تاثیر میکروجلبک اسپیرولینا و پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس بر خصوصیات لاشه، مورفولوژی روده و فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی

- **محبوب‌الله جویا**: گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **امید عشایری‌زاده***: گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **بهروز دستار**: گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

چکیده

این آزمایش به‌منظور مقایسه اثر افزودن میکروجلبک اسپیرولینا و پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس در جیره بر خصوصیات لاشه، ریخت‌شناسی پرزهای روده و فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه نر یک‌روزه نژاد راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۳ شامل سه سطح افزودنی اسپیرولینا پلاتنسیس (۰، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد از جیره) و دو سطح افزودنی پروبیوتیک (۰ و ۰/۰۵ درصد از جیره) درون ۳۰ قفس زمینی توزیع و به‌مدت ۲٤ روز پرورش یافتند. مصرف مخلوط ۰/۱ درصد اسپیرولینا و پروبیوتیک توانست وزن نسبی چربی حفره شکمی را در مقایسه با پرندگان تیمار حاوی ۰/۱ درصد اسپیرولینا و فاقد پروبیوتیک کاهش دهد. مصرف تیمار حاوی پروبیوتیک و فاقد اسپیرولینا سبب افزایش طول پرزها و نسبت طول پرز به عمق کریپت‌های دئودنوم در مقایسه با تیمار فاقد این افزودنی‌ها شد (P<۰/۰۵). در ژژونوم، تیمار مخلوط ۰/۰۵ درصد اسپیرولینا و پروبیوتیک طول پرزها را در مقایسه با تیمار حاوی فقط پروبیوتیک افزایش داد (P<۰/۰۵). افزودن اسپیرولینا یا پروبیوتیک توانست سبب کاهش درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لمفوسیت در خون جوجه‌های گوشتی شود (P<۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان داد که مصرف اسپیرولینا، به‌ویژه سطح ۰/۱ درصد، به تنهایی و یا همراه با پروبیوتیک می‌تواند سبب بهبود کیفیت لاشه و خصوصیات پرزهای روده شود. هم‌چنین با توجه به تغییرات فراسنجه‌های خونی، هریک از این افزودنی‌ها جهت بهبود سلامت جوجه‌های گوشتی قابل توصیه هستند.

کلمات کلیدی: جوجه گوشتی، اسپیرولینا، پروبیوتیک، پرزهای روده، لیپید خون

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: O_ashayeri@yahoo.com

مقدمه

امروزه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک‌های رشد در جیره‌های غذایی طیور بسیار محدود یا کاملاً منع شده است تا از بروز بسیاری از بیماری‌ها در انسان ازجمله واکنش‌های حساسیت‌زا و ایجاد سویه‌های مقاوم باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری شود (Bai و همکاران، ۲۰۱۷). با این‌حال، حذف آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد می‌تواند منجر به عملکرد رشد ضعیف و افزایش خطر ابتلا به عفونت‌های باکتریایی در روده کوچک پرندگان شود (Palamidi و همکاران، ۲۰۱۶). لذا، با توجه به نیاز صنعت پیشرفته پرورش طیور، مطالعات بسیاری برای یافتن ترکیبات طبیعی با اثرات مفید آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد صورت گرفته‌است. چندین جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد مانند پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها (ترکیب پروبیوتیک و پری‌بیوتیک) و فیتوبیوتیک‌ها بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته است (Mehdi و همکاران، ۲۰۱۸). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف مقادیر کافی، اثرات مفیدی بر سلامت میزبان دارند (FAO/WHO، ۲۰۰۱). باکتری باسیلوس سوبتیلیس، به‌عنوان پروبیوتیک اسپورساز، می‌تواند سلامت روده و عملکرد آن را از طریق کاهش pH روده و تحریک سیستم ایمنی دستگاه گوارش بهبود دهد (Bai و همکاران، ۲۰۱۷). هم‌چنین اخیراً، پری‌بیوتیک‌ها به‌عنوان سوبستراهایی تعریف شده‌اند که به‌صورت انتخابی توسط میکروارگانیسم‌های موثر در بهبود سلامت میزبان در دستگاه گوارش مورد استفاده قرار می‌گیرند (Gibson و همکاران، ۲۰۱۷). در مطالعات متعددی به میکروجلبک‌ها به‌عنوان یک جزء از خوراک و یا یک پری‌بیوتیک موثر توجه شده است (Beheshtipour و همکاران، ۲۰۱۳؛ de Jesus Raposo و همکاران، ۲۰۱۶؛ Kordowska-Wiater و همکاران، ۲۰۱۱؛ Niccolai و همکاران، ۲۰۱۹؛ Tavernari و همکاران، ۲۰۱۸). میکروجلبک‌ها موجوداتی تک‌سلولی با توانایی فتوسنتز سریع و هم‌چنین منبعی سرشار از مواد مغذی و مواد فعال بیولوژیکی، ازجمله اسیدهای چرب غیراشباع، آنتی‌اکسیدان‌ها و کاروتنوئیدها هستند (Świątkiewicz و همکاران، ۲۰۱۵). هرچند استفاده از میکروجلبک‌ها به‌عنوان یک جزو اصلی (به‌عنوان مثال، منبع خوبی از پروتئین) در جیره، عملکرد رشد پرندگان را بهبود می‌بخشد (Tavernari و همکاران، ۲۰۱۸). اما در حال حاضر به‌دلیل هزینه بالای تولید این محصول، استفاده از سطوح زیاد آن در جیره سبب کاهش سودآوری صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی خواهد شد (Świątkiewicz و همکاران، ۲۰۱۵). اسپیرولین (*Arthrospira* sp.) نوعی سیانوباکتریوم فنری شکل است که به‌عنوان یک میکروجلبک سبز-آبی نیز شناخته می‌شود. این میکروجلبک فعالیت ضدالتهابی، ضدویروسی و آنتی‌اکسیدانی در آزمایشات *in vivo* و *in vivo* نشان داده است (Park و همکاران، ۲۰۱۸). علاوه بر این، اسپیرولینا می‌تواند به‌عنوان یک پری‌بیوتیک سبب تحریک رشد باکتری‌های اسید لاکتیکی شود (Beheshtipour و همکاران، ۲۰۰۳). بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر اسپیرولینا به‌صورت جداگانه یا در ترکیب با باکتری پروبیوتیکی باسیلوس سوبتیلیس بر تغییرات خصوصیات لاشه، مورفولوژی روده کوچک و فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرندگان و تیمارهای آزمایشی: در آزمایش حاضر، ۳۰۰ قطعه جوجه یک‌روزه نر گوشتی نژاد راس ۳۰۸ به‌صورت تصادفی در قالب یک آزمایش فاکتوریل ۳×۲ شامل ۳ سطح میکروجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (۰، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد جیره) و ۲ سطح پروبیوتیک تجاری (۰ و ۰/۰۵ درصد جیره) در ۶ تیمار آزمایشی توزیع شدند. هر تیمار دارای ۵ تکرار و ۱۰ جوجه گوشتی در هر تکرار بود. هر گرم از پروبیوتیک استفاده شده حاوی 2×10^{7} واحد تشکیل کلنی از باکتری باسیلوس سوبتیلیس بود. یک جیره غذایی بر پایه ذرت-سویا (جدول ۲) طبق توصیه‌های راهنمای سویه راس ۳۰۸ به‌صورت آردی تهیه شد و به‌مدت ۲۴ روز به‌صورت آزاد دراختیار پرندگان قرار گرفت. درجه حرارت سالن پرورش و دیگر موارد مدیریت پرورش براساس راهنمای سویه بود. در پایان آزمایش، ۲ قطعه جوجه از هر واحد آزمایشی که نزدیک‌ترین وزن به میانگین گروه خود داشتند، انتخاب و پس از خونگیری به‌منظور بررسی خصوصیات لاشه (شامل لاشه قابل طبخ، سینه، ران و چربی حفره بطنی) و اندام‌های داخلی (سنگدان، کبد، بورس فابرسیوس، قلب و طحال) کشتار شدند. هم‌چنین از قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل دئودنوم، ژژونوم و ایلئوم جهت بررسی خصوصیات پرزها نمونه‌گیری شد.

