Research on Animal Production, Vol. 15, Issue 3, 2024 p: 42-52

Research Paper

Hematological and Biochemical Parameters in Aged Cobb 500 Broiler Breeder Roosters Fed Dried Pomegranate Peels

Mostafa Mohammadi Mahmoudabad[1], Mohmmad Reza Jafarzadeh Shirazi[2], Amir Akhlaghi[3] and Mohammad Javad Zamiri[4]

1- M.Sc., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran, (Corresponding author: mjafarzd@shirazu.ac.ir)
3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
4- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 22 February, 2024 Accepted: 13 May, 2024

Extended Abstract

Background: Benefiting from agricultural and garden residues is an efficient management tool to improve productivity in supplying protein needed by humans from animal sources (livestock and poultry). One of these residues is the waste resulting from harvesting and consumption of pomegranate fruits, one of the most important garden products in Iran. The peel and pomace of this fruit make up to 45% of its weight. Pomegranate is a fruit with high antioxidant properties that plays an important role in dealing with oxidative stress and can probably affect the hematological and biochemical blood parameters of living organisms. Therefore, this research aimed to investigate the blood parameters of old broilers fed with pomegranate peel to identify the possible adverse effects of this residue on hematological and biochemical parameters.

Methods: This research was conducted in the Faculty of Agriculture, Shiraz University, located 15 km northeast of Shiraz. Thirty-six 64-week-old roosters (Cob 500 strain) were assigned to three treatments in a completely random design, each with nine replicates of four birds. The experimental treatments included a T0 base diet without pomegranate peel and T10 and T20 diets with 10% and 20% pomegranate peel, respectively. To adapt to the experimental treatments, the roosters were fed experimental diets for 6 weeks, and blood samples were taken weekly from the brachial vein to examine blood hematological and biochemical parameters, including total number of white and red blood cells (WBC & RBC, resp.), WBC differential count (lymphocytes, monocytes, heterophils, and eosinophils), total protein concentration, albumin, total cholesterol, HDL (high-density lipoprotein), LDL (low-density lipoprotein), VLDL (very low-density lipoprotein), triglyceride, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase(AST), glucose, urea, and phosphorus. Data were analyzed with SAS software. This research was done in a completely randomized design, and the data were analyzed with a mixed procedure. The least squares means of the treatments, after correction for multiple comparisons based on Tukey's test, were compared at a significance level of 5%.

Results: The main effect of experimental treatments was not significant on all the hematological parameters, and the main effect of time was significant only for monocytes ($P < 0.05$). The interaction of diet and time was significant only for the total number of RBCs ($P < 0.05$) and monocytes ($P < 0.05$). The main effect of the diet was decreasing on the concentrations of total cholesterol, LDL, and triglycerides while it was increasing on the concentration of HDL, glucose, alkaline phosphatase (ALP), and phosphorus. The effect of time was significant on the concentrations of total protein, total cholesterol, ALT, AST, and phosphorus. The interaction of diet and time significantly affected total cholesterol, ALP, AST, and phosphorus ($P < 0.05$). The analysis of variance showed the effect of diet, time, and the interaction of diet and time on the hematological parameters of Cobb 500 broilers fed with pomegranate peel powder. The effect of diet was not significant on all the hematological parameters. The effect of time was significant only on the percentage of monocytes ($P < 0.05$). The interaction of diet and time was significant on the total number of RBCs and the percentage of blood monocytes ($P < 0.05$). Weekly changes in the percentage of monocytes showed that the trend of changes during the experiment was increasing in the groups that received a high level of pomegranate peel powder (T20). From the second to the fifth weeks, the group in the T10 treatment showed a sharp decrease in the percentage of blood monocytes. Pomegranate peel powder feeding was associated with changes in blood concentrations of some biochemical

Copyright ©2024 Mohammadi Mahmoudabad et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited

parameters. Blood cholesterol concentration decreased in birds of the T20 and T10 groups. LDL and triglyceride concentrations decreased in birds fed with pomegranate peel powder at both feeding levels. In contrast, the concentrations of HDL, ALP, glucose, and phosphorus increased in these birds. The interaction effect of time and diet was also significant on the concentrations of cholesterol, ALP, phosphorus, and AST. Among the hematological parameters in birds fed with pomegranate peel powder, the percentage of monocytes was affected by time and the interaction of diet and time. Moreover, the total number of RBCs was affected by the interaction of diet and time.

Conclusion: Despite the significant differences in some of the mentioned parameters (monocytes, total number of RBCs, concentrations of total cholesterol, LDL, triglyceride, HDL, glucose, ALP, total protein, AIT, AST, and phosphorus) during the six-week period of pomegranate peel powder feeding in old broiler Cobb-500 chickens, the fluctuation range was in the normal physiological range. Therefore, pomegranate peel feeding at the tested levels (0, 10, and 20) was not associated with obvious damage to the general health and biochemical profile of birds. According to the findings of this research, it can be concluded that, although the nutrition of pomegranate peel powder could influence a number of blood parameters during the six-week feeding period, the fluctuation was within the normal physiological range despite the difference in the mentioned parameters. Therefore, pomegranate peel feeding at the levels used here was not associated with obvious damage to the general health and clinical profile of birds.

Keywords: Alkaline Phosphatase, Blood Biochemistry, Blood Cells, Breeder Roosters, Cobb-500, Pomegranate Peel, White Blood Cells

How to Cite This Article: Mohammadi Mahmoudabad, M., Jafarzadeh Shirazi, M. R., Akhlaghi, A., & Zamiri, M. J. (2024). Hematological and Biochemical Parameters in Aged Cobb 500 Broiler Breeder Roosters Fed Dried Pomegranate Peels. *Res Anim Prod,* 15(3), 42-52. DOI: 10.61186/rap.15.3.42

مقاله پژوهشی

فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی خروس‌های مولد گوشتی مسن سویه کاب ۵۰۰ تغذیه‌شده با پودر پوست انار

مصطفی محمدی محمودآباد[۱]، محمدرضا جعفرزاده شیرازی[۲]، امیر اخلاقی[۳] و محمدجواد ضمیری[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۲- استاد، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران، (نویسنده مسوول: mjafarzd@shirazu.ac.ir)
۳- استاد، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
۴- استاد، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۴
صفحه: ۴۲ تا ۵۲

