University of Tehran Press

Iaranian Journal of Animal Science

Online ISSN: 2423-7949

Homepage: https://ijas.ut.ac.ir/

The effect of different levels of dietary *Spirulina platensis* microencapsulated microalgae on nutrient digestibility, immune response, and some blood parameters in broiler chickens

Hosna Hajati[1]✉ | **Matin Shakouri**[2]

1. Corresponding Author, Department of Animal Science, Research & Education Center for Agriculture and Natural Resources, East Azarbaijan, Tabriz, Iran. E-mail: h.hajati@areeo.ac.ir
2. Caspian Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari, Iran. E-mail: matin.shakoori@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: April 4, 2022
Received in revised form: May 18, 2022
Accepted: May 28, 2022
Published online: April 15, 2023

Keywords:
Antibody titer,
broiler chicken,
microencapsulation,
Spirulina.

ABSTRACT

This study was done to evaluate the microencapsulated *Spirulina* powder on nutrient digestibility, immune response, and some blood parameters in broiler chickens. A total of 160 one-day old Ross 308 broiler chicks (mixed-sex) were assigned to a completely randomized design with four treatments, 4 replicates, and 10 chicks in each replicate. Experimental treatments included basal diet (without additive), basal diet +0.3, 0.6 or 0.9% microencapsulated *Spirulina* powder. Results showed that using all the levels of dietary microencapsulated *Spirulina* powder increased primary antibody titer against sheep red blood cell compared to control group. Feeding microencapsulated *Spirulina* powder at the levels of 0.3 or 0.6% increased IgM, IgG, and total antibody titer on d 35. Treatments contained microencapsulated *Spirulina* powder caused lower VLDL compared to control group ($P<0.05$). Adding 0.6 or 0.9% microencapsulated *Spirulina* powder to diet decreased LDL compared to control group. The birds fed with treatment contained 0.6% microencapsulated *Spirulina* powder had higher level of red blood cell compared to control group. The results of the present study showed that feeding microencapsulated *Spirulina* powder promoted humoral immune system, decreased the levels of VLDL, LDL, and increased the percentage of red blood cell in broiler chickens.

Cite this article: Hajati, H., & Shakouri, M. (2023). The effect of different levels of dietary *Spirulina platensis* microencapsulated microalgae on nutrient digestibility, immune response, and some blood parameters in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 54 (1), 61-75. DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2022.339759.653875

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2022.339759.653875

Extended Abstract

Introduction:

Using antibiotic growth promoters as feed additives has been banned by the European Union in 2006 due to cross-resistance against pathogens and residues in tissues, so poultry nutritionists are searching for organic safe functional alternatives to antibiotics. Microalgae such as *Spirulina platensis* have high nutritional value and may consider as a feed ingredient in organic feeding poultry.

University of Tehran Press

Iaranian Journal of Animal Science

Online ISSN: 2423-7949

Homepage: https://ijas.ut.ac.ir/

Goal:
This study was done to evaluate the microencapsulated *Spirulina* powder on nutrient digestibility, immune response, and some blood parameters in broiler chickens**.**

Material and methods:
A total of 160 one-day old Ross 308 broiler chicks (mixed-sex) were assigned to a completely randomized design with four treatments, 4 replicates, and 10 chicks in each replicate. Experimental treatments included basal diet (without additive), basal diet +0.3, 0.6 or 0.9% microencapsulated *Spirulina* powder.

Results:
Results showed that using all the levels of dietary microencapsulated *Spirulina* powder increased primary antibody titer against sheep red blood cell compared to control group. Feeding microencapsulated *Spirulina* powder at the levels of 0.3 or 0.6% increased IgM, IgG, and total antibody titer on d 35. Treatments contained microencapsulated *Spirulina* powder caused lower VLDL compared to control group ($P<0.05$). Adding 0.6 or 0.9% microencapsulated *Spirulina* powder to diet decreased LDL compared to control group. The birds fed with treatment contained 0.6% microencapsulated *Spirulina* powder had higher level of red blood cell compared to control group.

Conclusion:
The results of the present study showed that feeding microencapsulated *Spirulina* powder promoted humoral immune system, decreased the levels of VLDL, LDL, and increased the percentage of red blood cell in broiler chickens.

Keywords: Antibody titer, broiler chicken, microencapsulation, *Spirulina*.

انتشارات دانشگاه تهران

علوم دامی ایران

شاپا الکترونیکی: ۷۹۴۹-۲۴۲۳

Homepage: https://ijas.ut.ac.ir/

تأثیر تغذیه سطوح مختلف میکروجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* کپسوله‌شده بر قابلیت هضم مواد مغذی، پاسخ ایمنی و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی

حسنا حاجاتی[1]✉ | متین شکوری[2]

۱. نویسنده مسئول، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران. رایانامه: h.hajati@areeo.ac.ir

۲. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران. رایانامه: matin.shakoori@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۲/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۱/۲۶

کلیدواژه‌ها:
اسپیرولینا،
تیتر آنتی‌بادی،
جوجه‌گوشتی،
ریزپوشانی.

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر تغذیه سطوح مختلف پودر جلبک اسپیرولینا کپسوله بر قابلیت هضم مواد مغذی، پاسخ ایمنی و برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی انجام شد. در این آزمایش تعداد ۱۶۰ قطعه جوجه یک روزه گوشتی (نر و ماده) سویه تجاری راس- ۳۰۸ به ۴ تیمار، ۴ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار، در قالب طرح کاملاً تصادفی اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: جیره پایه (بدون افزودنی)، جیره پایه+ ۰/۳، ۰/۶ یا ۰/۹ درصد پودر اسپیرولینا ریزپوشانی شده بودند. نتایج نشان داد که استفاده از تمامی سطوح پودر جلبک اسپیرولینای کپسوله در جیره، سبب افزایش عیار اولیه آنتی‌بادی کل علیه گلبول قرمز گوسفندی نسبت به گروه شاهد شد ($p<۰/۰۵$). تغذیه با پودر جلبک اسپیرولینا کپسوله در سطح ۰/۳ یا ۰/۶ درصد، سبب افزایش عیار IgM، IgG و آنتی‌بادی تام در سن ۳۵ روزگی جوجه‌ها شد. جوجه‌های تغذیه شده با تیمارهای حاوی اسپیرولینای کپسوله به طور معنی‌داری VLDL کمتری نسبت به تیمار شاهد داشتند ($p<۰/۰۵$). افزودن سطوح ۰/۶ یا ۰/۹ درصدی از پودر اسپیرولینای کپسوله به جیره جوجه‌های گوشتی به طور معنی‌داری سبب کاهش مقدار LDL خون نسبت به تیمار شاهد گردید. پرندگان تغذیه شده با تیمار حاوی ۰/۶ درصد پودر اسپیرولینای کپسوله، درصد گلبول قرمز بیشتری نسبت به گروه شاهد داشتند ($p<۰/۰۵$). نتایج این پژوهش نشان داد که تغذیه جلبک اسپیرولینای ریزپوشانی شده سبب تقویت سیستم ایمنی هومورال، کاهش سطح VLDL، LDL و افزایش درصد گلبول‌های قرمز خون جوجه‌های گوشتی شد.

