

تأثیر میوه بلوط و سطح متیونین جیره بر عملکرد تولیدی، وزن برخی اندام‌ها و ویژگی‌های استخوان درشت‌نی در مرغ گوشتی

فاطمه ندایی^۱، محمد هوشمند^{۲*}، سیامک پارسایی^۲ و مهرداد معمار^۲
۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۲۴)

چکیده

تأثیر سطوح ۰، ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط به‌عنوان جایگزین ذرت در جیره‌های حاوی متیونین سطح توصیه‌شده توسط NRC (1994) و دو برابر سطح توصیه‌شده توسط NRC (1994) بر عملکرد تولیدی مرغ گوشتی با استفاده از ۵۲۸ قطعه جوجه یک‌روزه سویه کاب ۵۰۰ در قالب آزمایش فاکتوریل ۲×۳ بر پایه طرح کامل تصادفی با چهار تکرار و ۲۲ قطعه جوجه در هر تکرار بررسی شد. در همه دوره‌های آزمایش، جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط، افزایش وزن کمتر و ضریب تبدیل غذایی بالاتری در مقایسه با پرندگان دریافت‌کننده جیره بدون میوه بلوط داشتند ($P < 0.05$). افزایش سطح متیونین جیره به میزان دو برابر میزان توصیه‌شده توسط NRC (1994)، مصرف خوراک و افزایش وزن بدن در دوره پایانی و کل دوره آزمایش را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.05$). اثر متقابل معنی‌داری بین سطح استفاده از میوه بلوط و متیونین جیره در مورد فراسنجه‌های عملکرد مشاهده نشد. استفاده از ۲۰ درصد میوه بلوط در جیره بر برخی ویژگی‌های استخوان درشت‌نی تأثیر نامطلوب داشت ($P < 0.05$). به‌طور کلی، جایگزینی ۱۵ و ۲۰ درصد ذرت جیره با میوه بلوط باعث کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی شد و افزایش سطح متیونین جیره نتوانست از این وضعیت جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: بلوط، تانن، جوجه‌های گوشتی، عملکرد، متیونین.

Effect of oak acorn and dietary methionine level on performance, some organs weight and tibia characteristics in broiler chicken

Fatemeh Nedaei¹, Mohammad Houshmand^{2*}, Siamak Parsaei² and Mehrdad Meamar²

1, 2. M. Sc. Student and Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Iran
(Received: Feb. 6, 2017 - Accepted: Jul. 15, 2017)

ABSTRACT

The effects of replacing 0, 15 and 20 of corn by percent oak acorn (OA), in diets containing recommended and twice recommended level of methionine by NRC (1994) on performance of broilers were investigated. 528 one-day-old Cobb 500 broiler chicks in a 2×3 factorial arrangement based on completely randomized design with four replicates of 22 chicks were used. Chicks fed with diets containing 15 and 20 percent OA had lower body weight gain and higher feed conversion ratio compared to those fed with diet without OA, in all experimental periods ($P < 0.05$). The increasing dietary methionine level as Twice as NRC (1994) recommendation reduced feed intake and body weight gain in finisher and overall experimental periods significantly ($P < 0.05$). No significant interaction was observed between dietary OA utilization and methionine for performance parameters. The 20 percent dietary OA utilization had undesirable effect on some tibia characteristics ($P < 0.05$). Generally, the substitution of 15 and 20 percent of dietary corn with OA resulted in reduction in broilers performance and increasing the dietary level of methionine could not prevent this situation.

Keywords: Broilers, methionine, oak acorn, tannin, performance.