فراسنجه های خون: نمونه خون (۵ میلی‌لیتر) پرندگان از ورید بال گرفته شد و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سرم جمع‌آوری‌شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. غلظت، کلسترول، تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL)، با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) در دستگاه اتوماتیک بیوشیمیایی (مدل ۳۰۰ Abbott Alcyon) اندازه‌گیری شد. هم‌چنین غلظت لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم (VLDL) محاسبه گردید. هم‌چنین برای تعیین تغییرات غلظت گلبول‌های سفید، ۲ میلی‌لیتر خون به لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انتقال یافت.

جدول ۱: ترکیب جیره آزمایشی (براساس شکل معمول خوراکی)

اجزا (بر حسب درصد)	۱ تا ۱۰ روزگی	۱۱ تا ۲۴ روزگی
ذرت	۵۳/۸۵	۵۴/۵۱
کنجاله سویا	۳۲/۰۰	۳۳/۰۰
گلوتن ذرت	۷/۳۱	۴/۰۲
روغن سویا	۲/۵۶	۴/۵۰
سنگ آهک	۱/۱۹	۱/۰۸
دی‌کلسیم فسفات	۱/۶۸	۱/۴۶
نمک کلریدسدیم	۰/۳۷	۰/۳۶
مکمل ویتامینی [1]	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی [2]	۰/۲۵	۰/۲۵
دی-ال-متیونین	۰/۲۸	۰/۲۶
ال- لیزین	۰/۴۴	۰/۲۵
ال- تره ئونین	۰/۱۲	۰/۰۷
آنالیز شیمیایی (مقادیر محاسبه شده)		
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۹۰۰	۳۰۰۰
پروتئین خام (٪)	۲۲/۲۳	۲۰/۸۰
کلسیم (٪)	۰/۹۲	۰/۸۴
فسفر قابل استفاده (٪)	۰/۴۶	۰/۴۲
سدیم (٪)	۰/۱۶	۰/۱۵
لیزین (٪)	۱/۳۹	۱/۲۴
میتونین + سیستین (٪)	۱/۰۴	۰/۹۵
آرژنین (٪)	۱/۳۴	۱/۳۲
ترئونین (٪)	۰/۹۳	۰/۷۵

[1] مقدار فراهم‌سازی در هر کیلوگرم جیره: ویتامین A (ترانس رتینیل استات)، ۱۰۰۰۰ IU؛ ویتامین D۳ (کوله کلسیفرول)، ۲۰۰۰ IU؛ ویتامین E (دی-ال- آلفا توکوفرول استات)، ۱۰ میلی‌گرم؛ ویتامین K (ترکیب بی‌سولفات منادیون)، ۱ میلی‌گرم؛ ویتامین B۱ (تیامین مونونیترات)، ۱ میلی‌گرم؛ ویتامین B۲ (ریبوفلاوین)، ۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B۳ (نیاسین)، ۳۰ میلی‌گرم؛ ویتامین B۶ (پیریدوکسین - هیدروکلراید)، ۱/۵ میلی گرم؛ ویتامین B۸ (بیوتین)، ۰/۰۵ میلی‌گرم؛ ویتامین B۵ (کلسیم پانتانتات)، ۱۰ میلی گرم؛ ویتامین B۹ (اسیدفولیک)، ۱ میلی‌گرم؛ آنتی اکسیدان (بوتیل هیدروکسی متولین)، ۱۰ میلی‌گرم. [2] مقدار فراهم‌سازی در هر کیلوگرم جیره: منگنز (سولفات منگنز)، ۶۰ میلی‌گرم؛ روی (سولفات روی)، ۵۰ میلی‌گرم؛ آهن (سولفات آهن)، ۳۰ میلی‌گرم؛ مس (سولفات مس)، ۴ میلی‌گرم؛ ید (پتاسیم یدید)، ۳ میلی گرم؛ سلنیوم (سدیم سلنیت)، ۰/۱ میلی‌گرم؛ و کبالت (کربنات کبالت) ۰/۱ میلی‌گرم.

حدود ۰/۱ میلی‌لیتر خون کامل جهت تهیه گستره استفاده گردید. گستره‌ها پس از خشک شدن لام درمجاورت هوا به‌مدت ۱۰ دقیقه در متانول ۹۹/۵ درصد ثابت شدند. سپس سطح گستره خونی حاصل، به‌مدت ۴۵ دقیقه با رنگ گیمسای رقیق شده (به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر) پوشانده شد. در ادامه، به‌کمک آب مقطر، رنگ روی لام به آهستگی شسته شد و لام‌ها در هوا-خشک شدند. در هر گستره رنگ‌آمیزی شده، تعداد ۱۰۰ عدد گلبول سفید شامل گرانولوسیت (هتروفیل،ائوزینوفیل و بازوفیل) و آگرانولوسیت (لمفوسیت و مونوسیت) شمارش شد و نسبت هتروفیل به لمفوسیت محاسبه گردید (Campo و Davila، ۲۰۰۲).

