

DOI: 10.22034/as.2021.36835.1529

اثرات استفاده از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر عملکرد، میکروفلور و مورفولوژی روده باریک و برخی فراسنجه های خون مرغ‌های تخم‌گذار

حسن مردان پور^۱، مرتضی مهري^{۲*} و فاطمه شیرمحمد^۲

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱/۲۳

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی تهران

^۲ استادیار، گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی تهران

* مسئول مکاتبه: Email: mortezamehri@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: جلبک اسپیرولینا به عنوان ماده خوراکی نسبتاً جدید در تغذیه مرغان تخمگذار، ممکن است بتواند شاخص‌های عملکردی، کیفی و کمی تخم‌مرغ را تحت تأثیر قرار دهد. هدف: مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات استفاده از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) در جیره مرغ‌های تخم‌گذار بر عملکرد، میکروفلور و مورفولوژی روده باریک و برخی فراسنجه‌های خون انجام شد. روش کار: تعداد ۱۹۲ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه تجاری LSL در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار و ۱۲ قطعه مرغ در هر تکرار به مدت ۱۲ هفته (۲۶ تا ۳۷ هفتگی) مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارهای چهارگانه آزمایشی حاوی سطوح صفر تا ۴/۵ درصد جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بود. نتایج: نتایج نشان داد استفاده از سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در جیره مرغ‌های تخمگذار، تأثیر معنی‌داری بر خوراک مصرفی، ضریب تبدیل خوراک، درصد تولید، توده تخم‌مرغ تولیدی، جمعیت کل باکتریایی، کلی فرم‌ها و لاکتوباسیل‌ها روده نداشتند ($P > 0/05$). از بین فراسنجه‌های مورفولوژیک، عمق کریپت در مرغانی که ۴/۵ درصد جلبک اسپیرولینا دریافت کرده بودند، بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و دیگر تیمارها افزایش یافت ($P < 0/05$). از بین فراسنجه‌های خونی نیز میزان لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) بطور معنی‌داری در مرغانی که سطوح ۳ و ۴/۵ درصد جلبک اسپیرولینا دریافت کرده بودند کاهش یافت ($P < 0/05$) و تفاوتی در میزان کلسترول، تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) مشاهده نشد. نتیجه‌گیری نهایی: استفاده از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس تا سطح ۴/۵ درصد جیره، اثر منفی بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار ندارد.

واژگان کلیدی: اسپیرولینا پلاتنسیس، عملکرد، مرغ تخم‌گذار، مورفولوژی روده، میکروفلور روده

مقدمه

در حال حاضر تجارت خوراک به سمت و سوی استفاده از مواد طبیعی، به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها، رنگدانه‌های مصنوعی و سایر مواد شیمیایی هدایت می‌شود. جلبک اسپیرولینا یکی از مواد افزودنی طبیعی خوراک با کیفیت بالا است که می‌تواند در تغذیه حیوانات و طیور استفاده شود. در جهان دو گونه مختلف از اسپیرولینا وجود دارد: *maxima* (الیورا) و *platensis* (همکاران ۱۹۹۹). اسپیرولینا ماکسیما حاوی سطوح بالایی از ویتامین B₁، B₂، بتاکاروتن و تا ۷۱٪ پروتئین خام با غلظت‌های مناسب از تمام اسیدهای آمینه ضروری به جز اسید آمینه‌های گوگرددار است (بکر ۲۰۰۴). سطح پروتئین پودر اسپیرولینا پلانتد سیس به حدود ۵۵ تا ۶۵٪ رسیده و سرشار از کارتنوئید، املاح معدنی و ویتامین است (راس و دومینی ۱۹۹۰). اسپیرولینا تا حدود ۲۰٪ فیکوسیانین و کلروفیل آ و نیز سطح نسبتاً بالایی از ویتامین B₁₂ (سیفری و تیونی ۱۹۸۵) داشته و منبع اسید چرب ضروری گامالیونیک است (عبدالباکی و همکاران ۲۰۰۳). اسپیرولینا همچنین دارای آهن، کلسیم، کروم، مس، منیزیم، منگنز، فسفر، پتاسیم، سدیم و روی است (بلای ۱۹۹۷). میزان انرژی در دسترس یا قابل استفاده اسپیرولینا ۲۵۰۰ تا ۳۲۹۰ کیلوکالری در کیلوگرم تعیین شده است و قابلیت دسترس فسفر آن ۴۱٪ است (یوشیدا و هوشی ۱۹۸۰).

گنجاندن اسپیرولینا در سطح ۱ درصد جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اریتروسیت و کاهش پراکسیداسیون لیپید سرم شده است (ورما و همکاران ۲۰۰۴).

