

## آثار استفاده از پودر جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) در جیره بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ، فولیکول‌های تخمدانی و وضعیت سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار سویه LSL

اسماعیل احمدی‌نیا<sup>۱</sup>، مرتضی مه‌ری<sup>۲\*</sup> و فاطمه شیرمحمد<sup>۲</sup>

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

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

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸)

### چکیده

به منظور بررسی آثار استفاده از سطوح مختلف (صفر، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ درصد جیره) پودر جلبک سبز-آبی (*اسپیرولینا پلاتنسیس*) بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ، فراسنجه‌های تخمدانی و وضعیت سیستم ایمنی، از تعداد ۱۹۲ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه LSL در سن ۲۶ تا ۳۷ هفتگی، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار (۱۲ قطعه مرغ در هر تکرار) استفاده شد. افزودن جلبک به جیره، در کل دوره آزمایش اثری بر مقدار مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل خوراک، درصد تخم‌مرغ‌های شکسته و متوسط وزن تخم‌مرغ‌ها نداشت ( $P > 0.05$ ). اما استفاده از سطوح ۰/۶ و ۰/۹ درصد پودر جلبک، درصد تولید تخم‌مرغ را نسبت به سطح ۰/۳ درصد و استفاده از سطح ۰/۶ درصد پودر جلبک، توده تخم‌مرغ تولیدی را نسبت به گروه شاهد افزایش داد ( $P < 0.05$ ). تیمارهای آزمایشی بر ضخامت، مقاومت و درصد پوسته، ارتفاع سفیده و واحد هاو اثر معنی‌داری نداشتند، اما با افزایش سطح استفاده از جلبک، وزن پوسته و رنگ زرده افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). تیمارهای آزمایشی اثری بر تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، پلاکت‌ها، نسبت هتروفیل به لنفوسیت، غلظت هموگلوبین و نیز بر پاسخ ایمنی همورال علیه گلبول قرمز گوسفند و ایمنی سلولی در پاسخ به تزریق زیرپوستی فیتوهماکلوتینین نداشتند ( $P > 0.05$ ). تعیین عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل (در هفته‌های ۳۵ و ۳۷) نشان داد که سطوح ۰/۶ و ۰/۹ درصد جلبک در هفته ۳۷، به‌طور معنی‌داری عیار پادتن را نسبت به گروه شاهد افزایش دادند ( $P < 0.05$ ). تعداد فولیکول‌های مختلف تخمدانی، وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال و لاشه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. نتایج نشان داد که افزودن ۰/۶ درصد جلبک اسپیرولینا به جیره، سبب افزایش توده تخم‌مرغ تولیدی، بهبود رنگ زرده تخم‌مرغ و بهبود پاسخ آنتی‌بادی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسپیرولینا پلاتنسیس، جلبک، سیستم ایمنی، مرغ تخم‌گذار.

## Effects of dietary *Spirulina platensis* algae powder on performance, egg quality, ovarian follicles and immune system in Lohmann LSL laying hens

Esmaeil Ahmadi Nia<sup>1</sup>, Morteza Mehri<sup>2\*</sup> and Fatemeh Shirmohammad<sup>2</sup>

1. M.Sc. Graduate, Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

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

(Received: Nov. 27, 2020 - Accepted: Feb. 6, 2021)

### ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effects of different levels (0%, 0.3%, 0.6% and 0.9%) of blue-green algae (*Spirulina platensis*) on performance, egg quality, ovarian parameters and immune system of LSL laying hens at 26-37 wk. of age. One hundred and ninety-two hens were used in a completely randomized design with four treatments and four replications. The effect of algae on daily feed intake, feed conversion ratio, broken eggs percent and egg weight was not significant, but the egg mass improved using 0.6% algae compared with control group ( $P < 0.05$ ). Also, egg production of hens fed the diet with 0.6% and 0.9% *Spirulina*/kg were higher than treatment 2 ( $P < 0.05$ ). Eggshell breaking strength, eggshell relative weight, eggshell thickness, albumen height and haugh unit were not affected by treatments. However, increasing the dietary levels of *Spirulina* caused the improvements in eggshell weight and egg yolk color. None of the treatments had significant effects on white and red blood cells, platelets, heterophiles/lymphocytes ratio and concentration of hemoglobin. Dietary treatments did not have significant effects on humoral immunity against SRBC and cell mediated immunity response against PHA injection. But the treatments had a significant effect on the antibody titer in vaccinated birds against Newcastle. In addition, there were no influences of the experimental diets on ovarian different follicles, relative weight of bursa, spleen and carcass. In conclusion, inclusion of 0.6% *Spirulina platensis* algae in diet increased egg mass, egg yolk color and antibody titer against Newcastle vaccine.

**Keywords:** Immunity system, laying hen, algae, *Spirulina platensis*.

\* Corresponding author E-mail: mortezamehri@gmail.com

### مقدمه

استفاده از ریز جلبک‌ها به‌عنوان ماده خوراکی، به حفاظت از محیط زیست و منابع طبیعی، پیشگیری از تخریب زمین و مبارزه با کم‌آبی کمک می‌کند (Madeira *et al.*, 2017). از طرفی، در تنظیم جیره‌های غذایی با هدف پایین آوردن هزینه خوراک، یکی از روش‌های مناسب، استفاده از اقلام گیاهی جدید در جیره است (FAO, 2008). به دلیل ویژگی‌های ضدباکتریایی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی طیف گسترده‌ای از عصاره‌های گیاهی، به‌ویژه گیاهان دریایی، و اثر آن‌ها بر افزایش سلامت و عملکرد حیوانات، استفاده از این مواد در جیره طیور مورد توجه قرار گرفته است (El-Hady & El Ghalid, 2018). همچنین تاکنون پژوهش‌های گسترده‌ای در مورد اثر منفی آنتی‌بیوتیک‌ها و باقیمانده‌های دارویی در گوشت طیور صورت گرفته و تشویق به تولید و مصرف محصولات سالم دامی (با حداقل استفاده از داروهای شیمیایی) روندی فزاینده دارد (Donoghue *et al.*, 2003; El-Kholy & Kempainen, 2004; Danishmunda *et al.*, 2017). در این بین، اسپیرولینا ریز جلبکی خوراکی است که به‌عنوان یک جلبک سبز-آبی (سیانوباکتری) طبقه‌بندی شده و سرشار از پروتئین (۷۰-۵۰ درصد) بوده و می‌تواند جایگزین بخشی از منابع پروتئینی رایج، همچون کنجاله سویا شود (Swiatkiewicz *et al.*, 2015). اسپیرولینا علاوه بر اینکه منبع عالی پروتئین است، مقدار زیادی کربوهیدرات، ویتامین (ویتامین A، ویتامین C و ویتامین E)، مواد معدنی (مانند آهن، کلسیم، کروم، مس، منیزیم، منگنز، فسفر، پتاسیم، سدیم و روی)، اسیدهای چرب ضروری، آنتی‌اکسیدان (مؤثر در پیشگیری از اکسیداسیون لیپیدهای درون‌زاد) و رنگ‌دانه‌هایی مانند کلروفیل a، فیکوسیانین، کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها دارد (Long *et al.*, 2018, Hynstova *et al.*, 2018). حدود ۲۵ تا ۶۰ درصد کل اسیدهای چرب جلبک اسپیرولینا، اسید اولئیک، اسید لینولئیک، اسید گاما لینولنیک و اسید دوکوزا هگزا انوئیک است، هرچند ترکیب شیمیایی جلبک با توجه به فصل، سن، عوامل اقلیمی، توزیع جغرافیایی و برخی عوامل دیگر متغیر می‌باشد (Yukino *et al.*, 2005). استفاده از میکرو جلبک‌ها در جیره مرغ می‌تواند سبب