استناد: حاجاتی، ح. و شکوری، م (۱۴۰۲). تأثیر تغذیه سطوح مختلف میکروجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* کپسوله‌شده بر قابلیت هضم مواد مغذی، پاسخ ایمنی و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۴ (۱)، ۶۱-۷۵.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2022.339759.653875

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

۱. مقدمه

به‌دلیل وجود عفونت‌ها و بیماری‌های فراوان در گله‌های طیور خصوصاً در فصل سرما و از سوی دیگر استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها، انجام تحقیقات با هدف تولید ترکیبات زیستی جهت تقویت سیستم ایمنی بدن پرندگان، ضروری به نظر می‌رسد. جلبک *اسپیرولینا* (جلبک سبز- آبی)، جلبکی تک سلولی و میکروسکوپی است که منبع مهمی از رنگدانه فیکوسیانین است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بسیار قوی می‌باشد (Pinho *et al*., 2014). برخلاف دیواره سلولزی سایر جلبک‌های تغذیه‌ای، دیواره‌های سلولی موکو-پروتئینی اسپیرولینا به راحتی هضم می‌شوند. اسپیرولینا سمّی نیست و چربی آن به‌صورت اسیدهای چرب غیراشباع است (Ghaeni *et al*., 2011). به علاوه زیست توده خشک اسپیرولینا داری ارزش غذایی بسیار بالایی است، زیرا حاوی حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد پروتئین خام و اسیدهای آمینه می‌باشد. این جلبلک همچنین منبع بسیار غنی از اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها و مواد معدنی از قبیل آهن است (Khan *et al*., 2005). نتایج آنالیز آزمایشگاهی نشان داده است که عصاره اتانولی جلبک اسپیرولینا شامل آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، تانن‌ها و ترکیبات فنولیک، استروئیدها و ساپونین‌ها می‌باشد (Agustini *et al*., 2015).

امروزه استفاده از مواد طبیعی به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها، رنگ‌های مصنوعی و سایر مواد شیمیایی در صنعت طیور مورد توجه قرار گرفته است. طعم نامطلوب برخی از ترکیبات فنلی موجود در اسپیرولینا سبب محدودیت مصرف آن می‌شود که با استفاده از تکنیک کپسوله‌نمودن می‌توان این محدودیت را کاهش داد (Marques *et al*., 2014). ریزپوشانی یا کپسوله کردن روشی برای حفاظت از ترکیبات زیست فعال و پایداری در مقابل فرآوری، ذخیره و جلوگیری از واکنش‌های نامطلوب است، زیرا ممکن است این ترکیبات در تماس با عوامل محیطی به آسانی مورد اکسیداسیون قرار گیرند (Pinho *et al*., 2014). سیکلودکسترین‌ها مولکول‌های حلقوی هستند که از اتصال ۶، ۷ یا ۸ گلوکز ایجاد می‌شوند که به ترتیب آلفا، بتا و گاما سیکلودکسترین نامیده می‌شوند و توسط سازمان جهانی غذا و دارو تایید شده‌اند. فرم بتا سیکلودکسترین، معمولاً برای کپسولاسیون استفاده می‌شود و هزینه کمتری را در بر می‌گیرد. مولکول دکسترین به شکل یک مخروط ناقص است با یک منطقه هیدروفوب در داخل و سطح هیدروفیل در خارج بوده و سبب بهبود حل شوندگی و محافظت از مولکول‌های فعال زیستی در مقابل عوامل محیطی (دما- نور و pH) می‌شوند. سیکلودکسترین‌ها می‌توانند رفتار مولکول محصور شده را از طریق تأخیر در زمان تحویل تغییر دهند و توانایی از بین بردن آثار محرک یا سمی عامل فعال را با تنظیم pH یا جایگزین با حلال‌های آلی، دارا می‌باشند (Pinho *et al*., 2014). در صنعت داروسازی، سیکلودکسترین‌ها به عنوان حامل داروها و افزایش‌دهنده زیست فراهمی، ثبات و حلالیت مولکول‌های فعال زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در یک مطالعه (Ansari *et al*., 2018) گزارش دادند افزودن دو کیلوگرم اسپیرولینا پلاتنسیس به هر تن جیره سبب بهبود عملکرد رشد و شاخص کارایی تولید جوجه‌های گوشتی شد. لذا هدف از این تحقیق بررسی تأثیر پودر اسپیرولینا کپسوله بر قابلیت هضم مواد مغذی، پاسخ ایمنی و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی بود.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک مرغداری خصوصی در ساری در بهار ۱۴۰۰ انجام شد. تعداد ۱۶۰ قطعه جوجه یک روزه گوشتی (نر و ماده) سویه تجاری راس- ۳۰۸ با میانگین وزنی ۴۱±۰/۸۴ به ۴ تیمار، ۴ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی اختصاص داده شدند. واحدهای آزمایشی به صورت پن‌هایی با ابعاد ۱×۱/۲ متر مربع با بستر پوشال و طول دوره آزمایشی ۴۲ روز بود. دمای سالن به هنگام ورود جوجه‌ها، ۳۲ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد و با افزایش

سن جوجه‌ها به ازای هر هفته ۲ درجه دما کاهش داده شد. با استفاده از آب پاش دستی و قرار دادن ظرف آب کنار هیتر، رطوبت در هفته اوّل ۶۰ تا ۷۰ درصد و بعد از آن تا آخر دوره به مقدار ۵۰ تا ۶۰ درصد تنظیم شد. برنامه روشنایی سالن به صورت ۲۴ ساعت روشنایی در ۳ روز اوّل پرورش و ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی از روز ۴ تا پایان دوره در نظر گرفته شد. برای تغذیه جوجه‌ها از روز اوّل تا پایان ۲ هفتگی از دان‌خوری‌های سینی و از شروع هفته سوّم پرورش از دان‌خوری سطلی استفاده شد. در کل دوره پرورش از آب‌خوری‌های کله قندی استفاده شد. ابتدا جلبک اسپیرولینا در آزمایشگاه مرکز تحقیقات آبزیان مازندران با استفاده از محیط کشت زاروک کشت و برداشت شد. سپس، ترکیب شیمیایی نمونه خشک شده جلبک مورد استفاده شامل اندازه‌گیری ماده خشک (DM)، پروتئین خام (CP)، فیبر خام (CF)، عصاره اتری (EE)، عصاره عاری از نیتروژن (NFE)، کلسیم (Ca)، فسفر (P) و خاکستر (Ash) بر اساس روش AOAC (۲۰۰۵) بررسی شد. به منظور ریزپوشانی پودر ریز-جلبک اسپیرولینا از پوشش سیکلودکسترین استفاده شده که میزان آن نسبت به اسپیرولینا به صورت ۴ به ۱ بود. ابتدا سوسپانسیونی از جلبک در آب مقطر تهیه شد و با مگنت و بدون حرارت همگن شد. برای پوشش سیکلودکسترین نیز سوسپانسیونی تهیه شد و عمل همگن کردن با حرارت ۴۵ درجه و به مدت۳۰ دقیقه انجام شد. سپس، سوسپانسیون‌های مذکور با هم مخلوط شده و با استفاده از دستگاه اولتراهموژنایزر در دور ۹۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه هموژنایز شد تا عمل ریزپوشانی به خوبی انجام گیرد. بعد از این مرحله، جهت پایدار نمودن سوسپانسیون تهیه شده، از سورفکتانت توئین ۸۰ استفاده شد. در مرحله نهایی نیز از دستگاه خشک‌کن پاششی[1] با دمای ورودی ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و دمای خروجی ۸۰ درجه سانتی‌گراد جهت خشک‌کردن استفاده شد. جیره‌های آزمایشی در سه مرحله آغازین (۱۰-۰ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) با استفاده از نرم‌افزار WUFFDA مطابق احتیاجات غذایی ارایه شده در راهنمای ۲۰۱۹ سویه راس- ۳۰۸ با کمی تغییرات استفاده شد (جدول ۱).

