

مقایسه اثرات شیر میش، جایگزین شیر و سه نوع جیره آغازین بر سنتز پروتئین میکروبی، فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، متابولیت‌های خون و ادرار بره‌های شیرخوار نژاد دالاق

آشورمحمد قره‌باش^{۱*}، تقی قورچی^۱، سعید حسنی^۱، نورمحمد تربتی نژاد^۱ و هرمز منصوری^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۷/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۲/۲۶)

چکیده

آزمایش به منظور بررسی امکان پرورش بره‌های شیرخوار با جایگزین شیر تجارتي و اثرات تغذیه جیره‌های آغازین با نسبت‌های مختلف کنسانتره بر سنتز پروتئین میکروبی، فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، متابولیت‌های خون و ادرار انجام شد. تعداد ۳۰ رأس بره نر نژاد دالاق به سن 1 ± 3 روزگی پس از دریافت ۴۸ ساعت آغوز، از مادران جدا، به طور تصادفی به ۶ گروه ۵ راسی تقسیم و در قفس‌های انفرادی قرار داده شده، با ۶ تیمار آزمایشی تا سن ۹۰ روزگی تغذیه شدند. روش آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل 3×2 که در آن عامل اول اثر غذای مایع (شیر مادر و جایگزین شیر) و عامل دوم اثر جیره‌های آغازین (جیره اول ۱۰۰ درصد کنسانتره آغازین، جیره دوم دارای ۶۷ درصد کنسانتره آغازین و ۳۳ درصد یونجه خشک، جیره سوم دارای ۳۳ درصد کنسانتره آغازین و ۶۷ درصد یونجه خشک) بود. میانگین pH، کل اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه، نیتروژن اوره‌ای و بتا هیدروکسی بوتیرات سرم خون، ترکیبات پورینی ادرار، پورین‌های میکروبی و شاخص‌های سنتز پروتئین میکروبی در بین بره‌های تغذیه شده با شیر میش و شیر جایگزین اختلاف آماری معنی‌دار نداشت. میانگین pH و کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه ($P < 0/01$) و بتا هیدروکسی بوتیرات سرم خون، پورین‌های میکروبی دفعی ادرار و نیتروژن میکروبی در بین بره‌های تغذیه شده با جیره آغازین دارای ۱۰۰ درصد کنسانتره با دو جیره دیگر، میانگین نسبت آلانتوین به کراتینین و مجموع پورین‌های دفعی ادرار ($P < 0/05$) در بره‌های تغذیه شده با هر سه جیره آغازین به طور معنی‌داری متفاوت بود. این آزمایش نشان داد که تغذیه جایگزین شیر به بره‌های شیرخوار هیچ‌گونه اثری در فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه، سرم خون و سنتز پروتئین میکروبی در مقایسه با شیر میش نداشت، در حالی که تغذیه بره‌های شیرخوار با جیره آغازین دارای نسبت کنسانتره بالاتر سبب سنتز پروتئین میکروبی بیشتر و بهبود برخی فراسنجه‌های تخمیری شکمبه و خون شد.

واژه‌های کلیدی: جایگزین شیر، جیره آغازین، بره شیرخوار، فراسنجه‌های تخمیری، سنتز پروتئین میکروبی

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲. استادیار مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ghareh44@yahoo.com

مقدمه

در پرورش گوسفند بخش عمده درآمد از طریق تولید بره به دست می‌آید. لذا افزایش میزان تولید مثل با کاهش فاصله بره‌زایی و پرورش صحیح بره‌های تولیدی، مهم‌ترین اقدام جهت افزایش بازده اقتصادی گله‌داری می‌باشد. در طول دوره زایش یا شیردهی برخی میش‌های مادر بیمار و یا تلف شده و بره‌های آنها از شیر مادر محروم می‌گردند. هم‌چنین تعدادی از میش‌های دو یا سه قلوزا، شیر کافی برای تغذیه بره‌های خود ندارند. علاوه بر اینها کیفیت پایین علوفه مراتع و مواد خوراکی در دسترس، در تولید شیر میش‌های مادر و رشد بره‌ها تأثیر منفی دارد. بره‌های محروم از مصرف شیر کافی اغلب ضعیف و لاغر شده، مستعد ابتلا به بیماری‌های گوناگون و تلفات زیاد می‌گردند. به همین دلیل امروزه استفاده از مواد جایگزین شیر در تغذیه بره‌های شیرخوار در این شرایط مورد توجه قرار گرفته است. در صورت تغذیه بره‌ها با جایگزین شیر علاوه بر رشد مناسب بره‌ها، می‌توان با قطع شیردهی میش‌ها، ضمن پیشگیری از مصرف ذخایر بدنی، آنها را برای دوره آبستنی بعدی سریع‌تر آماده نموده، فاصله بره‌زایی را کاهش داده و به این ترتیب اجرای برنامه‌های دوبرار زایش در سال و افزایش دوقلو زایی به طرق مختلف امکان‌پذیر می‌شود (۷).

ترکیبات مواد مغذی و میزان انرژی مواد جایگزین شیر در گونه‌های مختلف دام متفاوت هستند. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده جایگزین‌های شیر دارای منابع مختلف پروتئینی، چربی و سایر مواد مغذی است. منابع پروتئینی آن شامل پودر شیر بدون چربی یا کم چرب، پودر آب پنیر، سویا، گلوتن گندم و ذرت، منابع چربی آن نیز شامل چربی‌های حیوانی و گیاهی است (۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۷).