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: بهره‌مندی از پسماندهای زراعی و باغی، از ابزارهای مدیریتی کارآمد با هدف بهبود بهره‌وری در تأمین پروتئین مورد نیاز انسان از منابع حیوانی (دام و طیور) است. یکی از این موارد، پسماند حاصل از برداشت و مصرف میوه انار است. انار یکی از تولیدات مهم باغی در ایران است که پوسته و تفاله آن تا ۴۵ درصد وزن میوه را تشکیل می‌دهد. انار میوه‌ای با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاست که نقش مهمی در مقابله با تنش‌های اکسیداتیو دارد و احتمالاً می‌تواند بر فراسنجه‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون موجودات زنده تاثیرگذار باشد. بنابراین، هدف از انجام این پژوهش بررسی فراسنجه‌های خونی خروس‌های مولد گوشتی مسن تغذیه‌شده با پوست انار برای شناسایی آثار ناپسند احتمالی این پسماند بر فراسنجه‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون بود.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، واقع در ۱۵ کیلومتری شمال‌شرق شیراز انجام شد. تعداد سی و شش قطعه خروس ۶۴ هفته‌ای (سویه کاب ۵۰۰) به شیوه کاملاً تصادفی به سه تیمار اختصاص داده شدند که هریک نه تکرار چهارتایی را در بر می‌گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه T_0 بدون پوست انار و جیره‌های T_{10}و T_{20} به‌ترتیب دارای ۱۰ و۲۰ درصد پوست انار بود. به‌منظور عادت‌دهی به تیمارهای آزمایشی، خروس‌ها به‌مدت شش هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند و نمونه‌های خون به‌صورت هفتگی از سیاهرگ براکیال گرفته شد تا بررسی فراسنجه‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون شامل شمار کل گلبول‌های سفید، شمار کل گلبول‌های قرمز، شمارش تفریقی گلبول‌های سفید (لیمفوسایت، مونوسایت، هتروفیل و ائوزینوفیل)، غلظت پروتین تام، آلبومین، کلسترول کل، HDL (لیپوپروتین با چگالی بالا)، LDL (لیپوپروتین با چگالی پایین) VLDL (لیپوپروتین با چگالی بسیار پایین)، تری‌گلیسرید، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، گلوکز، اوره و فسفر انجام شود. واکاوی داده‌ها، با نرم‌افزار SAS انجام شد این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و داده‌ها، با رویه Mixed واکاوی شد. میانگین کم‌ترین مربعات تیمارها پس از تصحیح برای مقایسه‌های چندگانه بر اساس آزمون توکی، در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که اثر اصلی تیمارهای آزمایشی بر هیچ‌یک از فراسنجه‌های هماتولوژیک معنی‌دار نبود و اثر اصلی زمان فقط در مورد مونوسایت معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). برهم‌کنش جیره و زمان تنها بر شمار کل گلبول‌های قرمز خون ($p<۰/۰۵$) و مونوسایت معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). اثر اصلی جیره بر غلظت کلسترول کل، LDL و تری گلیسرید، کاهشی و بر غلظت HDL، گلوکز، آلکالین فسفاتاز و فسفر افزایشی بود. اثر زمان بر غلظت پروتین تام، کلسترول کل، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و فسفر معنی‌دار بود. برهم‌کنش جیره و زمان بر فراسنجه‌های کلسترول کل، آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و فسفر اثر معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). چکیده آنالیز واریانس اثر جیره، زمان و برهم‌کنش جیره و زمان‌بر فراسنجه‌های هماتولوژیک خروس‌های مولد گوشتی سویه کاب ۵۰۰ تغذیه‌شده با پودر پوست انار نشان داد. اثر جیره بر هیچ‌یک از فراسنجه‌های هماتولوژیک معنی‌دار نبود. اثر زمان تنها بر درصد مونوسایت‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). برهم‌کنش جیره و زمان بر شمار کل گلبول‌های قرمز و درصد مونوسایت‌ها خون معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). تغییرات هفتگی درصد مونوسایت‌ها نشان داد که روند تغییرات در خلال آزمایش، در گروه‌هایی که سطح بالای پودر پوست انار (T_{20}) را دریافت کردند، افزایشی بود. از هفته دوم تا پنجم، گروهی که تیمار T_{10} را دریافت کردند، روند کاهشی شدیدی را در درصد مونوسایت خون نشان دادند. در پژوهش کنونی، تغذیه پودر پوست انار با تغییر غلظت‌های خونی برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی همراه بود. غلظت کلسترول خون در پرندگان گروه‌های T_{20} و T_{10} کاهش یافت. غلظت LDL و تری‌گلیسرید در پرندگان تغذیه‌شده با پودر پوست انار در هر دو سطح تغذیه‌ای کاهش یافت. در برابر، غلظت HDL، آلکالین فسفاتاز، گلوکز، فسفر، در این پرندگان افزایش یافت. اثر برهم‌کنش زمان و جیره بر غلظت کلسترول، آلکالین فسفاتاز، فسفر و آسپارتات آمینوترانسفراز نیز معنی‌دار بود. از فراسنجه‌های هماتولوژیک در پرندگان تغذیه شده با پودر پوست انار، درصد مونوسایت‌ها از زمان و برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر پذیرفت. هم‌چنین شمار کل گلبول‌های قرمز از برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر پذیرفت. رکوردهای هفتگی درصد مونوسایت‌ها نشان داد که روند تغییرات در طی آزمایش در گروه‌هایی که سطح بالایی پودر پوست انار (T_{20}) را دریافت کردند، افزایشی بود.

نتیجه‌گیری: با وجود تفاوت معنی‌دار در برخی فراسنجه‌های ذکر شده (مونوسایت‌ها، شمار کل گلبول‌های قرمز خون، غلظت کلسترول کل، LDL، تری گلیسرید، HDL، گلوکز، آلکالین فسفاتاز، پروتین تام، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و فسفر) طی شش هفته دوره مصرف پودر پوست انار در خروس‌های مولد گوشتی مسن سویه کاب-۵۰۰، دامنه نوسانات در محدوده نرمال فیزیولوژیک قرار داشت. از این‌رو مصرف پوست انار در سطوح به‌کار رفته (۰، ۱۰، ۲۰)، با آسیب آشکاری بر سلامت عمومی و پروفایل بیوشیمیایی پرندگان همراه نبود. در نتیجه با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان گفت اگرچه تغذیه پودر پوست انار برشماری از فراسنجه‌های خونی در طی شش هفته دوره مصرف تاثیرگذار بود، با وجود تفاوت در فراسنجه‌های ذکر شده، دامنه نوسانات در محدوده نرمال فیزیولوژیک قرار داشت. از این‌رو مصرف پوست انار در سطوح به‌کار رفته، با آسیب آشکاری بر سلامت عمومی و پروفایل بالینی پرندگان همراه نبود.

واژه های کلیدی: آلکالین فسفاتاز، بیوشیمی خون، پوست انار، خروس مولد، سلول‌های خون، سویه کاب ۵۰۰، گلبول سفید

مقدمه

بهره‌مندی از پسماندهای زراعی و باغی در پرورش طیور، از ابزارهای مدیریتی کارآمد در جهت تأمین پروتئین مورد نیاز انسان است. از عوامل محدود کننده مصرف این پسماندها می‌توان به کیفیت پایین پسماند تولیدی، آثار منفی بر سلامتی پرندگان در دوره‌های دراز مدت مصرف، کاهش نرخ باروری و

عملکرد تولیدی، کاهش فعالیت‌های پروتئولایتیک و در پی آن کاهش میزان هضم پروتین به‌علت وجود تانن زیاد در جیره غذایی اشاره کرد (Oliveira *et al.*, 2010). گوارش‌پذیری کم پروتین، کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و هایپرتروفی پانکراس، در پرندگان تغذیه‌شده با رژیم‌های غذایی با تانن بالا گزارش شده است (Yuste *et al.*, 1992) تانن بالا در خوراک، عاملی برای مهار فعالیت تریپسین در جوجه‌های گوشتی است و هایپرتروفی پانکراس در پرندگان تغذیه نموده از جیره‌هایی با تانن زیاد به‌عنوان یک پاسخ سازگاری به‌وجود تانن در دستگاه گوارش و مهار فعالیت تریپسین توسط تانن‌ها در نظر گرفته می‌شود (Mahmood *et al.*, 2006). کاهش هایپرتروفی پانکراس و بهبود فعالیت کیموتریپسین و تریپسین را می‌توان به تراکم کمتر تانن در روده نسبت داد (Prost & Belleville, 1991).

انار یکی از تولیدات مهم باغی در ایران است که پوسته و تفاله آن تا ۴۵ درصد وزن میوه را تشکیل می‌دهد. پوست انار ویژگی آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی دارد (Navarro *et al.*, 1996). که می‌تواند در صنعت پرورش ماکیان بسیار سودمند باشد. پوست انار سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنلی مانند گالیک اسید، الاجیک اسید، پونیکالین، پونیکالاجین و فلاوانول است (Santhini *et al.*, 2011). پونیکالاجین آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی با گنجایش بسیار بالا در از بین بردن رادیکال‌های آزاد است که حدود ۵۰ درصد از ویژگی آنتی‌اکسیدانی آب انار را شامل می‌شود (Gil *et al.*, 2000). از سوی دیگر، وجود ترکیبات فنلی ضدتغذیه‌ای مانند تانن متراکم در تفاله انار (Yáñez-Ruiz & Molina-Alcaide, 2007) می‌تواند سبب آسیب دیدن جگر، کلیه‌ها و دستگاه گوارش شود. افزون براین، فیبر بالای موجود در پوست انار با داشتن اثرات منفی بر هضم و جذب مواد خوراکی، به‌عنوان یک عامل ضدتغذیه‌ای عمل می‌کند و به‌نظر می‌رسد که این اثر ضدتغذیه‌ای در ماکیان بسیار مهم‌تر باشد (Fernandez *et al.*, 1986).