برای بررسی قابلیّت هضم مواد مغذی، در سن ۳۸ روزگی سه قطعه پرنده از هر تکرار انتخاب و به قفس منتقل شدند و به مدت ۴ روز از اکسیدکروم به مقدار ۰/۳ درصد جیره به عنوان نشانگر در جیره آن‌ها استفاده شد. بعد از این مدت، در یک دوره ۳ روزه و بعد از جدا نمودن پر و پوست و ذرّات دان، نمونه‌گیری از فضولات جمع شده روی سینی زیر قفس‌ها انجام و بعد از هواخشک کردن نمونه‌ها در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه آزمایشگاهی نگهداری شد. ماده خشک، پروتئین خام و چربی خام فضولات بر اساس روش AOAC (2005) اندازه‌گیری شد. برای تعیین درصد پروتئین خام با استفاده از دستگاه کجلدال، ابتدا نمونه‌های فضولات هواخشک شده توسط اسید سولفوریک هضم گردیده و بعد از تقطیر، وارد مرحله تیتراسیون شدند. برای این منظور مقدار ۱ گرم از فضولات پودر شده به وسیله ترازو (با دقت ۳ رقم اعشار) وزن شده و همراه با ۵ گرم از کاتالیزور تهیه شده (سولفات مس ۰/۵ گرم، سولفات پتاسیم ۴/۵ گرم) به لوله‌های مخصوص هضم (بالون کجلدال) منتقل و به هرلوله ۱۵سی‌سی اسید سولفوریک غلیظ ۹۸ درصد، جهت هضم اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت ۳ ساعت بر روی هیتر با دمای ۳۰۰ درجه قرار گرفتند تا محلول به جوش آمد. هنگامی که نمونه‌ها هضم شدند و رنگ آن‌ها متمایل به رنگ سبز روشن شد، لوله‌ها را از روی هیتر خارج کرده و بعد از خنک شدن به هر یک از آن‌ها ۷۵ سی‌سی آب مقطر اضافه گردید. بعد از طی این مراحل، درصد پروتئین خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کجلدال مدل KJETEC AUTO 1030 Analyzer تعیین شد. برای اندازه‌گیری چربی خام از روش سوکسله و حلال هگزان استفاده شد.

1. Spray dryer

جدول ۱. اقلام خوراکی و ترکیب مواد غذایی مورد استفاده در آزمایش

	Starter (0–10 d)	Grower (11–24 d)	Finisher (25–42 d)
Ingredients (%)			
Corn (7.59 % CP)	۵۰/۵۹	۵۶/۰۶	۶۱/۲۵
Soybean meal (44% CP)	۴۱/۵۲	۳۶/۶۵	۳۱/۷۸
Soybean oil	۳/۴۵	۳/۲۵	۳/۱۱
Dicalcium phosphate	۱/۸۸	۱/۶۶	۱/۵۴
Limestone	۱/۰۰	۰/۹۳	۰/۸۶
NaCl	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۹
$NaHCO_3$	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰
DL -Methionine	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۲۰
L-Lysine HCl	۰/۲۵	۰/۲۲	۰/۲۳
L-Threonine	۰/۱۷	۰/۱۳	۰/۱۳
Vitamin premix[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
Mineral premix[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
Calculated values (%)			
Metabolisable energy (kcal/kg)	۲۹۰۰	۳۰۰۰	۳۰۵۰
Crude protein	۲۲/۲۵	۲۰/۸۰	۱۸/۵۸
Calcium	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۸۱
Sodium	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۷
Available phosphorus	۰/۴۸	۰/۴۳	۰/۴۰
Dig-Methionine	۰/۵۱	۰/۴۷	۰/۴۵
Dig-Lysine	۱/۲۸	۱/۱۵	۱/۰۶
Dig-Threonine	۰/۸۶	۰/۷۷	۰/۷۱

۱. پری‌میکس ویتامینه در هر کیلوگرم جیره تأمین‌کننده موارد زیر بود: ویتامین A (رتینیل استات) ۱۵۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D_3 ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۸۰ میلی‌گرم، ویتامین K ۵ میلی‌گرم، تیامین ۳ میلی‌گرم، ریبوفلاوین ۱۰ میلی‌گرم، پیریدوکسین ۵ میلی‌گرم، ویتامین B_{12} ۰/۰۲ میلی‌گرم، نیاسین ۷۰ میلی‌گرم، کولین کلراید ۱۸۰۰ میلی‌گرم، فولیک اسید ۲ میلی‌گرم، بیوتین ۰/۴ میلی‌گرم، پانتوتنیک اسید ۲۰ میلی‌گرم.

۲. پری‌میکس معدنی در هر کیلوگرم جیره تأمین‌کننده موارد زیر بود: منگنز ۱۰۰ میلی‌گرم، روی ۶۵ میلی‌گرم، مس ۵ میلی‌گرم، سلنیوم ۰/۲۲ میلی‌گرم، ید ۰/۵ میلی‌گرم و کبالت ۰/۵ میلی‌گرم.