جیره آغازین مورد استفاده در تغذیه بره‌ها حاوی ۲۴ - ۲۱ درصد پروتئین خام، ۳۰ - ۲۴ درصد چربی خام، منابع مواد معدنی، ویتامینی و ترکیباتی مانند آنتی بیوتیک‌ها و اسید آمینه متیونین می‌باشد. جیره آغازین بره‌های شیرخوار و زود از شیر گرفته شده، بسته به سن و سرعت رشد آنها، میزان مواد مغذی

و انرژی متفاوتی دارند. در سن ۲ هفتگی به بعد میزان پروتئین خام آن ۲۰ - ۱۷ درصد بوده که در شروع به تدریج کاهش یافته و پس از قطع تغذیه شیر یا خوراک مایع به ۱۲ درصد می‌رسد (۱۲).

تغذیه دام‌های شیرخوار با جیره آغازین مناسب در توسعه شکمبه و عبور سریع‌تر از مرحله هضم تک معده‌ای به مرحله هضم میکروبی در شکمبه و نگاری مؤثر است (۱۹). در بره‌های شیرخوار مصرف مواد خوراکی جامد به صورت جیره آغازین در مقایسه با تغذیه شیر سبب کاهش pH شکمبه، افزایش تولید کل اسیدهای چرب فرار (۸، ۱۵، ۱۶، ۲۳، ۲۷ و ۲۸)، افزایش سطح نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه و افزایش غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات خون و توسعه شکمبه (افزایش اندازه و تراکم پرزهای شکمبه) می‌شود (۸ و ۱۹). در جیره آغازین افزایش نسبت کنسانتره باعث کاهش pH مایع شکمبه، افزایش تولید کل اسیدهای چرب فرار، افزایش نسبت اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک، در نتیجه افزایش بتا هیدروکسی بوتیرات می‌شود (۱۵ و ۲۳).

سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه نشخوارکنندگان در تأمین نیاز پروتئین آنها نقش مهمی داشته و برای تخمین میزان تامین پروتئین میکروبی از معرف‌های خارجی و داخلی مختلف استفاده می‌شود که مهم‌ترین آنها اندازه‌گیری پورین‌های دفعی ادرار است. پروتئین میکروبی سنتز شده حاوی اسید ریبو نوکلئیک بوده که پس از جذب در بدن تبدیل به آلانتوئین، گزانتین، هیپوگزانتین و اسید اوریک شده و از طریق کلیه‌ها در ترکیب ادرار دفع می‌شوند. مقداری از پورین‌های دفعی منشا داخلی داشته و در هر گونه حیوان ترکیب و مقدار آنها بسته به وزن متابولیکی بدن متفاوت است (۲، ۴، ۵، ۱۳، ۲۰ و ۲۲).

در کشور ما از مواد جایگزین‌های شیر در تغذیه گوساله‌های شیرخوار به خصوص در گاوداری‌های صنعتی به طور موفقیت‌آمیزی استفاده می‌شود، ولی در زمینه استفاده از مواد جایگزین‌های شیر در تغذیه بره‌های شیرخوار و در کنار آن آثار جیره‌های آغازین بر آنها مطالعات زیادی انجام نگرفته است. لذا

روزانه در سه نوبت صبح، ظهر و عصر تغذیه می‌شدند. جیره‌های آغازین مورد استفاده بر اساس احتیاجات استاندارد غذایی گوسفند (۱۸) تنظیم شده که ترکیبات مواد خوراکی کنسانتره و محتویات مواد مغذی و انرژی آن در جدول ۲ آورده شده است.

نمونه‌گیری مایع شکمبه به کمک سوند معدی (لوله پلاستیکی متصل به سرنگ ۵۰ میلی‌لیتری) از طریق دهان در ۵ روز آخر دوره آزمایش و در ساعات صفر، ۳ و ۶ پس از دادن غذای وعده صبح انجام شد. pH مایع شکمبه در نمونه تازه با استفاده از pH متر دیجیتالی (Inolab 720) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و سپس نمونه‌های مایع شکمبه تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد و به صورت منجمد نگه‌داری شد (۱۵، ۱۶، ۲۷، ۲۸). در نمونه مایع شکمبه پارامترهای تخمیری کل اسیدهای چرب فرار تولیدی و نیتروژن آمونیاکی تعیین گردید (۱).

نمونه خون از ورید و داج در ساعات صفر، ۳ و ۶ پس از تغذیه صبح گرفته شد (۱۵، ۱۶ و ۲۳). نمونه‌های خون پس از سرم‌گیری توسط سانتریفیوژ (Sigma 101) با ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه تا زمان آزمایش به صورت منجمد و در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. نیتروژن اوره‌ای سرم خون (با کیت ۱۴۰۰۰۲۹ پارس آزمون) و بتا هیدروکسی بوتیرات سرم خون (با کیت RB1007 شرکت Randox) و توسط اسپکتروفتومتر (Libera S22) اندازه‌گیری شد.

حجم ادرار با کیسه جمع‌آوری حاوی اسید سولفوریک (محلول ۱۰ درصد یا یک مولار جهت جلوگیری از فرار و از دست رفتن نیتروژن در pH کمتر از ۳) در ۳ روز آخر آزمایش اندازه‌گیری و حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر از آن نمونه‌گیری و نمونه‌ها در دمای ۲۴- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگه‌داری شدند (۴، ۱۶ و ۲۳). کرانتین و اسید اوریک نمونه‌های ادرار با کیت‌های شرکت پارس آزمون (۱۴۰۰۰۳۱ و ۱۴۰۰۰۰۹)، آلانتوین گزانتین و هیپوگزانتین با کیت‌های A7878، X7373 و H9377 (شرکت Sigma) و توسط اسپکتروفتومتر (Libera S22) اندازه‌گیری شد.