* Corresponding author E-mail: hooshmand@yu.ac.ir

مقدمه

ذرت و کنجاله سویا متداولترین مواد خوراکی مورد استفاده در جیره‌های طیور، در بسیاری از مناطق جهان هستند. برخی کشورها از جمله ایران، در زمینه تأمین این مواد خوراکی به واردات وابسته‌اند. بنابراین، شناسایی و یافتن مواد خوراکی جایگزین می‌تواند از نظر اقتصادی و تغذیه‌ای اهمیت داشته باشد (Rezaei & Semnaninejad, 2016). در برخی نقاط جهان از جمله آفریقا و کشورهای مدیترانه‌ای به دلیل وسعت جنگل‌های بلوط و در دسترس بودن مقادیر فراوان میوه آن، از میوه این درخت در تغذیه حیوانات اهلی استفاده می‌شود (Bouderoua *et al.*, 2009). بیش از ۵۰ درصد جنگل‌های ایران را درختان بلوط تشکیل می‌دهند (Rezaei & Semnaninejad, 2016). درخت بلوط یکی از مهم‌ترین و فراوان‌ترین گونه درختی موجود در غرب کشور، به‌ویژه منطقه زاگرس است که میزان زیادی میوه بلوط (*Oak acorn*) تولید می‌کند (Rahmani & Abarghoui, 2005). میوه بلوط مقادیر بالایی کربوهیدرات و به‌ویژه نشاسته (۴۷ تا ۶۰ درصد) داشته و به همین دلیل می‌تواند به‌عنوان منبع انرژی در تغذیه دام و طیور استفاده شود (Bouderoua *et al.*, 2009). با توجه به موارد بیان‌شده، در برخی پژوهش‌ها از این ماده خوراکی در جیره غذایی طیور استفاده شده است (Varmaghani *et al.*, 2006; Houshmand *et al.*, 2015; Sinaei & Houshmand, 2015).

متأسفانه، به‌رغم تولید مقادیر زیادی میوه بلوط و ارزش غذایی آن، استفاده از این ماده خوراکی در جیره غذایی طیور با محدودیت‌هایی روبه‌رو است. مهم‌ترین دلیل محدودیت مصرف میوه بلوط، وجود مقادیر بالایی از تانن‌ها در این ماده خوراکی است. تانن‌ها، ترکیب‌های فنولی پیچیده با وزن مولکولی متفاوت (۵۰۰ تا ۳۰۰۰ دالتون) و قابل‌حل در آب هستند و به‌عنوان گروهی از عامل‌های ضد تغذیه‌ای، تأثیر زبان‌آوری بر دام‌ها و طیور دارند (Jansman, 1993). از مهم‌ترین اثرگذاری‌های نامطلوب آن‌ها بر جوجه‌های گوشتی می‌توان به کاهش انرژی قابل سوخت‌وساز جیره، کاهش قابلیت هضم و استفاده از پروتئین و نشاسته (Mahmood *et al.*, 2008)، کاهش

خوش‌خوراکی و در نتیجه کاهش مصرف خوراک (Jansman, 1993) و در نهایت کاهش عملکرد (Rezaei & Semnaninejad, 2016) اشاره کرد.

از سوی دیگر، تانن‌ها تأثیر نامطلوبی بر قابلیت استفاده از مواد کانی مانند کلسیم و فسفر جیره دارند (Hassan *et al.*, 2003). با توجه به نقش بسیار مهم مواد کانی و به‌ویژه کلسیم و فسفر در سلامت استخوان‌ها، تغذیه با جیره‌های غنی از تانن می‌تواند بروز ناهنجاری‌های ساختار بدنی (اسکلتی) را افزایش داده و تأثیر نامطلوبی بر ویژگی‌های استخوان درشتنی داشته باشد (Elkin *et al.*, 1978).

با توجه به تأثیر نامطلوب تانن‌ها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی، یافتن راه‌کار مناسب برای کاهش این اثرگذاری‌ها، اهمیت زیادی دارد. یکی از راه‌کارهای پیشنهادی در این زمینه، دست‌کاری سطح مواد مغذی جیره است. نشان داده شده است که افزودن متیونین، کولین و دیگر ترکیب‌های دهنده گروه متیل به جیره، تأثیر زیان‌بار تانن‌ها را کاهش می‌دهد (Potter & Fuller, 1968). یافته‌های یک پژوهش نشان داد که تغذیه جوجه‌های گوشتی با سورگوم حاوی تانن بالا عملکرد را کاهش داد. افزودن ۰/۱۵ درصد دی‌ال متیونین به جیره از این کاهش جلوگیری کرد (Elkin *et al.*, 1978). با توجه به کمبود اطلاعات در زمینه سطح بهینه استفاده از میوه بلوط در جیره جوجه‌های گوشتی و همچنین تأثیر سودمند احتمالی متیونین بر بهبود ارزش تغذیه‌ای این ماده خوراکی غنی از تانن، این پژوهش به‌منظور تعیین سطح مناسب استفاده از میوه بلوط و همچنین بررسی قابلیت تأثیر احتمالی متیونین در کاهش تأثیر نامطلوب این ماده خوراکی، انجام شد.