بهبود کیفیت گوشت، کاهش کلسترول خون، تقویت سیستم ایمنی، مقاومت در برابر بیماری‌های ویروسی و باکتریایی و بهبود عملکرد روده شود که این موارد ممکن است بهبود رشد، ضریب تبدیل خوراک و عملکرد تولیدمثلی را به همراه داشته باشند (Madeira *et al.*, 2017). در پژوهشی، به‌کارگیری سطوح صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسپیرولینا در جیره جوجه گوشتی سبب بهبود عملکرد و افزایش طول پرزهای روده (Shanmugapriya *et al.*, 2015) و در گزارش دیگری، ریز جلبک کلرلا در جیره مرغ تخم‌گذار سبب بهبود تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ و رنگ زرده شد (An *et al.*, 2014). به‌کارگیری دو سطح ۰/۱ و ۰/۲ درصد ریز جلبک کلرلا تخمیرشده در جیره اردک پکنی نیز آثار مثبتی بر عملکرد، کیفیت گوشت و استحکام استخوان درشتنی داشت (Oh *et al.*, 2015). هدف از انجام آزمایش حاضر ارزیابی آثار استفاده از سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در جیره، بر عملکرد، صفات کیفی تخم‌مرغ، فراسنجه‌های تولیدمثلی و خونی و سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار سویه LSL بود.

### مواد و روش‌ها

در این آزمایش که در پاییز سال ۱۳۹۷ در آبیگ قزوین انجام گرفت، از تعداد ۱۹۲ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه لهن LSL سبک در سن ۲۶ هفتگی، به مدت ۱۲ هفته، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار، ۴ تکرار و ۱۲ قطعه پرند در هر تکرار (در ۴ قفس) استفاده شد. جهت تأمین سطوح صفر، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ درصد جلبک در جیره‌های آزمایشی، پودر خالص اسپیرولینا پلاتنسیس از شرکت دانش‌بنیان ریز جلبکی پارسیان (تحت نظارت پارک علمی و فناوری گیلان، جدول ۱) تهیه و به نسبت ۲۰ درصد پودر خالص جلبک و ۸۰ درصد سیوس گندم، مخلوط شده و پیش مخلوط حاصل به میزان صفر، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد به جیره افزوده شد (جدول ۲). روش تهیه جلبک در شرکت مذکور به اختصار این‌گونه بود که سویه اولیه جلبک پس از خالص‌سازی، در لوله آزمایش در محیط کشت اختصاصی کشت شد و پس از گذراندن مدت زمان لازم و افزایش تراکم سلولی، کشت برای رسیدن به تراکم بالاتر صورت گرفت. در انتها جهت

عملکرد به صورت هفتگی با در نظر گرفتن تلفات احتمالی، بر اساس روز-مرغ محاسبه می‌شد. جهت بررسی خصوصیات کیفی تخم‌مرغ، در پایان هر هفته از هر تکرار تعداد سه عدد تخم‌مرغ به طور تصادفی انتخاب و با استفاده از ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۱ گرم) توزین و بعد از شکستن، شاخص رنگ زرده (بر اساس استاندارد واحد رُش) وزن پوسته، ضخامت پوسته (با استفاده از دستگاه Echometer model 1061 با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر در دو انتها و بخش میانی پوسته تخم‌مرغ)، استحکام پوسته (با استفاده از دستگاه Egg shell force Gauge model II، ساخت شرکت Robotmation، توکیو، ژاپن)، درصد پوسته و ارتفاع سفیده (با استفاده از دستگاه ارتفاع‌سنج FHK با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) تعیین شد.

برداشت و تولید پودر و جدا کردن محیط کشت از سلول‌های جلبک، در دستگاه خشک‌کن پاششی با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد خشک و پودر جلبک اسپیرولینا حاصل شد. جیره‌های غذایی بر اساس احتیاجات توصیه‌شده در راهنمای مرغ تخم‌گذار سویه LSL (۲۰۱۶) و با به‌کارگیری نرم‌افزار UFFDA تنظیم شدند. برنامه نوردی به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت خاموشی در نظر گرفته شد. مرغ‌ها دسترسی آزادانه به آب داشته و روزانه ۲ بار خوراک در اختیارشان قرار می‌گرفت. مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک، درصد تولید تخم‌مرغ، میانگین وزن تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ تولیدی به صورت هفتگی محاسبه می‌شد. خوراک باقیمانده هر تکرار مرتباً جمع‌آوری و توزین شده و شاخص‌های مربوط به

جدول ۱. ترکیب شیمیایی پودر اسپیرولینا پلاتنسیس

Table 1. 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

جدول ۲. مواد تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 2. 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 powder**	0	1.5	3	4.5
Nutrients level				
Metabolizable 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
Available 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 K<sub>3</sub> 0.051; vit B<sub>1</sub> 0.019; vit B<sub>2</sub> 0.077; vit B<sub>3</sub> 0.075; Vit B<sub>5</sub> 0.315; vit B<sub>6</sub> 0.038; vit B<sub>9</sub> 0.008; vit B<sub>12</sub> 0.025; Biotin 0.031; vit D<sub>3</sub> 0.079; Choline chloride 60% 1.157; Zinc oxide 1.389; Manganese oxide 6.481; Iron sulfate 4.167; Copper sulfate 0.324; Calcium iodate 0.032; Selenium selenite 0.648.