این مطالعه جهت بررسی امکان استفاده یک نوع جایگزین شیر تجارتي در تغذیه بره‌های شیرخوار و جیره آغازین با نسبت مختلف کنسانتره به علوفه و تأثیر آن بر تولیدات نهایی تخمیر شکمبه (کل اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیاکی و pH)، نیتروژن اوره‌ای و بتا هیدروکسی بوتیرات سرم خون و میزان سنتز پروتئین میکروبی از روی شاخص دفع ادراری مشتقات پورینی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش روی ۳۰ راس بره نر ۱ ± ۳ روزه نژاد دالاق که در ۲ روز اول تولد از مقدار کافی آغور تغذیه شده و پس از طی یک هفته دوره عادت‌پذیری تا زمان از شیرگیری (۹۰ روزگی) انجام شد. بره‌ها به ۶ گروه ۵ راسی به طور تصادفی تقسیم شده و در ۳۰ قفس انفرادی قرار داده شده و با ۶ تیمار تغذیه شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شیر مادر + ۱۰۰ درصد کنسانتره آغازین، ۲- شیر مادر + ۶۷ درصد کنسانتره آغازین + ۳۳ درصد یونجه خشک خرد شده، ۳- شیر مادر + ۳۳ درصد کنسانتره آغازین + ۶۷ درصد یونجه خشک خرد شده، ۴- جایگزین شیر + ۱۰۰ درصد کنسانتره آغازین، ۵- جایگزین شیر + ۶۷ درصد کنسانتره آغازین + ۳۳ درصد یونجه خشک خرد شده، ۶- جایگزین شیر + ۳۳ درصد کنسانتره آغازین + ۶۷ درصد یونجه خشک خرد شده بودند.

جایگزین شیر (نوع Vodor One تهیه شده توسط شرکت Bonilait فرانسه به نسبت ۱۹۰ گرم پودر در هر لیتر آب، به طوری که ماده خشک شیر جایگزین با شیر میش مساوی شود) طبق راهنمای شرکت تولید کننده روزانه دو وعده صبح و عصر، در ۲ هفته اول توسط شیشه و سرپستانک، سپس به وسیله سطل به بره‌های گروه مورد نظر داده شد. شیر میش لازم جهت تغذیه بره‌ها توسط دوشش دستی میش‌هایی که بره آنها جدا شده بودند، تأمین می‌شد. در تجزیه شیمیایی و آزمایش قابلیت هضم ترکیبات مواد مغذی و انرژی شیر میش و جایگزین شیر تعیین شده در جدول ۱ آورده شده است.

استفاده از جیره آغارین از سن ۱۴ روزگی شروع شده و

جدول ۱. ترکیبات مواد مغذی و انرژی شیر میش و جایگزین شیر مورد استفاده

ترکیب	شیر میش	جایگزین شیر
کل ماده خشک (درصد)	۱۷/۹۸	۱۷/۲۶
پروتئین (درصد)	۲۶/۳۱	۲۴/۶۸
چربی (درصد)	۲۸/۹۸	۲۷/۲۹
انرژی قابل هضم (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک)	۳/۷	۳/۵

جدول ۲. نسبت مواد خوراکی، مواد مغذی و انرژی کنسانتره آغازین مورد استفاده

اجزا	مقدار
دانه ذرت (درصد)	۲۸
دانه جو (درصد)	۳۹
سبوس گندم (درصد)	۱۷
کنجاله سویا (درصد)	۱۴/۴
مکمل معدنی - ویتامینی (درصد)	۰/۵
پودر صدف (درصد)	۰/۵
دی کلسیم فسفات (درصد)	۰/۳
نمک (درصد)	۰/۳
پروتئین خام (درصد)	۱۷/۱۱
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری در کیلوگرم)	۲/۹۳
کلسیم (درصد)	۰/۵۸
فسفر (درصد)	۰/۳۴

ادارار دفع می‌شود (در گاو این ضریب ۰/۸۵ می‌باشد)،
 $X =$ مشتقات پورینی دفعی ادارار با منشاء میکروبی (میلی مول در روز)،
 $W^{0.75} =$ وزن متابولیکی بر حسب کیلوگرم،
 ۰/۱۵ = میلی مول پورین دفعی ادارار با منشا داخلی به ازای هر کیلوگرم وزن متابولیکی،
 ۰/۸۳ = قابلیت جذب پورین‌های میکروبی،
 ۷۰ = میلی گرم نیتروژن هر مول پورین‌ها و ۰/۱۱۶ = نسبت نیتروژن پورینی به کل نیتروژن میکروبی است.

روش آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل ۳ × ۲ (مدل شماره ۱) بوده و مدل شامل اثرات غذای مایع (شیر مادر یا جایگزین شیر) و جیره آغازین (سه جیره با نسبت علوفه و کنسانتره مختلف) بوده،

شاخص‌های سنتز پروتئین میکروبی مشتقات پورینی با منشاء میکروبی (X) بر اساس معادله ۱ و نیتروژن میکروبی تامین شده (بر حسب گرم در روز) بر اساس معادله شماره ۲ محاسبه شد (۴، ۱۳ و ۱۴).

$$Y = 0.84 X + 0.15 W^{0.75} \times e^{-0.25x} \quad [1]$$

Microbial N (g N / d)

$$= X (\text{mmol / d}) \times 70 / (0.116) \times 0.83 \times 1000 \quad [2]$$

$$= 0.727 X$$

که در این معادلات: Y = مجموع مشتقات پورینی دفعی ادارار (میلی مول در روز)، ضریب ۰/۸۴ = میزان پورین‌های جذب شده‌ای که به صورت ترکیبات پورینی در گوسفند از طریق

بیشتر و در نتیجه کاهش pH مایع شکمبه می‌شود (۸، ۹، ۲۷ و ۲۸).

