول با استفاده از محلول ۱ مولار اسید کلریدریک در سطح چهار تنظیم شد و آنگاه برای غیرفعال سازی آنزیم، مخلوط برای مدت ده دقیقه در آب جوش قرار داده شد. برای حذف ناخالصی‌ها، مخلوط بالا به مدت سی دقیقه در ۸۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. مایع به دست آمده در آغاز در ظرف مخصوص ریخته شد و در دمای ۳۰- درجه سلسیوس منجمد شد. در نهایت، برای تولید پودر پپتید کانولا، محلول منجمد توسط دستگاه خشک کن تصعیدی خشک شد (Karimzadeh et al., 2016a). توزیع وزن مولکولی پپتیدهای کانولا با استفاده از ژل تی اس کی (TSK gel) همراه با دستگاه فام نگاری (کرماتوگرافی) مایع با کارایی بالا انجام شد. آبکافت کنجاله کانولا در مدت ۴ ساعت سبب تولید میزان بالای دی و تری پپتیدهای با وزن مولکولی پایین

پرورش سویه تجاری راس ۳۰۸، استفاده شد (جدول ۲). ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی در طول خوراک و آب به صورت آزاد تأمین شدند و برنامه نوری شبانه روز بود.

جدول ۲. ترکیب جیره غذایی و محتوای مواد مغذی محاسبه شده (گرم در کیلوگرم)

Table 2. Ingredient composition and calculated nutrient content of the diet (g/kg)

Ingr dints	Starter (1-10 d)	Grower (11-28 d)	Finisher (29-42 d)
Corn	52.2	562.8	663.5
Soybean meal (Crude protein 42%)	41.0	31.5	259.9
Soybean oil	23.5	37.7	35.7
Sodium bicarbonate	0.00	1.0	1.0
Oyster shell	12.3	11.2	11.6
Dicalcium phosphate	18.2	15.8	17.2
DL-Methionine	2.8	1.8	1.7
L-Lysine-HCl	2.1	1.5	1.4
Vitamin premix ¹	2.5	2.5	2.5
Mineral premix ²	2.5	2.5	2.5
Salt	3.6	2.8	2.9
Calculated composition			
Metabolizable energy (Kcal/ kg)	2880	3000	3100
Crude protein	22.5	21.0	18.89
Methionine	0.64	0.55	0.48
Methionine + cysteine	1.05	90.0	0.78
Lysine	1.39	1.14	0.97
Calcium	0.96	0.88	0.78
Available phosphorus	0.48	0.44	0.38

۱. مکمل ویتامینه در هر کیلوگرم جیره تامین کننده مقادیر زیر بود: ۱۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D₃، ۵ واحد بین المللی ویتامین E، ۲ میلی گرم B₁، ۶/۶ میلی گرم ویتامین B₂، ۳ میلی گرم ویتامین B₆، ۱۵/۰ میلی گرم ویتامین B₁₂، ۲ میلی گرم ویتامین k، ۳۰ میلی گرم نیاسین، ۴۰ میلی گرم بیوتین، ۲۵۰ میلی گرم کولین کلراید و ۱ میلی گرم اسید فولیک.

۲. مکمل کانی در هر کیلوگرم جیره تامین کننده مقادیر زیر بود: ۱۰۰ میلی گرم منگنز، ۵۰ میلی گرم آهن، ۱۰ میلی گرم مس، ۱ میلی گرم ید، ۰/۲ میلی گرم سلنیوم، ۸۵ میلی گرم روی.

1. The vitamin premix supplied the following per kilogram of diet: vitamin A, 10,000 IU; vitamin D₃, 2000 IU; vitamin E, 5 IU; vitamin K, 2 mg; B₁, 2 mg; B₂, 6.6 mg; B₆, 3 mg; vitamin B₁₂, 0.015 mg; niacin, 30 mg; choline chloride, 250 mg; calcium D-pantothenate, 10 mg; folic acid, 1mg.

2. The mineral premix supplied the following per kilogram of diet: Mn, 100 mg; Fe, 50 mg; Cu, 10 mg; I, 1 mg; Se, 0.2 mg; Zn, 85 mg.

واحد فعالیت لیپاز به عنوان ۱ میلی لیتر از هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ مولار مورد نیاز برای خنثی سازی اسید چرب آزاد شده در مدت شش ساعت نگهداری (انکوباسیون) با ۳ میلی لیتر از بستره در ۳۸ درجه سلسیوس بود و روغن زیتون به عنوان بستره استفاده شد (Tietz & Fiereck, 1966). یک واحد فعالیت پروتئاز به عنوان میزان آنزیم پروتئازی است که منجر به مصرف ۱ میلی گرم از آزوکازین می شود (Lynn & Clevette-Radford, 1984). برای شمارش کل باکتری ها، از نمونه های تهیه شده، محیط کشت تریپتیک سوی آگار استفاده شد. پس از تهیه محیط کشت، با ریز نمونه بردار (میکروسپیلر)، ۰/۱ میلی لیتر از نمونه های تهیه شده روی محیط کشت به صورت سطحی پخش شد. در صورت نیاز (بالا بودن شمار باکتری ها در یک پلیت) رقیق سازی نمونه ها (تا لوگ شش) در محلول سرم فیزیولوژی انجام شد. پلیت های