راس و همکاران (۱۹۹۴) اثر مثبت اسپیرولینا را بر تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ، وزن بدن و میزان مرگ و میر مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند. زهرجیان و همکاران (۲۰۱۳) اثر اسپیرولینا پلانتد سیس را بر صفات کیفی تخم‌مرغ و عملکرد تولید مرغ‌های تخم‌گذار بررسی کردند و نتایج آن‌ها نشان داد که صفات عملکردی و کیفی تخم‌مرغ تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت اما ساکایدا (۲۰۰۳) گزارش کرد که مقدار کلسترول زرده

تخم‌مرغ در مرغ‌های تغذیه شده با جیره حاوی سطوح متفاوت اسپیرولینا کاهش یافت. هدف از انجام این آزمایش، بررسی اثرات استفاده از جلبک اسپیرولینا پلانتد سیس در جیره مرغ‌های تخم‌گذار بر عملکرد، میکروفلور و مورفولوژی روده کوچک و برخی فراسنجه‌های خونی بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، تعداد ۱۹۲ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه تجاری LSL در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار، ۴ تکرار و ۱۲ قطعه مرغ در هر تکرار (هر قفس ۴ مرغ و ۳ قفس برای هر تکرار) استفاده شد. مرغ‌ها در سن ۲۶ هفتهگی و به مدت ۱۲ هفته با جیره‌های آزمایشی مورد نظر تغذیه شدند. تیمارهای چهارگانه‌ی آزمایشی حاوی سطوح صفر، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد ریزجلبک اسپیرولینا بودند. جلبک اسپیرولینا پلانتد سیس بصورت پودر و از طریق شرکت دانش‌بنیان ریزجلبکی پارسیان تحت نظارت پارک علمی فناوری گیلان تهیه و مصرف شد (جدول ۲). تهیه جیره غذایی (بر پایه ذرت-کنجاله سویا)، میزان دمای سالن و شدت و مدت روشنایی بر اساس پیشنهاد دفترچه راهنمای سویه LSL انجام گرفت (جدول ۱).

اندازه‌گیری شاخص‌های عملکرد: جهت اندازه‌گیری درصد تولید، توده تخم‌مرغ تولیدی، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک، تخم‌مرغ‌های تولیدی هر تکرار جداگانه و بصورت روزانه جمع‌آوری، توزین، شمارش و ثبت گردید. خوراک باقیمانده هر تکرار مرتباً جمع‌آوری و توزین شد و شاخص‌های مربوط به عملکرد بصورت هفتگی با در نظر گرفتن تلفات محاسبه شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی: در ۳۸ هفتهگی برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون از قبیل HDL، LDL، کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم خون مرغ‌ها ۳ ساعت قبل از نمونه‌گیری در شرایط گرسنگی قرار گرفتند. سپس از هر تکرار ۱ قطعه مرغ بصورت تصادفی انتخاب و از ورید بالی خون‌گیری بعمل آمد. اندازه‌گیری‌های فوق با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری، به روش فتومتریک و با استفاده از

نتایج و بحث

عملکرد

همانطور که در جدول ۳ مربوط به عملکرد مشاهده می شود، تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی داری بر عملکرد مرغ های تخم گذار شامل خوراک مصرفی، ضریب تبدیل خوراک، درصد تولید و توده تخم مرغ تولیدی نداشتند. مطابق با مطالعه حاضر، زهروگیان و همکاران (۲۰۱۳) اثر جلبک اسپیرولینا را در سطوح ۱/۵ و ۲ و ۲/۵ درصد، بر صفات کیفی تخم مرغ و عملکرد تولید مرغ های تخم گذار بررسی کردند و نتایج نشان داد که صفات عملکردی و کیفی تخم مرغ تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفتند. در مطالعه دیگری توپومیزو و همکاران (۲۰۰۱) بیان داشتند که استفاده از مقادیر ۴۰ و ۸۰ گرم اسپیرولینا در کیلوگرم جیره هیچ تأثیری بر فراسنجه های عملکرد جوجه های گوشتی نداشت. ونکاتارامان و همکاران (۱۹۹۴) ثابت کردند که جایگزینی پروتئین جیره با پودر اسپیرولینا تا میزان ۱۷۰ گرم در کیلوگرم خوراک هیچ تأثیری بر عملکرد جوجه های گوشتی در دوره رشد نداشت. از عواملی که می تواند میزان خوراک مصرفی را تحت تأثیر قرار دهد، وضعیت فیزیولوژیک بدن، سلامتی، میزان تولید، تعادل انرژی و پروتئین، رنگ، بو و طعم جیره است که اگر به هر دلیلی تغییر یابد روی خوراک مصرفی تأثیر می گذارد (فوربز ۱۹۹۵). این نتایج در تناقض با یافته های شانموگاپریا و همکاران (۲۰۱۵) هستند. آن ها گزارش کردند که افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک با افزودن ۱ درصد اسپیرولینا به جیره جوجه های گوشتی به میزان قابل توجهی در مقایسه با تیمار شاهد بهبود یافت. همچنین رُز و همکاران (۱۹۹۴) اثر مثبت جیره های حاوی ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ درصد مکمل اسپیرولینا را بر تولید تخم مرغ، وزن تخم مرغ و وزن بدن را گزارش کردند. رُز و دُمینی (۱۹۹۰) گزارش کردند که جوجه های گوشتی تغذیه شده با اسپیرولینا ضریب تبدیل خوراک بهتری در پایان دوره ۴۲ روزگی داشتند. بنابراین احتمالاً اثراتی همانند محرک رشد خوراک می تواند قابل توجه باشد (بلوم و کلت ۱۹۷۵).