میانگین کل اسیدهای چرب فرار تولیدی در بره‌های تغذیه شده با شیر میش ۲۲۳/۶۵ و جایگزین شیر ۲۳۴/۴۸ میلی‌مول در لیتر مایع شکمبه بوده و تفاوت معنی‌داری نداشتند. میانگین کل اسیدهای چرب فرار تولیدی در بره‌های تغذیه شده با جیره آغازین دارای ۱۰۰، ۶۷ و ۳۳ درصد کنسانتره به ترتیب ۲۴۸/۶۷، ۲۲۴/۶۸ و ۲۱۳/۶۷ میلی‌مول در لیتر مایع شکمبه بوده و اختلاف بین میانگین کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره آغازین دارای ۱۰۰ درصد کنسانتره در مقایسه با دو جیره آغازین دیگر معنی‌دار ($P < 0.01$) بود، ولی میانگین اثرات متقابل بین دو عامل تفاوت معنی‌دار نداشت. تغذیه بره‌های شیرخوار با جیره آغازین مناسب و افزایش مصرف خوراک جامد سبب توسعه فرآیندهای تخمیر مواد آلی و تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه می‌شود. مصرف جیره آغازین دارای مواد کنسانتره‌ای مانند دانه غلات، در مقایسه با جیره محتوی علوفه، سبب افزایش فعالیت تخمیر میکروبی و در نتیجه تولید بیشتر اسیدهای چرب فرار به خصوص اسید بوتیریک و اسید پروپیونیک می‌گردد (۹، ۱۵، ۲۳، ۲۷ و ۲۸). این اسیدها برای تحریک رشد پرزها، رشد اپیتلیوم‌ها و افزایش قطر دیواره شکمبه لازم است (۱۶ و ۲۰).

میانگین میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در بره‌های تغذیه شده با شیر میش ۲۴/۰۵ و جایگزین شیر ۲۳/۰۴ میلی‌گرم در دسی لیتر بوده و که از لحاظ آماری متفاوت نبودند. میانگین میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آغازین دارای ۱۰۰، ۶۷ و ۳۳ درصد کنسانتره به ترتیب ۲۳/۷۰، ۲۴/۰۸ و ۲۳/۳۷ میلی‌گرم در دسی لیتر بود، به طوری که سطح کنسانتره جیره‌های آغازین تأثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آغازین نداشت. میانگین اثرات متقابل بین دو عامل هم اختلاف معنی‌دار نداشت. با توسعه شکمبه و افزایش قدرت تخمیر مواد نیتروژنه به‌وسیله میکروب‌های موجود، میزان نیتروژن

فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه و سرم خون با در نظر گرفتن اثر زمان رکوردبرداری به روش طرح اندازه‌گیری تکرار شده (مدل شماره ۲) بودند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SAS (۲۴) تجزیه و تحلیل آماری شده و میانگین‌ها به روش توکی مورد مقایسه قرار گرفتند.

$$\chi_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk} \quad ۱$$

$$\chi_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + tk + \epsilon_{ijk} \quad ۲$$

که در آنها: χ_{ijk} = مشاهده مربوط به تکرار ام از هر تیمار، μ = میانگین کل مشاهدات، α_i = اثر غذای مایع (شیرمیش و جایگزین شیر)، β_j = اثر جیره آغازین، $\alpha\beta_{ij}$ = اثر متقابل غذای مایع در جیره آغازین، tk = اثر زمان رکوردبرداری و ϵ_{ijk} = باقی‌مانده یا خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه

در جداول ۳ تا ۵ میانگین آثار و انحراف استاندارد تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه، خون، کراتینین، پورین‌های ادرار و شاخص‌های سنتز پروتئین میکروبی شکمبه نشان داده شده است. میانگین pH مایع شکمبه در بره‌های تغذیه شده با شیر میش ۶/۳۴ و جایگزین شیر ۶/۲۹ بوده که از لحاظ آماری متفاوت نبود. میانگین pH مایع شکمبه در بره‌های تغذیه شده با جیره آغازین دارای ۱۰۰، ۶۷ و ۳۳ درصد کنسانتره به ترتیب ۶/۱۲، ۶/۳۹ و ۶/۴۴ بوده و میانگین pH مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با جیره آغازین دارای ۱۰۰ درصد کنسانتره از دو جیره دیگر به طور معنی‌داری ($P < 0.01$) کمتر بود، ولی میانگین آثار متقابل بین دو عامل اختلاف معنی‌دار نداشت. در طی توسعه شکمبه در مرحله عبور شیرخواران از هضم تک معده‌ای به هضم میکروبی، تغذیه بره‌های شیرخوار با جیره آغازین مناسب و افزایش مصرف خوراک جامد در توسعه فرآیندهای تخمیری شکمبه مؤثر است. تغذیه بره‌های شیرخوار با دانه غلات زیاد، در مقایسه با جیره دارای علوفه، سبب افزایش فعالیت تخمیر میکروبی، تولید اسیدهای چرب فرار

جدول ۳. میانگین اثر شیر میش و جایگزین شیر بر فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه، خون، پورین‌های ادرار و شاخص‌های سنتز پروتئین میکروبی در بره‌های شیرخوار