نمونه‌گیری از بافت روده: در پایان دوره پرورش ۱۰ پرنده از هر تیمار آزمایشی به‌صورت تصادفی انتخاب و از طریق جابه‌جایی مهره‌های گردن کشتار شدند. پس از خارج کردن روده از بدن پرنده، ۳ سانتی‌متر از بخش میانی دئودنوم، ژژونوم و ایلئوم جدا شد و به‌مدت ۱ روز درون محلول ۱۰ درصد فرمالین تثبیت شد. سپس نمونه‌ها درون پارافین جامد قرار گرفتند و برش‌هایی (۶-۸ برش) به ضخامت تقریبی ۵ میکرومتر از آن‌ها تهیه و به روی لام شیشه‌ای انتقال یافت. در نهایت این برش‌ها پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین، زیر میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکس‌برداری بررسی و عکس‌های به‌دست آمده توسط نرم‌افزار Image J تجزیه و تحلیل شدند (Zentek و همکاران، ۲۰۰۲).

محاسبات آماری: داده‌های آزمایش حاضر به‌روش ANOVA با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS (۲۰۰۹) تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج

خصوصیات لاشه: نتایج تاثیر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ گزارش شده است. در تنها اثر متقابل مشاهده شده، استفاده هم‌زمان از ۰/۱ درصد اسپیرولینا و ۰/۰۵ درصد پروبیوتیک توانست درصد چربی حفره‌شکمی را در مقایسه با تیمار حاوی ۰/۱ درصد اسپرولینا به‌صورت معنی‌دار کاهش دهد. وزن نسبی کبد در پرندگان تیمار ۰/۰۵ درصد اسپیرولینادر مقایسه با تیمار فاقد اسپیرولینا کم‌تر بود (P<۰/۰۵). مکمل‌سازی ۰/۱ درصد اسپیرولینا در جیره توانست وزن غده بورس فابرسیوس را نسبت به جیره فاقد اسپیرولینا کاهش دهد(P<۰/۰۵). هم‌چنین استفاده از پروبیوتیک در جیره توانست وزن نسبی غده بورس فابرسیوس و قلب را در مقایسه با تیمار فاقد پروبیوتیک به‌ترتیب کاهش و افزایش دهد (P<۰/۰۵). وزن نسبی لاشه قابل طبخ، سینه، ران، سنگدان و طحال تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

فراسنجه‌های خون: تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ گزارش شده است. در هیچ‌کدام از فراسنجه‌های خونی مورد آزمایش، بین اسپیرولینا و پروبیوتیک اثر متقابل وجود نداشت (P>۰/۰۵). در پرندگانی که با جیره حاوی ۰/۱ درصد اسپیرولینا تغذیه شده بودند، درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لمفوسیت در مقایسه با جیره فاقد اسپیرولینا به‌صورت معنی‌دار کم‌تر بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲: تاثیر تیمارهای مختلف بر وزن نسبی لاشه و اندام‌های درونی جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی[1]

تیمارها		صفات								
		لاشه	سینه	ران	چربی شکمی	سنگدان	کبد	بورس فابرسیوس	قلب	طحال
اثرات اصلی										
میکروجلبک										
۰		۵۵/۲۵	۱۸/۰۱	۱۷/۰۸	۰/۸۹	۲/۴۰	۲/۳۹^{b}	۰/۳۳^{a}	۰/۶۵	۰/۰۹
۰/۰۵		۵۴/۲۷	۱۸/۴۲	۱۶/۷۴	۰/۶۸	۲/۷۴	۲/۸۷^{a}	۰/۲۴^{ab}	۰/۶۸	۰/۱۰
۰/۱		۵۵/۹۰	۱۸/۸۸	۱۷/۰۴	۰/۸۳	۲/۲۲	۲/۷۴^{ab}	۰/۲۳^{b}	۰/۶۱	۰/۰۸
SEM		۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۴۲	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۰۹
P-value		۰/۱۶۵	۰/۵۶۲	۰/۸۲۵	۰/۴۷۹	۰/۰۹۲	۰/۰۲۹	۰/۰۴۷	۰/۳۶۰	۰/۶۱۳
پروبیوتیک										
۰		۵۵/۱۵	۱۸/۲۴	۱۶/۸۷	۰/۹۴	۲/۵۰	۲/۶۸	۰/۳۱^{a}	۰/۶۱^{b}	۰/۰۹
۰/۰۵		۵۵/۱۳	۱۸/۶۳	۱۷/۰۴	۰/۶۷	۲/۴۱	۲/۶۵	۰/۲۲^{b}	۰/۶۹^{a}	۰/۰۹
SEM		۰/۴۶	۰/۴۵	۰/۳۴	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۰۹	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۰۷
P-value		۰/۹۷۲	۰/۵۵۸	۰/۷۳۰	۰/۰۸۲	۰/۶۴۱	۰/۸۲۶	۰/۰۳۲	۰/۰۴۵	۱/۰۰۰
اثرات متقابل										
میکروجلبک	**پروبیوتیک**									
۰	صفر	۵۵/۱۳	۱۷/۷۹	۱۶/۹۱	۰/۷۷^{ab}	۲/۴۸	۲/۳۲	۰/۳۸	۰/۶۵	۰/۰۹
۰/۰۵	صفر	۵۴/۱۰	۱۸/۴۹	۱۶/۴۵	۰/۸۵^{ab}	۲/۸۴	۲/۹۰	۰/۲۸	۰/۶۲	۰/۱۰
۰/۱	صفر	۵۶/۲۳	۱۸/۴۵	۱۷/۲۴	۱/۱۹^{a}	۲/۱۸	۲/۸۳	۰/۲۶	۰/۵۴	۰/۰۸
۰	۰/۰۵	۵۵/۳۷	۱۸/۲۳	۱۷/۲۵	۱/۰۲^{ab}	۲/۳۳	۲/۴۷	۰/۲۸	۰/۶۵	۰/۰۸
۰/۰۵	۰/۰۵	۵۴/۴۴	۱۸/۳۶	۱۷/۰۳	۰/۵۱^{ab}	۲/۶۵	۲/۸۳	۰/۲۱	۰/۷۳	۰/۱۰
۰/۱	۰/۰۵	۵۵/۵۸	۱۹/۳۱	۱۶/۸۴	۰/۴۷^{b}	۲/۲۷	۲/۶۶	۰/۲۱	۰/۶۸	۰/۰۹
SEM		۰/۸۰	۰/۷۹	۰/۵۹	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۱۵	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۱
P-value		۰/۷۹۶	۰/۸۲۲	۰/۷۰۳	۰/۰۴۶	۰/۷۸۶	۰/۶۰۳	۰/۷۳۳	۰/۲۸۲	۰/۶۳۵

[a,b] در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵). [1] برحسب درصد از وزن زنده.