کیت های تجاری شرکت پارس آزمون مخصوص هر یک انجام شد (ویلیامز ۱۹۷۹).

اندازه گیری مورفولوژی روده: در پایان دوره آزمایش از هر تکرار یک پرند بصورت تصادفی انتخاب و کشتار شد. سپس ۵ سانتی متر از ناحیه ژژنوم روده جدا و بعد از تخلیه محتویات و شستشو با محلول کلرید سدیم، در ظروف حاوی فرمالین ۱۰ درصد به آزمایشگاه ارسال گردید، که بعد از فرآیند تثبیت بافت توسط پارافین و برش با دستگاه میکروتوم، توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شد و با میکروسکوپ نوری و مطابق با روش سان و همکاران (۲۰۰۵) بررسی و ارتفاع پرز، عمق کریپت، ضخامت بافت پوششی (اپی تلیوم)، سطح پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت اندازه گیری شد.

اندازه گیری میکروفلور روده: برای بررسی جمعیت کل باکتریایی، کلی فرم ها و لاکتوباسیل های روده، پس از کشتار، ۱۰ سانتی متر از ایلئوم روده جدا و ۱ گرم از مواد دفعی داخل آن در ظرفی مخصوص فریز شده و به آزمایشگاه ارسال شد. برای شمارش جمعیت کلی فرم ها از محیط کشت انتخابی Mac^۱ آگار و به روش کشت سطحی و برای شمارش لاکتوبا سیل ها از محیط کشت انتخابی MRS^۲ آگار و به روش کشت پورپلیت استفاده شد (کوک و همکاران ۲۰۱۰).

آنالیز آماری: داده های به دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی به وسیله نرم افزار SAS 9.2 با رویه مدل های خطی عمومی (GLM) مورد آنالیز آماری قرار گرفت و برای مقایسه میانگین ها از آزمون حداقل تفاوت معنی دار محافظت شده فیشر (LSD) در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد. مدل آماری استفاده شده بصورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{j(i)} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = مشاهده مربوط به نمونه k ام از تیمار i ام و تکرار j ام، μ = اثر میانگین، α_i = اثر تیمار i ام، $\beta_{j(i)}$ = اثر نمونه گیری در داخل تکرار (خطای نمونه گیری)، e_{ijk} = اثر خطای آزمایشی (تکرار داخل تیمار).

اسپیروولینا و سن پرندگان استفاده شده است. علاوه بر این، عوامل ثانویه مانند: ترکیب خوراک، شرایط نگهداری و سیستم تولید ممکن است دلیلی برای تغییر چنین نتایجی باشد (بونوس و همکاران ۲۰۱۶).

همچنین به عنوان منبع غنی از پروتئین، ویتامین، اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی، اسیدهای چرب ضروری و رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند در بهبود عملکرد نقش داشته باشد (خان و همکاران ۲۰۰۵). دلیل این تناقض احتمالاً به خاطر گنجاندن سطوح مختلف

Table 1- Ingredients and chemical composition of the experimental diets

Ingredients (%)	Spirulina level (%)			
	0	1.5	3	4.5
Corn grain	49.77	49.02	48.2	47.95
Soybean meal (44% CP)	26	25	24.1	23.05
Soybean Oil	2.5	2.65	2.97	3.07
Meat meal	5	4.6	4	3
Bone meal	2	2	2	2
Dicalcium phosphate	0.83	0.83	0.83	0.83
Calcium carbonate	11	11	11	11
Wheat bran	2	2.5	3	3.7
Laying premix	0.9	0.9	0.9	0.9
Spirulina algae	0	1.5	3	4.5
Nutrient level				
Metabolisable energy (kcal/kg)	2770	2770	2770	2770
Crude protein (%)	17.62	17.62	17.62	17.62
Calcium (%)	4.1	4.1	4.1	4.1
Avalable P (%)	0.41	0.41	0.41	0.41
Sodium (%)	0.17	0.17	0.17	0.17
Chloride (%)	0.17	0.17	0.17	0.17
Methionine (%)	0.42	0.42	0.42	0.42
Met + Cys (%)	0.76	0.76	0.76	0.76
Lysine (%)	0.82	0.82	0.82	0.82
Threonine (%)	0.58	0.58	0.58	0.58

Laying premix components (Mineral and vitamin) by percent: vit A 0.102; vit E 0.37; vit K₃ 0.051; vit B₁ 0.019; vit B₂ 0.077; vit B₃ 0.075; Vit B₅ 0.315; vit B₆ 0.038; vit B₉ 0.008; vit B₁₂ 0.025; Biotin 0.031; vit D₃ 0.079; Choline chloride 60% 1.157; Zinc oxide 1.389; Manganese oxide 6.481; Iron sulfate 4.167; Cupper sulfate 0.324; Calcium iodate 0.032; Selenium selenite 0.648.