صفیات	شیر میش	جایگزین شیر	انحراف استاندارد (SE)	سطح احتمال (P)
pH مایع شکمبه	۶/۳۴	۶/۲۹	۰/۰۴۸	۰/۴۱۶
کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه (میلی مول در لیتر)	۲۲۳/۶۵	۲۳۴/۴۸	۵/۷۱۸	۰/۰۹۱
نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۴/۰۵	۲۳/۰۴	۰/۴۳۹	۰/۱۰۱
نیتروژن اوره ای خون (میلی گرم در دسی لیتر)	۵/۵۰	۵/۲۶	۰/۲۹	۰/۰۷۱
بتا هیدروکسی بوتیرات خون (میلی مول در لیتر)	۲۳/۶۴	۲۱/۵۹	۰/۳۹۸	۰/۱۳۷
کراتینین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۱/۶۰	۱/۴۵	۰/۰۹	۰/۲۹۲
آلانتوئین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۲/۰۸	۲/۰۲	۰/۱۳	۰/۷۴۶
اسید اوریک دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۰/۴۶	۰/۴۵	۰/۰۳	۰/۸۵۲
گراتین و هیپوگراتین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۰۱	۰/۸۷۶
نسبت آلانتوئین به کراتینین دفعی ادرار	۱/۳۰	۱/۳۸	۰/۰۵	۰/۲۴۵
دفع مشتقات پورینی ادرار (میلی مول در روز)	۲/۷۷	۲/۵۹	۰/۱۲	۰/۳۳۰
پورین های میکروبی ادرار (میلی مول در روز)	۱/۱۲	۱/۱۱	۰/۱۲	۰/۹۶۴
نیتروژن میکروبی تولید شده (گرم در روز)	۰/۸۲	۰/۸۱	۰/۰۹	۰/۹۵۱

جدول ۴. میانگین اثر جیره‌های آغازین بر فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه، خون، پورین‌های ادرار و شاخص‌های سنتز پروتئین میکروبی در بره‌های شیرخوار

صفیات	آغازین دارای ۱۰۰ درصد کنسانتره	آغازین دارای ۶۶ درصد کنسانتره	آغازین دارای ۳۳ درصد کنسانتره	انحراف استاندارد (SE)	سطح احتمال (P)
pH مایع شکمبه	۶/۱۲ ^b	۶/۳۹ ^a	۶/۴۴ ^a	۰/۰۵۹	۰/۰۰۱
کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه (میلی مول در لیتر)	۲۴۸/۶۷ ^a	۲۲۴/۶۸ ^b	۲۱۳/۶۷ ^b	۴/۵۵۳	۰/۰۰۱
نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۳/۷۰	۲۴/۰۸	۲۳/۳۷	۰/۵۳۸	۰/۵۶۳
نیتروژن اوره ای خون (میلی گرم در دسی لیتر)	۵/۴۴	۵/۴۲	۵/۲۸	۰/۱۹	۰/۵۵۵
بتا هیدروکسی بوتیرات خون (میلی مول در لیتر)	۲۳/۳۱ ^a	۲۱/۶۳ ^b	۲۱/۹۰ ^b	۰/۱۲۸	۰/۰۴۷
کراتینین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۱/۵۷	۱/۶۰	۱/۴۷	۰/۱۱	۰/۱۱۵
آلانتوئین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۲/۲۴	۱/۹۰	۲/۰۳	۰/۱۵	۰/۳۲۶
اسید اوریک دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۰/۵۱	۰/۴۱	۰/۴۵	۰/۳۵	۰/۲۰۴
گراتین و هیپوگراتین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۲۱	۰/۰۱	۰/۲۲۱
نسبت آلانتوئین به کراتینین دفعی ادرار	۱/۴۲ ^a	۱/۱۹ ^c	۱/۳۷ ^b	۰/۲۶	۰/۰۱۲
دفع مشتقات پورینی ادرار (میلی مول در روز)	۲/۹۸ ^a	۲/۳۱ ^c	۱/۷۳ ^b	۰/۱۵	۰/۰۲۴
پورین های میکروبی ادرار (میلی مول در روز)	۱/۲۹ ^a	۰/۹۶ ^b	۰/۹۸ ^b	۰/۱۵	۰/۰۳۴
نیتروژن میکروبی تولید شده (گرم در روز)	۰/۹۴ ^a	۰/۷۰ ^b	۰/۷۱ ^b	۰/۱۱	۰/۰۴۲

* : حروف a, b, و c در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هستند.

جدول ۵. میانگین اثر متقابل نوع شیر مصرفی و سطح کنسانتره جیره‌های آغازین بر فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه، خون، پورین‌های ادرار و شاخص‌های سنتز پروتئین میکروبی در بره‌های شیرخوار

صفت	شیر میش		جایگزین شیر			انحراف استاندارد (SE)	سطح احتمال (P)
	آغازین با ۶۶ درصد کنسانتره	آغازین با ۳۳ درصد کنسانتره	آغازین با ۱۰۰ درصد کنسانتره	آغازین با ۶۶ درصد کنسانتره	آغازین با ۳۳ درصد کنسانتره		
pH مایع شکمبه	۶/۲۷	۶/۴۸	۶/۳۸	۶/۲۷	۶/۲۰	۰/۱۸۴	۰/۰۶۷
کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه (میلی مول در لیتر)	۲۲۶/۶۷	۲۱۳/۳۳	۲۲۰/۹۴	۲۳۲/۶۷	۲۴۴/۳۹	۰/۴۴۰	۰/۰۹۱
نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۳/۶۷	۲۴/۶۹	۲۴/۷۹	۲۳/۷۳	۲۲/۴۷	۰/۷۶۰	۰/۰۷۸
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی گرم در دسی لیتر)	۵/۹۴	۵/۶۱	۵/۳۶	۴/۹۴	۵/۲۴	۰/۳۲	۰/۰۹۹
بتا هیدروکسی بوتیرات خون (میلی مول در لیتر)	۲۴/۲۸	۲۲/۱۹	۲۲/۴۵	۲۲/۳۴	۲۱/۰۷	۰/۶۹۰	۰/۳۶۲
کراتینین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۱/۳۴	۱/۶۵	۱/۸۰	۱/۵۶	۱/۱۵	۰/۱۵۵	۰/۱۰۳
آلانتوئین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۲/۲۳	۲/۰۳	۱/۹۹	۲/۲۴	۱/۷۷	۰/۲۱۸	۰/۷۴۱
اسید اوریک دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۰/۴۹	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۵۳	۰/۳۷	۰/۴۹۹	۰/۴۹۳
گزاتین و هیپوگزانتین دفعی ادرار (میلی مول در روز)	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۲۳	۰/۱۹	۰/۰۱۷	۰/۴۵۵
نسبت آلانتوئین به کراتینین دفعی ادرار	۱/۶۶	۱/۲۳	۱/۱۰	۱/۴۳	۱/۵۴	۰/۱۸۵	۰/۲۰۴
دفع مشتقات پورینی ادرار (میلی مول در روز)	۲/۹۵	۲/۶۹	۲/۶۶	۳/۰۲	۲/۳۳	۰/۲۱۶	۰/۶۰۲
پورین‌های میکروبی ادرار (میلی مول در روز)	۱/۲۴	۱/۰۸	۱/۰۴	۱/۳۴	۰/۸۴	۰/۲۰۸	۰/۶۳۸
نیتروژن میکروبی تولید شده (گرم در روز)	۰/۹۰	۰/۷۹	۰/۷۶	۰/۹۸	۰/۶۱	۰/۱۵۱	۰/۶۰۵