تعیین غلظت اکسید کروم فضولات طبق روش تصحیح شده فنتون و فنتون (۱۹۷۹) انجام شد. در پایان، برای اندازه‌گیری قابلیّت هضم هر یک از مواد مغذی از فرمول ذیل استفاده شد:

$$D(\text{درصد}) = ۱۰۰ - \{۱۰۰ \times [(A/B) \times (C/E)]\}$$

D = قابلیت هضم (درصد)

A= غلظت اکسید کروم نمونه خوراک (درصد)

B= غلظت اکسید کروم نمونه فضولات (درصد)

C= غلظت ماده مغذی نمونه فضولات (درصد)

E= غلظت ماده مغذی نمونه خوراک (درصد)

برای بررسی پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در تیمارهای مختلف در سن ۲۱ روزگی، دو پرنده از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب و ۰/۵ سی‌سی SRBC[1] رقیق شده در۱۰ درصد بافر فسفات قلیایی به ازای هر کیلوگرم وزن زنده، به سیاهرگ بال پرنده تزریق و در ۲۸ و ۳۵ روزگی از پرندگانی که تحت عمل تزریق قرار

1. Sheep Red Blood Cell

گرفتند، میزان ۲ سی‌سی خون گرفته و برای تیتراسیون آنتی‌بادی‌های تولیدی علیه SRBC به آزمایشگاه ارسال شد (Bartlett and Smith, 2003). در سن ۴۲ روزگی، بعد از اعمال ۴ ساعت گرسنگی از هر واحد آزمایشی دو قطعه پرنده به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از سیاهرگ بال انجام شد. سپس نمونه ها همراه یخ سریعاً به آزمایشگاه انتقال داده شدند. نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ برای جداسازی سرم قرار گرفته و فراسنجه‌های کلسترول، تری‌گلیسرید، گلوکز و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، تهران) و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. غلظت لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) و لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم (VLDL) نیز با استفاده از فرمول‌های موجود محاسبه شد (Friedwald *et al*., 1972).

LDL= TC-HDL-VLDL

$$VLDL = \frac{TG}{5}$$

شمارش گلبول‌های قرمز (RBC) و گلبول‌های سفید (WBC) با استفاده از لام هموسیتومتر انجام شد (Campbell, 1995).

کلیه داده‌های آزمایش‌های فوق در رایانه و در فرم اکسل ثبت شد. نتایج بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار (SAS, 2001) و با استفاده از رویه مدل خطّی عمومی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن (Duncan,1955) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. مدل طرح کاملاً تصادفی به صورت زیر بود:

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

X_{ij}= ارزش هر مشاهده

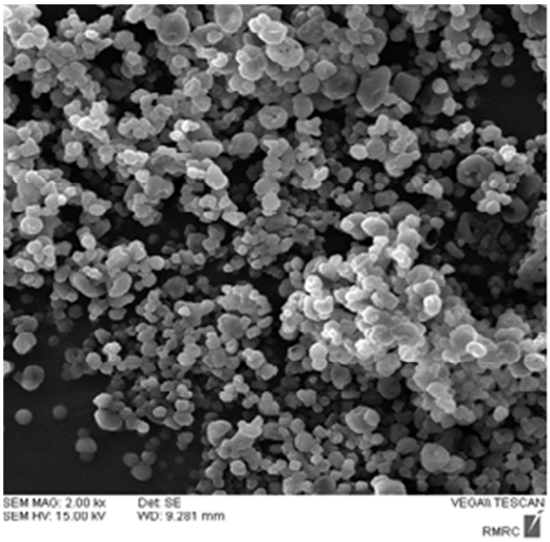
μ= میانگین مشاهدات

T_i= اثر تیمار

e_{ij}= خطای آزمایشی

۳. نتایج و بحث

جلبک اسپیرولینای مورد استفاده در این تحقیق حاوی ۶۴/۴۵ درصد پروتئین خام، ۴/۴۱ درصد چربی خام، ۱۲/۳۵ درصد خاکستر و ۳/۶ درصد رطوبت بود. Dewi *et al*. (2016) گزارش نمودند که پودر جلبک اسپیرولینا حاوی ۵۹/۱۶ درصد پروتئین خام و ۱/۴ درصد چربی خام است، درحالی‌که Madkour *et al*. (2012)، مقدار پروتئین خام جلبک اسپیرولینا را ۵۲/۱۰ درصد بیان کردند. نتایج آنالیز ترکیب شیمیایی اسپیرولینا توسط شاروبا (۲۰۱۴)، پروتئین خام ۶۲/۸۴ درصد، چربی خام ۶/۹۳ درصد، خاکستر ۴/۷۴ درصد را نشان داد. تفاوت در نتایج به‌دست‌آمده را می‌توان به تنوع محیط کشت‌های مورد استفاده برای پرورش ریزجلبک اسپیرولینا، شرایط کشت، روش خشک کردن و آماده‌سازی و همچنین روش نگهداری آن نسبت داد که تأثیر مستقیم روی ترکیبات موّاد مغذی ارزش غذایی آن دارد. تصویر جلبک اسپیرولینای ریزپوشانی شده با میکروسکوپ الکترونی در شکل ۱ نشان داده شده است. میانگین قطر کوچک جلبک اسپیرولینای ریزپوشانی شده ۶۷/۴ میکرون بود.



شکل ۱. تصویر مشاهده شده با میکروسکوپ الکترونی

با توجه به نتایج آورده شده در جدول ۲، استفاده از سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا* تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و چربی خام در جوجه‌های گوشتی نداشت که با یافته‌های Park *et al.* (2018) و Evans *et al.* (2015) مغایرت دارد. این محقّقین گزارش کردند که استفاده از جلبک اسپیرولینا سبب بهبود قابلیّت هضم مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی می‌شود. در یک مطالعه دیگر، Park *et al.* (2018) از سطوح ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد جلبک اسپیرولینا در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده و بیان کردند که قابلیت هضم ماده خشک و نیتروژن به صورت خطی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جلبک *اسپیرولینا* افزایش یافت. در مطالعه دیگری، Evans *et al.* (2015) گزارش نمودند که در جوجه‌های گوشتی جوان (۲۱ روزه) به هنگام تغذیه ۶، ۱۱، ۱۶ و ۲۱ درصد جلبک *اسپیرولینا*، قابلیت هضم ایلئومی ظاهری گلوتامیک اسید، پرولین، گلایسین، آلانین، متیونین، لوسین و لیزین نسبت به گروه شاهد بیشتر بود.

جدول ۲. اثر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین و چربی جیره (درصد)

Treatments	Dry matter	Protein	Fat
Control (no additive)	۶۴/۶۲	۶۵/۴۱	۶۸/۷۶
Capsulated Spirulina Platensis (0.3%)	۶۴/۵۴	۶۵/۸۴	۶۷/۳۲
Capsulated Spirulina Platensis (0.6%)	۶۵/۱۲	۶۳/۶۵	۶۳/۱۸
Capsulated Spirulina Platensis (0.9%)	۶۶/۰۳	۶۷/۱۲	۶۷/۳۵
SEM	۱/۷۳۹	۲/۱۲۲	۲/۱۵۳
p-Value	۰/۷۲۲	۰/۵۳۰	۰/۰۸۷

a-c: میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p<$ ۰/۰۵).