پژوهش کنونی بر این فرض استوار است که باوجود ویژگی‌های مطلوب بیوشیمیایی که ممکن است در پوست انار وجود داشته باشد، وجود عوامل ضدتغذیه‌ای در آن می‌تواند با بروز آثار ناپسندی بر سلامت و پروفایل بالینی خروس‌های مولد گوشتی به‌ویژه در سن بالا همراه باشد. تا جایی‌که می‌دانیم آثار مصرف پوست انار بر شاخص‌های سلامت خروس‌های مولد گزارش نشده است. ازاین‌رو، آثار مصرف سطوح بالای پودر پوست انار (۱۰ و ۲۰ درصد) بر فراسنجه‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون خروس‌های مولد سویه کاب ۵۰۰ بررسی شدند. از آن‌جاکه از یک سو، مقدار تولید سالانه انار در ایران شایان توجه است و از سوی دیگر نقش پرنده نر در باروری و عملکرد تولیدی گله‌های مرغ‌های مادر گوشتی، به‌ویژه در گامه‌های پایانی دوره تولید، انکارناشدنی است، یافته‌های پژوهش کنونی می‌تواند داده‌های ارزشمندی را در حوزه صنعت پرورش مرغ‌های مادر گوشتی فراهم آورد. فزون‌براین، ازآنجاکه مصرف خوراک گله در سنین بالا بیش‌تر می‌شود و می‌تواند سبب کاهش عملکرد تولیدی گله شود، استفاده از پوست انار به‌عنوان یک رقیق‌کننده خوراک نیز می‌تواند سودمند باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، واقع در ۱۵ کیلومتری شمال‌شرق شیراز انجام شد. پوست انار در سینی‌های ویژه دستگاه خشک‌کن کابینتی (Proctor & Schwarts، آمریکا) در دمای ۴۵ درجه سلسیوس خشک شد. ماده خشک (۹۶/۲)، ماده آلی (۹۴/۲) پروتئین خام (۳/۶)، چربی خام (۰/۶۱)، فیبر خام (۲۳/۴)، خاکستر خام (۵/۴)، NFE (۶۶/۹۹) و NDF (۴۴/۲۹) از اجزای اصلی ترکیب شیمیایی پودر پوست انار (٪) بود. سی و شش قطعه خروس مولد سویه کاب ۵۰۰ (با سن ۶۴ هفته) پس از گزینش تصادفی از جمعیت خروس‌های مجتمع طیور فارس (شیراز، ایران) و سپری شدن دو هفته سازش‌پذیری به شرایط پرورشی، در قفس‌های دو طبقه‌ای انفرادی و شرایط برنامه نوری ۱۵ ساعت روشنایی، ۹ ساعت تاریکی قرار داده شدند. خروس‌ها به‌شیوه تصادفی به نه تکرار چهارتایی تقسیم شدند و به هر تیمار سه تکرار اختصاص داده شد. تیمارها در بردارنده گروه کنترل تغذیه شده با جیره پایه بدون پودر پوست انار (T0) و جیره‌های T10 و T20 بودند که به‌ترتیب ۱۰ و ۲۰ درصد پودر پوسته انار دارا بودند. تمامی خروس‌ها با جیره آردی تغذیه شدند. جیره‌های آزمایشی ایزوکالریک و ایزونیتروژنوس بودند. در دوره شش هفته‌ای آزمایش آب، به‌صورت آزاد و خوراک (جدول ۱) به‌شکل محدود (NRC, 1994) در اختیار پرندگان قرار گرفت.

وزن‌کشی خروس‌ها به‌شیوه انفرادی برای همه خروس‌ها هر هفته یک بار انجام شد. پیش از اعمال تیمارهای آزمایشی (هفته ۶۴) و سپس هر هفته یک بار، از همه خروس‌ها نمونه‌های خون از سیاهرگ براکیال با سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتر در لوله‌های دارای ماده ضدلخته EDTA تهیه شد. نمونه‌های خون هر پرنده به دو بخش تقسیم شدند، که یکی برای بررسی‌های هماتولوژیک و دیگری برای بررسی‌های بیوشیمیایی خون به‌کار رفت. نمونه‌های خونی مربوط به ارزیابی‌های بیوشیمیایی خون سانتریفیوژ شدند (۱۸۰۰ × g در دقیقه، ۱۵دقیقه) و پلاسمای به‌دست‌آمده تا زمان بررسی در لوله‌های اپندورف درب‌دار در دمای ۲۰- درجه سلسیوس یخ‌زده شدند. برای شمارش گلبول‌های خون از روش نات –هریک استفاده شد که در آن نمونه‌ای از خون کامل به‌نسبت یک به ۲۰ (برای گلبول‌های سفید) و یک به ۲۰۰ (برای گلبول‌های قرمز) در پیپت ملانژور، رقیق و سپس با کمک لام هیموسایتومتر و میکروسکوپ نوری (OLYMPUS CX21؛ ژاپن) با بزرگنمایی ۴۰۰ بررسی شد (Campbell & Coles, 1986).

برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، از رنگ‌آمیزی گیمسا و تهیه گستره‌های خونی استفاده شد (Keshavarz *et al.*, 2019). غلظت خونی تری‌گلیسرید، کلسترول تام، لیپوپروتئین با چگالی کم لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم، لیپوپروتئین با چگالی بالا، پروتئین تام، آلبومین، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، فسفر

و گلوکز با کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون (تهران، ایران؛ جدول ۲) و اسپکتروفتومتر (Unico، چین) سنجش شدند (Butler & Laqua, 1995). با توجه به گوناگونی دامنه‌های غلظتی پرندگان در مقایسه با پستانداران، در آغاز هریک از کیت‌ها برای سنجش، با کمک رقیق‌سازی سریالی و رسم منحنی‌های استاندارد، اعتبارسنجی شدند تا داده‌های به‌دست‌آمده از روایی برخوردار شوند.

جدول ۱- اجزای جیره‌های آزمایشی خروس‌های مولد گوشتی مسن سویه کاب ۵۰۰ تغذیه شده با پودر پوست
Table 1. Ingredients and chemical composition of the pomegranate peel powder-fed aged Cobb 500 broiler breeder roosters

اجزا (٪) Ingredients composition(%)	جیره پایه (کنترل-T_0) Basic diet (Control)	جیره دارای ۱۰ درصد پوست انار (T_{10}) Diet with 10% pomegranate peel powder	جیره دارای ۲۰ درصد پوست انار (T_{20}) Diet with 20% pomegranate peel powder
دانه ذرت Corn grain	46.5	43.4	40.5
دانه گندم Wheat grain	25.00	25.00	25.00
کنجاله سویا Soybean meal	6.7	9	12
پودر پوست انار Pomegranate peel powder	0	10	20
سبوس گندم Wheat bran	18.4	9.2	0
دی- ال متیونین D-L-Methionine	0.028	0.033	0.37
ال- ترئونین L-Threonine	0.042	0.042	0.037
دی کلسیم فسفات Calcium phosphate (Di-)	1.67	1.8	0.95
کربنات کلسیم Calcium Carbonate	1.15	1.035	1
نمک Salt	0.2	0.2	0.2
بی‌کربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.11	0.09	0.076
مکمل ویتامینی[1] Mineral supplement[1]	0.1	0.1	0.1
مکمل معدنی[2] Vitamin supplement[2]	0.1	0.1	0.1
کل Total	100	100	100

[1] در هر کیلوگرم، ویتامین A: ۶/۳ گرم، ویتامینB_1: ۳۶/۰ گرم، ویتامین B_2: ۶۵/۱ گرم، ویتامین B_3: ۲ گرم، ویتامین B_6: ۶/۰ گرم، ویتامین B_{12}: ۳ گرم، ویتامین D_3: ۸/۰ گرم، ویتامین E: ۲/۷ گرم، ویتامین K_3: ۸/۰ گرم.
[2] در هر کیلوگرم، کلراید کولین: ۲۰۰ گرم، سولفات آهن: ۵۰ گرم، اکسید منگنز: ۳۲ گرم، آنتی‌اکسیدان: ۲۰ گرم، سولفات مس: ۸ گرم.
[1] Contained per kilogram of the supplement: 6.3 g of vitamin A, 36.0 g of vitamin B_1, 65.1 g of vitamin B_2, 2 g of vitamin B_3, 6 g of vitamin B_6, 3 g of vitamin B_{12}, 8.0 g of vitamin D_3, 2.7 g of vitamin E, 8.0 g of vitamin K_3.
[2] Contained per kilogram of the supplement: 200 g of Choline chloride, 50 g of $FeSo_4$, 32 g of MnO, 20 g of Antioxidant, 8.0 g of $CuSo_4$.