\*\*Twenty percent pure *spirulina platensis* powder and eighty percent wheat bran were thoroughly mixed. Then the resulting mixture was considered 0, 1.5, 3 and 4.5% in the diet formula. Thus, the experimental treatments contained levels of 0, 0.3, 0.6 and 0.9% of *Spirulina platensis* algae powder.

برای اندازه‌گیری واحد هاو از رابطه زیر استفاده شد:  
 $HU = 100 \log(H + 7.57 - 1.7w^{0.37})$

در این رابطه  $H$  = ارتفاع سفیده (میلی‌متر)، و  $W$  = وزن تخم‌مرغ (گرم) است.

وضعیت ایمنی سلولی مرغ‌ها در هفته پایانی آزمایش، با اندازه‌گیری شاخص ضخامت پرده پا، بعد از تزریق فیتو هم‌گلوتینین (PHA-P) بررسی شد. به این منظور پس از تهیه محلول از شرکت زیست ژن سلامت، از هر تکرار یک قطعه مرغ به‌طور تصادفی انتخاب و مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول فیتو هم‌گلوتینین و میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از سرم فیزیولوژی به ترتیب به چین زیرپوست بال راست و چپ تزریق شد. ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق، تورم ناشی از تزریق محلول و سرم در هر مرغ، به‌طور جداگانه به‌وسیله کولیس دیجیتال (دقت ۰/۰۱ میلی-متر) طی دو مرحله اندازه‌گیری و محاسبه شد (Grasman, 2010). در ابتدای هفته ۱۱ آزمایش و سپس پنج روز بعد از آن، میزان ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول ۸ درصد گلبول قرمز خون گوسفندی (SRBC)، به ورید بال یک قطعه مرغ از هر تکرار تزریق و پنج روز بعد، عملیات خون‌گیری انجام شد. عیار پادتن تولیدی علیه SRBC با استفاده از روش هم‌گلوتیناسیون (HA) اندازه‌گیری شد (Mirzaei et al., 2018). برای تعیین عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل، واکسن نیوکاسل سویه لاسوتا به تعداد دو قطعه مرغ از هر تکرار تزریق شد. روز پیش از واکسیناسیون و ۱۴ روز پس از آن، از مرغ‌ها خون‌گیری شد تا با استفاده از روش ممانعت از هم‌گلوتیناسیون (HI)، عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل در آزمایشگاه تعیین شود (Katayama et al., 2016).

شمارش لنفوسیت‌ها، هتروفیل‌ها، گلبول‌های سفید و قرمز و پلاکت‌ها با استفاده از دستگاه exigo-Vet (شرکت Boule Medical AB اسپانگا-سوئد) در روز پایانی آزمایش انجام شد. به این منظور از هر تکرار تعداد یک قطعه مرغ به‌طور تصادفی انتخاب، و از ورید زیر بال آن خون‌گیری انجام‌شده و به سرنگی که حاوی نسبت ۱ به ۹ محلول ضد انعقاد (سیترات سدیم) بود، منتقل شد (Mohamed et al., 2014). در

پایان آزمایش، پس از کشتار یک قطعه مرغ از هر تکرار، وزن نسبی طحال، بورس و تخمدان محاسبه شد. پس از شمارش فولیکول‌های تخمدان، فولیکول‌های با قطر بالاتر از ۱۰mm، به‌عنوان فولیکول زرد بزرگ، فولیکول‌های با قطر بین ۵ تا ۱۰ میلی‌متر، به‌عنوان فولیکول زرد کوچک و فولیکول‌های با قطر کمتر از ۵mm، به‌عنوان فولیکول سفید در نظر گرفته شدند.

در پایان، داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.2 (2008) با رویه مدل‌های خطی عمومی (GLM) مورد تجزیه آماری قرار گرفت. بررسی نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، به ترتیب با آزمون شاپیرو-ویلک و لاین صورت گرفت. تبدیل arc-sine روی داده‌های درصدی انجام شد. میانگین‌ها به کمک آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت‌شده فیشر (Fisher's LSD) در سطح احتمال ۰/۰۵ مقایسه شدند. مدل ریاضی طرح به این صورت بود:

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

که در آن،  $Y_{ij}$  = مقدار هر مشاهده،  $\mu$  = میانگین جامعه برای هر صفت،  $\alpha_i$  = اثر تیمار و  $e_{ij}$  = مقدار باقیمانده است.

## نتایج و بحث

### عملکرد

نتایج مربوطه به اثرات استفاده از سطوح مختلف (صفر، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ درصد) پودر جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار طی ۱۲ هفته آزمایش در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان می‌دهند که استفاده از سطوح ۰/۶ و ۰/۹ درصد به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) درصد تولید تخم‌مرغ را بهبود بخشید، گرچه این افزایش نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبود، ولی تفاوت معنی‌داری با گروه دریافت‌کننده ۰/۳ درصد جلبک اسپیرولینا در جیره داشت ( $P < 0.05$ ). همچنین نتایج جدول ۳ حاکی از بهبود توده تخم‌مرغ تولیدی در تیمار ۰/۶ درصد جلبک، نسبت به گروه شاهد و ۰/۳ درصد است ( $P < 0.05$ ). دیگر صفات همچون درصد تخم‌مرغ‌های شکسته، مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند.