Table 2- Chemical composition of *Spirulina platensis* powder

General composition (%DM)		Phytopigments	
Protein (%)	55	Carotenoids (mg/100gr)	201
Fiber (%)	2	Chlorophyll a (mg/100gr)	1290
Polysaccharides (%)	10	Phycocyanin (mg/100gr)	7560
Lipids (%)	6	Carotene (mg/100gr)	157
Minerals (Ash) (%)	6.62	Xanthophyll (mg/100gr)	81
Calcium (%)	0.17	Zeaxanthin (mg/100gr)	72
Phosphorous (%)	0.91		
Moisture (%)	6.67	Metabolizable Energy (kcal/kg)	2780

Table 3- Effect of different levels of *Spirulina* algae on weekly production performance

weeks 1-3						
Spirulina Level (%)	Daily feed intake (g)	FCR (g/g)	Egg production (%)	Egg weight (g)	Egg mass (g)	
0	101.02	2.06	95.08	54.51	51.85	
1.5	101.96	2.10	95.78	53.81	51.54	
3	102.77	2.05	96.95	54.78	53.12	
4.5	100.44	2.08	94.18	54.34	51.21	
Std Error	0.631	0.017	0.845	0.192	0.446	
P-value	0.621	0.810	0.739	0.358	0.492	
weeks 4-6						
0	104.99	1.91	97.02	56.67	54.99	
1.5	104.02	1.89	97.02	56.84	55.14	
3	103.89	1.86	98.11	56.92	55.86	
4.5	103.04	1.88	96.12	57.15	54.93	
Std Error	0.934	0.016	0.829	0.220	0.494	
P-value	0.926	0.776	0.893	0.918	0.912	
weeks 7-9						
0	108.16	1.88	98.51	58.47	54.60	
1.5	108.33	1.94	95.41	58.61	55.91	
3	105.79	1.84	97.91	58.73	57.52	
4.5	107.65	1.88	97.91	58.53	57.32	
Std Error	1.124	0.018	0.783	0.219	0.527	
P-value	0.876	0.284	0.550	0.983	0.683	
weeks 10-12						
0	109.43	1.85	98.51	60.04	59.14	
1.5	109.14	1.94	94.24	59.79	55.24	
3	107.13	1.83	97.02	60.18	58.42	
4.5	109.75	1.89	96.62	60.13	58.11	
Std Error	1.308	0.024	0.903	0.241	0.804	
P-value	0.915	0.437	0.448	0.955	0.360	
Total period (weeks 1-12)						
0	104.85	1.929	96.91	57.07	55.32	
1.5	106.07	1.951	95.55	57.81	54.99	
3	106.52	1.912	97.24	57.98	56.39	
4.5	104.45	1.921	96.90	57.02	55.27	
Std Error	0.873	0.016	0.712	0.201	0.502	
P-value	0.846	0.909	0.872	0.205	0.807	

Table 4- Effect of different levels of *Spirulina* algae on blood parameters

Spirulina Level (%)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
0	128.75	1832.5	27.05 ^a	61.63
1.5	125.25	2232.3	22.25 ^{ab}	65.25
3	174.25	2735.8	14.37 ^c	87.53
4.5	134.25	1704.8	18.80 ^{bc}	61.2
Std Error	7.92	215.04	1.64	5.36
P-value	0.086	0.346	0.024	0.262

In each column, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant ($P < 0.05$).

Table 5- Effect of different levels of *Spirulina* algae on small intestinal morphology

Spirulina Level (%)	Villi height (mm)	Crypt depth (mm)	Villi height / Crypt depth	Villi surface (mm) ²	Epithelium width (mm)
0	1.295	0.118 ^b	11.70	0.148	0.028
1.5	1.370	0.120 ^b	11.62	0.143	0.033
3	1.276	0.116 ^b	11.16	0.164	0.03
4.5	1.582	0.145 ^a	11.27	0.229	0.034
Std Error	0.064	0.004	0.547	0.015	0.001
P-value	0.339	0.049	0.986	0.153	0.157

In each column, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant ($P < 0.05$).

Table 6- Effect of different levels of *Spirulina* algae on small intestinal microflora

Spirulina Level (%)	Coliform (cfu/gr)	Lactobacillus (cfu/gr)	Total bacterial count (cfu/gr)
0	3.155	7.155	5.563
1.5	3.269	7.332	5.499
3	3.111	7.325	5.932
4.5	3.202	7.795	6.025
Std Error	0.066	0.234	0.149
P-value	0.881	0.829	0.554

فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که استفاده از سطوح مختلف اسپیرولینا در حیره مرغ‌های تخم‌گذار اثرات معنی‌داری بر فراسنجه‌های خون شامل کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL نداشت، اما میزان HDL را در تیمارهای سوم و چهارم به طور معنی‌داری نسبت به تیمار یک و شاهد کاهش داد ($P < 0.05$). شانموگاپریا و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۱/۵ درصد اسپیرولینا و ساکارومایسز سرویسیه میزان کلسترول و تری‌گلیسرید سرم در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت درحالی‌که میزان HDL افزایش پیدا کرد. همچنین کاتو (۱۹۸۴) مشاهده کرد که کلسترول کل، LDL، VLDL و فسفولیپید سرم موش‌های تغذیه شده با ۱۶ درصد اسپیرولینا بطور معنی‌داری کاهش یافت. گما و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که رنگدانه فیکوسیانین موجود در اسپیرولینا، غلظت کلسترول‌های خون به غیر از HDL را در موش‌ها کاهش داد. از طرفی ژائو و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که استفاده از پروتئین هیدرولیزه جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، HDL خون موش را به طور غیر منتظره‌ای

کاهش داد، با این حال این پژوهشگران عنوان داشتند که کاهش HDL لزوماً مضر نیست، چنانکه نتایج فراتحلیل کینه و همکاران (۲۰۱۴) ارتباطی بین افزایش سطح HDL و مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی نشان نداد، در مقابل اوه و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که سطح بسیار بالای HDL خطر مرگ را افزایش می‌دهد. با این حال دلیل اصلی کاهش HDL در اثر مصرف اسپیرولینا مشخص نبوده و نیازمند بررسی بیشتری است.