به منظور اندازه گیری فعالیت آنزیم های گوارشی و تعیین جمعیت میکروبی روده جوجه های مورد آزمایش، در سن ۴۲ روزگی از هر تکرار دو قطعه خروس (در مجموع چهل قطعه خروس) با وزن نزدیک به میانگین واحد مربوط، انتخاب و کشتار شدند. پس از باز کردن حفره شکمی، بخش انتهایی روده باریک از ناحیه زائده مکل تا محل اتصال آن به روده کور (سکوم) و راست روده با قیچی سترون (استریل) جدا و دو سوی آن با نخ سترون محکم بسته شد. سپس نمونه ها درون قوطی های سترون با دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند و برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های گوارشی و تعیین جمعیت باکتریایی به آزمایشگاه منتقل شدند. یک واحد فعالیت آمیلاز به عنوان میزان آنزیم آمیلازی است که منجر به مصرف ۱ میلی گرم گلوکز می شود و نشاسته ذرت به عنوان بستره (سوبسترا) استفاده شد (Somogyi, 1960). یک

مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$) (جدول ۳). همچنین تغذیه جوجه‌های گوشتی با پپتیدهای کانولا و پروبیوتیک در کل دوره پرورش (۲۹ تا ۴۲ روزگی) به ترتیب سبب ۲۲۰/۲۳ و ۱۹۰/۴۸ گرم بهبود افزایش وزن در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$) (جدول ۳). در آزمایشی گزارش شد، افزودن پروبیوتیک (باسیلوس لیسنی فورمیس) به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی سبب ۴/۶۷ گرم بهبود افزایش وزن روزانه در کل دوره پرورش (۱ تا ۴۲ روزگی پرورش) در مقایسه با گروه شاهد شد (Liu et al., 2012). در پژوهشی دیگر جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با پروبیوتیک دیپرو (باسیلوس سوبتیلیس و باسیلو لیسنی فورمیس) میزان ۱۲۶/۸۲ گرم افزایش وزن بیشتری در کل دوره پرورش (۱ تا ۴۲ روزگی) نسبت به تیمار شاهد بود که با نتایج این بررسی همخوانی داشت (Karimzadeh et al., 2015). همچنین به جیره جوجه‌های گوشتی افزودن مکمل پروبیوتیک حاوی باسیلوس سوبتیلیس و باسیلو لیسنی فورمیس سبب ۹۱/۳۸ گرم بهبود افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد شد (Melegy et al., 2011). افزودن ۲۰۰ میلی‌گرم پپتید سویا در کیلوگرم خوراک (Jiang et al., 2008) و یا ۸ درصد کنجاله تخم پنبه تخمیری (Tang et al., 2012) به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی سبب بهبود به ترتیب ۹/۹۴ گرم (۵ تا ۷ هفتگی پرورش) و ۵۵ گرم (۱ تا ۴۲ روزگی پرورش) افزایش وزن نسبت به گروه شاهد شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. استفاده از افزودنی‌های پروبیوتیک و پپتیدهای کانولا در جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند سبب افزایش جمعیت باکتری‌های سودمند روده و کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زای روده شود. با کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در روده، تولید سموم و متابولیت‌های به‌دست‌آمده از فعالیت آن‌ها نیز کاهش می‌یابد، در این صورت جذب مواد مغذی و در پی آن عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی بهبود می‌یابد (Li & Cai, 2005).

مصرف خوراک

تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی بر میزان مصرف

کشت داده‌شده مربوط به کل باکتری‌ها پس از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس شمارش شدند (Sallam, 2007). برای شمارش باکتری‌های گروه باسیلوس‌ها از محیط کشت نوترین آگار (Nuterint Agar) استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت تهیه‌شده از محتویات روده روی محیط کشت به صورت سطحی پخش شد. نمونه‌ها در مکان هوازی و در اتاقک رشد (انکوباتور) با دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند (Sallam, 2007). برای شمارش کلی فرم‌ها از محیط کشت کروم آگار استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت تهیه‌شده از محتویات روده روی محیط کشت به صورت سطحی پخش شد. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. ظاهر شدن پرگنه (کلنی‌های متمایل به سبز نشان‌دهنده وجود کلی فرم‌ها بود (Sallam, 2007). در همه موارد پس از پایان زمان نگهداری، پرگنه‌ها پس از شمارش، در عکس رقت مورد استفاده ضرب شد و سپس لگاریتم آن‌ها محاسبه تا لگاریتم شمار پرگنه در واحد وزن (log CFU/g) به دست آید.