۳. ۱. اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی در سن ۲۸ روزگی در جدول ۳ ارائه شده است. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، استفاده از سطوح مختلف پودر جلبک اسپیرولینای کپسوله در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش عیار اولیه آنتی‌بادی کل علیه گلبول قرمز گوسفندی نسبت به گروه شاهد شد ($p<$۰/۰۵). در پرورش طیور، بهبود

ایمنی برای جلوگیری از بیماری‌های عفونی بسیار مهم است. عوامل گوناگونی نظیر کوتاهی در واکسیناسیون، آلودگی توسط بیماری‌های کاهنده ایمنی و استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند سبب القای کاهش ایمنی شود (Hashemipour *et al*., 2013). استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی یکی از راه کارهای بهبود ایمنی و کاهش حسّاسیت نسبت به بیماری‌های عفونی است. گیاهانی که غنی از فلاونوئیدها هستند، فعالیت ویتامین C را افزایش می‌دهند، همانند آنتی‌اکسیدان‌ها عمل می‌کنند و اثر مثبت بر وضعیت ایمنی دارند (Acamovic *et al*., 2005). گلبول قرمز گوسفند یک آنتی‌ژن وابسته به سلول‌های T است. بدین معنی که هنگام وارد شدن آن به بدن، همکاری سلول‌های T جهت فعّال‌سازی سلّول‌های B و در نتیجه تولید آنتی‌بادی ضروری است. IgG اولین و مهم‌ترین آنتی‌بادی است که در در دستگاه گردش خون جوجه تولید می‌شود و از طریق خنثی نمودن آنتی‌ژن، فعال کردن سیستم کمپلمان، تسهیل بلع و کمک به فاگوسیتوز آنتی‌ژن توسط ماکروفاژ محافظت می‌کند (Nysather *et al*., 1976). در یک مطالعه (Mao *et al*., 2000) گزارش دادند که اسپیرولینا سطح اینترفرون گاما را در خون برای حمایت از تعادل تولید T-helper1 و T-helper2 بهبود داد. بنابراین، به نظر می‌رسد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*، پتانسیل بهبود پاسخ‌های ایمنی را دارد که می‌تواند به علت محتویات خاص موجود در آن نظیر پلی‌ساکارید ایمولینا، سی- فیکوسیانین، بتا-کاروتن، سلنیوم، توکوفرول، ویتامین C، اسید گاما-لینولنیک و اسید لینولنیک باشد (Seyidoglu *et al*., 2017). همچنین، کلسیم-اسپیرولن یک پلی‌ساکارید سولفاته مشتق از اسپیرولینا می‌باشد که فعالیت ضدویروسی دارد و می‌تواند پاسخ‌های ایمنی را بهبود دهد (Pugh *et al*., 2001).

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸ روزگی (بر حسب log_2)

Treatments	IgM	IgG	Total antibody
Control (no additive)	۱/۸۰	۵/۰۰	۵/۸۰^{c}
Capsulated Spirulina Platensis (0.3%)	۲/۰۴	۵/۱۰	۷/۱۴^{b}
Capsulated Spirulina Platensis (0.6%)	۲/۱۶	۵/۲۳	۷/۳۹^{ab}
Capsulated Spirulina Platensis (0.9%)	۲/۲۴	۵/۴۵	۷/۶۹^{a}
SEM	۰/۰۸۳	۰/۰۹۳	۰/۱۵۴
P-Value	۰/۲۴۴	۰/۲۱۰	۰/۰۱۴

a-c: میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p< ۰/۰۵$).

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، تغذیه با پودر جلبک اسپیرولینا ریزپوشانی شده در سطح ۰/۳ یا ۰/۶ درصد جیره، سبب افزایش پاسخ ایمنی عیار آنتی‌بادی IgM، IgG و آنتی‌بادی تام در سن ۴۲روزگی جوجه‌های گوشتی شد. گزارش شده در جوجه‌های گوشتی، استفاده از جلبک اسپیرولینا در جیره، برخی پاسخ‌های ایمنی نظیر ظرفیت فاگوسیتیک و تولید آنتی‌بادی علیه سلول‌های قرمز خون گوسفندی را تقویت می‌کند (Al-Batshan *et al*., 2001). واضح است که در انسان و موش، تولید IgG به وسیله اینترلوکین-۴ یا اینترفرون گاما تحریک می‌شود، در حالی‌که، تولید IgA به وسیله اینترلوکین-۵ تحریک می‌شود (Male *et al*., 2006). اگرچه دانش ما در مورد ساز و کار تولید ایمونوگلوبولین و اثر متقابل سیتوکین‌ها نظیر اینترلوکین و اینترفرون ۵ در ماکیان کافی نیست، Male *et al*. (2006) گزارش نمودند که جلبک اسپیرولینا بر تولید یک سیتوکین خاص تأثیر دارد که سبب افزایش قابلیت تولید IgG می‌شود. همچنین Katayama *et al*. (2016) مکمل کردن ۰/۱ درصد *اسپیرولینا پلاتنسیس* را برای افزایش پاسخ ایمنی سیستمیک در جوجه‌های گوشتی توصیه کردند. نتایج مطالعات متعدد نشان داده است که اسپیرولینا می‌تواند موجب افزایش عملکرد سیستم ایمنی پرندگان شود. در یک مطالعه Quereshi *et al*. (1996) گزارش کردند که در جوجه‌های گوشتی تغذیه

شده با جیره غذایی حاوی یک درصد اسپیرولینا، افزایش تولید لنفوسیت فیتوهماگلوتینین و فعالیت فاگوسیتی ماکروفاژها در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد. محققان دریافتند که جیره حاوی اسپیرولینا (۵ درصد خوراک) می‌تواند اثر منفی آفلاتوکسین را بر وزن اندام‌های ایمنی و وزن بدن جوجه‌های گوشتی کاهش دهد (Raju *et al*., 2005).

بر اساس تحقیقات انجام شده می‌توان از جلبک اسپیرولینا به منظور افزایش رنگدانه و ارزش غذایی گوشت و تخم‌مرغ و همچنین تقویت سیستم ایمنی طیور استفاده نمود. در یک پژوهش، Hajati & Zaghari (2019) گزارش نمودند سطوح ۱، ۳ یا ۵ گرم اسپیرولینا به ازای هر کیلوگرم خوراک سبب تقویت پاسخ ایمنی همورال بلدرچین‌های تخم گذار شد. در مطالعه دیگری، Katayama *et al*. (2016) بیان کردند که عیار IgG در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با *اسپیرولینا پلاتنسیس* بالاتر بود. آن‌ها مطرح کردند که *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر تولید سایتوکین خاصی که سطح IgG را افزایش می‌دهد، تأثیر دارد. به‌علاوه، *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌تواند تولید سایتوکین‌ها توسط سلول‌های خون محیطی را تنظیم کند (Beutler, 2004). برخی مواد مغذی موجود در *اسپیرولینا پلاتنسیس* نظیر لیپوپلی‌ساکاریدها (Tornabene *et al*., 1985)، ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای چرب ضروری (Belay *et al*., 1994) می‌توانند ماکروفاژها را فعال و در نتیجه ایمنی همورال را تقویت کنند. هم‌چنین، حاجاتی و همکاران (۲۰۲۱) گزارش نمودند که تغذیه داخل تخم‌مرغی *اسپیرولینا پلاتنسیس* تأثیر مثبت بر جوجه‌درآوری، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی جوجه بلدرچین ژاپنی داشته است.