(۲۷ و ۲۸) بود.

متابولیت‌های سرم خون

میانگین نیتروژن اوره‌ای سرم خون در بره‌های تغذیه شده با شیر میش ۵/۵۰ و جایگزین شیر ۵/۲۶ میلی‌گرم در دسی لیتر بود و

آمونیاکی مایع شکمبه افزایش می‌یابد (۹ و ۲۳). در این آزمایش جیره‌های آغازین مورد استفاده در تغذیه بره‌های شیرخوار تأثیری بر میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه تأثیر نداشت و نتیجه به دست آمده در این مطالعات با نتایج برخی محققین (۹ و ۲۳) مطابقت نداشت، ولی مشابه نتایج مطالعات محققین دیگر

تفاوت آماری معنی دار نداشتند. میانگین نیتروژن اوره‌ای سرم خون در بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آغازین دارای ۱۰۰، ۶۷ و ۳۳ درصد کنسانتره به ترتیب ۵/۴۴، ۵/۴۴۷ و ۵/۲۸ میلی‌گرم در دسی لیتر بوده، به طوری که بین میانگین نیتروژن اوره‌ای سرم خون بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آغازین اختلاف آماری معنی دار وجود نداشت. میانگین آثار متقابل بین تیمارهای آزمایشی در میزان نیتروژن اوره‌ای سرم خون متفاوت نبود. در این آزمایش افزایش نسبت مواد کنسانتره‌ای حاوی دانه غلات به علوفه جیره آغازین بره‌های شیرخوار تأثیری در میزان ازت اوره‌ای خون نداشت، که با نتیجه به‌دست آمده در مطالعه دیگر (۶) متفاوت بوده و احتمالاً به دلیل سن پایین بره‌ها و عدم توسعه کافی دستگاه گوارش آنها در این آزمایش می‌باشد (۲۶).

میانگین میزان بتا هیدروکسی بوتیرات سرم خون در بره‌های تغذیه شده با شیر میش ۲۳/۶۴ و جایگزین شیر ۲۱/۵۹ میلی‌مول در لیتر بوده و بین اثر این دو ماده غذایی در میزان بتا هیدروکسی بوتیرات سرم خون تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. میانگین میزان بتا هیدروکسی بوتیرات سرم خون در بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آغازین دارای ۱۰۰، ۶۷ و ۳۳ درصد کنسانتره به ترتیب ۲۳/۳۱، ۲۱/۶۳ و ۲۱/۹۰ میلی‌مول در لیتر بود، که نشان می‌دهد افزایش سطح کنسانتره در جیره‌های آغازین بره‌های شیرخوار باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0/05$) در میزان بتا هیدروکسی بوتیرات سرم خون بره‌ها شده، ولی اثر متقابل بین دو عامل متفاوت نبود. برخی محققین (۸، ۱۵، ۱۶ و ۲۳) گزارش کردند که با افزایش سطح دانه غلات و مواد کنسانتره ای در جیره آغازین بره‌های شیرخوار باعث افزایش تولید اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک می‌شود، در نتیجه غلظت بتا هیدروکسی بوتیرات افزایش یافته و سبب توسعه بهتر شکمبه (افزایش اندازه و تراکم پرزها) می‌گردد.