تجزیه داده‌ها و مدل آماری

داده‌های به‌دست‌آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM و با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگن‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری به صورت زیر بود:

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

Y_{ij} میزان هر مشاهده، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار و e_{ij} خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

افزایش وزن

تغذیه جوجه‌های گوشتی با پپتیدهای کانولا و پروبیوتیک در دوره رشد (۱۱ تا ۲۸ روزگی) سبب به ترتیب ۱۰۱/۳۶ و ۸۶/۸۶ گرم بهبود افزایش وزن در

رشد و پایانی پرورش جوجه‌های گوشتی نداشت (Jiang *et al.*, 2008). در آزمایشی استفاده از پروبیوتیک میکروزیست (لاکتو باسیلوس، لئوکونوستوک مزنترویدس و باسیلوس سوبتیلیس) در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت (Karimzadeh & Rezaei, 2014). استفاده از پری‌بیوتیک اگری موس (بتا گلوکان و مانان اولیگوساکارید) و یا فروکتو اولیگوساکارید (Xu *et al.*, 2003) بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری نداشت که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

خوراک در دوره‌های مختلف پرورش (آغازین، رشد و کل دوره) معنی‌دار نبود (جدول ۳). در پژوهشی افزودن پپتید پورسین به جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی داشت (Mateos *et al.*, 2014). همچنین در آزمایشی دیگر میانگین مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با کنجاله کلزا تخمیری در مراحل مختلف پرورش همسان با تیمار شاهد بود (Yu 2009). در بررسی استفاده از پپتیدهای سویا تأثیری بر میانگین مصرف خوراک دوره‌های آغازین،

جدول ۳. میانگین افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی برای جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی بدون افزودنی غذایی (شاهد)، ۲۰۰ میلی‌گرم پادزی، ۱ گرم پری‌بیوتیک، ۴۰۰ میلی‌گرم پروبیوتیک و ۲۵۰ میلی‌گرم پپتید کانولا در هر کیلوگرم خوراک

Table 3. Body weight gain, feed conversion ratio and feed intake in broiler chickens were fed with no feed additive (Control), 200 mg/kg antibiotic, 1 g/kg prebiotic, 400 mg/kg probiotic and 250 mg/kg canola peptides

	Experimental treatments					SEM ¹	P-value
	Control	Antibiotic (200 mg/kg)	Pribiotic (1 g/kg)	Probiotic (400 mg/kg)	Peptides (250 mg/kg)		
Body weight gain (g)							
1-10 d	202.03	206.91	206.20	204.63	205.38	0.823	0.4110
11-28 d	899.99 ^c	929.45 ^b	950.38 ^b	986.85 ^a	1001.35 ^a	9.129	<0.0001
1-42 d	2058.40 ^c	2144.6 ^b	2180.08 ^b	2248.88 ^a	2278.63 ^a	18.384	<0.0001
Feed intake (g)							
1-10 d	241.00	241.75	245.25	243.50	245.50	0.986	0.4446
11-28 d	1387.63	1386.42	1396.63	1395.31	1409.90	5.645	0.7401
1-42 d	3921.24	3924.08	3955.38	3957.81	3978.15	12.471	0.5990
Feed conversion ratio (g/g)							
1-10 d	1.193	1.165	1.200	1.188	1.195	0.006	0.5833
11-28 d	1.545 ^a	1.493 ^a	1.470 ^a	1.413 ^b	1.408 ^c	0.013	0.0001
1-42 d	1.905 ^a	1.830 ^a	1.814 ^{ab}	1.760 ^{bc}	1.750 ^c	0.014	<0.0001

مقادیر دارای حرف‌های متفاوت در هر ردیف از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

خطای استاندارد میانگین‌ها

a, b, c, d: Means with different superscript letter within a row are significantly different ($P < 0.05$).

1) SEM: Standard Error of Mean.

پروبیوتیک بتاپلاس (باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیشنی فورمیس) (Melegy *et al.*, 2011) به جیره به‌ترتیب سبب ۰/۱۳ و ۰/۰۹ کاهش ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در مقایسه با شاهد شد که از نظر تأثیرگذاری با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. نوع جیره، مدت و روش تغذیه، سن حیوان، جنسیت جوجه و سویه باکتری پروبیوتیک، ممکن است بر پاسخ پرندگان به پروبیوتیک مؤثر باشد. تغذیه جوجه‌های گوشتی با پروبیوتیک سبب کاهش نسبی جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا در روده و افزایش ارتفاع پرز و عمق کریپت روده باریک می‌شود و در نتیجه قابلیت جذب مواد مغذی بهبود یافته و سبب کاهش

ضریب تبدیل غذایی

تغذیه جوجه‌های گوشتی با پپتیدهای کانولا و پروبیوتیک در دوره رشد (۱۱ تا ۲۸ روزگی) سبب به ترتیب ۰/۱۳۷ و ۰/۱۳۲ کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$ ، جدول ۳). همچنین تغذیه جوجه‌های گوشتی با پپتیدهای کانولا و پروبیوتیک در کل دوره پرورش (۱ تا ۴۲ روزگی) سبب به ترتیب ۰/۱۵۵ و ۰/۱۴۵ کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$ ، جدول ۳).