مورفولوژی روده

همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های مورد بررسی در مورفولوژی روده مرغ‌های تخم‌گذار شامل: ارتفاع پرز، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، سطح پرز و ضخامت بافت پوششی (اپی‌تلیوم) نداشتند. اما در عمق کریپت تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$). در میان تیمارها تفاوت معنی‌دار بین تیمار اول (شاهد)، تیمار دوم و سوم مشاهده نشد. ولی تیمار چهارم تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد و دیگر تیمارها نشان داد بطوریکه دارای بیشترین عمق کریپت بود. در تحقیقاتی

پرز به عمق کریپت، نشان دهنده جذب مناسب مواد مغذی است (ورکوهی و همکاران ۲۰۱۰).

میکروفلور روده

همان طور که در جدول ۶ مربوط به میکروفلور روده مشاهده می شود، استفاده از سطوح مختلف اسپیرولینا در جیره مرغ های تخم گذار اثرات معنی داری بر میکروفلور روده شامل: کلی فرم ها، لاکتوباسیل ها و جمعیت کل باکتریایی نداشت. شانموگاپریا و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که استفاده از ۱/۵ درصد اسپیرولینا و ساکارومایسز در جیره جوجه های گوشتی باعث افزایش جمعیت لاکتوباسیل در ایلئوم و سکوم شد. همچنین مصرف ۱ درصد اسپیرولینا موجب کاهش تعداد ایکولای در ایلئوم و سکوم شد. کانگ و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که استفاده از جلبک کلرلا باعث افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس در سکوم جوجه های گوشتی شد. همچنین ماریه و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که تغذیه مرغ های تخم گذار با جیره های حاوی اسپیرولینا جمعیت لاکتوباسیلوس و قابلیت جذب ویتامین ها را افزایش داد. به نظر می رسد اثر محافظتی اسپیرولینا بر سد مخاطی روده، توسط کاهش جابجایی باکتری ها و آندوتوکسین در روده (یوگ و همکاران ۲۰۰۱) و نیز وجود ترکیباتی مانند بتا کاروتن ها و فیکوسیانین با فعالیت های ضد میکروبی (وانگ و همکاران ۲۰۰۷) دلیلی بر این نتایج باشد. البته این نتایج موافق با یافته های پژوهش حاضر نیست که ممکن است همانند گزارش گوتیرز- سلیمان و همکاران (۲۰۱۵) مربوط به استفاده از سطوح پایین جلبک در جیره و یا ترکیب آن باشد که به روش تولید بستگی دارد.

نتیجه گیری کلی

استفاده از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در جیره تا سطح ۴/۵ درصد، اثری بر مورفولوژی روده و عملکرد مرغ های تخم گذار نداشت، احتمالاً سطوح بالاتری از آن مورد نیاز است.

که روی جوجه های گوشتی انجام گرفت، مشخص گردید که افزودن ۱ گرم در کیلوگرم اسپیرولینا به جیره موجب افزایش ارتفاع پرز روده شد (شانموگاپریا و همکاران ۲۰۱۵). همچنین آواد و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند افزودن عصاره جلبک دریایی به میزان ۰/۱ و ۰/۰۵ درصد به ترتیب به جیره آغازین و رشد جوجه های گوشتی موجب افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و ارتفاع پرزهای ایلئوم در مقایسه با تیمار شاهد شد. استفاده از ۲ درصد جلبک قرمز *Sarcodiotheca gaudichaudii* در جیره مرغ تخم گذار لوهمن قهوه ای موجب افزایش ارتفاع پرز و عمق کریپت در مقایسه با شاهد شد (کولشرشتا و همکاران ۲۰۱۴). وانگ و همکاران (۲۰۰۷) بیان داشتند اسپیرولینا منبع ترکیبات فعال زنده ای مانند بتا کاروتن، آلفیکوسیانین و فیکوسیانین با فعالیت آنتی اکسیدانی، و نیز دارای پلی ساکاریدهای سولفات با ویژگی ضد ویروسی و استرولها است که عمدتاً مسئول فعالیت ضد میکروبی اند. افزایش ارتفاع پرز و عمق کریپت ارتباط مستقیم با سلامت و ترن آور مناسب سلول های پوششی دارد و میتوز فعال آنها را نشان می دهد (کولشرشتا و همکاران ۲۰۱۴). مقادیر عمق کریپت نشان دهنده فعالیت تکثیر سلول های اپیتلیال است (گایرا و همکاران ۲۰۰۱). مقادیر کم عمق کریپت، کاهش در هزینه متابولیکی ترن آور اپیتلیوم روده را نشان می دهد (ویلینگ و وانگ ۲۰۰۷).