جدول ۳. اثر سطوح مختلف جلبک بر عملکرد کل دوره آزمایش (هفته ۱ تا ۱۲)

Table 3. Effect of different levels of *Spirulina* algae on production performance (weeks 1-12)

Spirulina Level (%)	Egg production (%)	Broken Egg (%)	Egg weight (g)	Daily feed intake (g)	FCR (g/g)	Egg mass (g)
0	95.05 <sup>ab</sup>	0.76	57.27	103.32	1.90	54.50 <sup>bc</sup>
1.5	93.29 <sup>b</sup>	0.69	57.32	103.10	1.92	53.50 <sup>c</sup>
3	97.09 <sup>a</sup>	0.57	57.93	104.98	1.86	56.90 <sup>a</sup>
4.5	96.55 <sup>a</sup>	0.57	57.96	105.58	1.88	55.99 <sup>ab</sup>
Std Error	0.545	0.092	0.217	0.753	0.011	0.454
P-value	0.039	0.718	0.564	0.622	0.298	0.018

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

اسپیروولینا در جیره مصرفی، و همچنین دیگر اجزای جیره و شرایط تولید جلبک ممکن است از جمله عواملی باشند که سبب ناتوانی اسپیروولینا در بهبود برخی صفات عملکردی باشد.

بالین حال، ریز جلبک‌ها سرشار از مواد معدنی، ویتامین، پروتئین، کربوهیدرات و آنتی‌اکسیدان هستند (Raposo, 2015) که ترکیب شیمیایی آن‌ها با توجه به عواملی همچون فصل، سن، و عوامل اقلیمی متغیر است (Yukino *et al.*, 2005)، همچنین دارای مقادیر تقریباً متعادلی از هشت اسیدآمینه اصلی، به جز متیونین و سیستئین است که به راحتی هضم شده و ارزش غذایی مناسبی دارد (Swiatkiewicz *et al.*, 2015). در همین راستا، گزارش شد که مصرف پودر اسپیروولینا (صفر و ۰/۱ و ۰/۲ درصد) در مرغ بومی مصر سبب افزایش تولید تخم‌مرغ و جوجه درآوری می‌شود (Mariey *et al.*, 2012).

#### صفات کیفی تخم‌مرغ

جدول ۴ نتایج مربوط به صفات کیفی تخم‌مرغ (وزن پوسته، درصد پوسته، ارتفاع سفیده، شاخص رنگ زرده، ضخامت پوسته، واحد هاو و مقاومت پوسته) را در انتهای هفته‌های ۶ و ۱۲ آزمایش نشان می‌دهد. گرچه استفاده از سطوح مختلف جلبک /اسپیروولینا پلاتنسیس وزن پوسته تخم‌مرغ را در هفته ششم آزمایش تغییر نداد، ولی در هفته دوازدهم با افزایش سطح مصرف جلبک، وزن پوسته تخم‌مرغ افزایش یافت، به نحوی که این افزایش بین تیمار دریافت‌کننده ۰/۹ درصد در مقایسه با تیمارهای اول و سوم (شاهد و ۰/۳ درصد جلبک) معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

نشان داده شده است که از جلبک اسپیروولینا می‌توان تا حدود ۱۰ درصد در جیره طیور استفاده کرد، بدون این‌که تأثیر نامناسبی بر عملکرد بگذارند (Becker *et al.*, 2013). هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر، گزارش شده است که به‌کارگیری اسپیروولینا در جیره مرغ تخم‌گذار، اثری بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک (Michalak *et al.*, 2020, Zahroojian *et al.*, 2013)، و به‌کارگیری در جیره جوجه گوشتی، اثری بر افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک (Bonos *et al.*, 2016) نداشت. در پژوهشی نشان داده شد که استفاده از مکمل جلبک اسپیروولینای خشک شده در سطوح صفر، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴٪ در جیره بلدرچین ژاپنی اثری بر تولید تخم، وزن تخم و وزن بدن نداشت (Ross *et al.*, 1994). همچنین گزارش شده است که مصرف ۲/۵ درصد از جلبک اسپیروولینا در خوراک مرغ تخم‌گذار، تأثیری بر صفات عملکردی مرغ نداشت و دلیل آن استفاده از سطوح پایین جلبک و نیز تفاوت در سویه مرغ تخم‌گذار عنوان شد (Zahroojian *et al.*, 2013). در گزارش دیگری به‌کارگیری سطوح صفر، ۱، ۲ و ۳ درصد ریز جلبک دریایی *Schizochytrium limacinum* در جیره مرغ تخم‌گذار، هیچ‌یک از صفات عملکردی را تحت تأثیر قرار نداد (Ao *et al.*, 2015). از طرف دیگر، پژوهشگرانی نیز با به‌کارگیری جلبک اسپیروولینا به میزان ۱۵ درصد در جیره جوجه گوشتی، افت صفات عملکردی (رشد و ضریب تبدیل خوراک) را گزارش نموده و دلیل آن را افزایش ویسکوزیته ماده هضمی به‌واسطه وجود پروتئین گوارش‌ناپذیر در ریز جلبک‌ها و تشکیل ژلاتین در روده عنوان نمودند (Pestana *et al.*, 2020). عواملی دیگری مانند عدم‌کفایت سطح مصرف جلبک

جدول ۴. اثر سطوح مختلف جلبک بر صفات کیفی تخم‌مرغ در پایان هفته‌های ۶ و ۱۲ آزمایش  
Table 4. Effect of different levels of *Spirulina* algae on egg qualitative traits at the end of week 6 and 12

Spirulina Level (%)	Egg weight (g)	Eggshell weight (g)	Eggshell (%)	Albumen height (mm)	Egg yolk color	Eggshell thickness (mm)	Haugh unit	Eggshell breaking strength
Week 6								
0	59.04	6.17	10.45	10.81	6.58 <sup>d</sup>	0.64	102.89	3.33
1.5	58.90	6.36	10.79	11.09	7.50 <sup>c</sup>	0.62	104.01	3.29
3	59.90	6.26	10.46	11.03	9.00 <sup>b</sup>	0.62	103.60	3.31
4.5	58.68	6.07	10.36	11.09	11.08 <sup>a</sup>	0.65	103.95	3.30
Std Error	0.324	0.052	0.077	0.094	0.545	0.016	0.398	0.009
P-value	0.609	0.254	0.218	0.746	<0001	0.868	0.779	0.856
Week 12								
0	59.77	6.39 <sup>c</sup>	10.69	10.89	6.66 <sup>d</sup>	0.63	103.01	3.30
1.5	60.68	6.45 <sup>bc</sup>	10.63	10.33	8.49 <sup>c</sup>	0.64	100.56	3.32
3	62.18	6.74 <sup>ab</sup>	10.83	10.81	9.58 <sup>b</sup>	0.62	102.24	3.33
4.5	61.42	6.83 <sup>a</sup>	11.12	10.30	11.75 <sup>a</sup>	0.61	100.28	3.31
Std Error	0.412	0.069	0.089	0.124	0.481	0.007	0.527	0.009
P-value	0.200	0.037	0.198	0.193	<0001	0.534	0.199	0.744

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

مانند کاروتنوئیدها و آنتوسیانیدین‌ها) همانند تله‌های انرژی، الکترون را جذب کرده و موجب از بین رفتن گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن می‌شوند (Long *et al.*, 2018). اسپیرولینا حاوی سه نوع رنگدانه کلروفیل، کاروتنوئید و گزانتوفیل است. کلروفیل ۱/۷ درصد از ترکیبات آلی سلولی و کاروتنوئید و گزانتوفیل‌ها ۰/۵ درصد وزن مواد آلی را تشکیل می‌دهند (El-Hady & El-Ghalid, 2018).