کراتینین، پورین‌های ادرار و شاخص‌های سنتز پروتئین میکروبی شکمبه

میانگین کراتینین دفعی ادرار در بره‌های تغذیه شده با شیر میش

و جایگزین شیر به ترتیب ۱/۶۰ و ۱/۴۵ میلی‌مول در روز بوده و از لحاظ آماری متفاوت نبودند. میانگین کراتینین دفعی ادرار در بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آغازین دارای ۱۰۰، ۶۷ و ۳۳ درصد کنسانتره به ترتیب ۱/۵۷، ۱/۶۰ و ۱/۴۷ میلی‌مول در روز بوده و سطح کنسانتره در جیره‌های آغازین تأثیر معنی‌داری بر مقدار کراتینین دفع شده از طریق ادرار نداشت. میانگین آثار متقابل بین دو عامل تفاوت معنی‌دار نداشت. میانگین ترکیبات پورینی آلانتوین، اسید اوریک و گزانتین با هیپوگزانتین ادرار در بره‌های تغذیه شده با شیر میش به ترتیب ۲/۰۸، ۰/۴۶ و ۰/۲۲ و در بره‌های تغذیه شده با جایگزین شیر ۲/۰۲، ۰/۴۵ و ۰/۲۱ میلی‌مول در روز بوده و نوع شیر تغذیه شده تأثیری بر آلانتوین، اسید اوریک و گزانتین با هیپوگزانتین دفعی ادرار نداشت. میانگین آلانتوین، اسید اوریک و گزانتین با هیپوگزانتین دفعی ادرار در بره‌های تغذیه شده با جیره آغازین دارای ۱۰۰ درصد کنسانتره به ترتیب ۲/۲۴، ۰/۵۱ و ۰/۲۳ و در جیره ۶۷ درصد کنسانتره ۱/۹۰، ۰/۴۱ و ۰/۲۰ و در جیره ۳۳ درصد کنسانتره ۲/۰۳، ۰/۴۵ و ۰/۲۱ میلی‌مول در روز بوده و تفاوت بین میانگین‌های به‌دست آمده در بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آغازین از لحاظ آماری متفاوت نبود. میانگین آثار متقابل بین دو عامل هم اختلاف معنی‌دار نداشت. مقدار تولید و نسبت مشتقات پورینی با تغییر نسبت علوفه به کنسانتره متفاوت بوده و با افزایش کنسانتره میزان آلانتوین بیشتر شده و شاخص افزایش سنتز پروتئین میکروبی بیشتر است (۳، ۲۳، ۲۷ و ۲۸)، ولی در این آزمایش مقدار تولید ترکیبات پورینی ادرار در بره‌های شیرخوار تغذیه شده با سطوح مختلف کنسانتره جیره آغازین متفاوت نبود. دلیل این نتیجه در اثر تفاوت سن بره‌ها در این آزمایش با مطالعات ذکر شده بوده و در بره‌های شیرخوار عدم توسعه کافی دستگاه گوارش، تخمیر میکروبی مواد خوراکی سبب سنتز کمتر ترکیبات پورینی دفعی ادرار در مقایسه با گوسفندان بالغ می‌شود (۳ و ۱۵).

نوع شیر مصرفی تأثیری بر میانگین نسبت آلانتوین به کراتینین در بره‌های شیرخوار نداشت. میانگین نسبت آلانتوین

پورینی ادرار و و پورین‌های دفعی ادرار با منشاء میکروبی بیشتر می‌شود (۱۳، ۲۷ و ۲۸).

میانگین نیتروژن میکروبی در بره‌های تغذیه شده با شیر میش ۰/۸۲ و جایگزین شیر ۰/۸۱ گرم در روز بوده و تحت تأثیر نوع شیر مصرفی قرار نگرفت. با افزایش سطح کنسانتره جیره آغازین میزان نیتروژن میکروبی در بره‌ها به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) افزایش یافت، ولی اثر متقابل نوع شیر مصرفی و سطح کنسانتره جیره‌های آغازین تأثیری بر میزان ازت میکروبی نداشت. محققین (۱۳، ۲۷ و ۲۸) نشان دادند که با افزایش میزان کنسانتره جیره آغازین افزایش دفع ترکیبات پورینی ادرار حاصل فعالیت میکروبی، ازت میکروبی دفعی و در نتیجه سنتز پروتئین میکروبی بیشتر می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که تغذیه بره‌های شیرخوار با جایگزین شیر در مقایسه با بره‌های تغذیه شده با شیر میش، هیچ تأثیری بر فراسنجه‌های تخمیری مایع شکمبه، سرم خون و سنتز پروتئین میکروبی نداشت و می‌توان از جایگزین شیر در شرایطی مانند زود از شیرگیری، کمبود شیر در میش‌های دو یا چند قلوزا و در تلفات یا بیماری میش مادر استفاده نمود. سطوح بالای کنسانتره جیره آغازین بره‌های شیرخوار نسبت به جیره آغازین علوفه‌ای، سبب سنتز پروتئین میکروبی بیشتر و بهبود برخی فراسنجه‌های تخمیری شکمبه و خون می‌شود.

به کراتینین در بره‌های تغذیه شده با جیره‌های آغازین دارای ۱۰۰، ۶۷ و ۳۳ درصد کنسانتره به ترتیب ۱/۴۲، ۱/۱۹ و ۱/۳۷ بوده و تفاوت بین نسبت آلانتوین به کراتینین بره‌های تغذیه شده با هر سه جیره آغازین معنی‌دار بود ($P < 0/05$)، در حالی که اثرات متقابل بین دو عامل در نسبت آلانتوین به کراتینین معنی‌دار نبود. در این مطالعه با افزایش میزان کنسانتره جیره آغازین و کاهش نسبت علوفه آن در بره‌های شیرخوار نسبت آلانتوین به کراتینین افزایش یافته که در اثر افزایش تخمیر و تجزیه میکروبی مواد خوراکی در شکمبه و تامین پروتئین میکروبی بیشتر است (۲۱، ۲۷ و ۲۸).

میانگین مجموع پورین‌های دفعی ادرار در بره‌ها تحت تأثیر نوع شیر مصرفی قرار نگرفت. در حالی که سطح کنسانتره جیره آغازین در آن تأثیر داشت ($P < 0/05$) و مجموع پورین‌های دفعی ادرار در بره‌های تغذیه شده با جیره آغازین دارای ۱۰۰ درصد کنسانتره از بره‌های تغذیه شده با دو جیره دیگر بیشتر بود. اثر متقابل دو عامل در ترکیبات پورینی ادرار بی‌تأثیر بود. میانگین مشتقات پورینی دفعی با منشاء میکروبی در بره‌های تغذیه شده با شیر میش ۱/۱۲ و جایگزین شیر ۱/۱۱ میلی‌مول در روز بود و از لحاظ آماری تفاوت نداشت، ولی به طور معنی‌داری ($P < 0/05$) تحت تأثیر سطح کنسانتره جیره‌های آغازین قرار گرفت و با جیره دارای ۱۰۰ درصد کنسانتره بالاترین مقدار مشتقات پورینی دفعی با منشاء میکروبی به‌دست آمد. اثر متقابل این دو عامل بر پورین‌های میکروبی معنی‌دار نبود. تحقیقات نشان داد که با افزایش میزان کنسانتره جیره آغازین افزایش دفع مجموع ترکیبات