استفاده از پروبیوتیک باکتوسل (پدیکوکوس/اسید لاکتیک) (Taheri *et al.*, 2010) و افزودن ۵۰۰ گرم

جیره جوجه‌های گوشتی سبب ۸/۷۵، ۶/۵۲ و ۱۴/۳۰ واحد در میلی‌گرم پروتئین گوارشی افزایش فعالیت به ترتیب تریپسین، لیپاز و پروتئاز محتویات روده‌ای در سن ۲۱ روزگی و همچنین ۵/۵۲ واحد در میلی‌گرم پروتئین گوارشی افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$)، اما فعالیت آنزیم آمیلاز محتویات روده جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (Feng et al., 2007). دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی را به تبدیل شدن پپتیدهای بزرگ کنجاله سویا مانند پروتئین‌های آنتی‌ژنیک به پپتیدهای کوچک و کاهش حضور مواد ضد تغذیه‌ای در نتیجه فرآیند آبکافت تخمیری نسبت می‌دهند (Feng et al., 2007). همچنین پپتیدها ویژه اولیگوپپتیدها و پلی‌پپتیدها، ویژگی پری‌بیوتیکی دارند و به دلیل ماهیت شیمیایی آن‌ها، در بخش‌های بالای دستگاه گوارش جذب نمی‌شوند و هنگامی که وارد روده کور و کولون می‌شوند به‌عنوان بستر باکتری‌های سودمند این ناحیه از دستگاه گوارش عمل می‌کنند (Karimzadeh et al., 2016a) و در نهایت سبب افزایش تولید و ترشح آنزیم‌های گوارشی توسط باکتری‌های سودمند روده می‌شوند. در آزمایشی افزودن اولیگوپپتید در جیره جوجه‌های گوشتی، ترشح آنزیم پروتئاز به‌ویژه کیموترپسین را افزایش داد، اما بر ترشح آنزیم‌های تریپسین و پپسین تأثیری نداشت (Chen et al., 2009).

جمعیت میکروبی روده

جمعیت باسیلوس‌های روده جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با تیمارهای پپتیدهای کانولا و پروبیوتیک در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۰/۷۱ و ۰/۶۳ لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم بالاتر بود ($P < 0.05$)، جدول ۵). جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی پادزی جمعیت باکتری‌های باسیلوس کمتری را در مقایسه با دیگر جوجه‌ها دارند ($P < 0.05$) و جمعیت کلی فرم‌ها در پرندگان رشد یافته با جیره حاوی پپتیدهای کانولا، پادزی، پری‌بیوتیک و پروبیوتیک به ترتیب ۱/۳۳، ۱/۳۴، ۱/۳۱ و ۱/۳۰ لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم پایین‌تر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$).

ضریب تبدیل غذایی می‌شود (Melegy et al., 2011). در پژوهش‌هایی استفاده از پپتید پورسین (آبکافت مخاط روده خوک) (Mateos et al., 2014)، ۲۰۰ میلی‌گرم پپتید سویا در کیلوگرم خوراک (Jiang et al., 2008) و یا ۸ درصد کنجاله تخم پنبه تخمیری (Tang et al., 2012) سبب به ترتیب ۰/۰۷ (۱۵ تا ۲۱ روزگی)، ۰/۱۳ (۳۵ تا ۴۹ روزگی) و ۰/۱۵ (۱ تا ۴۲ روزگی) کاهش ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد شد که با نتایج حاضر همخوانی داشت.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش‌های چندی، پپتیدهای فعال زیستی با سازوکارهای عمل مختلف می‌توانند سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن جوجه‌های گوشتی شوند. برخی از این سازوکارها عبارت‌اند از: رشد و نمو بافت روده و کاهش نفوذپذیری آن به عامل‌های بیماری‌زا (Pasupuleti & Demain, 2010)، افزایش جمعیت میکروبی سودمند به‌جای ریزجانداران (میکروارگانسیم‌های) زیانبار در روده میزبان (Karimzadeh et al., 2016 a)، تحریک سامانه ایمنی و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها (Tang et al., 2012)، افزایش هضم و جذب مواد مغذی از راه افزایش ارتفاع پرز و عمق کریپت روده باریک (Choi et al., 2013a)، افزایش جذب اسیدهای آمینه از راه افزایش بیان ژن PepT (Pasupuleti & Demain, 2010)، افزایش فعالیت و ترشح آنزیم‌های گوارشی توسط باکتری‌های سودمند روده (Karimzadeh et al., 2016a) و مهار رادیکال‌های آزاد توسط پپتیدهای به فعالیت پاداکسندگی آن‌ها نسبت داده می‌شود به‌طوری‌که پپتیدها توانایی مهار پراکسیدها و کلاته کردن یون‌های فلزی را دارند (Pasupuleti & Demain, 2010).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی

افزودن ۲۵۰ میلی‌گرم پپتیدهای کانولا در کیلوگرم جیره سبب ۲/۱۲، ۴/۲۷ و ۱۱/۹۹ واحد در میلی‌گرم پروتئین گوارشی افزایش فعالیت به ترتیب آمیلاز، لیپاز و پروتئاز گوارشی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$)، جدول ۴). در آزمایشی استفاده از کنجاله سویا تخمیری در

جدول ۴. فعالیت آمیلاز، لیپاز و پروتئاز گوارشی (واحد در میلی گرم پروتئین گوارشی) برای جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی بدون افزودنی غذایی (شاهد)، ۲۰۰ میلی گرم پادزی، ۱ گرم پری‌بیوتیک، ۴۰۰ میلی گرم پروبیوتیک و ۲۵۰ میلی گرم پپتید کانولا در هر کیلوگرم خوراک در سن ۴۲ روزگی

Table 4. Digestive amylase, lipase and protease activity (U/mg of digesta protein) in broiler chickens were fed with no feed additive (Control), 200 mg/kg antibiotic, 1 g/kg prebiotic, 400 mg/kg probiotic and 250 mg/kg canola peptides at 42 day

	Experimental treatments					SEM ¹	P-value
	Control	Antibiotic (200 mg / kg)	Pribiotic (1 g / kg)	Probiotic (400 mg / kg)	Peptides (250 mg / kg)		
Amylase (1 Somogyi unit) ²	8.42 ^b	9.38 ^b	8.46 ^b	8.91 ^b	10.54 ^a	0.200	0.0052
Lipase (Sigma-Tietz unit) ³	19.40 ^b	19.27 ^b	19.36 ^b	20.62 ^b	23.67 ^a	0.325	0.0005
Protease(Unit) ⁴	78.65 ^c	80.24 ^c	82.18 ^{bc}	88.40 ^{ab}	90.64 ^a	1.182	0.0098

مقادیر دارای حرف‌های متفاوت در هر ردیف از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

(۱) خطای استاندارد میانگین‌ها

(۲) یک واحد فعالیت آمیلاز به‌عنوان میزان آنزیم آمیلازی است که منجر به مصرف ۱ میلی‌گرم گلوکز می‌شود و نشاسته ذرت به‌عنوان بستر استفاده شد (Somogyi, 1960).

(۳) یک واحد فعالیت لیپاز به‌عنوان ۱ میلی‌لیتر از هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ مولار مورد نیاز برای خنثی‌سازی اسید چرب آزاد شده در مدت شش ساعت نگهداری ۳ میلی‌لیتر از بستره در ۳۸ درجه سلسیوس بود و روغن‌زیتون به‌عنوان بستره استفاده شد (Tietz & Fioreck, 1966).

(۴) یک واحد فعالیت پروتئاز به‌عنوان میزان آنزیم پروتئازی است که منجر به مصرف ۱ میلی‌گرم از آزوکازین می‌شود (Lynn & Clevette-Radford, 1984).

a,b,c,d Means with different superscript letter within a row are significantly different (P<0.05).

1) SEM: Standard Error of Mean.

2) Amylase activity unit (1 Somogyi unit) was defined as the amount of amylase that would cause the formation of reducing power equivalent to 1 mg of glucose in 30 min at 40 °C/mg of intestinal digesta protein.

3) Lipase activity unit (Sigma-Tietz unit) was equal to the volume (mL) of 0.05 M NaOH required neutralizing the fatty acid liberated during 6 hrs incubation with 3 mL of lipase substrate at 37 °C/mg of intestinal digesta protein.

4) Protease activity unit was defined as mg of azocasein degraded during 2 hrs incubation at 38 °C/mg of intestinal digesta protein.

جدول ۵. شمار باسیلوس‌ها و کلی‌فرم‌های انتهای روده باریک (لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم) برای جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی بدون افزودنی غذایی (شاهد)، ۲۰۰ میلی گرم پادزی، ۱ گرم پری‌بیوتیک، ۴۰۰ میلی گرم پروبیوتیک و ۲۵۰ میلی گرم پپتید کانولا در هر کیلوگرم خوراک در سن ۴۲ روزگی

Table 5. Heal *Basiluss* and *Coliforms* count (log10 CFU/g) in broiler chickens were fed with no feed additive (Control), 200 mg/kg antibiotic, 1 g/kg prebiotic, 400 mg/kg probiotic and 250 mg/kg canola peptides at 42 day

	Experimental treatments					SEM ¹	P-value
	Control	Antibiotic (200 mg / kg)	Pribiotic (1 g / kg)	Probiotic (400 mg / kg)	Peptides (250 mg / kg)		
Total bacteri	4.89 ^{ab}	4.76 ^b	5.08 ^a	5.19 ^a	5.15 ^a	0.05	<0.0001
<i>Basiluss</i>	4.13 ^b	3.18 ^c	4.11 ^b	4.76 ^a	4.84 ^a	0.076	<0.0001
<i>Coliforms</i>	3.25 ^a	1.91 ^b	1.94 ^b	1.95 ^b	1.92 ^b	0.247	<0.0001

مقادیر دارای حرف‌های متفاوت در هر ردیف از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

(۱) خطای استاندارد میانگین‌ها

a, b, c, d) Means with different superscript letter within a row are significantly different (P<0.05).