جدول ٤. اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی (بر حسب log_2)

Treatments	IgM	IgG	Total antibody
Control (no additive)	^{c}۳/۱۰	^{d}۵/۲۴	^{c}۸/۳۴
Capsulated Spirulina Platensis (0.3%)	^{b}۳/۳۱	^{b}۵/۸۷	^{b}۹/۱۸
Capsulated Spirulina Platensis (0.6%)	^{a}۳/۶۴	^{a}۶/۵۴	^{a}۱۰/۱۸
Capsulated Spirulina Platensis (0.9%)	^{d}۳/۰۲	^{c}۵/۴۳	^{c}۸/۴۵
SEM	۰/۰۸۹	۰/۰۲۱	۰/۰۴۲
P-Value	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت برخی شاخص‌های خونی جوجه‌های گوشتی در روز ٤۲

Treatments	Chol[4] (mg/dl)	TG[5] (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	HDL (mg/dl)	VLDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	RBC ($^{*}10^{6}$/mm^{3})	WBC ($^{*}10^{6}$/mm^{3})
Control	^{a}۱۳۵/۲۲	^{a}۵۷/۲۹	۲۲۶/۴۵	۵۸/۲۴	^{a}۱۱/۴۵	^{a}۶۵/۵۳	^{b}۴/۲۳	۱۰/۱۰
CSP[1] (0.3%)	^{ab}۱۲۷/۳۴	^{bc}۵۲/۱۲	۲۳۲/۶۳	۵۷/۵۶	^{b}۱۰/۴۲	^{a}۵۹/۳۶	^{bc}۴/۱۰	۱۰/۲۴
CSP[2] (0.6%)	^{b}۱۱۶/۴۵	^{b}۴۸/۶۴	۲۴۵/۰۳	۵۸/۱۵	^{bc}۹/۷۲	^{b}۴۸/۵۸	^{a}۴/۵۲	۱۰/۳۰
CSP[3] (0.9%)	^{bc}۱۰۵/۵۱	^{c}۴۲/۳۷	۲۴۸/۱۰	۶۳/۱۱	^{c}۸/۴۷	^{c}۳۳/۹۳	^{b}۴/۴۱	۱۰/۳۲
SEM	۵/۱۲۲	۲/۱۰۵	۱۱/۲۱۴	۲/۲۳۲	۰/۲۴۱	۲/۲۱۱	۰/۰۵	۰/۰۱۳
p-Value	۰/۰۲۹	۰/۰۰۱	۰/۱۸۳	۰/۱۳۱	۰/۰۰۱	۰/۰۳۲	۰/۰۰۱	۰/۸۰۳

a-c: میانگین‌های موجود در هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p< ۰/۰۵$).

[1,2,3] Capsulated Spirulina Platensis (0.3, 0.6 or 0.9%);[4] Cholestrol, [5]Triglyceride.

۳. ۲. اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های خونی

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد استفاده از تیمارهای آزمایشی در جیره سبب کاهش غلظت کلسترول خون جوجه‌های گوشتی شد (جدول ۵). بیشترین غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید در گروه تغذیه شده با تیمار کنترل (بدون افزودنی) و

کمترین غلظت آن‌ها در پرندگان تغذیه شده با تیمار حاوی ۰/۹ درصد جلبک اسپیرولینای ریزپوشانی شده دیده شد ($p<۰/۰۵$). جیره‌های حاوی پودر جلبک اسپیرولینای ریزپوشانی شده سبب افزایش عددی گلوکز خون گردید اما به لحاظ آماری با تیمار شاهد اختلاف معنی دار نداشتند ($p>۰/۰۵$). تیمارهای حاوی ۰/۳ درصد، ۰/۶ درصد و ۰/۹ درصد پودر جلبک اسپیرولینای کپسوله به طور معنی‌داری VLDL کمتری نسبت به تیمار شاهد داشتند ($p<۰/۰۵$). افزودن ۰/۶ یا ۰/۹ درصد پودر جلبک اسپیرولینای کپسوله به جیره جوجه‌های گوشتی به طور معنی‌داری سبب کاهش غلظت LDL خون نسبت به تیمار شاهد بدون افزودنی گردید. جوجه‌های تغذیه شده با تیمار حاوی ۰/۶ درصد پودر جلبک اسپیرولینای کپسوله گلبول قرمز بیشتری نسبت به تیمار شاهد داشتند ($p<۰/۰۵$). تیمارهای آزمایشی بر تعداد گلبول‌های سفید جوجه‌های گوشتی اثر معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$).

در یک تحقیق، Abouelezz (2017) با تیمارهای حاوی ۰/۲۵ درصد جلبک اسپیرولینا در آب آشامیدنی و یک درصد جلبک اسپیرولینا در جیره گزارش کرد، تیمار حاوی یک درصد جلبک اسپیرولینا به‌طور معنی‌داری غلظت کلسترول کمتری نسبت به تیمار شاهد و تیمار حاوی ۰/۲۵ درصد جلبک داشت، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. فعالیت هیپوکلسترولمیای اسپیرولینا به وجود مقدار زیاد سیستین موجود در پروتئین فیکوسیانین آن مرتبط است (Nagaoka *et al*., 2005). در تحقیق Zeweil *et al*. (2016) با سطوح ۰/۵ و یک درصد اسپیرولینا و ۰/۷۵ میلی‌گرم ویتامین E نشان دادند، که در تیمار حاوی یک درصد اسپیرولینا به طور معنی‌داری کلسترول خون کمتر (۹۰/۶۷ در برابر ۱۵۶/۷۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)، HDL بیشتر (۳۹/۳۳ در برابر ۳۷/۳۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و LDL کمتر (۷۳/۵۸ در برابر ۹۵/۹۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) نسبت به تیمار شاهد داشت، که موافق نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین تیمار حاوی اسپیرولینا و تیمار شاهد بر گلبول سفید خون مشاهده نشد، که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسپیرولینا علاوه بر کاهش چربی خون، می‌تواند در کاهش LDL نقش داشته باشد. گزارش شده است که تغذیه جیره‌های حاوی جلبک اسپیرولینا در جوجه‌های گوشتی، غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم را به طور معنی‌داری کاهش داد (Mariey *et al*.,2014). تعداد سلول‌های قرمز خون جوجه‌های تغذیه شده با جلبک اسپیرولینا در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت، که هم راستا با نتایج این تحقیق می‌باشد. همچنین افزودن جلبک اسپیرولینا به جیره به طور معنی‌داری سبب افزایش گلبول‌های سفید خون در جوجه‌های گوشتی گردید، که با نتایج این تحقیق مطابقت نداشت. در تحقیق دیگری گزارش شده است که سطوح (۰/۱۰، ۰/۱۵ و ۰/۲۰ درصد) جلبک اسپیرولینا بر غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید خون اثر معنی‌داری داشت (Mariey *et al*.,2012). به طوری که تیمار حاوی ۰/۲۰ درصد اسپیرولینا کمترین غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید و بیشترین مقدار گلوگز را نسبت به تیمار شاهد داشت، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. گزارش شده است که افزودن جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* تا سطح یک درصد به جیره به‌طور معنی‌داری بر گلبول قرمز خون اثر مثبت داشت (Shanmugapriya *et al*., 2014).