منابع مورد استفاده

1. Association Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. Official Methods of Analysis 16th ed., Washington, DC, USA.
2. Broderick, G. A. and N. R. Merchen. 1992. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. J. Dairy Sci. 75:2618-2632.
3. Chen, X. B., Y. K. Chen, M. F. Franklin, E. R. Orskov and W. J. Shand. 1992. The effect of feed intake and body weight on purine derivative excretion and microbial protein supply in sheep. J. Anim. Sci. 70: 1534-1542.
4. Chen, X. B. and M. J. Gomes. 1995. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives. International Feed Resources Unit, Rowett Research Institute, Aberdeen, UK.
5. Chen, X. B. and E. R. Oreskov. 2004. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future, International feed resources unit, Macaulary Land Research Institute, Aberdeen, UK.

6. Daura, M. T. R. L. Reid. 1991. Energy and protected protein supplements to lamb on endophyte-infected tall fescue pasture. *J. Anim. Sci.* 69: 35-368.
7. Emsen, E., M. Yaprak, O. C. Bilgin and H. W. Ockerman. 2004. Growth performance of Awassi lambs fed milk replacer. *Small Rum. Res.* 53: 99-102.
8. Fimbers, H., J. R. kawas, G. Picon-Rubio and C. D. Lu. 2002. Nutrient intake, digestibility, mastication and ruminal fermentation of lambs fed finishing ration with various forage levels. *Small Rum. Res.* 43: 275-281.
9. Hart, S. P. and H. A. Glimp. 1991. Effect of diet composition and feed intake level on diet digestibility and ruminal metabolism in growth lambs. *J. Anim. Sci.* 69: 1636 – 1644.
10. Heany, D. P., J. N. P. Shrestha and H. F. Peters. 1982a. Performance of lambs fed milk replacers having two levels of fat. *Can. J. Anim. Sci.* 62:837-843.
11. Heany, D. P., J. N. P. Shrestha and H. F. Peters. 1982b. Potential alternatives to lamb milk replacer for the artificial rearing of lambs. *Can. J. Amer. Sci.* 62: 1135 - 1142.
12. Heany, D. P., J. N. P. Shrestha and H. F. Peters. 1984. Post weaning performance of artificially reared lambs weaned at 21 versus 28 days of age under two post-weaning housing regimes. *Can. J. Anim. Sci.* 64: 667 - 678.
13. Horadagoda, A., W.J. Fulkerson, I. Barchia, R.C. Dobos and K.S. Nandra. 2008. The effect of grain species, processing and time of feeding on the efficiency of feed utilization and microbial protein synthesis in sheep. *Lives. Sci.* 114: 117–126.
14. International Atomic Energy Agency (IAEA). 1997. Estimation of Rumen Microbial Protein Production from Purine Derivatives in Urine. IAEA Pub., USA.
15. Lane, M. A., R. L. Baldwin and B. W. Jesse. 2000. Sheep rumen metabolic development in response to age and dietary treatments. *J. Anim. Sci.* 78: 1990–1996.
16. Lane, M. A. and B. W. Jesse. 1997. Effect of volatile fatty acid infusion on development of the rumen epithelium in neonatal sheep. *J. Dairy Sci.* 80: 740-744.
17. Morrill, J. L. and A. M. Feyerherm. 1995. Plasma protein and a probiotic as ingredients in milk replacer. *J. Dairy Sci.* 78: 902–907.
18. National Research Council (NRC). 1985. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep and Goats. National Academies Press, Washington DC., USA.
19. Nockels, C. F., L. D. Kintner and W. H. Pfander. 1966. Influence of ration on morphology, histology and trace mineral content of sheep rumen papilla. *J. Dairy Sci.* 49: 1068-1074.
20. Odongo, N. E., O. Alzahal, M. I. Lindinger, T. F. Duffied, E. V. Valdes, S. P. Terrell and B. W. McBride. 2006. Effects of mild heat stress and grain challenge on acid-base balance and rumen tissue histology in lambs. *J. Anim. Sci.* 84:447-455.
21. Obispo, N. E. and B. A. Dehority. 1999. Feasibility of using total purines as a marker for ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.* 77: 3084–3095.
22. Perez, J. F., J. Balcells, J. A. Guda and C. Castrillo. 1996. Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using 15N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. *Brit. J. Nutr.* 75: 699-709.
23. Poe, S. E., D. G. Ely, G. E. Mitchell, H. A. Glimp and W. P. Deweese. 1971. Rumen development in lambs, II. Rumen metabolite changes. *J. Anim. Sci.* 32: 989-993.
24. SAS Institute. 1986. The SAS system for windows release 6.12. SAS Institute Inc., USA.
25. Tebot, I., A. Britos, J. M. Godeau and A. Cirio. 2002. Microbial protein production determined by urinary allantoin and renal urea sparing in normal and low protein fed sheep. *Vet. Res.* 33: 101–106.
26. Torell, D. T., I. D. Hume and W. C. Weir. 1974. Factors affecting blood urea nitrogen and its use as an index of the nutritional status of sheep. *J. Anim. Sci.* 39: 435-440.
27. Yanez Ruiz, D. R., A. I. Martin Garcia, A. Moumen and A. E. Molina. 2004a. Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population and urinary purine derivatives excretion in goat and wethers fed diets based on olive leaves. *J. Anim. Sci.* 82: 3006 – 3014.
28. Yanez Ruiz, D. R., A. Moumen, A. I. Martin Garcia and A. E. Molina. 2004b. Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population and urinary purine derivatives excretion in goat and wethers fed diets based on two-stage olive cake: effect of PEG supply. *J. Anim. Sci.* 82: 2023 – 2032.