#### صفات لاشه

داده‌های مربوط به اثر جلبک اسپیرولینا بر صفات لاشه و برخی ویژگی‌های تخمدانی در جدول ۵ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی لاشه، بورس فابریسیوس، طحال، تخمدان و تعداد فولیکول‌ها (سفید کوچک، زرد کوچک و بزرگ) معنی‌دار نبوده است. در پژوهش‌هایی، به‌کارگیری سطوح ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵ و ۱٪ جلبک اسپیرولینا در جیره جوجه گوشتی (Park *et al.*, 2018)، و سطوح صفر، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ ppm این جلبک در جیره نیمچه تخم‌گذار اثری بر وزن بورس فابریسیوس و طحال نداشت (Qureshi *et al.*, 1996). در این خصوص مشخص شده است افزودن ۰/۰۵٪ جلبک اسپیرولینا به جیره جوجه‌های گوشتی که تحت مسمومیت آفلاتوکسینی (۳۰۰ ppm آفلاتوکسین در جیره) قرار داشتند، اثر سوء سم بر کاهش وزن اندام‌های لنفوئیدی را برطرف می‌سازد (Raju *et al.*, 2005).

با افزایش سطح اسپیرولینا در جیره، شاخص رنگ زرده تخم‌مرغ افزایش معنی‌داری پیدا کرد ( $P < 0/05$ ) ولی تغییر معنی‌داری در درصد پوسته، ارتفاع سفیده، ضخامت و مقاومت پوسته و واحد هاو تخم‌مرغ مشاهده نشد.

در پژوهشی، با وجود افزایش معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) رنگ زرده در همه تیمارهای حاوی اسپیرولینا پلاتنسیس، صفات کیفی تخم‌مرغ (ضخامت پوسته، وزن تخم‌مرغ و واحد هاو) تحت تأثیر میزان جلبک جیره قرار نگرفت (Zahroojian *et al.*, 2013). همچنین گزارش شد که مصرف جلبک اسپیرولینا بر فراسنجه‌های کیفی تخم‌مرغ به‌جز رنگ زرده تخم‌مرغ تأثیری نداشت (Mariey *et al.*, 2012). در بررسی دیگری نیز نشان داده شد که جلبک اسپیرولینا در سطوح ۰/۱، ۲ و ۲/۵ درصد هیچ اثری بر صفات عملکردی مرغ تخمگذارهای لاین w-36 نداشت، ولی شاخص رنگ زرده را بهبود بخشید ( $P < 0/001$ ) به‌نحوی که بالاترین سطح جلبک، به‌اندازه رنگ‌دانه مصنوعی، در ایجاد رنگ زرده مؤثر بود (Zahroojian *et al.*, 2011). همچنین گزارش شده است که رنگ زرده تخم‌مرغ در مرغ‌های تغذیه‌شده با ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد جلبک اسپیرولینا، به‌صورت خطی افزایش معنی‌داری نشان داد (Selim *et al.*, 2018). کاروتنوئیدها رنگدانه‌های طبیعی هستند که به‌عنوان پیش‌ساز ویتامین A، در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و از بین بردن رادیکال‌های آزاد، افزایش ایمنی و تنظیم هورمونی دخالت داشته و همچنین نقش‌های فرعی در رشد و نمو، تولیدمثل و بلوغ دارند (Molnar *et al.*, 2009). ترکیبات آنتی‌اکسیدان

جدول ۵. اثر سطوح مختلف جلبک بر صفات لاشه و برخی ویژگی های تخمدانی

Table 5. Effect of different levels of *Spirulina* algae on carcass traits & some ovarian parameters

Spirulina Level (%)	Carcass Weight (%)	Bursa Weight (%)	Ovary Weight (%)	Spleen Weight (%)	Number of follicles*		
					SWF	SYF	LYF
0	49.75	0.135	3.07	0.093	22.25	3.00	6.0
1.5	51.65	0.145	2.81	0.088	14.25	2.25	5.0
3	51.64	0.113	2.81	0.075	20.50	2.00	6.0
4.5	50.44	0.138	3.07	0.078	18.50	1.50	5.5
Std Error	0.496	0.012	0.056	0.003	1.291	0.245	0.221
P-value	0.483	0.836	0.154	0.351	0.139	0.179	0.344

\*SWF, small white follicle; SYF, small yellow follicle; LYF, large yellow follicle.

لنفوسیت در مقایسه با جوجه های گروه شاهد شد و دلیل آن تاحدی به ویژگی آنتی اکسیدانی اسپیرولینا مربوط است. همچنین استفاده از ۰/۵ درصد اسپیرولینا در جیره بلدرچین ژاپنی سبب کاهش هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد (Hajati et al., 2020). نکته جالب توجه این که اسپیرولینا حاوی فیکوسیائین است و کارایی این ترکیب به عنوان یک آنتی اکسیدان، ۱۶ برابر ترولوکس (آنالوگ ویتامین E) و ۲۰ برابر ویتامین C است (Romay et al., 2000).

در ماهی تغذیه شده با جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس تعداد گلبول های سفید و قرمز و همچنین پلاکت ها و غلظت هموگلوبولین افزایش یافت (Manoher, 2005) و در موش های دچار دیابت، استفاده از اسپیرولینا پلاتنسیس سبب افزایش گلبول های سفید و قرمز خون، پلاکت ها و هماتوکریت گردید (Emami & Olfati, 2017).