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و داده‌ها، با رویه Mixed واکاوی شدند (SAS, 2002). داده‌هایی که نرمال نبودند پس از تبدیل به SQRT (تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی کم و لیپوپروتین با چگالی خیلی‌کم) یا Arcsin (x) (درصد گلبول‌های سفید) نرمال شدند. میانگین کم‌ترین مربعات تیمارها پس از تصحیح برای مقایسه‌های چندگانه براساس آزمون توکی، در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند. به‌علت تأثیرپذیری برخی از داده‌ها از تغییرات وزن بدن، وزن بدن به‌عنوان متغیر همراه در مدل آماری گنجانده شد.

نتایج و بحث

چکیده آنالیز واریانس اثر جیره، زمان و برهم‌کنش جیره و زمان بر فراسنجه‌های هماتولوژیک خروس‌های مولد گوشتی سویه کاب ۵۰۰ تغذیه‌شده با پودر پوست انار در جدول ۳ آمده است. اثر جیره بر هیچ‌یک از فراسنجه‌های هماتولوژیک معنی‌دار نبود. اثر زمان تنها بر درصد مونوسایت‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). برهم‌کنش جیره و زمان بر شمار کل گلبول‌های قرمز و درصد مونوسایت‌ها خون معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). تغییرات هفتگی درصد مونوسایت‌ها نشان داد که روند تغییرات در خلال آزمایش، در گروه‌هایی که سطح بالای پودر پوست انار (T_{20}) را دریافت کردند، افزایشی بود. از هفته دوم تا پنجم، گروهی که تیمار T_{10} را دریافت کردند، روند کاهشی شدیدی را در درصد مونوسایت خون نشان دادند. در پژوهش کنونی، تغذیه پودر پوست انار با تغییر غلظت‌های خونی برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی همراه بود. غلظت کلسترول خون در پرندگان گروه‌های T_{20} و T_{10}کاهش یافت. غلظت LDL و تری‌گلیسرید در پرندگان تغذیه‌شده با پودر پوست انار در هر دو سطح تغذیه‌ای کاهش یافت. در برابر، غلظت HDL، آلکالین فسفاتاز، گلوکز، فسفر، در این پرندگان افزایش یافت. اثر برهم‌کنش زمان و جیره بر غلظت کلسترول، آلکالین فسفاتاز، فسفر و آسپارتات آمینوترانسفراز نیز معنی‌دار بود. از فراسنجه‌های هماتولوژیک در پرندگان تغذیه شده با پودر پوست انار، درصد مونوسایت‌ها از زمان و برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر پذیرفت. هم‌چنین شمار کل گلبول‌های قرمز از برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر پذیرفت. رکوردهای هفتگی درصد مونوسایت‌ها نشان داد که روند تغییرات در طی آزمایش در گروه‌هایی که سطح بالایی پودر پوست انار (T_{20}) را دریافت کردند، افزایشی بود. در عین‌حال شایان ذکر است که اعداد گزارش شده در پژوهش کنونی در محدوده دامنه نوسانات نرمال فیزیولوژیک قرار داشت و به سطوح پاتولوژیک نرسید (Thomas, 1998).

شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول‌های سفید و قرمز یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی است که نوسان در شمار آن می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ به تنش باشد (Stoskopf, 1993). پژوهش‌ها نشان داده‌اندکه عوامل متعددی نظیر سطح ایمنی، سن، نوع تغذیه و حتی نژاد میزبان و نیز حضور عفونت‌های همزمان دیگر، در چگونگی بروز بیماری اثرگذار هستند (Adam, 2001). پوست انار، سرشار از آنتی‌اکسیدان‌هایی هم‌چون فلاونوئیدها است. بیان MCP-1 یا پروتئین جاذب شیمیایی مونوسایت‌ها که توسط اینترلوکین یک القا می‌شود تحت‌تأثیر فلاونوئیدها متوقف می‌شود (Pignatelli et al., 2000). به‌نظر می‌رسد که پوست انار می‌تواند به‌علت داشتن ترکیبات فلاونوییدی که ویژگی آنتی‌اکسیدانی نیز دارند، سبب افزایش درصد مونوسایت‌ها شده باشد. البته شایان ذکر است که با توجه به برهم کنش جیره و زمان، دست کم بایستی دو هفته از مصرف این پودر بگذرد تا نخستین آثار آن بر درصد مونوسایت‌های خون پدیدار شود.

تغییرات هفتگی شمار کل گلبول قرمز نشان داد که روند تغییرات در خلال آزمایش، در گروه‌هایی که سطوح بالای پودر پوست انار (T_{20}) را دریافت کردند، افزایشی بود. در حالی‌که دیگر گروه‌های آزمایشی، روندی کاهشی با شیبی کند را داشتند. چکیده آنالیز واریانس اثر جیره، زمان و برهم‌کنش جیره و زمان بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خروس‌های مسن مولد گوشتی سویه کاب ۵۰۰ تغذیه شده با پودر پوست انار در جدول ۴ آمده است. غلظت‌های خونی کلسترول کل، HDL، LDL، تری گلیسرید، گلوکز، فسفر و آلکالین فسفاتاز از تغذیه با پودر پوست انار تأثیر پذیرفتند. غلظت آلبومین، اوره و VLDL خون پرندگان آزمایشی از هیچ‌یک از آثار جیره، زمان و برهم‌کنش جیره و زمان تاثیر معنی‌داری نپذیرفتند. غلظت پروتین تام، تنها تحت‌تأثیر اثر اصلی زمان قرار گرفت ($p<۰/۰۰۰۱$). بیشینه غلظت پروتین تام در هفته پنجم (۴/۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و کمینه آن در هفته‌های اول، دوم و ششم دیده شد.

یافته‌های مربوط به شمار کل گلبول‌های قرمز نشان داد که روند تغییرات در طی آزمایش در گروه‌هایی که سطح بالای پودر پوست انار (T_{20}) را دریافت کردند، افزایشی بود. از هفته نخست تا ششم، خروس‌های گروه T_3، روندی افزایشی و گروه‌هایی که جیره کنترل دریافت کردند، روندی کاهشی را در شمار کل گلبول قرمز خون نشان دادند. افزون بر این، در هفته سوم، گروه T_3کاهش معنی‌داری را نسبت به دو گروه آزمایشی دیگر از خود نشان داد. با توجه به یافته‌ها، این تفاوت را می‌توان به غلظت HDL خون نسبت داد، چراکه در این گروه غلظت HDL نیز از بقیه گروه‌ها بیش‌تر بود. پاراکسوناز (PON) پروتئینی است که در جگر ساخته می‌شود و در جریان خون به HDL پیوند می‌یابد (Durrington *et al.*, 2001). این مولکول از جمله ترکیبات مؤثر بر اریتروپویه‌تین است (Aviram *et al.*, 1998)، که خود از سازه‌های نیرومند افزایش‌دهنده شمار گلبول‌های قرمز در جگر و کلیه است. در پژوهش کنونی PON و اریتروپویه‌تین اندازه‌گیری نشدند؛ اما شاید افزایش HDL به‌شکلی با کند کردن روند ناپدید شدن PON از خون با اثر بر اریتروپویه‌تین سبب افزایش شمار گلبول قرمز در این گروه آزمایشی شده باشد.