1) SEM: Standard Error of Mean.

مثبت و سودمند مانند لاکتوباسیل‌های و باسیلوس‌های روده می‌شوند (Giguere et al., 2013). در این آزمایش جمعیت باسیلوس‌های انتهای روده باریک جوجه‌های تغذیه‌شده با پادزی ویرجینیامایسین در مقایسه با گروه‌های شاهد، پری بیوتیک، پروبیوتیک و پپتید به ترتیب ۰/۹۵، ۰/۹۳، ۱/۴۲ و ۱/۶۶ لگاریتم ۱۰ واحد پرگنه در گرم در سن ۱ تا ۴۲ روزگی پایین‌تر بود (P<۰/۰۵، جدول ۵). پادزی ویرجینیامایسین با عبور از دیواره یاخته‌ای باکتری‌های گرم مثبت و باند

در پژوهشی جمعیت کلی‌فرم‌های روده کور جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با ۰/۵ درصد لاکتوباسیل در سن ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روزگی به‌طور معنی‌داری از گروه شاهد کمتر بود که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت (Jin et al., 1997). پروبیوتیک‌ها با حذف رقابتی سبب کاهش جمعیت باکتری‌های گرم منفی و بیماری‌زا مانند *اشریشیا کلی*، *کلی فرم*، *کمپیلو باکتر ژژونی*، *سالمونلا* و *ایمریها* می‌شوند و از راه کاهش pH سبب افزایش جمعیت باکتری‌های گرم

ترتیب ۰/۲۸ و ۰/۱۰ لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم در سن ۳۵ روزگی در مقایسه با گروه شاهد پایین‌تر بود (Choi *et al.*, 2013b). پپتیدهای فعال زیستی با سازوکارهای عمل مختلف سبب کاهش جمعیت باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زا روده میزبان می‌شوند. نشان داده شده است که این پپتیدها با ایجاد روزنه در دیواره یاخته‌ای باکتری‌های بیماری‌زا سبب نشت یون‌های درون یاخته‌ای به خارج شده و از این راه مسیرهای سیتوزولی و واکنش‌های سوخت‌وسازی حیاتی یاخته را مانند چرخه تولید ATP مختل می‌کنند (Pasupuleti & Demain, 2010)، افزون بر این، پپتیدهای فعال زیستی از دیواره یاخته‌ای باکتری‌های گرم منفی عبور کرده و درون سیتوپلاسم یاخته شده و پس از جداسازی یون هیدروژن، pH یاخته باکتری کاهش می‌یابد (Pasupuleti & Demain, 2010). گزارش شده است که پپتیدهای فعال زیستی خاصیت پروبیوتیکی دارند و لذا با اتصال به گیرنده‌های بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا درون روده می‌توانند آن‌ها را از روده دفع کنند (Pasupuleti & Demain, 2010). در نهایت، پپتیدهای فعال زیستی سبب افزایش جمعیت باکتری‌های سودمند روده و تولید متابولیت‌های ثانویه مانند باکتریوسین و اسیدلاکتیک توسط این باکتری‌ها می‌شوند (Gibson & Roberfroid, 1995).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، آبکافت آنزیمی کنجاله کانولا با آنزیم آلكالاز در شرایط خاص فراهم‌شده در این آزمایش، سبب تولید مخلوطی از دی و تری‌پپتید، اولیگوپپتید و پلی‌پپتید می‌شود. استفاده از پپتیدهای به‌دست‌آمده سبب بهبود افزایش وزن بدن (۱۰۱/۳۶ گرم دوره رشد و ۲۲۰/۲۳ گرم کل دوره پرورش)، کاهش ضریب تبدیل غذایی (۰/۱۳۷ دوره رشد و ۰/۱۵۵ کل دوره پرورش)، افزایش فعالیت آمیلاز، لیپاز و پروتئاز (به ترتیب ۲/۱۲، ۴/۲۷ و ۱۱/۹۹ واحد در میلی‌گرم پروتئین گوارشی) و کاهش شمار کلی فرم‌های انتهای روده باریک (۱/۳۳ لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم) جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد شد.