هم‌چنین استفاده از پروبیوتیک توانست درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لمفوسیت را کاهش دهد (P<۰/۰۵). با این‌حال، تنها مصرف پروبیوتیک در کاهش غلظت کلسترول، HDL و LDL سرم خون پرندگان موثر بود (P<۰/۰۵). هیچ‌کدام از تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌هایی شامل درصد لمفوسیت، مونوسیت ائوزینوفیل، بازوفیل و غلظت تری‌گلیسرید و VLDL اثر معنی‌دار نداشتند (P>۰/۰۵).

ریخت‌شناسی روده: تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ گزارش شده است. استفاده از اسپیرولینا و پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی بر طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت در دئودنوم و ژژونوم اثر متقابل نشان داد. استفاده از پروبیوتیک به تنهایی در جیره توانست طول پرز و نسبت طول پرزه به عمق کریپت را در مقایسه با جیره فاقد افزودنی به‌صورت معنی‌دار افزایش دهد (P<۰/۰۵). طول پرزها در ژژونوم پرندگانی که جیره حاوی مخلوط ۰/۰۵ درصد اسپیرولینا و پروبیوتیک دریافت کرده بودند در مقایسه با پرندگان تحت تیمار پروبیوتیک و فاقد اسپیرولینا بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین در این ناحیه، مکمل‌سازی جیره با مخلوط ۰/۱ درصد اسپیرولینا و پروبیوتیک در مقایسه با تیمار حاوی ۰/۱ درصد اسپیرولینا و فاقد پروبیوتیک سبب بهبود نسبت طول پرز به عمق کریپت شد (P<۰/۰۵). در ایلئوم، استفاده از اسپیرولینا و پروبیوتیک به‌ترتیب توانستند طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت را در مقایسه با جیره‌های فاقد این افزودنی‌ها بهبود دهند (P<۰/۰۵).

جدول ۳: تاثیر تیمارهای مختلف بر غلظت لوکوسیت‌ها و پروفایل لیپیدهای خون جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

تیمارها		صفات[1]									
		هتروفیل	لمفوسیت	مونوسیت	ائوزینوفیل	بازوفیل	H/L[2]	کلسترول	TG[3]	HDL[4]	VLDL[5]	LDL[6]
اثرات اصلی												
میکروجلبک												
۰		۳۱/۵۵[a]	۵۴/۹۴	۷/۲۹	۳/۶۳	۲/۵۷	۰/۵۷[a]	۱۳۲/۲۳	۵۲/۷۷	۷۵/۶۵	۱۰/۵۵	۴۶/۰۲
۰/۰۵		۲۸/۷۸[ab]	۵۸/۷۷	۷/۷۲	۳/۷۵	۳/۱۱	۰/۵۱[ab]	۱۲۸/۶۱	۵۰/۳۵	۷۶/۹۲	۱۰/۰۶	۴۱/۶۲
۰/۱		۲۷/۸۷[b]	۵۶/۶۲	۷/۲۹	۳/۶۹	۲/۳۶	۰/۴۷[b]	۱۲۵/۴۱	۴۷/۷۸	۷۷/۵۸	۹/۵۵	۴۰/۹۳
SEM		۰/۸۴	۱/۶۵	۰/۳۴	۰/۶۸	۰/۷۴	۰/۰۲	۳/۶۶	۲/۷۷	۱/۸۳	۰/۵۵	۴/۶۷
P-value		۰/۰۲۳	۰/۲۹۸	۰/۶۱۴	۰/۹۹۱	۰/۷۶۷	۰/۰۳۵	۰/۴۴۵	۰/۴۶۸	۰/۷۵۷	۰/۴۶۸	۰/۷۱۲
پروبیوتیک												
۰		۳۱/۳۶[a]	۵۵/۵۷	۷/۳۳	۳/۱۸	۲/۵۴	۰/۵۶[a]	۱۳۴/۱۳[a]	۵۲/۳۳	۷۴/۳۴[b]	۱۰/۴۶	۴۹/۳۲[a]
۰/۰۵		۲۷/۴۴[b]	۵۷/۹۸	۷/۵۴	۴/۲۰	۲/۸۲	۰/۴۷[b]	۱۲۳/۳۶[b]	۴۸/۲۶	۷۹/۰۹[a]	۹/۶۵	۳۶/۳۹[b]
SEM		۰/۶۸	۱/۳۵	۰/۲۸	۰/۵۵	۰/۶۰	۰/۰۱	۲/۹۹	۲/۲۶	۱/۴۹	۰/۴۵	۳/۸۱
P-value		۰/۰۰۱	۰/۲۳۱	۰/۶۱۷	۰/۲۱۷	۰/۷۵۶	۰/۰۰۸	۰/۰۲۵	۰/۲۲۸	۰/۰۴۴	۰/۲۲۷	۰/۰۳۳
اثرات متقابل												
میکروجلبک	پروبیوتیک											
۰	صفر	۳۴/۴۰	۵۳/۴۶	۶/۹۷	۲/۹۲	۲/۲۳	۰/۶۴	۱۴۰/۸۰	۵۸/۰۸	۷۱/۵۵	۱۱/۶۱	۵۷/۶۲
۰/۰۵	صفر	۵۲/۳۰	۵۵/۲۳	۷/۸۱	۳/۳۹	۳/۰۳	۰/۵۵	۱۳۱/۸۳	۵۰/۸۸	۷۵/۱۴	۱۰/۱۷	۴۶/۵۱
۰/۱	صفر	۲۹/۱۵	۵۸/۰۳	۷/۲۱	۳/۲۲	۲/۳۸	۰/۵۰	۱۲۹/۷۸	۴۸/۰۴	۷۶/۳۳	۹/۶۱	۴۳/۸۴
۰	۰/۰۵	۲۸/۷۰	۵۶/۴۳	۷/۶۱	۴/۳۴	۲/۹۱	۰/۵۱	۱۲۳/۶۶	۴۷/۴۶	۷۹/۷۵	۹/۴۹	۳۴/۴۱
۰/۰۵	۰/۰۵	۲۷/۰۳	۵۸/۰۱	۷/۶۳	۴/۱۲	۳/۱۹	۰/۴۷	۱۲۵/۳۹	۴۹/۸۱	۷۸/۷۰	۹/۹۶	۳۶/۷۳
۰/۱	۰/۰۵	۲۶/۵۹	۵۹/۵۲	۷/۳۸	۴/۱۶	۲/۳۵	۰/۴۵	۱۲۱/۰۴	۴۷/۵۲	۷۸/۸۳	۹/۵۰	۳۸/۰۳
SEM		۱/۱۸	۲/۳۴	۰/۴۹	۰/۹۶	۱/۰۵	۰/۰۳	۵/۱۸	۳/۹۲	۲/۵۹	۰/۷۸	۶/۶۰
P-value		۰/۴۲۴	۰/۹۴۲	۰/۷۱۱	۰/۹۳۵	۰/۹۴۱	۰/۵۵۲	۰/۵۷۰	۰/۳۸۰	۰/۵۲۴	۰/۳۸۲	۰/۴۱۳