استفاده از سطوح یک و ۵ درصدی جلبک اسپیرولینا در جیره، سبب کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول و LDL در خون خرگوش‌ها گردید (Cheong *et al*., 2010). کاهش کلسترول می‌تواند به علت دوکوزاهگزاانوئیک اسید (Park *et al*., 2015)، فیتواسترول‌ها یا محتوای فیبر جلبک باشد که تأثیر منفی بر جذب کلسترول از روده دارند..Chen *et al* (2011) گزارش دادند که دوکوزاهگزاانوئیک اسید با منشأ یک ریزجلبک می‌تواند از فعالیت ۳–هیدروکسی ۳– متیل-گلوتاریل–کوآنزیم آ–ردوکتاز پیشگیری کند که سبب کاهش ساخت کلسترول می‌شود. محققان دیگری نیز بیان کردند که هیچ یک از شاخص‌های خونی تحت تأثیر تیمارهای حاوی پودر جلبک قرار نگرفت (Arefniay fomani *et al*., 2015)، که با نتایج این تحقیق مطابقت نداشت. افزایش غلظت گلوگز با تیمارهای حاوی جلبک اسپیرولینا ممکن است

به مواد مغذی بالای آن و محتوای کاروتنوئید بالای آن مربوط باشد. در همین راستا، El-Khimsawy (1985) گزارش کرد که ویتامین A نقش مهمی برای ساخت گلوگز در خون ایفا می‌کند. محتوای چربی جلبک اسپیرولینا حدود ۵ درصد می‌باشد که این مقدار نسبت به دیگر منابع پروتئینی بسیار ناچیز می‌باشد. مقدار ۱۰ گرم از این جلبک فقط ۳۶ کالری انرژی داشته و میزان کلسترول آن پایین می‌باشد. بدین معنا که این جلبک یک منبع پروتئینی با سطح چربی پایین، کالری کم و تقریباً بدون کلسترول می‌باشد و این مقادیر قابل مقایسه با گوشت و دیگر منابع پروتئینی نیست. افزایش در شاخص‌های خونی ممکن است به مواد معدنی غنی مانند آهن، مس و روی در اسپیرولینا مرتبط باشد (Tokuşoglu & Üunal, 2003; Babadzhanov *et al*., 2004) و این موضوع به خوبی شناخته شده است که آهن نقش مهمی را در بیوساخت هموگلوبین و سلول‌های قرمز خون برای جلوگیری از کم‌خونی ایفا می‌کند (Bartov & Kanner, 1996; Badway, 1998).

۴. نتیجه‌گیری کلی

تغذیه جلبک اسپیرولینای ریزپوشانی‌شده به جوجه‌های گوشتی، سبب تقویت سیستم ایمنی هومورال، کاهش سطح VLDL، LDL و افزایش درصد گلبول‌های قرمز خون شد و در این پژوهش سطح ۰/۵ درصد بهترین سطح استفاده ریزجلبک اسپیرولینای ریزپوشانی شده بود.

۵. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی میان نویسندگان وجود ندارد.

۶. منابع

Abouelezz, F. M. K. (2017). Evaluation of spirulina algae (*Spirulina platensis*) as a feed supplement for japanese quail: nutiritional effects on growth performance, egg production, egg quality, blood metabolites, sperm-egg penetration and fertility. *Egyptian Poultry Science Journal*, 37, 707-719.

Acamovic, T. & Brooker, J. D. (2005). Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64, 403-412.

Agustini, T.W., Suzery, M., Sutrisnanto, D. & Hadiyanto, W.F.M. (2015). Comparative study of bioactive substances extracted from fresh and dried *Spirulina sp*. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 282-289.

Al-Batshan, H. A., Al-Mufarrej, S. I., Al-Homaidan, A. A. & Qureshi, M. A. (2001). Enhancement of chicken macrophage phagocytic function and nitrite production by dietary *Spirulina platensis*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 23, 281-289.

Ansari, MS., Hajati, H., Gholizadeh, F., Soltani, N. & Alavi, SM. (2018). The Effect of different levels of algae (*Spirulina*) on growth performance, intestinal morphology, gut microflora, carcass characteristics and some blood parameters in broiler chickens. *Journal of Phycological Research*, 2, 186-197.

AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis*. 18th ed. Association of analytical chemists, AOAC international, Arlington VA.

Arefniay fomani, E. R., Mottaghitalab, M. & Ghavi-Hosseinzadeh, N. (2015). The effect of substituting soybean meal and corn with a mixture of microalgae on the performance of broiler chickens. MSc. Thesis. Faculty of Agriculture Guilan University, Iran.

Babadzhanov, A. S., Abdusamatova, N., Yusupova, F. M., Faizullaeva, N., Mezhlumyan, L. G. & Malikova, M. K. (2004). Chemical composition of *spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. *Chemistry of Natural Compounds*, *40*, 276-279.

Badway, N. A. (1998). Nutrition and immune performance in poultry: Role of vitamin and Trace Minerals as Immune Boosters. *Review Article. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 2, 304-309.

Bartlett, J. R. & Smith, M. O. (2003). Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. *Poultry Science*, 82, 1580-1588.

Bartov, I. & Kanner, J. (1996). Effect of high levels of dietary iron, iron injection, and dietary vitamin E on the oxidative stability of turkey meat during storage. *Poultry Science*, 75, 1039-1046.

Belay, A. (1994). Production of high-quality *Spirulina* at Earthrise farms. *Algal Biotechnology in the Asia-Pacific Region.* 92-102.

Beutler, B. (2004). Innate immunity: an overview. *Molecular Immunology*, *40*, 845-859.

Campbell, T. W. (1995). *Avian Hematology and Cytology* (Vol. 413). Ames: Iowa State University Press.

Chen, J., Jiang, Y., Ma, K. Y., Chen, F. & Chen, Z. Y. (2011). Microalga decreases plasma cholesterol by down-regulation of intestinal NPC1L1, hepatic LDL receptor, and HMG-CoA reductase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6790-6797.