#### شاخص های ایمنی

در جدول ۷ نتایج حاصل از سنجش شاخص های ایمنی ارائه شده است. با مصرف سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا در جیره، تغییری در پاسخ به تزریق فیتوهماگلوآنتین (PHA، پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت) و عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در ۳۵ و ۳۷ هفتگی مشاهده نشد ولی با بررسی پاسخ ایمنی علیه واکسن ویروس نیوکاسل مشاهده شد که در ۳۷ هفتگی با افزایش مصرف جلبک، در سطح ۰/۶ و ۰/۹ درصد، نسبت به گروه شاهد و ۰/۳ درصد، افزایش معنی داری حاصل شد ( $P < 0.05$ ). این افزایش در ۳۵ هفتگی اما تنها در سطح ۰/۹ درصد جلبک، نسبت به سطوح ۰/۳ و ۰/۶ درصد معنی دار شد ( $P < 0.05$ ).

اطلاعات کمی در خصوص تأثیر تغذیه جلبک بر فراسنجه های تولیدمثلی وجود دارد. Abadjieval et al. (2017) برای اولین بار نشان دادند که افزودن جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در جیره خوک سبب رشد فولیکولی و تخمک گذاری زودتر در طی دوره بلوغ جنسی می شود و دلیل احتمالی آن را وجود مجموعه ای از آنتی اکسیدان ها در جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس دانستند که سبب سلامت بیشتر تخمک می شود، با این حال، این پژوهشگران بیان کردند که سازوکار دقیق اثرگذاری، مستقیم یا غیرمستقیم، جلبک اسپیرولینا بر فولیکولوژن نامشخص بوده و نیازمند بررسی بیشتری است.

#### فراسنجه های خونی

بررسی برخی فراسنجه های خونی (جدول ۶) نیز نشان می دهد که تیمارهای آزمایشی تأثیری بر تعداد گلبول های سفید، گلبول های قرمز، پلاکت ها، درصد هتروفیل، درصد لنفوسیت، نسبت هتروفیل به لنفوسیت و مقدار هموگلوبین خون نداشتند. هم راستا با نتایج آزمایش حاضر در خصوص برخی فراسنجه های خونی ارزیابی شده، در آزمایش دیگری نیز به کارگیری سطوح ۰/۳، ۰/۵، ۰/۷ و ۰/۹ درصد اسپیرولینا پلاتنسیس در جیره جوجه گوشتی، اثری بر تعداد گلبول های قرمز، پلاکت ها و هموگلوبین نداشت (Fathi et al., 2018). از طرفی مصرف اسپیرولینا پلاتنسیس در ماهی کاتلا سبب افزایش قابل توجه هموگلوبین (در مقایسه با گروه شاهد) شد (Mirzaei et al., 2013; Krishnaveni et al., 2013). عنوان داشتند که به کارگیری دو درصد اسپیرولینا در جیره جوجه های گوشتی تحت تنش گرمایی، سبب کاهش معنی دار نسبت هتروفیل به

جدول ۶. اثر سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا بر برخی فراسنج‌های خونی

Table 6. Effect of different levels of *Spirulina* algae on some blood parameters

Spirulina Level (%)	WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	RBC ( $10^6/\mu\text{l}$ )	Hemoglobin (g/dl)	Platelets ( $10^3/\mu\text{l}$ )	Hematocrit (%)	Heterophilic (%)	Lymphocytes (%)	H/L ratio
0	29.05	3.15	8.90	2.99	34.08	26.5	72.75	0.364
1.5	29.60	2.85	9.88	3.44	36.33	22.0	77.5	0.284
3	21.13	2.79	10.38	2.69	34.20	22.5	76.5	0.294
4.5	34.18	2.91	10.25	2.92	36.38	24.0	75.5	0.318
Std Error	2.54	0.109	0.240	0.118	0.653	1.800	1.851	0.036
P-value	0.358	0.719	0.107	0.144	0.449	0.063	0.054	0.065

جدول ۷. اثر سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا بر برخی شاخص‌های ایمنی

Table 7. Effect of different levels of *Spirulina* algae on some immune indices

Spirulina Level (%)	Skin response to PHA injection (Thickness, mm)		Antibody titer against SRBC (log <sub>2</sub> )		Antibody titer against Newcastle virus	
	After 24 hrs	After 48 hrs	Week 35	Week 37	Week 35	Week 37
0	0.37	0.25	7.25	8.75	8.00 <sup>ab</sup>	7.63 <sup>b</sup>
1.5	0.30	0.37	6.00	9.50	7.25 <sup>b</sup>	7.63 <sup>b</sup>
3	0.35	0.45	5.75	7.50	7.25 <sup>b</sup>	8.50 <sup>a</sup>
4.5	0.38	0.35	7.50	9.75	8.75 <sup>a</sup>	8.50 <sup>a</sup>
Std Error	0.075	0.069	0.375	0.417	0.202	0.155
P-value	0.97	0.593	0.262	0.227	0.016	0.037

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

اسپیرولینا پلاتنسیس سبب تقویت سیستم ایمنی نیمچه‌های جوان می‌شود، به نحوی که این پرندگان طحال سنگین‌تری داشته و توان از بین بردن میکروب‌ها، پردازش آنتی‌ژن‌ها و فعالیت لنفوسیت T در آن‌ها به شکل معنی‌داری افزایش می‌یابد (Qureshi *et al.*, 1996). برخی از مواد مغذی موجود در اسپیرولینا مانند لیپوپولی‌ساکارید (Tornabene *et al.*, 1985)، ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب ضروری (Belay *et al.*, 1996) می‌توانند ماکروفاژها را فعال کرده و سبب بهبود وضعیت ایمنی بدن شوند.

#### نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج آزمایش حاضر نشان داد، استفاده از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در جیره مرغ تخم‌گذار سویه LSL، در سطوح مختلف ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ درصد، سبب افزایش رنگ زرده تخم‌مرغ شد. استفاده از سطح ۰/۶٪ جلبک، توده تخم‌مرغ تولیدی را نسبت به گروه شاهد افزایش داد و سطح ۰/۹٪ نیز سبب افزایش وزن پوسته تخم‌مرغ و افزایش پاسخ علیه واکسن ویروس نیوکاسل نسبت به گروه شاهد شد.