مواد و روش‌ها

میوه بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl) در فصل پاییز به میزان لازم از جنگل‌های زاگرس اطراف شهر یاسوج گردآوری شد. میوه‌ها پس از پوست‌کنی، خشک و سپس آسیاب شدند. میزان ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام، خاکستر، فیبر خام و عصاره بدون نیتروژن (AOAC, 1995) و همچنین میزان فنل

جوجه در هر تکرار داشت. بنابراین، در طول دوره پرورش هر یک از واحدهای آزمایشی با یکی از جیره‌های حاوی سطوح ۰ (بدون میوه بلوط)، ۱۵ و یا ۲۰ درصد میوه بلوط با سطح متیونین توصیه شده توسط NRC (1994) و یا دو برابر سطح متیونین توصیه شده به وسیله NRC (1994)، تغذیه شدند. میوه بلوط در سطوح بالا بدون هیچ گونه تغییری در میزان درصد دیگر مواد خوراکی جیره، جایگزین ذرت شد. جیره‌های آزمایشی برای دو دوره آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی) و پایانی (۲۲ تا ۴۲ روزگی) با نرم افزار UFFDA تنظیم شدند (جدول ۱).

کل، فنل غیر تاننی و تانن فشرده موجود در آرد بلوط (Makkar, 2003) اندازه گیری شد. برای انجام این پژوهش، از ۵۲۸ قطعه جوجه گوشتی یک روزه، مخلوط نر و ماده سویه کاب ۵۰۰ استفاده شد. پس از ورود به سالن پرورش، جوجه‌ها در قالب یک آزمایش فاکتوریل ۳×۲ با طرح پایه کامل تصادفی بین واحدهای آزمایشی توزیع شدند. عامل‌های مورد بررسی شامل سطح میوه بلوط (۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) و سطح متیونین جیره (سطح توصیه شده توسط NRC (1994) و دو برابر سطح توصیه شده به وسیله NRC (1994)) بودند. هر تیمار چهار تکرار و ۲۲ قطعه

جدول ۱. اجزای تشکیل دهنده^۱ و ترکیب مواد مغذی^۲ جیره‌های آزمایشی

Ingredient (%)	Recommended starter	Recommended finisher
Corn	56.04	61.89
Soybean meal	37.17	31.24
Calcium carbonate	1.25	1.36
Dicalcium phosphate	1.62	1.15
Vegetable oil	2.86	3.46
Vitamin premix ³	0.25	0.25
Mineral premix ⁴	0.25	0.25
Salt	0.42	0.32
DL-Methionine ⁵	0.14	0.06
Lysine	-	0.02
Nutrient composition		
ME (Kcal/kg)	2950	3050
Crude protein (%)	21.20	19.06
Calcium (%)	0.93	0.86
Available phosphorus (%)	0.42	0.33
Sodium (%)	0.18	0.14
Methionine (%)	0.46	0.36
Lysine (%)	1.01	0.95

۱. در جیره‌های حاوی میوه بلوط، این ماده خوراکی به میزان ۱۵ و ۲۰ درصد جایگزین ذرت شد.

۲. در جیره‌های حاوی سطح بالای متیونین (دو برابر میزان توصیه شده توسط NRC (1994))، سطح متیونین در جیره‌های آغازین و پایانی به ترتیب ۰/۹۲ و ۰/۷۲ درصد بود.

۳. مکمل ویتامینی مورد استفاده میزان ۱۸۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۴۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۷۲ میلی‌گرم ویتامین E، ۴ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۳/۵۵ میلی‌گرم ویتامین B₁، ۱۳/۲ میلی‌گرم ویتامین B₂، ۵/۸۸ میلی‌گرم ویتامین B₆، ۲ میلی‌گرم ویتامین B₉، ۰/۰۳ میلی‌گرم ویتامین B₁₂، ۱۹/۶ میلی‌گرم پانتوتنات کلسیم، ۵۹/۴ میلی‌گرم نیاسین و ۱ گرم کولین کلراید را به ازای هر کیلوگرم جیره تأمین می‌نماید.