شدن به واحدهای ریبوزومی و ایجاد بلوک‌های پپتیدی بازدارنده رشد طیف گسترده‌ای از باکتری‌های مانند باسیلوس‌ها، بیفیدوباکتریوم و استرپتوکوکوس‌ها می‌شود (Giguere *et al.*, 2013). شمار اشریشیاکلی روده کور جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با پری‌بیوتیک حاوی مانان اولیگوساکارید، نسبت به گروه شاهد ۰/۱۰ لگاریتم ۱۰ واحد پرگنه در گرم در ۹ روزگی پرورش کاهش یافت (Baurhoo *et al.*, 2007). در آزمایشی مصرف ۴ گرم در کیلوگرم پری‌بیوتیک حاوی فروکتو اولیگوساکارید در جیره سبب افزایش ۱/۰۱ و ۰/۸۹ لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم و شمار لاکتو باسیل‌ها و بیفیدو باکتری‌های انتهای روده باریک در سن ۱ تا ۴۲ روزگی پرورش جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد شد (Xu *et al.*, 2003). افزودن پری‌بیوتیک‌ها در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش جمعیت باکتری‌های سودمند دستگاه گوارش مانند لاکتوباسیلوس‌ها و کاهش جمعیت باکتری‌های زیانبار مانند اشریشیاکلی و سالمونلا روده و تقویت سامانه ایمنی می‌شود (Ghiyasi *et al.*, 2008). در پژوهشی شمار کلی فرم‌های فضولات ۰/۰۶ و ۰/۱ لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم به ترتیب در سنین ۲۱ و ۳۵ روزگی و شمار کلی فرم‌های محتوای انتهای روده باریک و روده کور به ترتیب ۰/۰۹ و ۰/۱۳ لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با پادزی آویلامایسین و ۶۰ میلی‌گرم پپتید ضد میکروبی در کیلوگرم خوراک در سن ۳۵ روزگی در مقایسه با تیمار شاهد پایین‌تر بود که با نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش همخوانی دارد (Choi *et al.*, 2013a). افزودن پپتیدها به جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زای تولیدکننده لیپوپلی ساکاریدهای (ملتهب‌کننده روده) روده میزبان می‌شود (Niewold, 2007). در پژوهشی دیگر جوجه‌های تغذیه‌شده با پادزی آویلامایسین و ۹۰ میلی‌گرم پپتید ضد میکروبی در کیلوگرم خوراک سبب ۰/۱۶ و ۰/۲۷ لگاریتم ۱۰ شمار پرگنه در گرم کاهش شمار کلستریدیوم و شمار کلی فرم‌های فضولات در سن ۳۵ روزگی شد. همچنین شمار کلی فرم‌های محتوای انتهای روده باریک و روده کور به