غلظت پروتئین پلاسما که شاخصی از کیفیت و کمیت پروتین جیره است، به کیفیت پروتین جیره، شیوه خوراک‌دهی و شرایط فیزیولوژیک پرنده بستگی دارد (Štukelj *et al.*, 2010). از آن‌جاکه گروه‌های آزمایشی از نظر پروتئین جیره از شرایط یکسانی برخوردار بودند، علت این تفاوت غلظت را می‌توان به مواردی دیگر نسبت داد. غلظت پروتئین کل پلاسما در پژوهش کنونی تنها از اثر اصلی زمان تأثیر پذیرفت که بیشینه غلظت در هفته چهارم و کمینه آن در هفته دوم دیده شد. افزایش نسبی غلظت پروتین تام در این پژوهش می‌تواند ناشی از تکامل سیستم ایمنی پرنده و درنتیجه توقف رشد باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین و کاهش جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش باشد که ضمن کمک به ارتقای سلامتی خروس‌ها، باعث بهبود عملکرد شده است (Longmire *et al.*, 2001).

غلظت کلسترول از هریک از آثار اصلی و نیز از برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر معنی‌داری پذیرفت. غلظت این فراسنجه در گروه آزمایشی T_{20} از دیگر گروه‌های آزمایشی بیش‌تر بود (۲۸۴/۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر)؛ هرچند تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های T_{10}و کنترل دیده نشد (جدول ۴). بیشینه غلظت کلسترول در هفته چهارم (۲۸۶/۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و کم‌ترین غلظت آن هفته اول دیده شد (۲۶۳/۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) که با هفته‌های دیگر تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. اثر برهم‌کنش بین جیره و زمان بر غلظت کلسترول خون در جدول ۶ نشان داده شد. غلظت کلسترول در گروه کنترل روند افزایشی داشت؛ درحالی‌که در گروه‌های T_{10}و T_{20} روند کاهشی و در گروه T_0 افزایشی بود. گروه کنترل، کاهش شدیدی را در غلظت کلسترول کل در هفته دوم آزمایش نشان داد امّا در ادامه افزایشی شد.

غلظت کلسترول خون از برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر پذیرفت. استفاده از پودر پوست انار با افزایش غلظت HDL و کاهش غلظت کلسترول، LDL و تری‌گلیسرید خون همراه بود. آنتی‌اکسیدان‌های انار می‌توانند سطح چربی خون خصوصاً LDL را کاهش دهند (Aviram *et al.*, 2002). فعالیت آنتی‌اکسیدانی درون‌سلولی می‌تواند بر جذب مواد غذایی از پرز روده مؤثر باشد (Hernandez, 2001). مصرف انارمی‌تواند سبب افزایش معنی‌دار در گنجایش کل آنتی‌اکسیدانی سرم و غلظت HDL شود (Jackson *et al.*, 1995) که با یافته‌های کنونی هم‌راستا است. در پژوهش کنونی، اثر برهم‌کنش جیره و زمان بر غلظت کلسترول معنی‌دار بود. گرسنگی شدید، کرچی، هایپوتیرو‌ییدیسم و بیماری‌های جگر از جمله علت‌های افزایش ناگهانی غلظت کلسترول سرم خون پرندگان هستند (Campbell & Coles, 1986). روند تغییرات غلظت کلسترول پلاسما در گروه T_0 افزایشی و در گروه‌های T_{10} و T_{20} یکنواخت بود، اما همین گروه‌ها در مقایسه با تغییرات این فراسنجه در پرندگان گروه کنترل، روند کاهشی نشان دادند. علت آن را شاید بتوان به افزایش اسیدیته

روده نسبت داد که با گذشت زمان، سبب رسوب کلسترول به‌همراه نمک‌های صفراوی، جذب شدن و دفع اسیدهای صفراوی به‌همراه کلسترول می‌شود (Incharoen *et al.*, 2009). از سوی دیگر، تخریب میکروویلی روده از دیگر سازه‌های کاهنده جذب کلسترول است (Mourão *et al.*, 2008). با تغییر در حجم و گنجایش دستگاه گوارش، ساخت نمک‌های صفراوی در جگر، افزایش می‌یابد؛ بنابراین، جگر برای به‌دست آوردن کلسترول موردنیاز برای تولید این نمک‌ها کلسترول را از خون می‌گیرد (Moundras et al., 1997). این سازه‌ها شاید توجیه‌کننده کاهش سطح کلسترول در خروس‌های تغذیه شده با جیره حاوی پوست انار باشد.

غلظت آلکالین فسفاتاز از جیره ($p<۰/۰۰۰۱$) و برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر معنی‌داری پذیرفت (جدول ۶). بیش‌ترین غلظت این آنزیم در هفته چهارم (۲۰/۵۲ واحد بین‌المللی در لیتر) یافت شد که با هفته‌های دیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. تغییرات غلظت این فراسنجه در طی دوره آزمایش در گروه T_{20}، روند افزایشی آشکاری داشت؛ امّا گروه آزمایشی T_{10}، کاهشی و روند تغییرات در گروه آزمایشی T_0 یکنواخت بود. در هفته‌های واپسین آزمایش، گروه‌های تغذیه شده با T_{10} و کنترل، کاهش معنی‌داری در غلظت آلکالین فسفاتاز در مقایسه با گروه T_{20} از خود نشان دادند. در پرندگانی که با جیره T_{10} تغذیه شدند، بیش‌ترین و کم‌ترین غلظت آلکالین فسفاتاز در هفته‌های چهارم و ششم دیده شد. غلظت آلانین آمینوترانسفراز از زمان تأثیر پذیرفت ($p =۰/۰۳۱$). کم‌ترین غلظت این آنزیم در هفته پنجم (۷/۹۴ واحد بین‌المللی در لیتر) ثبت شد که به‌جز با هفته دوم با دیگر هفته‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. با وجود نوسان‌های هفتگی، روند تغییرات غلظت آلانین آمینوترانسفراز خون یکنواخت بود که علت احتمالی آن کوتاه بودن مدت آزمایش بوده است.

غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز خون از اثر اصلی زمان و برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر معنی‌داری پذیرفت (جدول ۵). بیشینه غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز در هفته سوم (۱۹۰/۰۶ واحد بین‌المللی در لیتر) و هفته ششم (۱۸۹/۸۲ واحد بین‌المللی در لیتر) دیده شد که غلظت این آنزیم در هفته سوم با غلظت‌های اندازه‌گیری شده در هفته‌های دوم و پنجم تفاوت معنی‌داری داشت. روند تغییرات غلظت این آنزیم در گروه آزمایشی T_0 کاهشی و در گروه‌های آزمایشی T_{10} و T_{20} یکنواخت بود. غلظت این آنزیم در طی دوره آزمایش در گروه T_{20} در هفته دوم کاهش معنی‌داری را نسبت به دو گروه آزمایشی دیگر نشان داد. تغییرات غلظت این فراسنجه در گروه T_{20} از هفته دوم تا ششم دارای شیب افزایشی یکنواخت، ولی در گروه‌های آزمایشی دیگر از هفته سوم تا پنجم با روند کاهشی بسیار شدیدی همراه بود. از سویی گروه آزمایشی کنترل و T_{10} از هفته پنجم تا ششم شیب افزایشی یکنواخت نشان دادند. از یافته‌های شایان توجه، وجود نوسان‌های شدیدی بود که در غلظت این فراسنجه در تیمارهای آزمایشی دیده شد.