۴. مکمل مواد کانی مورد استفاده میزان ۶۵ میلی‌گرم منگنز، ۵۵ میلی‌گرم روی، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۸ میلی‌گرم مس، ۱/۹ میلی‌گرم ید و ۰/۴ میلی‌گرم سلنیم را به ازای هر کیلوگرم جیره تأمین می‌نماید.

۵. در جیره‌های حاوی سطح بالای متیونین (دو برابر میزان توصیه شده توسط NRC (1994))، در جیره‌های آغازین و پایانی به ترتیب ۰/۶۱ و ۰/۴۳ درصد دی‌ال‌متیونین استفاده شد.

1. In diets containing oak acorn, corn was replaced with oak acorn at levels of 15 and 20 percent.

2. In diets containing high level of methionine (twice NRC (1994) recommendation), the methionine level in starter and finisher diets was 0.92 and 0.72 percent, respectively.

3. Vitamin premix provided per kilogram of diet: vitamin A, 18,000 IU; vitamin D₃, 4,000 IU; vitamin E, 72 mg; vitamin K₃, 4 mg; vitamin B₁, 3.55 mg; vitamin B₂, 13.2 mg; vitamin B₆, 5.88 mg; vitamin B₉, 2 mg; vitamin B₁₂, 0.03 mg; calcium pantothenate, 19.6 mg; Niacin, 59.4 mg and choline chloride, 1g.

4. Mineral premix provided per kilogram of diet: manganese, 65 mg; zinc, 55 mg; iron, 50 mg; copper, 8 mg; iodine, 1.9 mg and selenium, 0.4 mg.

5. In diets containing high level of methionine (twice NRC (1994) recommendation), 0.61 and 0.43 percent DL-Methionine was included in starter and finisher diets, respectively.

آزمایش، وزن جوجه‌های حذفی و یا تلف شده به منظور تصحیح خوراک مصرفی و در نتیجه محاسبه ضریب تبدیل غذایی، ثبت شد. داده‌های مربوط به تجزیه تقریبی و همچنین ترکیب‌های فنلی میوه بلوط در جدول‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است.

در طول دوره آزمایش، آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار داده شد. وزن کشتی جوجه‌ها در سن ۱، ۲۱ و ۴۲ روزگی به شکل گروهی انجام و میزان افزایش وزن با استفاده از اختلاف وزن جوجه‌ها در آغاز و انتهای هر دوره محاسبه شد. در دوره

جدول ۲. تجزیه تقریبی میوه بلوط (درصد ماده خشک)

Table 2. Proximate analysis of oak acorn (% Dry Matter)

Component	Dry matter	Crude protein	Ether extract	Crude fiber	Ash	Nitrogen free extract
Value	91.37	6.53	12.12	5.51	1.76	65.45

جدول ۳. میزان ترکیب‌های فنولی میوه بلوط (درصد ماده خشک)

Table 3. Phenolic compound contents of oak acorn (% Dry Matter)

Total phenols	Non-tannin phenols	Total tannins	Hydrolysable tannins	Condensed tannins
8	1.92	6.08	0.84	5.24

میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیب میوه بلوط

نتایج مربوط به تجزیه تقریبی میوه بلوط (جدول ۲) نشان داد که عصاره بدون نیتروژن بخش اصلی میوه بلوط را تشکیل می‌دهد. میزان پروتئین خام این ماده خوراکی (۶/۵۳ درصد) در مقایسه با پروتئین خام ذرت (۸/۵ درصد) کمتر است. همچنین، میوه بلوط مقادیر قابل توجهی ترکیب‌های فنلی و از جمله تانن دارد (جدول ۳). این یافته‌ها با نتایج گزارش شده پیشین در مورد بلوط ایرانی (Houshmand *et al.*, 2016; Sinaei & Houshmand, 2015) همخوانی دارد. این در حالی است که در پژوهشی دیگر، میزان تانن میوه بلوط جنگل‌های زاگرس ۴/۷ درصد گزارش شد (Saffarzadeh *et al.*, 2000).