[a,b] در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵). [1] فراوانی لوکوسیت‌های خون بر حسب درصد و غلظت لیپیدهای خون بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر گزارش شده است. [2] نسبت هتروفیل به لمفوسیت، [3] تری‌گلیسرید، [4] لیپوپروتئین با چگالی بالا، [5] لیپوپروتئین با چگالی خیلی پایین = (تری گلیسرید × ۰/۲)، [6] لیپوپروتئین با چگالی پایین = (LDL+ VLDL) - کلسترول

جدول ۴: تاثیر تیمارهای مختلف بر ریخت‌شناسی[1] روده جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی

تیمارها		صفات								
		دئودنوم			ژژونوم			ایلئوم		
		H[2]	CD[3]	H/CD[3]	H	CD	H/CD	H	CD	H/CD
اثرات اصلی										
میکروجلبک										
۰		۱۴۰۱/۸۶	۹۳/۵۵	۱۵/۱۴	۱۰۵۶/۸۹	۹۳/۸۵	۱۱/۳۴	۶۲۲/۵۴[b]	۸۸/۷۳	۷/۰۳
۰/۰۵		۱۴۱۶/۳۹	۹۳/۲۸	۱۵/۳۰	۱۱۶۸/۱۹	۱۰۱/۳۰	۱۱/۶۱	۶۸۹/۲۲[a]	۹۳/۰۱	۷/۴۵
۰/۱		۱۴۷۳/۲۶	۹۶/۴۰	۱۵/۳۱	۱۱۳۴/۴۱	۹۹/۱۷	۱۱/۵۹	۶۸۹/۶۴[a]	۹۲/۷۵	۷/۵۰
SEM		۳۲/۷۸	۳/۳۴	۰/۴۹	۳۴/۴۴	۳/۹۷	۰/۴۵	۱۶/۷۱	۳/۴۷	۰/۲۵
P-value		۰/۳۰۲	۰/۷۷۰	۰/۹۶۳	۰/۱۰۴	۰/۴۲۰	۰/۸۹۸	۰/۰۲۲	۰/۶۳۱	۰/۳۷۹
پروبیوتیک										
۰		۱۴۱۹/۶۰	۹۸/۳۰	۱۴/۵۰[b]	۱۱۰۹/۷۴	۱۰۱/۴۷	۱۱/۰۱	۶۶۰/۶۹	۹۵/۴۵	۶/۹۴[b]
۰/۰۵		۱۴۴۱/۴۱	۹۰/۵۲	۱۶/۰۰[a]	۱۱۲۹/۹۲	۹۴/۷۴	۱۲/۰۲	۶۷۳/۵۷	۸۷/۵۴	۷/۷۲[a]
SEM		۲۶/۷۷	۲/۷۳	۰/۴۰	۲۸/۱۲	۳/۲۴	۰/۳۷	۱۳/۶۴	۲/۸۳	۰/۲۰
P-value		۰/۵۷۵	۰/۰۶۷	۰/۰۲۱	۰/۶۲۱	۰/۱۶۸	۰/۰۸۰	۰/۵۱۷	۰/۰۷۲	۰/۰۲۰
اثرات متقابل										
میکروجلبک	پروبیوتیک									
۰	صفر	۱۲۹۱/۲۴[b]	۹۹/۷۶	۱۲/۹۶[b]	۱۱۲۵/۷۹[ab]	۹۲/۴۴	۱۲/۱۷[ab]	۶۰۸/۶۸	۹۰/۸۲	۶/۷۲
۰/۰۵	صفر	۱۴۵۹/۵۰[ab]	۹۶/۴۸	۱۵/۱۶[ab]	۱۱۱۷/۰۶[ab]	۱۰۴/۲۲	۱۰/۷۷[ab]	۶۹۸/۳۳	۹۶/۸۳	۷/۲۶
۰/۱	صفر	۱۵۰۸/۰۷[ab]	۹۸/۶۵	۱۵/۳۷[ab]	۱۰۸۶/۳۶[ab]	۱۰۷/۷۵	۱۰/۰۸[b]	۶۷۵/۰۷	۹۸/۷۱	۶/۸۵
۰	۰/۰۵	۱۵۱۲/۴۸[a]	۸۷/۳۴	۱۷/۳۲[a]	۹۸۷/۹۹[b]	۹۵/۲۷	۱۰/۵۱[ab]	۶۳۶/۳۹	۸۶/۶۴	۷/۳۵
۰/۰۵	۰/۰۵	۱۳۷۳/۲۹[ab]	۹۰/۰۹	۱۵/۴۳[ab]	۱۲۱۹/۳۲[a]	۹۸/۳۸	۱۲/۴۵[ab]	۶۸۰/۱۱	۸۹/۱۹	۷/۶۴
۰/۱	۰/۰۵	۱۴۳۸/۴۶[ab]	۹۴/۱۵	۱۵/۲۶[ab]	۱۱۸۲/۴۵[ab]	۹۰/۵۹	۱۳/۱۰[a]	۷۰۴/۲۱	۸۶/۷۸	۸/۱۶
SEM		۴۶/۳۷	۴/۷۳	۰/۶۹	۴۸/۷۰	۵/۶۱	۰/۶۴	۲۳/۶۴	۴/۹۱	۰/۳۵
P-value		۰/۰۰۹	۰/۶۹۱	۰/۰۱۳	۰/۰۴۸	۰/۲۴۳	۰/۰۱۰	۰/۵۳۹	۰/۷۳۷	۰/۴۲۵

[a,b] در هر ردیف میانگین‌های با حروف نامشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵). [1] واحدهای اندازه‌گیری بر حسب میکرومتر بیان شده است. [2] طول پرز، [3] عمق کریپت، [4] نسبت طول پرز به عمق کریپت