Cheong, S. H., Kim, M. Y., Sok, D. E., Hwang, S. Y., Kim, J. H., Kim, H. R., ... & Kim, M. R. (2010). *Spirulina* prevents atherosclerosis by reducing hypercholesterolemia in rabbits fed a high-cholesterol diet. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 56, 34-40.

Dewi, E. N., Amalia, U. & Mel, M. (2016). The Effect of different treatments to the amino acid contents of micro algae *spirulina* sp. *Aquatic Procedia*, *7*, 59-65.

El-Khimsawy, K. A. (1985). Feed additive in poultry feeds. *Dar. El-Hwda for publication. Cairo, Egypt (In Arabic)*.

Evans, A. M., Smith, D. L., & Moritz, J. S. (2015). Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 24, 206-214.

Fenton TW & Fenton M. 1979. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. Canadian Journal of Animal Science, 59, 631-634.

Friedewald, W. T., Levy, R. I. & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18, 499-502.

Ghaeni, M., Matinfar, A., Soltani, M., & Rabbani, M. (2011). Comparative effects of pure *spirulina* powder and other diets on larval growth and survival of green tiger shrimp, *Peneaus semisulcatus*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 10, 208-217.

Hajati, H. & Zaghari, M. (2019). Effects of *Spirulina platensis* on growth performance, carcass characteristics, egg traits and immunity response of Japanese quails. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 9, 347-357.

Hajati, H., Zaghari, M., Noori, O., Negarandeh, R. & de Oliveira, H. C. (2021). Effects of in ovo injection of microalgae on hatchability, antioxidant and immunity-related genes expression, and post-hatch performance in broilers and Japanese quails. *Italian Journal of Animal Science*, 20, 985-994.

Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A. & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. *Poultry Science*, 92, 2059-2069.

Katayama, S., Kayahara, Y. & Watanabe, T. (2016). Enhancement of immunological responses by dietary *Arthrospira platensis* and possibility of field applications as alternative to antibiotics in broiler chicken. *American Journal of Animal and Veterinary Science*, 11, 18-24.

Khan, M., Shobha, J. C., Mohan, I. K., Naidu, M. U. R., Sundaram, C., Singh, S., ... & Kutala, V. K. (2005). Protective effect of Spirulina against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *19*(12), 1030-1037.

Madkour, F. F., Kamil, A. E. W. & Nasr, H. S. (2012). Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38, 51-57.

Male, D. J., Brostoff, D. Roth & Roitt, I. (2006). Immunology. 7th Edn., Mosby Elsevier, Missouri.

Mao, T. K., Van de Water, J. & Gershwin, M. E. (2000). Effect of *Spirulina* on the secretion of cytokines from peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Medicinal Food*, 3, 135-140.

Mariey, Y.A., Samak, H.R. & Ibrahem, M.A. (2012). Effect of using *Spirulina platensis* algae as a feed additive for poultry diet: 1- productive and reproductive performances of local laying hens. *Egyptian Poultry Science Journal*, 32, 201-215.

Mariey, Y.A., Samak, H.R., Abou-Khashba, H.A., Sayed, M.A.M. & Abou-Zeid, A.E. (2014). Effect of using *Spirulina platensis* algae as a feed additive for poultry diets: 2-productive performance of broiler. *Egyptian Poultry Science*, 34, 245-258.

Marques de Assis, L., Machado, A.R., De Souza, A., Costa, J.A.V. & Souza, L.A. (2014). Development and characterization of nanovesicles containing phenolic compounds of microalgae *Spirulina* Strain LEB-18 and chlorella pyrenoidosa. *Advances in Materials Physics and Chemistry*, 4, 6-12.

Nagaoka, S., Shimizu, K., Kaneko, H., Shibayama, F., Morikawa, K., Kanamaru, Y., Otsuka, A., Hirahashi, T. & Kato, T. A. (2005). Novel protein C-Phycocyanin plays a crucial role in the hypocholesterolemic action of *Spirulina* platensis concentrate in rats. *Journal of Nutrition*, 135, 2425-2430.

Nysather, J.O., Katz, A.E. & Lenth, J.L. (1976). The immune system: It development and functions. *American Journal of Nursing*, 76, 1614-1618.

Park, J. H., Lee, S. I. & Kim, I. H. (2018). Effect of dietary *Spirulina (Arthrospira) platensis* on the growth performance, antioxidant enzyme activity, nutrient digestibility, cecal microflora, excreta noxious gas emission, and breast meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 97, 2451-2459.

Park, J. H., Upadhaya, S. D. & Kim, I. H. (2015). Effect of dietary marine microalgae (*Schizochytrium*) powder on egg production, blood lipid profiles, egg quality, and fatty acid composition of egg yolk in layers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28, 391.

Pinho, E., Grootveld, M., Soares, G. & Henriques, M. (2014). Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. *Carbohydrate Polymers*, 101, 121-135.

Pugh, N., Ross, S. A., ElSohly, H. N., ElSohly, M. A. & Pasco, D. S. (2001). Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from *Spirulina platensis*, Aphanizomenon flos-aquae and Chlorella pyrenoidosa. *Planta Medica*, 67, 737-742.

Qureshi, M. A., Garlich, J. D. & Kidd, M. T. (1996). Dietary *Spirulina* platensis enhances humoral and cell-mediated immune functions in chickens. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 18, 465-476.

Raju, M. V. L. N., Rao, S. V., Radhika, K. & Chawak, M. M. (2005). Dietary supplementation of *Spirulina* and its effects on broiler chicken exposed to aflatoxicosis. *Indian Journal of Poultry Science*, 40, 36-40.

SAS Institute, 2001. *SAS User's Guide Statics*. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.

Seyidoglu, N., Galip, N., Budak, F. & Uzabaci, E. (2017). The effects of *Spirulina platensis (Arthrospira platensis)* and *Saccharomyces cerevisiae* on the distribution and cytokine production of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes in rabbits. *Austral Journal of Veterinary Sciences*, 49, 185-190.

Shanmugapriya, B. & Saravana Babu, S. (2014). Supplementary effect of *Spirulina platensis* on performance, hematology and carcass yield of broiler chicken. *Indian Streams Research Journal*, 4, 1-7.

Sharoba, A. M. (2014). Nutritional value of *Spirulina* and its use in the preparation of some complementary baby food formulas. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 5, 517-538.

Tokuşoglu, Ö. & Üunal, M. K. (2003). Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, Chlorella vulgaris, and Isochrisis galbana. *Journal of Food Science*, 68, 1144-1148.

Tornabene, T. G., Bourne, T. F., Raziuddin, S. & Ben-Amotz, A. (1985). Lipid and lipopolysaccharide constituents of cyanobacterium *Spirulina platensis* (*Cyanophyceae, Nostocales*). *Marine Ecology Progress Series*, 121-125.

Zeweil, H., Abaza, I. M., Zahran, S. M., Ahmed, M. H., AboulEla, H. M. & Saad, A. A. (2016). Effect of *Spirulina platensis* as dietary supplement on some biological traits for chickens under heat stress condition. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 56, 8-13.