فراسنجه‌های عملکرد

تأثیر سطوح مختلف میوه بلوط و متیونین جیره بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های گوناگون آزمایش در جدول ۴ نشان داده شده است. در دوره آغازین (سن

در پایان دوره آغازین (سن ۲۱ روزگی) و همچنین پایان دوره آزمایش (سن ۴۲ روزگی)، از هر تیمار به طور تصادفی شش قطعه جوجه (سه قطعه نر، سه قطعه ماده) انتخاب، وزن کشتی و کشتار شده و سپس وزن کبد و لوزالمعده اندازه‌گیری شد. همچنین، در همین زمان استخوان درشتنی جدا و درون کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شد و درون فریزر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. در زمان مناسب، نمونه‌ها یخ گشایی شده و به مدت ده دقیقه در آب جوش قرار داده شده و آنگاه گوشت و غضروف مفصلی آن‌ها جدا شد. فراسنجه‌های مورد بررسی (وزن، طول، حجم، چگالی و خاکستر استخوان) اندازه‌گیری شد. همچنین، میزان کلسیم استخوان درشتنی با روش طیف‌سنجی نوری (اسپکتروفتومتری) جذب اتمی و میزان فسفر آن به روش آمونیوم وانادات-مولیبدات (AOAC, 1995) تعیین شد. با استفاده از داده‌های به دست آمده، دو شاخص معرف سلامت و وضعیت استخوان درشتنی نیز محاسبه شدند. شاخص اول با تقسیم وزن خاکستر به طول استخوان (Seedor *et al.*, 1991) و شاخص Robusticity با تقسیم طول بر ریشه سوم وزن استخوان درشتنی (Reisenfeld, 1972) محاسبه شد. داده‌های به دست آمده از این پژوهش با نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل آماری شدند. مقایسه

مشاهده شده در عملکرد جوجه‌ها می‌تواند به وجود سطوح بالای تانن در میوه بلوط (جدول ۳) نسبت داده شود. این یافته‌ها در توافق با نتایج پیشین نشان‌دهنده تأثیر زیان‌بار جیره‌های حاوی بلوط بر عملکرد جوجه‌های گوشتی هستند (Hamou *et al.*, 2012; Houshmand *et al.*, 2015; Rezaei & Semnaninejad, 2016).

تانن‌ها تأثیر نامطلوب زیادی بر دام‌ها و جوجه‌های گوشتی دارند. جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های هضمی و به‌ویژه آنزیم‌های لوزالمعده (Ahmed *et al.*, 1991; Mahmood *et al.*, 2007)، تداخل با گلیکو پروتئین‌های مخاط روده و در نتیجه افزایش دفع نیتروزن اندوژنوس از مخاط و آسیب به مخاط روده (Al-Mamary *et al.*, 2001)، افزایش دفع اندوژنوس اسیدهای آمینه ضروری به‌ویژه متیونین، هیستیدین و لیزین (Mansoori & Acamovic, 2007)، تشکیل کمپلکس‌های غیرقابل استفاده (غیرقابل هضم) با ترکیب‌هایی مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و مواد کانی (Jansman, 1993) و ایجاد تغییرپذیری بافتی در روده و کبد (Ortiz *et al.*, 1994) از مهم‌ترین اثرگذاری‌های زیان‌بار تانن‌ها هستند. با توجه به گستردگی این اثرگذاری‌ها، کاهش عملکرد جوجه‌های تغذیه‌شده با میوه بلوط که غنی از تانن است، نتیجه دور از انتظاری نیست.

۱ تا ۲۱ روزگی)، پایانی (سن ۲۲ تا ۴۲ روزگی) و همچنین کل دوره آزمایش (سن ۱ تا ۴۲ روزگی)، میزان افزایش وزن جوجه‌هایی که با جیره‌های حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط تغذیه شدند در مقایسه با گروه تغذیه‌شده با جیره بدون بلوط (سطح ۰) به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0.05$). در دوره آغازین، استفاده از ۱۵ درصد میوه بلوط باعث افزایش معنی‌دار مصرف خوراک در مقایسه با سطح ۲۰ درصد شد ($P < 0.05$) در حالی که در دوره پایانی و کل دوره، مصرف خوراک جوجه‌ها تحت تأثیر معنی‌دار سطح میوه بلوط قرار نگرفت ($P > 0.05$). در همه دوره‌های آزمایش، جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط، در مقایسه با سطح ۰ ضریب تبدیل غذایی بالاتری داشتند ($P < 0.01$) که نشان‌دهنده اثرگذاری زیان‌بار میوه بلوط بر کارایی استفاده از خوراک توسط جوجه‌ها است. نتایج نشان دادند، در طول دوره آزمایش، از نظر فراسنجه‌های عملکرد (به‌استثنای مصرف خوراک در دوره آغازین) بین دو سطح ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تأثیر زیان‌بار میوه بلوط بر عملکرد (افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی) جوجه‌های گوشتی است. کاهش