بحث

مطابق با نتایج این آزمایش، گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها تجمع چربی در حفره شکم جوجه‌های گوشتی را کاهش می‌دهد (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸). کاهش وزن نسبی چربی در حفره شکمی با استفاده از مکمل پروبیوتیکی ممکن است ناشی از افزایش تولید باکتریایی اسیدهای چرب کوتاه زنجیر باشد که تعادل بین سنتز و اکسیداسیون اسیدهای‌چرب را تعیین می‌کند (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸؛ Khatibjoo و همکاران، ۲۰۱۸). علاوه بر این، اسپیرولینا می‌تواند میزان چربی احشایی را با جلوگیری از نفوذ ماکروفاژ به بافت چربی و کاهش بیان ژن عوامل چربی‌ساز (Seo و همکاران، ۲۰۱۸) کاهش دهد. در آزمایش حاضر وزن نسبی گوشت سینه با مصرف اسپیرولینا و پروبیوتیک به‌صورت عددی بالاتر از تیمارهای فاقد این افزودنی‌ها بود. درصد گوشت سینه به‌دلیل هم‌بستگی مثبت ژنتیکی بین این بخش و وزن بدن پرندگان (Park و همکاران، ۲۰۱۷) برای تولیدکنندگان بسیار مهم است. بخشی از تفاوت وزن نسبی سینه بین تیمارهای حاوی یا فاقد اسپیرولینا ممکن است به توانایی محتویات سلولی اسپیرولینا (به‌عنوان مثال، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه شاخه‌دار) در تحریک سنتز پروتئین عضلانی مربوط باشد (Voltarelli و de Mello، ۲۰۰۸) علاوه بر این، پری‌بیوتیک‌ها تولید گوشت را از طریق افزایش مصرف مواد مغذی و جذب آن‌ها در روده (Hou و Tako، ۲۰۱۸) بهبود می‌دهند. با این‌حال، Wang و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که استفاده از مکمل‌های پری‌بیوتیک بر وزن‌نسبی سینه جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری ندارد. اگرچه اثر مثبت اسپیرولینا بر بهبود سلامت کبد گزارش شده است (Neyrinck و همکاران، ۲۰۱۷)، با این‌حال، دلیل افزایش اندازه کبد در پرندگان تحت تیمار اسپیرولینا مشخص نیست. مطابق با نتایج آزمایش حاضر، Park و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که استفاده از میکروجلبک اسپیرولینا در جیره به‌صورت غیرمعنی‌دار سبب افزایش وزن کبد و کاهش وزن نسبی غده بورس فابرسیوس در جوجه‌های گوشتی شد. از طرف دیگر، Teo و Tan(۲۰۰۷)، گزارش کردند با مصرف پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس، وزن غده بورس فابرسیوس افزایش یافت که این مطلب با یافته‌های این تحقیق مغایرت دارد. در دستگاه گوارش، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌توانند با تحریک سیستم ایمنی برای تولید آنتی‌بادی، سبب افزایش اندازه این غده شوند (Taylor و McCorkle، ۲۰۰۹). بنابراین به‌نظر می‌رسد مکمل‌سازی اسپیرولینا و پروبیوتیک در جیره ممکن است از طریق کنترل جمعیت باکتری‌های مضر دستگاه گوارش مانع از تحریک تولید آنتی‌بادی و افزایش اندازه غده بورس فابرسیوس گردد. در صنعت پرور طیور، به‌منظور دستیابی به حداکثر جذب مواد مغذی در دستگاه گوارش باید از تشکیل کلنی باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری نمود و سطح نواحی جذب را در روده افزایش داد (Awad و همکاران، ۲۰۰۹). در طول روده کوچک، وظیفه اصلی پرزها به‌تدریج از هضم به سمت جذب مواد مغذی تغییر می‌یابد (Wang و همکاران، ۲۰۱۸). کاهش ارتفاع پرزها و افزایش عمق کریپت‌ها می‌تواند منجر به جذب ناکافی مواد مغذی و کاهش عملکرد رشد پرنده شود (Wang و همکاران، ۲۰۱۷). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که استفاده از اسپیرولینا و پروبیوتیک در جیره می‌تواند خصوصیات پرزهای روده را بهبود دهند (Li و همکاران، ۲۰۱۹؛ Tavaniello و همکاران، ۲۰۱۸). در آزمایش Jayaraman و همکاران (۲۰۱۳) مشخص شد که استفاده از پروبیوتیک باسیلوس‌سوبتیلیس طول پرز و نسبت طول پرز به نسبت عمق‌کریپت را در دئودنوم جوجه‌های گوشتی آلوده به کلستریدیوم پرفرینژنس بهبود می‌دهد. در مقابل، Li و همکاران (۲۰۱۹)، گزارش کردند که استفاده از مکمل باسیلوس سوبتیلیس طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت را در دئودنوم جوجه‌های گوشتی کاهش داد. نتایج استفاده از پروبیوتیک‌ها ممکن است تحت تأثیر عواملی شامل سویه باکتری‌ها، سلامت و آسایش پرنده، دز و روش مصرف پروبیوتیک وشرایط‌محیطی باشد (Jayaraman و همکاران، ۲۰۱۳؛ Li و همکاران، ۲۰۱۹). بخشی از اثر متقابل معنی‌دار بین میکروجلبک اسپیرولینا به‌عنوان یک پری‌بیوتیک و پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس در بهبود طول پرزها و یا نسبت طول پرز به عمق کریپت می‌تواند به‌واسطه اثر همکوشی بین این مواد افزودنی توضیح داده شود (Tavaniello و همکاران، ۲۰۱۸). علاوه بر این، بهبود ارتفاع پرزهای روده سطح بیش‌تری برای جذب مواد مغذی را فراهم می‌کند و می‌تواند باعث افزایش‌وزن‌نسبی‌بخش‌هایی‌همانند‌گوشت‌سینه‌در‌جوجه‌های گوشتی شود. افزایش عمق کریپت‌ها نشانه جایگزینی سریع‌تر سلول‌های لایه مخاطی روده جهت بازسازی ساختار پرزهای آسیب دیده است که این فرآیند با مصرف انرژی همراه خواهد بود (Haldar و همکاران، ۲۰۱۱). با این وجود، مشاهده کریپت‌های عمیق‌تر در پرندگانی که اسپیرولینا و پروبیوتیک دریافت کرده‌اند می‌تواند بدون دخالت موثر باکتری‌های بیماری‌زا و یا سموم آن‌ها، و تنها به‌دلیل نیاز به تجدید سلول‌های پرزها پس از طی روند طبیعی تخریب باشد (Potten، ۱۹۹۸).

پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق اثرات متقابل با سیستم ایمنی میزبان، فعالیت آن را تعدیل کنند. حضور باکتری‌های اسیدلاکتیکی در جیره، تولید لمفوسیت‌ها که‌مسئول تولیدآنتی‌بادی‌برای‌ایجاد ایمنی خونی هستند را تحریک می‌کند (Apata و همکاران، ۲۰۰۸). در پرندگان بالغ حدود ۱۵ تا ۴۰ درصد از کل گلبول‌های سفید خون از هتروفیل تشکیل شده است (Kabell و همکاران، ۲۰۰۶). نسبت هتروفیل به لمفوسیت شاخص مناسبی برای شناسایی تنش