در آزمایش حاضر میزان عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل تحت تأثیر افزایش مصرف جلبک، بهبود یافت. با این حال، در پژوهشی به‌کارگیری مکمل اسپیرولینا در سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی، سبب افزایش معنی‌دار پاسخ ثانویه به SRBC شد (Mirzaei *et al.*, 2018). افزایش سطح آنتی‌بادی در پاسخ به تزریق SRBC، در بلدرچین ژاپنی تغذیه‌شده با جلبک اسپیرولینا نیز مشاهده شد (Hajati & Zaghari, 2019). پژوهشگرانی نیز سطح IgG بالاتری را در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جلبک اسپیرولینا گزارش کرده و بیان داشتند که اسپیرولینا ممکن است بر تولید سابتوکین خاصی که سطح IgG را افزایش می‌دهد، تأثیر گذاشته و در نتیجه ایمنی هومورال را بهبود بخشد (Katayama *et al.*, 2016). برخی مطالعات نشان داده است که جلبک اسپیرولینا می‌تواند عملکرد ایمنی را در جوجه‌های گوشتی افزایش دهد، به طوری که با افزودن این جلبک به جیره، وضعیت سیستم دفاعی جوجه‌ها به‌طور قابل‌توجهی بهبود می‌یابد (AbdEl-Ghany, 2020). همچنین نشان داده شد که مصرف یک درصد

#### REFERENCES

1. Abadjieva, D., Radka, N., Yordan, M., Gergana, J., Mihail, C., Dineva, J., Shimkus, A., Shimkiene, A., Teerds, K. & Kistanova, E. (2017). *Arthrospira (Spirulina) platensis* supplementation affects folliculogenesis, progesterone and ghrelin levels in fattening pre-pubertal gilts. *Journal of Applied Phycology*, 30, 445-452. <https://doi:10.1007/s10811-017-1263-7>



2. AbdEl-Ghany, W. A. (2020). Microalgae in poultry field: A comprehensive perspectives. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 8(9), 888-897. <https://doi:10.17582/journal.aavs/2020/8.9.888.897>
3. An, B. K., Jeon, J. Y., Kang, C. W., Kim, J. M. & Hwang, J. K. (2014). The tissue distribution of lutein in laying hens fed lutein fortified *Chlorella* and production of chicken eggs enriched with lutein. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34, 172-177. <https://doi:10.5851/kosfa.2014.34.2.172> PMID: 26760935
4. Ao, T., Macalintal, L. M., Paul, M. A., Pescatore, A. J., Cantor, A. H., Ford, M. J., Timmons, B. & Dawson, K. A. (2015). Effects of supplementing microalgae in laying hen diets on productive performance, fatty-acid profile, and oxidative stability of eggs. *Journal of Applied Poultry Research*, 24, 394-400. <https://doi:10.3382/japr/pfv042>.
5. Becker, E. W. (2013). Microalgae for human and animal nutrition. In: Richmond, A. & Q. Hu (Ed), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. (pp. 461-503) Wiley Blackwell, West Sussex, United Kingdom.
6. Belay, A., Kato, T. & Ota, Y. (1996). *Spirulina (Arthrospira)*, potential application as an animal feed supplement. *Journal of Applied Phycology*, 8, 303-311. <https://doi.org/10.1007/BF02178573>
7. Bonos, E., Kasapidu, E., Kargopolos, A., Karampampas, A., Christaki, E., Florou-Paneri, P. & Nikolakakis, I. (2016). *Spirulina* as a functional ingredient in broiler chicken diets. *South African Journal of Animal Science*, 46(1), 94-102. <https://doi:10.4314/sajas.v46i1.12>
8. DanishMunda, M., Khanb, U. H., Tahir, U., Mustafa, B. & Fayyaz, A. (2017). Antimicrobial drug residues in poultry products and implications on public health: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(7), 1433-1446. <https://doi:10.1080/10942912.2016.1212874>
9. Donoghue, D. J. (2003) Antibiotic Residues in Poultry Tissues and Eggs: Human Health Concerns? *Poultry Science*, 82, 618-621. <https://doi:10.1093/ps/82.4.618>
10. El-Hady, A. M. A. & El-Ghalid, O. A. H. (2018). *Spirulina platensis* Algae (SPA), a novel poultry feed additive. Effect of SPA supplementation in broiler chicken diets on productive performance, lipid profile and calcium-phosphorus metabolism. *World's Poultry Science Journal*, 7498, 1-7.
11. El-Kholy, H. & Kempainen, B. W. (2004). Levamisole Residues in Chicken Tissues and Eggs. *Poultry Science*, 84, 9-13. <https://doi:10.1093/ps/84.1.9>
12. Emami, S. & Olfati, A. (2017). Effects of dietary supplementing of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* microalgae on hematologic parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*, 7(3), 163-170.
13. Food and Agriculture Organization. (2008). *A Review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish*, from <http://www.fao.org/3/i0424e/i0424e00.htm>.
14. Fathi, M.A., Namra, M.M.M., Ragab, M.S. & Aly, M.M.M. (2018). Effect of dietary supplementation of algae meal (*Spirulina platensis*) as growth promoter on performance of broiler chickens. *Egyptian Poultry Science*, 38(2), 375-389.
15. Grasman, K. (2010). In vivo functional tests for assessing immunotoxicity in birds. *Methods in Molecular Biology*, 598: 387-98. [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-401-2\\_25](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-401-2_25).
16. 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(2), 347-357.
17. Hajati, H., Zaghari, M. & Oliveira, H. C. (2020). *Arthrospira (Spirulina) Platensis* can be considered as a probiotic alternative to reduce heat stress in laying Japanese quails. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 22(1), 1-8. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2018-0977>.
18. Hynstova, V., Sterbova, D., Klejdus, B., Hedbavny, J., Huska, D. & Adam, V. (2018). Separation, identification and quantification of carotenoids and chlorophylls in dietary supplements containing *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* using high performance thin layer chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 148, 108-118. <https://doi:10.1016/j.jpba.2017.09.018> PMID: 28987995
19. 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 Veterinary Science*, 11, 18-24. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2016.18.24>.
20. Krishnaveni, R., Palanivelu, K. & Velavan, S. (2013). Effects of probiotics and *Spirulina* supplementation on haemato-immunological function of *catla catla*. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 3(4), 176-181.
21. Long, S. F., Kang, S., Wang, Q. Q., Xu, Y. T., Pan, L., Hu, J. X., Li, M. & Piao, X. S. (2018). Dietary supplementation with DHA-rich microalgae improves performance, serum composition, carcass trait, antioxidant status, and fatty acid profile of broilers. *Poultry Science*, 97, 1881-1890. <https://doi:10.3382/ps/pey027> PMID: 29509916