کارایی جذب مواد مغذی تحت تأثیر ساختار بافت روده کوچک، به ویژه ارتفاع پرز، عمق کریپت، و تعداد سلول های جامی قرار می گیرد. پرزها در روده کوچک با افزایش سطح روده در جذب مواد مغذی نقش دارند (عادل و همکاران ۲۰۱۰). نقش کریپت در تسریع ترمیم بافت پرزی است که در اثر التهاب یا سموم ناشی از پاتوژن ها آسیب دیده است. نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت به عنوان نشانه ای از مورفولوژی مناسب روده کوچک مورد استفاده قرار می گیرد؛ نسبت کمتر ارتفاع

منابع مورد استفاده

- Abd el-baky HH, El-Baz FK and El baroty GS, 2003. *Spirulina species* as a source of carotenoids and α -tocopherol and its anticarcinoma factors. *Biotechnology* 2: 222-240.
- Adil S, Banday T, Bhat GA, Mir MS and Rehman M, 2010. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Veterinary Medicine International* 4(3):1-7.
- Awad w, Ghareeb K and Böhm J, 2008. Intestinal structure and function of Broiler chickens on diets supplemented with a symbiotic containing *Enterococcus faecium* and Oligosaccharides. *International Journal of Molecular Science* 9(11): 2205-2216.
- Becker W, 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In *Handbook of Microalgal Culture*. Edited by Richmond A. Oxford UK: Blackwell Publishing Ltd: 312-351.
- Belay A, 1997. Mass culture of *Spirulina* outdoors, the earthrise farms experience. In: applications for feed and water quality control in clam (*Meretrix lusoria*) cultures. *Journal of Applied Phycology* 15: 439-444.
- Blum JC and Calet C, 1975. Food value of *Spirulina* algae for growth of the broiler-type chicken. *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation* 29: 651-674.
- Bonos E, Kasapidu E, Kargopoulos A, Karampampas A, Christaki E, Florou-paneri P and Nikolakakis I, 2016. *Spirulina* as a functional ingredient in broiler chicken diets. *South African Journal of Animal Science* 46 (1): 94-102.
- Ciferri O and Tiboni O, 1985. The biochemistry and industrial potential of *Spirulina*. *Annual Review of Microbiology* 39: 503-526.
- Forbes J, 1995. Voluntary feed intake and diet selection in farm animals. CAB International Wallingford, U.K. 540 pp.
- Gemma C, Mesches MH, Sepesi B, Choo K, Holmes DB and Bickford PC, 2002. Diets enriched in foods with high antioxidant activity reverse age-induced decreases in cerebellar beta-adrenergic function and increases in proinflammatory cytokines. *Experiment Neurol* 22(14): 6114-6120.
- Geyra A, Uni Z and Sklan D, 2001. Enterocytes dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Science* 80:776-782.
- Gutiérrez-Salmeán G, Fabila-Castillo L and Chamorro-Cevallos G, 2015. Nutritional and toxicological aspects of *Spirulina* (*Arthrospira*). *Nutritión Hospitalaria* 32: 34-40.
- Gyenis B, Szigeti J, Molnár N and Varga L, 2005. Use of dried microalgal biomasses to stimulate acid production and growth of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium* in milk. *Acta Agraria Kaposváriensis* 9(2):53-9.
- Kang HK, Salim HM, Akter N, Kim DW, Kim JH, Bang HT, Kim MJ, Na JC, Hwangbo J, Choi HC and Suh OS, 2013. Effect of various forms of dietary *Chlorella* supplementation on growth performance, immune characteristics, and intestinal microflora population of broiler chickens. *Journal Application Poultry Research* 22: 100-108.
- Kato T, Takemoto K, Katayama H and Kuwabara Y, 1984. Effects of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) on dietary hypercholesterolemia in rats. *Journal Japan Social Nutrition Food Science* 37:323-332.
- Keene D, Price C, Shun-Shin MJ and Francis DP, 2014. Effect on cardiovascular risk of high density lipoprotein targeted drug treatments niacin, fibrates, and CETP inhibitors: meta-analysis of randomised controlled trials including 117,411 patients. *BMJ* 349:g4379.
- Khan M, Shobha JC, Mohan IK, Naidu MUR, Sundaram C, Singh PK and Kutala VK, 2005. Protective effect of *Spirulina* against doxorubicin-induced cardiotoxicity *Phytotherapy Research* 19(12): 1030-7.
- Koc H, Samli A, Okur M, Ozduven H, Akyurek and Senkoylu N, 2010. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and/or Mannan oligosaccharide on performance, Blood parameters and intestinal microbiota of broiler chicks. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 16(5):643-650.
- Kulshreshtha G, Rathgeber B, Stratton G, Thomas N, Evans F, Critchley A, Hafting J and Prithviraj B, 2014. Feed supplementation with red seaweeds, *Chondrus crispus* and *Sarcoditheca gaudichaudii*, affects performance, egg quality, and gut microbiota of layer hens. *Poultry Science* 93: 2991-3001.