در طیور است (Cotter و همکاران، ۲۰۰۸). میکروجلبک اسپیرولینا علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند همانند پروبیوتیک باسیلوس سوبتیلیس به‌واسطه خاصیت پری‌بیوتیکی از طریق کنترل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش نیاز به تحریک انرژی‌خواه سیستم ایمنی برای افزایش تولید و ترشح هتروفیل‌ها به‌درون مجرای گوارشی را کاهش دهد (Mirzaie و همکاران، ۲۰۱۸).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که استفاده از اسپیرولینا و پروبیوتیک غلظت لیپیدهای سرم و پروفایل لیپوپروتئین‌ها را از طریق کاهش کلسترول کل، تری‌گلیسیرید و LDL، و یا افزایش HDL بهبود می‌دهند (Deng و Chow، ۲۰۱۰؛ de Jesus Raposo و همکاران، ۲۰۱۶). اسپیرولینا حاوی رنگ‌دانه‌های به‌نام فیکوسیانین (نوعی پروتئین محلول در آب) است که می‌تواند در کاهش غلظت لیپیدهای سرم موثر باشد (Deng و Chow، ۲۰۱۰). با این‌حال، در این مطالعه، سطح مصرف اسپیرولینا به اندازه کافی برای ایجاد تغییرات معنی‌دار شاخص‌های لیپیدی سرم موثر نبود. بخشی از کاهش میزان کلسترول سرم در جوجه‌های گوشتی تحت تیمار پروبیوتیک می‌تواند به‌دلیل کاهش جذب و سنتز کلسترول به‌کمک باکتری‌های اسیدلاکتیکی و از طریق غیرمزدوج کردن نمک‌های صفراوی یا مهار فعالیت هیدروکسی‌متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز باشد (Shokaiyan و همکاران، ۲۰۱۹). ذرات VLDL پیش‌ساز LDL در کبد هستند و ۶۰-۵۰ درصد ساختار آن‌ها از تری‌گلیسیرید تشکیل شده است (Liong و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین به‌نظر می‌رسد که غلظت پایین تری‌گلیسرید در تیمار پروبیوتیک موجب کاهش معنی‌دار سطح LDL در سرم می‌شود. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که استفاده از اسپیرولینا و پروبیوتیک می‌تواند از بهبود کیفیت لاشه و سلامت پرندگان موثر باشد. هم‌چنین به‌واسطه اثر همکوشی مشاهده شده بین این دو نوع افزودنی، به‌نظر می‌رسد که اسپیرولینا به‌عنوان یک پری‌بیوتیک موثر می‌تواند در مخلوط با پروبیتیک‌ها به‌عنوان یک ترکیب جدید سین‌بیوتیکی سبب بهبود مورفولوژی روده شده و راندمان تولید را بهبود دهد.

منابع

۱. **Allahdo, P.; Ghodraty, J.; Zarghi, H.; Saadatfar, Z.; Kermanshahi, H. and Edalatian Dovom, M.R., 2018.** Effect of probiotic and vinegar on growth performance, meat yields, immune responses, and small intestine morphology of broiler chickens. Italian Journal of Animal Science. Vol. 17, pp: 675-685.

۲. **Apata, D.F., 2008.** Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. 88, pp: 1253-1258.

۳. **Awad, W.A.; Ghareeb, K.; Abdel-Raheem, S. and Bohm, J., 2009.** Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. Poultry science. Vol. 88, pp: 49-56.

۴. **Bai, K.; Huang, Q.; Zhang, J.; He, J.; Zhang, L. and Wang, T., 2017.** Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. Poultry science. Vol. 96, No. 1, pp: 74-82.

۵. **Beheshtipour, H.; Mortazavian, A.M.; Mohammadi, R.; Sohrabvandi, S. and Khosravi-Darani, K., 2013.** Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* Algae into probiotic fermented milks. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 12, No. 2, pp: 144-154.

۶. **Campo, J.L. and Davila, S.G., 2002.** Effect of photoperiod on heterophil to lymphocyte ratio and tonic immobility duration of chickens. Poultry science. Vol. 81, pp: 1637-1639.

۷. **Cotter, P.F., 2015.** An examination of the utility of heterophil-lymphocyte ratios in assessing stress of caged hens. Poultry science. Vol. 94, pp: 512-517.

۸. **de Jesus Raposo, M.F.; de Morais, A.M. and de Morais, R.M., 2016.** Emergent Sources of Prebiotics: Seaweeds and Microalgae. Mar Drugs. Vol. 14, 27 p.

۹. **Deng, R. and Chow, T.J., 2010.** Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae *Spirulina*. Cardiovascular therapeutics. Vol. 28, No. 4, pp: e33-e45.

۱۰. **FAO/WHO. 2001.** Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, American Córdoba Park Hotel, Córdoba, Argentina.

۱۱. **Gibson, G.R.; Hutkins, R.; Sanders, M.E.; Prescott, S.L.; Reimer, R.A.; Salminen, S.J.; Scott, K.; Stanton, C.; Swanson, K.S.; Cani, P.D.; Verbeke, K. and Reid, G., 2017.** Expert consensus document: the international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nature reviews. Gastroenterology & hepatology. Vol. 14, pp: 491-502.

۱۲. **Haldar, S.; Ghosh, T.K.; Toshiwati and Bedford, M.R., 2011.** Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and yeast protein concentrate on production performance of broiler chickens exposed to heat stress and challenged with Salmonella enteritidis. Animal Feed Science and Technology. Vol. 168, pp: 61-71.

۱۳. **Hou, T. and Tako, E., 2018.** The In Ovo Feeding Administration (*Gallus Gallus*)-An Emerging In Vivo Approach to Assess Bioactive Compounds with Potential Nutritional Benefits. Vol. 10, 418 p.

۱۴. **Jayaraman, S.; Thangavel, G.; Kurian, H.; Mani, R.; Mukkalil, R. and Chirakkal, H., 2013.** Bacillus subtilis PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. Poultry science. Vol. 92, pp: 370-374.

۱۵. **Kabell, S.; Igyarto, B.Z.; Magyar, A.; Hajdu, Z.; Biro, E.; Bisgaard, M. and Olah, I., 2006.** Impact of heterophil granulocyte depletion caused by 5-fluorouracil on infectious bursal disease virus infection in specific pathogen free chickens. Avian pathology : journal of the W.V.P.A. Vol. 35, pp: 341-348.

۱۶. **Khatibjoo, A.; Mahmoodi, M.; Fattahnia, F.; Akbari-Gharaei, M.; Shokri, A.N. and Soltani, S., 2018.** Effects of dietary short- and medium-chain fatty acids on performance, carcass traits, jejunum morphology, and serum parameters of

broiler chickens. Journal of Applied Animal Research. Vol. 46, pp: 492-498.

۱۷. **Kordowska-Wiater, M.; Wasko, A.; Polak-Berecka, M.; Kubik-Komar, A. and Targonski, Z., 2011** .Spirulina enhances the viability of *Lactobacillus rhamnosus* E/N after freeze-drying in a protective medium of sucrose and lactulose. Letters in applied microbiology. Vol. 53, pp: 79-83.