در اثر آسیب سلول‌های جگر و نکروز، تغییری در نفوذپذیری غشای سلول‌های آن رخ می‌دهد که سبب نشست ترکیبات درون‌سلولی مانند آنزیم‌های سیتوپلاسمی محلول (برای نمونه آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و سوربیتول دهیدروژناز) به مایع برون‌سلولی می‌شود. از این‌رو، آنزیم‌ها، شاخص‌های تشخیصی رایج برای شناسایی افزایش نفوذپذیری سلول‌های جگر به‌شمار می‌روند (Mahgoub *et al.*, 2008). آنزیم آلانین آمینوترانسفراز، بیش‌تر در جگر وجود دارد؛ در حالی‌که آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در مکان‌های گوناگونی مانند بافت قلب، کلیه، ماهیچه‌های اسکلتی، مغز و جگر وجود دارد. بنابراین، به‌علت اختصاص بیشتر ALT به جگر، این فراسنجه شاخص مهم‌تری برای تشخیص آسیب‌های جگر به‌شمار می‌رود. در این پژوهش با وجود نوسانات بین شش هفته در غلظت پلاسمایی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز، روند تغیرات یکنواخت بوده که علت احتمالی آن می‌تواند کوتاهی مدت پژوهش بوده باشد. افزایش سطح آلانین آمینوترانسفراز از مارکرهای بسیار مهم بروز آسیب در جگر و بیماری کبد چرب است (Perry *et al.*, 1995). در پژوهش کنونی، غلظت آلانین آمینوترانسفراز خون از زمان (هفته) تأثیر پذیرفت؛ افزایش غلظت آلانین آمینوترانسفراز را می‌توان به افزایش سن (Fallon *et al.*, 1999) نسبت داد. غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز خون از اثر اصلی زمان و برهم‌کنش جیره و زمان تأثیر پذیرفت، روند تغییرات غلظت این فرآسنجه در گروه T_1 با شیب کاهشی، ولی در گروه‌های آزمایشی دیگر با افزایش نسبی و یکنواخت در طی دوره آزمایش همراه بود.

روند تغییرات آلکالین فسفاتاز خون در خلال آزمایش، در گروه‌هایی که سطح بالای پودر پوست انار را دریافت کردند، افزایشی و در گروهی که جیره دارای ۱۰ درصد پودر پوست انار تغذیه شد، کاهشی و در گروه کنترل، یکنواخت بود. آنزیم آلکالین فسفاتاز استخوانی از ایزوآنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، یکی از بیومارکرهای دقیق و اختصاصی میزان فعالیت استئوبلاست‌ها و تشکیل بافت استخوانی است. افزایش سطح آلکالین فسفاتاز خون می‌تواند به‌علل فیزیولوژیک یا پاتولوژیک باشد و افزایش تولید آن در بافت‌ها نشان‌دهنده تحریک متابولیک است (Leung *et al.*, 1993). افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز در طیف وسیعی از بیماری‌های بافت استخوان و همچنین شکستگی‌ها در انسان و جانوران گزارش شده است (Allen, 2003). وجود مواد ضد تغذیه‌ای از جمله تانن و ماده تلخ کوئرستین و خاصیت کارسیوژنیک پوست خشک انارسبب فعالیت بیش‌تر کبد جهت سم‌زدایی می‌شود که به‌نظر می‌رسد فعالیت زیاد کبد با افزایش اندازه آن و فشار بر مجاری صفراوی و توقف جریان صفرا سبب ایجاد کلستاز و افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز خون شده باشد (Soochan *et al.*, 2012). فعالیت پایین‌تر آلکالین فسفاتاز سرم جوجه‌های گوشتی را در سطوح بالاتر کلسیم جیره غذایی گزارش کرده بودند. از آن‌جاکه سطح پلاسمایی فسفر خون در گروه مصرف‌کننده جیره حاوی پوست انار نسبت به گروه شاهد بالاتر بود به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز پلاسمای خون این گروه متناسب با افزایش غلظت فسفر خون باشد.

غلظت گلوکز تنها از اثر اصلی جیره ($p<۰/۰۰۰۱$) تأثیر پذیرفت. غلظت این فراسنجه (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در پرندگانی که با جیره‌های کنترل (۲۱۷/۹) و T_3 (۲۳۹/۵) تغذیه شده بودند به‌ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین بود. پرندگانی که با جیره T_{20}تغذیه شدند تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشت. تغییرات هفتگی غلظت گلوکز نشان داد که بیشینه غلظت در هفته دوم آزمایش (۲۳۳/۷۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و کم‌ترین غلظت در هفته اول بود (۲۲۵/۹۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر)؛ اگرچه با گروه‌های آزمایشی دیگر تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. غلظت فسفر خون از جیره، زمان و برهم‌کنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری پذیرفت (جدول ۶). غلظت این فراسنجه در گروه آزمایشی T_{20} از گروه‌های آزمایشی T_0و T_{10} بیش‌تر بود. با این‌حال گروه T_{20} در مقایسه با گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری داشت. بیشینه غلظت فسفر خون در هفته چهارم (۱۰/۴۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) با غلظت‌های آن در دیگر هفته‌ها تفاوت معنی‌داری داشت. در گروه کنترل بیش‌ترین و کم‌ترین غلظت فسفر در هفته‌های چهارم و دوم دیده شد. تغییرات غلظت این فراسنجه در طی دوره آزمایش در گروه کنترل روندی یکنواخت داشت؛ در حالی‌که این روند در گروه T_{10} کاهشی و در گروه T_{20} افزایشی بود. گروه کنترل افزایش شدیدی را در غلظت فسفر در هفته چهارم آزمایش نشان داد که در ادامه با روند کاهشی جایگزین شد.

غلظت گلوکز در پرندگانی که از جیره‌های کنترل و T_{20} تغذیه شده بودند به ترتیب کم ترین و بیش ترین بود. از آن‌جاکه پوست انار خود دارای منابع قندی و کربوهیدراتی (سوکروز،گلوکز، مالتوز و فروکتوز) می‌باشد استفاده از آن می‌تواند علت افزایش گلوکز خون خروس‌های آزمایشی بوده باشد. غلظت فسفر خون از اثر جیره و زمان و برهم‌کنش آن‌ها تاثیر معنی‌داری پذیرفت. تغییرات غلظت این فراسنجه در طی دوره آزمایش در گروه T_{20} روندی افزایشی را از خود نشان داد؛ در حالی‌که این روند در گروه‌های آزمایشی T_2 کاهشی و در T_1 یکنواخت بود. کاهش غلظت آلکالین فسفاتاز همراه با غلظت پایین فسفر پلاسمای خون در پرندگان (Reichmann & Connor, 1977) گزارش شده است که با یافته‌های این پژوهش هم راستا است.

جدول ۲- ویژگی‌های کیت‌های سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون
Table 2. The biological features of the experimental kits used for blood biochemical attributes assay

فراسنجه Traits اثر Effects	جیره Diet	زمان Time	جیره*زمان Diet*Time	جیره‌ها Diets			*SE*
				T_0	T_{10}	T_{20}	
شمار کل گلبول‌های سفید (×۱۰^۳/mm^۳) Total White blood cells (× 10^3/ mm^3)	NS	NS	NS	32.4	33.8	33.5	4.23
شمار کل گلبول‌های قرمز (×۱۰^۶/mm^۳) Total Red blood cell (× 10^6/mm^3)	NS	NS	0.048	2.5	2.4	2.4	1.02
لیمفوسایت (٪) Lymphocytes (%)	NS	NS	NS	55.6	55.2	54.5	0.35
مونوسایت (٪) Monocytes (%)	NS	0.038	0.018	4.2	4.1	4.5	0.14
هتروفیل (٪) Heterophil (%)	NS	NS	NS	35.0	35.0	34.9	0.37
ائوزینوفیل (٪) Eosinophil (%)	NS	NS	NS	4.1	4.0	3.9	0.13
نسبت هتروفیل به لیمفوسایت (٪) Heterophil to Lymphocyte ratio	NS	NS	NS	0.6	0.6	0.6	0.009

جدول ۳- چکیده آنالیز واریانس اثر جیره، زمان و برهم‌کنش جیره و زمان بر فراسنجه‌های هماتولوژیک خروس‌های مولد گوشتی سویه کاب ۵۰۰ تغذیه شده با پودر پوست انار
Table 3. Summarized analysis of variance for the effects of diet, time, and diet by time interaction on hematological parameters in aged Cobb 500 broiler breeder roosters fed pomegranate peel powder

فراسنجه Trait	Inter-assay				Intra-assay			
	n	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV%	n	Mean (mg/dL)	SD (mg/dL)	CV%
گلوکز Glucose	20	247	3.25	1.34	20	265	3.44	1.35
آلبومین Albumin	20	4.35	0.09	2.13	20	4.45	0.13	3.13
آلکالین فسفاتاز Alkaline Phosphatase	10	267	–	2.1	20	251.5	-	1.9
تری‌گلیسرید Triglyceride	20	141.6	–	1.04	78	187	-	3.25
کلسترول Cholesterol	20	147.33	1.85	1.28	20	149.33	1.63	1.09
LDL Low Dense Lipoprotein	20	61	–	1.66	20	64.66	-	3.93
فسفر Phosphorous	10	6.05	–	1.9	20	6.6	-	2.55
پروتین Protein	20	5.35	0.1	1.9	20	5.05	0.15	3

T_0T_{10} و T_{20}: به‌ترتیب دارای صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد پودر پوست انار در جیره (ماده خشک) بودند.
T_0, T_{10}, T_{20}: 0, 10% and 20% pomegranate peel power in the diet (dry matter), respectively.