- Mariey YA, Samak HR and Ibrahem MA, 2012. Effect of using *Spirulina platensis* algae as a feed additive for poultry diets: 1- Productive and reproductive performances of local laying hens, *Egypt Poultry Science* 32 (1): 201-215.
- Nikodemusz E, Paskai P, Toth L and Kozak J, 2010. Effect of dietary *Spirulina* supplementation on the reproductive performance of farmed pheasants. *Technical Articles -Poultry Industry* pp. 1-2.
- Oh IH, Hur JK, Ryoo JH, Jung JY, Park SK, Yang HJ, Choi JM, Jung KW, Won YJ and Oh CM, 2019. Very high high-density lipoprotein cholesterol is associated with increased all-cause mortality in South Koreans. *Atherosclerosis* 283:43–51.
- Oliveira MACL, Monteiro MPC, Robbs PG and Leite SGF, 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquaculture International* 7: 261-275.
- Pugh N, Ross SA, Elsohly HN, Elsohly MA and Pasco DS, 2001. Isolation of three weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from *Spirulina platensis*, *Aphanizomenon flos-aguae* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Planta Medical* 67: 737-742.
- Ross E and Dominy W, 1990. The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry. *Poultry Science* 69: 794-800.
- Ross E, Puapong DP, Cepeda FP and Patterson PH, 1994. Comparison of freeze-dried and extruded *Spirulina platensis* as yolk pigmenting agents. *Poultry Science* 73:1282.
- Sakaida T, 2003. Effect of administration of *Spirulina* on egg quality and egg components. *Animal Husbandry* 57 (1):191-195.
- SAS Institute, 2003. SAS user's guide: statistics. Version 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC. Pp: 126-178.
- Shanmugapriya B, Saravana Babu S, Hariharan T, Sivaneswaran S and Anusha MB, 2015. Research article dietary administration of *spirulina platensis* as probiotics on growth performance and histopathology in broiler chicks. *International Journal of Recent Scientific Research* 6(2):2650- 2653.
- Sun X, McElroy A, Webb Jr KE, Sefton AE and Novak C, 2005. Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets. *Poultry Science* 84:1294–1302.
- Toyomizu M, Sato K, Taroda H, Kato T and Akiba Y, 2001. Effects of dietary *Spirulina* on meat colour in muscle of broiler chickens. *British Poultry Science* 42: 197–202.
- Varkoohi S, Babak MMS, Pakdel A, Javaremi AN, Zaghari M and Kause A. 2010. Response to selection for feed conversion ratio in Japanese quail. *Poultry Science* 89(8):1590–1598.
- Venkataraman LV, Somasekaran T and Becker EW, 1994. Replacement value of blue-green alga (*Spirulina platensis*) for fishmeal and a vitamin-mineral premix for broiler chicks. *British Poultry Science* 35: 371-381.
- Verma J, Johri TS, Swan BK and Ameena S, 2004. Effect of graded levels of aflatoxin and their combination on the performance and immune response of broilers *British Poultry Science* 45: 512-518.
- Wang CY, Fu CC and Liu YC, 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochemical Engineering* 37:21-25.
- Williams P, 1979. High density lipoprotein and coronary risk factor. *Lancet* 1:72.
- Willing BP and Van Kessel AG. 2007. Enterocytes proliferation and apoptosis in the caudal small intestine is influenced by the composition of colonizing commensal bacteria in the neonatal gnotobiotic pig. *Journal of Animal Science* 85(12):3256-3266.
- Yoshida M and Hoshii H, 1980. Nutritive value of *Spirulina*, green algae, for poultry feed. *Japanese Poultry Science* 17:27-30.
- Zahroojian N, Moravej H and Shivazad M, 2013. Effects of Dietary Marine Algae (*spirulina Platensis*) on Egg Quality and production performance of laying Hens. *Journal of Agricultural Science and Technology* 15: 1353-1360.
- Zhao B, Cui Y, Fan X, Qi P, Liu C, Zhou X and Zhang X. 2019. Anti-obesity effects of *Spirulina platensis* protein hydrolysate by modulating brain-liver axis in high-fat diet fed mice. *PLoS One* 20;14(6): e02185433

Effects of dietary microalgae (*Spirulina platensis*) on performance, selected blood parameters, intestinal microflora and morphology of laying hens

H Mardanpour¹, M Mehri^{2*} and F Shirmohammad²

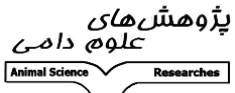

Received: November 15, 2019

Accepted: April 11, 2020

¹Former MSc Student, Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Assistant Professor, Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*Corresponding author: Email: mortezamehri@gmail.com

	<p>Journal of Animal Science/vol.30 No.4/ 2021/pp 59-69 https://animalscience.tabrizu.ac.ir</p>	
<p>© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/as.2021.36835.1529</p>		

Introduction: The recent trend in the field of livestock and poultry feedstuff is directed towards the use of natural ingredients as substitutes to antibiotics, synthetic colors, and other chemicals. Among numerous natural candidates, blue-green microalgae (*Spirulina platensis*) is one of the high-quality natural feed additives used in the animal and poultry diet.