22. Madeira, M. S., Cardoso, C., Lopes, P. A., Coelho, D., Afonso, C., Bandarra, N. M. & Prates, J. A. M. (2017). Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: a review. *Livestock Science*, 205, 111-121. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.020>
23. Manohar, M. (2005). *Probiotic and Spirulina as source of Immunostimulants and Growth in common Carp*. Ph.D. Thesis. Manonmaniam Sundaranar University, India.
24. Mariey, Y. A., Samak, H. R. & Ibrahim, M. A. (2012). Effect of using *Spirulina platensis* algae as a feed additive for poultry diets. Productive and reproductive performances of local laying hens. *Egyptian Poultry Science*, 32, 201-215.
25. Michalak, I., Andrys, M., Korczyński, M., Opalinski, S., Łeska, B., Konkol, D., Wilk, R., Rój, E. & Chojnacka, K. (2020). Biofortification of hens eggs with polyunsaturated fatty acids by new dietary formulation: supercritical microalgal extract. *Animals*, 10, 499-512. <https://doi:10.3390/ani10030499> PMID: [32192036](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32192036/)
26. Mirzaie, S., Zirak-Khattab, F., Hosseini, S. A. & Donyaie-Darian, H. (2018). Effects of dietary *Spirulina* on antioxidant status, lipid profile, immune response and performance characteristics of broiler chickens reared under high ambient temperature. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 31(4), 556-563. <https://doi:10.5713/ajas.17.0483> PMID: [28920419](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28920419/)
27. Mohamed, R. A., Eltholth M. M. & El-Saidy, N. R. (2014). Rearing broiler chickens under monochromatic blue light improve performance and reduce fear and stress during pre-slaughter handling and transportation. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 30(3), 457-471. <https://doi.org/10.2298/BAH1403457M>
28. Molnar, A., Bassett, A., Thuenemann, E., Schwach, F., Karkare, S., Ossowski, S., Weigel, D. & Baulcombe, D. (2009). Highly specific gene silencing by artificial micro RNAs in the unicellular alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *The Plant Journal*, 58(1), 165-74. <https://doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03767.x>.
29. Oh, S. T., Zheng, L., Kwon, H. J., Choo, Y. K., Lee, K. W., Kang, C. W. & An, B. K. (2015). Effects of dietary fermented *Chlorella vulgaris* (CBT<sup>®</sup>) on growth performance, relative organ weights, cecal microflora, tibia bone characteristics, and meat qualities in Pekin ducks. *Asian-australasian Journal of Animal Science*, 28, 95-101. <https://doi:10.5713/ajas.14.0473>.
30. 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(7), 2451-2459. <https://doi.org/10.3382/ps/pey093>
31. Pestana, J. M., Puerta, B., Santos, H., Madeira, M. S., Alfaia, C. M., Lopes, P. A., et al. (2020). Impact of dietary incorporation of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and exogenous enzymes on broiler performance, carcass traits, and meat quality. *Poultry Science*, 99, 519-532. <https://doi:10.1016/j.psj.2019.11.069>
32. 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. <https://doi:10.3109/08923979609052748> PMID: [8872497](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8872497/)
33. Raju, M. V. L. N., Rao, S. V., Radnika, K. & Chawak, M. M. (2005). Dietary supplementation of *Spirulina* and its effects on broiler chicken exposed to aflatoxicosis. *Indian Journal Poultry Science*, 40(1), 36-40.
34. Raposo, M. F. & Morais, A. M. M. (2015). Microalgae for the prevention of cardiovascular disease and stroke. *Life Science*, 125, 32-41. <https://doi:10.1016/j.lfs.2014.09.018>.
35. Romay, C. & Gonzalez, R. (2000). Phycocyanin is an antioxidant protector of human erythrocytes against lysis by peroxy radicals. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 52(4), 367-368. <https://doi.org/10.1211/0022357001774093> PMID: [10813544](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10813544/)
36. Ross, E., Puapong, D. P., Cepeda, F. P. & Patterson, P. H. (1994). Comparison of freeze-dried and extruded *Spirulina platensis* as yolk pigmenting agents. *Poultry Science*, 73, 1282-1289. <https://doi.org/10.3382/ps.0731282> PMID: [7971672](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7971672/)
37. Selim, S., Hussein, E. & Abou-Elkhair, R. (2018). Effect of *Spirulina platensis* as a feed additive on laying performance, egg quality and hepatoprotective activity of laying hens. *European Poultry Science*, 82, 1-13. <https://doi:10.1399/eps.2018.227>.
38. Shanmugapriya, B., Babu, S. S., Hariharan, T., Sivaneswaran, S. & Anusha, M. B. (2015). Dietary administration of *Spirulina platensis* as probiotics on growth performance and histopathology in broiler chicks. *International Journal of Current Scientific Research*, 6, 2650-2653.
39. Swiatkiewicz, S., Arczewska-Wlosek, A. & Jozefiak, D. (2015). Application of microalgae biomass in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal*, 71, 663-672. <https://doi:10.1017/S0043933915002457>

40. Tornabene, T. G., Bourne T. F., Raziuddin S. & Ben-Amotz, A. (1985). Lipid and lipopolysaccharide constituents of cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Marine Ecology Progress Series*, 22, 121-125. <https://doi:10.3354/meps022121>.
41. Yukino, T., Hayashi, M., Inoue, Y., Imamura, J., Nagano, N. & Murata, H. (2005). Preparation of docosahexaenoic acid fortified *Spirulina platensis* and its lipid and fatty acid compositions. *Nippon Suisan Gakkishi*, 71(1), 74-79. <https://doi:10.2331/suisan.71.74>
42. Zahroojian, N., Moravej, H. & Shivazad, M. (2011). Comparison of marine algae (*Spirulina platensis*) and synthetic pigment in enhancing egg yolk colour of laying hens. *British Poultry Science*, 52(5), 584-588. <https://doi:10.1080/00071668.2011.610779> PMID: [22029786](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22029786/)
43. Zahroojian, N., Moravej, H. & Shivazad, M. (2013). Effect of dietary marine algae on egg quality and production performance of laying hens. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15, 1353-1360.