جدول ۴- چکیده آنالیز واریانس اثر جیره، زمان و برهم‌کنش جیره و زمان بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون خروس‌های مولد گوشتی سویه کاب ۵۰۰ تغذیه شده با پودر پوست انار

Table 4. Summarized analysis of variance for the effects of diet, time, and diet by time interaction on blood biochemical attributes in aged Cobb 500 broiler breeder roosters fed pomegranate peel powder

SE	Diet جیره			جیره*زمان Diet*Time	زمان Time	جیره Diet	فراسنجه / اثر Traits / Effect
	T_{20}	T_{10}	T_0				
0.069	3.9	3.82	3.75	NS	<0.0001	NS	پروتین تام (mg/dL) Crude Protein (mg/dL)
0.072	5.3	5.34	5.52	NS	NS	NS	آلبومین (mg/dL) Albumin (mg/dL)
3.98	284.0^{a}	276.9^{ab}	269.3^{b}	0.003	0.040	0.035	کلسترول کل (mg/dL) Total Cholesterol (mg/dL)
6.05	205.1^{a}	182.5^{b}	155.9^{c}	NS	NS	<0.0001	HDL[1] (mg/dL)
5.84	57.2b	74.4^{b}	100.3^{a}	NS	NS	<0.0001	LDL[2] (mg/dL)
0.44	19.0	19.9	19.8	NS	NS	NS	VLDL[3] (mg/dL)
2.35	102.9^{b}	108.8^{a}	108.9^{a}	NS	NS	0.0053	تری گلیسرید (mg/dL) Triglyceride (mg/dL)
2.66	239.5^{a}	231.6^{a}	217.9^{b}	NS	NS	<0.0001	گلوکز (mg/dL) Glucose (mg/dL)
0.16	16.5	16.0	16.2	NS	NS	NS	اوره (mg/dL) Urea (mg/dL)
0.23	9.45^{a}	8.89^{ab}	8.34^{b}	<0.0001	<0.0001	0.0041	فسفر (mg/dL) Phosphoros (mg/Dl)
0.13	20.3^{b}	20.8^{a}	19.9^{b}	0.036	NS	<0.0001	آلکالین فسفاتاز (IU/L) Alkaline Phosphatase (IU/L)
0.087	8.37	8.31	8.10	NS	0.031	NS	آلانین آمینوترانسفراز (IU/L) Alanine Amino-Trans phrase
0.10	189.6	189.7	189.8	0.036	0.048	NS	آسپارتات آمینوترانسفراز (IU/L) Aspartate Amino-Trans phrase

a–c: در هر ردیف، میانگین‌های هفته‌هایی که بندواژه (های) مشترک دارند، تفاوت آماری معنی‌داری ندارند ($p > 0.05$).

T_0، T_{10}و T_{20}: به‌ترتیب دارای صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد پودر پوست انار در جیره (ماده خشک) بودند.

T_0, T_{10}, T_{20}: They had 0, 10 and 20% pomegranate peel power in the diet (dry matter), respectively.

a-c: In each row, there was no statistically significant difference in the averages of weeks with common clauses ($p > 0.05$).

[1] لیپوپروتین با چگالی بالا (High density lipoprotein).

[2] لیپوپروتین با چگالی کم (Low density lipoprotein).

[3] لیپوپروتین با چگالی بسیار کم (Very low density lipoprotein).

جدول ۵- اثر برهم‌کنش تیمار و زمان بر شمار گلبول‌های قرمز، درصد مونوسایت‌ها و غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز خون خروس‌های مسن سویه کاب ۵۰۰ تغذیه شده با پوست انار

Table 5. Interaction effect of treatment and time on total blood erythrocytes number, monocytes percentage, and aspartate aminotransferase concentration in aged Cobb 500 broiler breeder roosters fed pomegranate peel powder

Total Red blood cells (*10^6/mm^3)				شمار کل گلبول‌های قرمز (×$۱۰^۶$/$mm^۳$)		تیمار Treatment
Week 6 هفته ۶	Week 5 هفته ۵	Week 4 هفته ۴	Week 3 هفته ۳	Week 2 هفته ۲	Week 1 هفته ۱	
$_{B}$247.50^{ab}	245.67^{b}	253.42^{ab}	253.17^{a}	253.42^{a}	254.18^{a}	T_0
$_{B}$245.08	247.67	248.25	250.92	249.50	248.08	T_{10}
$_{A}$256.33	248.92^{b}	248.25^{b}	246.67^{b}	250.58^{ab}	248.58^{b}	T_{20}
Monocyte (%)			مونوسایت (٪)			
4.83^{ab}	$_{AB}$4^{bc}	$_{A}$5.08^{a}	4.16^{abc}	$_{B}$3.41^{c}	3.83^{bc}	T_0
4.66^{a}	$_{B}$3.16^{c}	$_{B}$3.66^{bc}	4.16ab	$_{A}$4.75^{a}	4.33^{ab}	T_{10}
4.66	$_{A}$4.33	$_{A}$4.83	4.91	$_{A}$4.66	4.08	T_{20}
Aspartate Aminotransferase			آسپارتات آمینوترانسفراز (IU/L)			
189.69^{ab}	189.39^{b}	189.73^{ab}	190.27^{a}	$_{A}$190.18^{a}	189.62^{ab}	T_0
189.92^{ab}	189.37^{b}	189.80^{ab}	190.34^{a}	$_{A}$189.31^{b}	189.71^{ab}	T_{10}
189.85^{a}	189.72^{a}	189.61^{ab}	189.57^{ab}	$_{B}$188.99^{b}	190.03^{a}	T_{20}

a–c: برای هر فراسنجه، در هر ردیف، میانگین‌های هفته‌هایی که بندواژه (های) مشترک دارند، تفاوت آماری معنی‌داری ندارند ($p > 0.05$).

A-B: برای هر فراسنجه، در هر ستون، میانگین‌های تیمارهایی که بندواژه (های) مشترک دارند، تفاوت آماری معنی‌داری ندارند ($p > 0.05$).

T_0، T_{10}و T_{20}: به‌ترتیب دارای صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد پودر پوست انار در جیره (ماده خشک) بودند.

اشتباه معیار (Pooled SE) برای شمار کل گلبول‌های قرمز، درصد مونوسایت‌ها و غلظت آسپارتات آمینوترانسفراز خون به‌ترتیب برابر ۲/۶۲، ۰/۳۶ و ۰/۲۴ بود.

a–c: In each row, there was no statistically significant difference in the averages of weeks with common clauses ($p > 0.05$).

A–B: In each column, there was no statistically significant difference in the averages of weeks with common clauses ($p > 0.05$).

T_0, T_{10}, T_{20}: They had 0, 10 and 20% pomegranate peel power in the diet (dry matter), respectively.