Main species of *Spirulina*, *S. maxima* and *S. platensis*, are with distributed throughout the world (Oliveira et al, 1999). *Spirulina maxima*, contains high levels of vitamin B₁ and B₂, β - carotene, and up to 71% crude protein with sufficient concentrations of all essential amino acids except for the sulfur-containing ones (Becker, 2004). Dehydrated *Spirulina platensis* supplement has an excellent nutritional profile with up to 65% protein, essential amino acids, carotenoids, minerals and vitamins (Ross and Dominy 1990). *Spirulina* contains up to 20% of phycocyanin (water-soluble blue pigment) and chlorophyll a (green pigment), and relatively high vitamin B₁₂ content of (Ciferri and Tiboni, 1985). Moreover, *S. platensis* is a good source of essential fatty acid, γ -linolenic acid (Abd El-Baky et al. 2003). *S. platensis* is also rich in magnesium, manganese, iron, calcium, chromium, copper, phosphorus, potassium, sodium and zinc minerals (Belay, 1997). The available energy content of *S. platensis* has been determined to be 2.50-3.29 kcal/g and its phosphorous availability is 41% (Yoshida and Hoshii, 1980). Verma et al. (2004) reported that *S. platensis* inclusion in broiler nutrition at 1% of diet showed significantly stimulated the activity of erythrocyte antioxidant enzymes while decreasing serum lipid peroxidation. Cholesterol level was significantly lower in the egg yolk of *S. platensis* supplemented diet fed hens (Sakaida, 2003). The addition of 1.5 to 12% of *S. platensis* into broiler diets effectively replaced the protein source, in particular the soybean meal, by demonstrating satisfactory growth and feed efficiency rates (Nikodemusz et al, 2010). The purpose of this study was to investigate the effects of adding microalgae in layer diets on the performance, intestinal microflora and morphology, and some blood parameters.

Material and methods: In this completely randomized design study, a total of 192 LSL hens (26-37 weeks of age) were allocated to four treatment groups (4 replicates and 12 hens per replicate). The treatments consisted of feeding a corn-soybean meal control diet alone or supplemented with 1.5, 3 or 4.5% *S. platensis*. The metabolizable energy (kcal/kg), crude protein (%), calcium (%), available phosphorous (%), methionine (%), and lysine (%) in the diet was 2770, 17.6, 4.1, 0.6, 0.42, and 0.82, respectively. Cages were regularly ventilated to maintain the daily temperature between 21°C and

23°C. Each cage was equipped with feeder and drinker. Feed and water were provided ad-libitum. During the experimental period, a 16-hour lighting schedule was applied. Performance including feed intake, feed conversion ratio, egg production, and egg mass were calculated weekly over the entire period. After feeding the experimental diets for 12 weeks blood parameters of total cholesterol, triglycerides, HDL, and LDL were analyzed. In addition, villi height, crypt depth, villi height to crypt depth ratio, epithelium width and villi surface as well as intestinal microflora (coliform, lactobacillus, and total bacterial population) were measured. Statistical analysis used in this study was performed in completely randomized design using GLM procedure with SAS software and comparison of means by fisher's protected LSD test. A P-value of less than 0.05 was considered significant, unless otherwise stated.

Results and discussion: The results showed that experimental treatments had no significant effect on feed intake, feed conversion ratio, egg production and egg mass. In agreement with our findings, Zahroojian et al. (2013) reported that egg qualitative and performance traits of laying hens were not affected by diets containing *S. platensis*. In contrast, Shanmugapriya et al. (2015) reported the significant increase of body weight gain and feed conversion ratio by adding 1% *S. platensis* to the broiler diet compared with the control treatment. Variation in the reports may be due to the inclusion of different levels of *S. platensis* and or the age of experimental birds (Bonos et al, 2016). Addition of *S. platensis* to the laying hens diet had no significant effect on cholesterol, triglyceride and LDL, yet HDL levels were significantly lower in third and fourth treatments (3% and 4.5% microalgae, respectively) ($P < 0.05$). Shanmugapriya et al. (2015) reported 1.5% *S. platensis* and *saccharomyces cerevisiae* fed birds had lower serum cholesterol and triglyceride levels yet their serum HDL levels were higher compared with the control group. These results are inconsistent with our findings hence the variation may be due to concentration dependent effects of the microalgae. In addition, cultivation and processing conditions may influence the composition and subsequently the bioactivity of the microalgae (Gutierrez-Salmean et al, 2015). Experimental treatments had no significant effect on villi height, villi height to crypt depth ratio, villi surface and epithelium width, but the crypt depth was significantly increased in the fourth treatment ($P < 0.05$). Accordingly, the use of red seaweed in brown leghorn laying hens diet increased the villi height and crypt depth compared to the control treatment (Kulshreshtha et al, 2014). Also, the use of different levels of *S. platensis* had no significant effect on coliforms, lactobacillus, and total bacterial population.

Conclusions: Our findings showed that supplementation of diet with *S. platensis* at concentration of 4.5%, could not considerably affect the performance of laying hens. Nevertheless, higher levels of the product may be needed for significant positive effects.

Key words: Intestinal morphology, Laying hens, Microflora, Performance, Spirulina platensis