۱۸. **Li, C.l.; Wang, J.; Zhang, H.j.; Wu, S.G.; Hui, Q.R.; Yang, C.B.; Fang, R.j. and Qi, G.H., 2019.** Intestinal Morphologic and Microbiota Responses to Dietary *Bacillus* spp. in a Broiler Chicken Model. Frontiers in Physiology. Vol. 9, 1968 p.

۱۹. **Liong, M.T.; Dunshea, F.R. and Shah, N.P., 2007.** Effects of a synbiotic containing *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4962 on plasma lipid profiles and morphology of erythrocytes in hypercholesterolaemic pigs on high and low fat diets. The British journal of nutrition. Vol. 98, pp: 736-744.

۲۰. **Mehdi, Y.; Létourneau-Montminy, M.P.; Gaucher, M.L.; Chorfi, Y.; Suresh, G.; Rouissi, T.; Brar, S.K.; Côté, C.; Ramirez, A.A. and Godbout, S., 2018.** Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. Animal Nutrition. Vol. 4, pp: 170-178.

۲۱. **Mirzaie, S. and Zirak-Khattab, F., 2018.** Effects of dietary Spirulina on antioxidant status, lipid profile, immune response and performance characteristics of broiler chickens reared under high ambient temperature. Vol. 31, pp: 556-563.

۲۲. **Neyrinck, A.M.; Taminiau, B.; Walgrave, H.; Daube, G.; Cani, P.D.; Bindels, L.B. and Delzenne, N.M., 2017.** Spirulina protects against hepatic inflammation in aging: an effect related to the modulation of the gut microbiota. Nutrients. Vol. 9, 633 p.

۲۳. **Niccolai, A.; Shannon, E.; Abu-Ghannam, N.; Biondi, N.; Rodolfi, L. and Tredici, M.R., 2019.** Lactic acid fermentation of *Arthrospira platensis* (Spirulina) biomass for probiotic-based products. Journal of Applied Phycology. Vol. 31, pp: 1077-1083.

۲۴. **Palamidi, I.; Fegeros, K.; Mohnl, M.; Abdelrahman, W.H.; Schatzmayr, G.; Theodoropoulos, G. and Mountzouris, K.C., 2016.** Probiotic form effects on growth performance, digestive function, and immune related biomarkers in broilers. Poultry science. Vol. 95, pp: 1598-1616.

۲۵. **Park, J.H.; Lee, S.I. and 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. Vol. 97, pp: 2451-2459.

۲۶. **Park, S.H.; Lee, S.I.; Kim, S.A.; Christensen, K. and Ricke, S.C., 2017.** Comparison of antibiotic supplementation versus a yeast-based prebiotic on the cecal microbiome of commercial broilers. PLoS One. Vol. 12, pp: e0182805.

۲۷. **Potten, C.S., 1998.** Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics & death. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Vol. 353, pp: 821-830.

۲۸. **SAS. 2009.** User's Guide: Statistics, Version 9.2. SAS Inst. Inc., Cary, NC,US.

۲۹. **Seo, Y.J.; Kim, K.J.; Choi, J.; Koh, E.J. and Lee, B.Y., 2018.** *Spirulina maxima* Extract Reduces Obesity through Suppression of Adipogenesis and Activation of Browning in 3T3-L1 Cells and High-Fat Diet-Induced Obese Mice .Nutrients. Vol. 10, 712 p.

۳۰. **Shokaiyan, M.; Ashayerizadeh, O.; Shams Shargh, M. and Dastar, B., 2019.** Algal Crude fucoidan alone or with *bacillus subtilis* DSM 17299 in broiler chickens diet: growth performance, carcass characteristics, blood metabolites, and morphology of intestine. Poultry Science Journal. Vol. 7, pp: 87-94.

۳۱. **ŚWiĄTkiewicz, S.; Arczewska-WŁOsek, A. and JÓZefiak, D., 2015.** Application of microalgae biomass in poultry nutrition. World's Poultry Science Journal. Vol. 71, pp: 663-672.

۳۲. **Tavaniello, S.; Maiorano, G.; Mucci, R.; Bogucka, J.; Stadnicka, K. and Bednarczyk, M., 2018.** Prebiotics offered to broiler chicken exert positive effect on meat quality traits irrespective of delivery route. Poultry science. Vol. 97, pp: 2979-2987.

۳۳. **Tavernari, F.C.; Roza, L.F.; Surek, D.; Sordi, C. and Silva, M., 2018.** Apparent metabolisable energy and amino acid digestibility of microalgae *Spirulina platensis* as an ingredient in broiler chicken diets. Vol. 59, pp: 562-567.

۳۴. **Taylor, R.L. and McCorkle, F.M., 2009.** A landmark contribution to poultry science-Immunological function of the bursa of Fabricius. Poultry science. Vol. 88, pp: 816-823.

۳۵. **Teo, A.Y. and Tan, H.M., 2007.** Evaluation of the Performance and Intestinal Gut Microflora of Broilers Fed on Corn-Soy Diets Supplemented With *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT)1. The Journal of Applied Poultry Research. Vol. 16, pp: 296-303.

۳۶. **Voltarelli, F.A. and de Mello, M.A., 2008.** *Spirulina* enhanced the skeletal muscle protein in growing rats. European journal of nutrition. Vol. 47, pp: 393-400.

۳۷. **Wang, S.; Peng, Q.; Jia, H.M.; Zeng, X.F.; Zhu, J.L.; Hou, C.L.; Liu, X.T.; Yang, F.J. and Qiao, S.Y., 2017.** Prevention of *Escherichia coli* infection in broiler chickens with *Lactobacillus plantarum* B1. Poultry science. Vol. 96, pp: 2576-2586.

۳۸. **Wang, X.; Farnell, Y.Z.; Peebles, E.D.; Kiess, A.S.; Wamsley, K.G.S. and Zhai, W., 2016.** Effects of prebiotics, probiotics, and their combination on growth performance, small intestine morphology, and resident *lactobacillus* of male broilers. Poultry science. Vol. 95, pp: 1332-1340.

۳۹. **Wang, X.; Kiess, A.S.; Peebles, E.D.; Wamsley, K.G.S. and Zhai, W., 2018.** Effects of *Bacillus subtilis* and zinc on the growth performance, internal organ development, and intestinal morphology of male broilers with or without subclinical coccidia challenge. Poultry science. Vol. 97, pp: 3947-3956.

۴۰. **Zentek, J.; Hall, E.J.; German, A.; Haverson, K.; Bailey, M.; Rolfe, V.; Butterwick, R. and Day, M.J., 2002.** Morphology and immunopathology of the small and large intestine in dogs with nonspecific dietary sensitivity. The Journal of nutrition. Vol. 132, pp: 1652s-1654s.