The standard error (Pooled SE) for total red blood cell count, monocyte percentage and blood aspartate aminotransferase concentration was 2.62, 0.36 and 0.24, respectively.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان گفت اگرچه تغذیه پودر پوست انار برشماری از فراسنجه‌های خونی در طی شش هفته دوره مصرف تاثیرگذار بود، با وجود تفاوت در فراسنجه‌های ذکر شده، دامنه نوسانات در محدوده نرمال فیزیولوژیک قرار داشت. از این‌رو مصرف پوست انار در سطوح به‌کار رفته، با آسیب آشکاری بر سلامت عمومی و پروفایل بالینی پرندگان همراه نبود. دوره‌های طولانی‌مدت‌تر مصرف و نیز بررسی آثار احتمالی این پسماند در مرغ‌های مادر در گامه‌های گوناگون زمانی در دوره تولید می‌تواند داده‌های

ارزشمندی در اختیار قرار دهد تا بر اساس آن بتوان در سطح مزرعه توصیه‌های مؤثرتری در این‌باره عرضه کرد.

تشکر و قدردانی

به این‌وسیله از حوزه معاونت آموزشی و پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز که زمینه انجام این پژوهش را فراهم آوردند، سپاسگزاری می‌شود.

References

Adam, R. D. (2001). Biology of Giardia lamblia. *Clinical Microbiology Reviews*, *14*(3), 447-475.

Allen, M. (2003). Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. *Veterinary Clinical Pathology*, *32*(3), 101-113.

Aviram, M., Billecke, S., Sorenson, R., Bisgaier, C., Newton, R., Rosenblat, M., Erogul, J., Hsu, C., Dunlop, C., & La Du, B. (1998). Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *18*(10), 1617-1624.

Aviram, M., Dornfeld, L., Kaplan, M., Coleman, R., Gaitini, D., Nitecki, S., Hofman, A., Rosenblat, M., Volkova, N., & Presser, D. (2002). Pomegranate juice flavonoids inhibit low-density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*, *28*(2-3), 49-62.

Butler, L., & Laqua, K. (1995). Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-IX. Instrumentation for the spectral dispersion and isolation of optical radiation (IUPAC Recommendations 1995). *Pure and Applied Chemistry*, *67*(10), 1725-1744.

Campbell, T., & Coles, E. (1986). Avian clinical pathology. *Veterinary clinical pathology*, *4*(3), 279-300.

Durrington, P., Mackness, B., & Mackness, M. (2001). Paraoxonase and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *21*(4), 473-480.

Fallon, K., Sivyer, G., Sivyer, K., & Dare, A. (1999). The biochemistry of runners in a 1600 km ultramarathon. *British Journal of Sports Medicine*, *33*(4), 264-269.

Fernandez, J., Jørgensen, H., & Just, A. (1986). Comparative digestibility experiments with growing pigs and adult sows. *Animal Science*, *43*(1), 127-132.

Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(10), 4581-4589.

Hernandez, J. F. P. (2001). Effect of plant extracts on the performance and lower gut microflora of early weaned piglets. *Journal of Dairy Science*.

Incharoen, T., Khambualai, O., & Yamauchi, K. (2009). Performance and histological changes of the intestinal villi in chickens fed dietary natural zeolite including plant extract. *Asian Journal of Poultry Science*, 3(2), 42-50.

Jackson, P., Loughrey, C. M., Lightbody, J. H., McNamee, P. T., & Young, I. S. (1995). Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clinical Chemistry*, *41*(8), 1135-1138.

Keshavarz, R., Akhlaghi, A., Zamiri, M., Shirazi, M. J., Saemi, F., Akhlaghi, A., Zhandi, M., Afrouziyeh, M., & Zuidhof, M. (2019). The long-term oral administration of thyroxine: effects on blood hematological and biochemical features in broiler breeder hens. *Poultry Science*, *98*(12), 7003-7008.

Leung, K., Fung, K., Sher, A., Li, C., & Lee, K. (1993). Plasma bone-specific alkaline phosphatase as an indicator of osteoblastic activity. *The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume*, *75*(2), 288-292.

Longmire, J. L., Roach, J. L., Maltbie, M., White, P. S., Tatum, O. L., Makova, K. D., & Hahn, D. C. (2001). Tetranucleotide microsatellite markers for the Brown-headed Cowbird Molothrus ater. *Journal of Avian Biology*, *32*(1), 76-78.

Mahgoub, O., Kadim, I. T., Tageldin, M., Al-Marzooqi, W., Khalaf, S., & Ali, A. A. (2008). Clinical profile of sheep fed non-conventional feeds containing phenols and condensed tannins. *Small Ruminant Research*, *78*(1-3), 115-122.

Mahmood, S., Khan, M. A., Sarwar, M., & Nisa, M. (2006). Chemical treatments to reduce antinutritional factors in salseed (*Shorea robusta*) meal: effect on nutrient digestibility in colostomized hens and intact broilers. *Poultry Science*, *85*(12), 2207-2215.

Moundras, C., Behr, S. R., Remesy, C., & Demigne, C. (1997). Fecal losses of sterols and bile acids induced by feeding rats guar gum are due to greater pool size and liver bile acid secretion. *The Journal of Nutrition*, *127*(6), 1068-1076.

Mourão, J. L., Pinheiro, V., Prates, J., Bessa, R., Ferreira, L., Fontes, C., & Ponte, P. (2008). Effect of dietary dehydrated pasture and citrus pulp on the performance and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, *87*(4), 733-743.

Navarro, V., Villarreal, M. L., Rojas, G., & Lozoya, X. (1996). Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, *53*(3), 143-147.

Oliveira, R., Narciso, C., Bisinotto, R., Perdomo, M., Ballou, M., Dreher, M., & Santos, J. (2010). Effects of feeding polyphenols from pomegranate extract on health, growth, nutrient digestion, and immunocompetence of calves. *Journal of Dairy Science*, *93*(9), 4280-4291.

Perry, B. D., Pollard, R. A., Blakley, T. L., Baker, W. L., & Vigilante, D. (1995). Childhood trauma, the neurobiology of adaptation, and "use-dependent" development of the brain: How "states" become "traits". *Infant Mental Health Journal*, *16*(4), 271-291.

Pignatelli, P., Pulcinelli, F. M., Celestini, A., Lenti, L., Ghiselli, A., Gazzaniga, P. P., & Violi, F. (2000). The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *72*(5), 1150-1155.

Prost, J., & Belleville, J. (1991). Age and protein restriction followed by balanced refeeding affect pancreatic digestive enzyme outputs and turnover times in rats. *The Journal of Nutrition*, *121*(12), 2044-2054.

Reichmann, K., & Connor, J. (1977). Influence of dietary calcium and phosphorus on metabolism and production in laying hens. *British Poultry Science*, *18*(6), 633-640.

Santhini, E., Ramji, B., & Viswanadha Vijaya, P. (2011). Gallic acid isolated from pomegranate peel extract induces reactive oxygen species mediated apoptosis in A549 cell line. *Journal of Cancer Therapy*, *2011*.

Soochan, D., Keough, V., Wanless, I., & Molinari, M. (2012). Intra and extra-hepatic cystadenoma of the biliary duct. Review of literature and radiological and pathological characteristics of a very rare case. *Case Reports*, *2012*, bcr0120125497.

Stoskopf, M. (1993). Fish medicine. sounders company. *USA PP882*.

Štukelj, M., Valenčak, Z., Krsnik, M., & Svete, A. N. (2010). The effect of the combination of acids and tannin in diet on the performance and selected biochemical, haematological and antioxidant enzyme parameters in grower pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *52*, 1-8.

Thomas, L. (1998). *Clinical laboratory diagnostics: use and assessment of clinical laboratory results*. TH-books Verlagsgesellschaft.

Yáñez-Ruiz, D. R., & Molina-Alcaide, E. (2007). A comparative study of the effect of two-stage olive cake added to alfalfa on digestion and nitrogen losses in sheep and goats. *Animal*, *1*(2), 227-232.

Yuste, P., Longstaff, M., & McCorquodale, C. (1992). The effect of proanthocyanidin-rich hulls and proanthocyanidin extracts from bean (*Vicia faba* L.) hulls on nutrient digestibility and digestive enzyme activities in young chicks. *British Journal of Nutrition*, *67*(1), 57-65.