REFERENCES

1. Alkhalf, A., Alhaj, M. & Al-homidan, I. (2010). Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens. *Saudi Journal of Biology Science*, 17, 219-225.
2. Baurhoo, B., Letellier, A. X. & Ruiz-Feia, C. A. (2007). Cecal populations of Lactobacilli and Bifidobacteria and Escherichia coli populations after in vivo Escherichia coli challenge in birds fed diets with purified lignin or mannanoligosaccharides. *Journal of Poultry Science*, 86, 2509-2516.
3. Brij, P. S., Shilpa, V. & Subrota, H. (2014). Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Journal of Peptides*, 20, 16-22.
4. Chen, B., Cai, H., Jing, C., Yu, H., Tian, Y. & Li, J. (2009). Absorptivity of amino acid and oligopeptide mixture in gastrointestinal tract of broiler. *Journal of China Poultry*, 20, 9-14.
5. Choi, S. C., Ingale, S. L., Kim, J. S., Park, Y. K., Kwon, I. K. & Chae, B. J. (2013a). An antimicrobial peptide-A3: effects on growth performance, nutrient retention, intestinal and faecal microflora and intestinal morphology of broilers. *Journal of British Poultry Science*, 54, 738-746.
6. Choi, S. C., Ingale, S. L., Kim, J. S., Park, Y. K., Kwon, I. K. & Chae, B. J. (2013b). Effects of dietary supplementation with an antimicrobial peptide-P5 on growth performance, nutrient retention, excreta and intestinal microflora and intestinal morphology of broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 185, 78-84.
7. Feng, J., Liu, X., Xu, Z. R., Wang, Y. Z. & Liu, J. X. (2007). Effects of fermented soybean meal on digestive enzyme activities and intestinal morphology in broilers. *Journal of Poultry Science*, 86, 1149-1154.
8. Ghiyasi, M., Rezaei, M., Sayyazadeh, H., Firouzbakhsh, F. & Attar, A. (2008). Effects of prebiotic (Fermacto) in low protein diet on some blood parameters and intestinal microbiota of broiler chicks. *Italian Journal of Animal Science*, 7, 313-319.
9. Gibson, G. R. & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotic. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
10. Giguere, S., Prescott, J.F. & Dowling, P.M. (2013). A Principle of Antimicrobial Drug Selection and Use. In: *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. (5th ed.). Wiley-black well, pp. 105
11. Jiang, Y. B., Yin, Q. Q. & Yang, Y. R. (2008). Effect of soybean peptides on growth performance, intestinal structure and mucosal immunity of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 93, 754-760.
12. Jin, L. Z., Ho, Y. W., Ahdnllah, N. & Jalaludin, S. (1997). Growth performance intestinal micro-flora populations and serum cholesterol for broilers fed diets containing Lactobacillus cultures. *Journal of Poultry Science*, 77, 1259-1265.
13. Karimzadeh, S. & Rezaei, M. (2014). Effect of different levels of native probiotic (Microzist) on performance, intestinal bacteria population, carcass characteristics and mortality in broiler chicks. In: *Proceedings of the 4th International Veterinary Poultry Congress*, 16-17 Feb., Tehran, Iran, pp. 79.
14. Karimzadeh, S., Semnaninejad, H. & Ashayeri, N. (2015). Study of Effect of native organic feed additive (Dipro) and antibiotic on Performance growth and intestinal morphology in broiler chicks. In: *proceedings of national conference of organic animal, poultry and aquatics products*, 2-3 Sep, Guilan University, Guilan, Iran, PP. 101-104. (in Farsi)
15. Karimzadeh, S., Rezaei, M. & Teomouri Yansari, A. (2016a). Effects of Bioactive Peptides Derived from Canola Meal on performance, digestive enzyme activities, nutrient digestibility, intestinal morphology and gut microflora in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 4, 27-36.
16. Karimzadeh, S., Seyfi, M. & Rezaei, M. (2016b). Effects of native probiotic (Dipro) on performance growth, digestive enzyme activities and intestinal morphology in broiler chickens. In: *Proceedings of the 5th International Veterinary Poultry Congress*, 31 Jan- 1 Feb., Tehran, Iran, PP. 228.
17. Li, F. & Cai, H. (2005). The effect of peptide on growth performance of broilers and its mechanism. *Journal of Acta Zoonutrimenta Sinica*, 12, 23-29.
18. Liu, X., Yan, H., Lv, L., Xu, Q., Yin, C., Zhang, K., Zhang, P. & Hu, J. (2012). Growth performance and meat quality of broiler chickens supplemented with Bacillus licheniformis in drinking water. *Asian Australian Journal of Poultry Science*, 25, 628-689.
19. Lynn, K. R. & Clevette-Radford, N. A. (1984). Purification and characterization of hevin, a serin protease from Heveabrazilliensis. *Biochemical journal*, 23, 963-964.
20. Mateos, G.G., Mohiti-Asli, M., Borda, E., Mirzaie, S. & Frikha, M. (2014). Effect of inclusion of porcine mucosa hydrolysate in diets varying in lysine content on growth performance and ileal histomorphology of broiler. *Animal Feed Science and Technology*, 187, 53-60.
21. Melegy, T., Khaled, N. F., El-Bana, R. & Abdellatif, H. (2011). Effect of dietary supplementation of bacillus subtilis PB6 (CLOSTAT) on performance, immunity, gut health and carcass traits in broilers. *Journal of American Science*, 7, 891-898.

22. Niewold, T. A. (2007). The nonantibiotic anti-inflammatory effect of antimicrobial growth promoters, the real mode of action? A hypothesis. *Journal of Poultry Science*, 86, 605-609.
23. Pasupuleti, V. K. & Demain, A. L. (2010). *Protein hydrolysates in biotechnology*. Springer.
24. Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18, 566-575.
25. SAS (Statistical Analysis System). (2004). SAS/STAT 9.2. User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina.
26. Somogyi, M. (1960). Modifications of two methods for the assay of amylase. *Clinical Chemistry*, 6, 23-35.
27. Taheri, H., Moravej, H., Malakzadegan, A., Tabandeh, F., Zaghari, M., Shivazad, M. & Adibmora, M. (2010). Efficacy of *Pediococcus acidilactici*-based probiotic on intestinal Coliforms and villus height, serum cholesterol level and performance of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 44, 7564-7567.
28. Tang, J. W., Sun, H., Y, X. H., Wu, Y. F., Wang, X. & Feng, J. (2012). Effects of replacement of soybean meal by fermented cottonseed meal on growth performance, serum biochemical parameters and immune function of yellow-feathered broilers. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 24, 20-26.
29. Tietz, N. W. & Fiereck, E. A. (1966). A specific method for serum lipase determination. *Clinica chemica Acta*, 13, 352-358.
30. United States Department of Agriculture. (2016). Livestock and Poultry: World markets and trade. From <http://usda.mannlib.cornell.edu>.
31. Xu, Z. R., Hu, C. H., Xia, M. S., Zhan, X. A. & Wang, M. Q. (2003). Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Journal of Poultry Science*, 82, 1030-1036.
32. Yu, B., You, JM., Lu, Y. & Li, H. S. (2009). Effects of solid-state fermented rapeseed meal to replace soybean meal in the diet on the growth performance of broilers. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 20, 9-15.