جدول ۴. تأثیر سطح میوه بلوط و متیونین جیره بر افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های گوناگون آزمایش

Table 4. Effect of dietary oak acorn (OA) and methionine level on body weight gain, feed intake and feed conversion ratio of broilers at different experimental periods

Parameter	Dietary OA level (%)			SEM	P value	Dietary methionine level		SEM	P value	Interaction	P value
	0	15	20			NRC (1994)	Twice NRC (1994)				
Body weight gain (g)											
d 1-21	702 ^a	634 ^b	611 ^b	8	0.0001	654	644	7	0.35	NS	0.06
d 22-42	1243 ^a	1036 ^b	956 ^b	36	0.0001	1124 ^a	1032 ^b	29	0.04	NS	0.51
d 1-42	1945 ^a	1670 ^b	1567 ^b	36	0.0001	1778 ^a	1677 ^b	29	0.02	NS	0.25
Feed intake (g)											
d 1-21	966 ^{ab}	984 ^a	930 ^b	14	0.04	953	966	11	0.44	NS	0.13
d 22-42	2702	2846	2855	127	0.64	3031 ^a	2572 ^b	104	0.0006	NS	0.24
d 1-42	3668	3829	3785	128	0.66	3984 ^a	3538 ^b	105	0.007	NS	0.18
Feed conversion ratio											
d 1-21	1.38 ^b	1.55 ^a	1.52 ^a	0.03	0.0006	1.46	1.51	0.02	0.20	NS	0.55
d 22-42	2.18 ^b	2.75 ^a	3.02 ^a	0.14	0.0021	2.74	2.56	0.12	0.29	NS	0.89
d 1-42	1.88 ^b	2.29 ^a	2.42 ^a	0.08	0.0006	2.26	2.14	0.07	0.21	NS	0.80

a-b در هر ردیف، میانگین‌های دارای حرف‌های غیرمشترک اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

a-b: Means within each row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

مشاهده نشد و افزایش سطح متیونین جیره نتوانست از بروز تأثیر زیان‌بار یک خوراک غنی از تانن (لوبیای فابا) بر درصد ابقای نیتروژن و میزان انرژی قابل سوخت‌وساز جیره جوجه‌های گوشتی جلوگیری کند. از آنجاکه فرآیند تانن‌زدایی با توجه به نوع تانن (متراکم و یا قابل آبکافت یا هیدرولیز) متفاوت است، این تفاوت می‌تواند بر کارایی متیونین در این زمینه اثرگذار باشد (Wareham *et al.*, 1991).

وزن کبد و لوزالمعده

تأثیر سطوح مختلف میوه بلوط و متیونین جیره بر وزن نسبی کبد و لوزالمعده جوجه‌های گوشتی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی در جدول ۵ نشان داده شده است. یافته‌های به‌دست‌آمده از این آزمایش نشان دادند، سطوح مختلف میوه بلوط و متیونین جیره بر وزن نسبی کبد در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی تأثیر معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$) چنین نتایجی در پژوهش‌های پیشین نیز مشاهده شده است (Rezaei & Semnaninejad, 2016; Boudroua *et al.*, 2009). در پایان دوره آزمایش (سن ۴۲ روزگی)، وزن لوزالمعده جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی ۲۰ درصد میوه بلوط در مقایسه با سطح ۰ و ۱۵ درصد، افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.01$). وجود مقادیر زیاد تانن در جیره باعث جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های لوزالمعده شده که برای جبران این اثرگذاری، فعالیت لوزالمعده برای تولید آنزیم‌های بیشتر، افزایش پیدا کرده و منجر به بزرگ شدن اندازه (Hypertrophy) لوزالمعده می‌شود (Ahmed *et al.*, 1991). در پایان دوره آزمایش، وزن لوزالمعده جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی متیونین در سطح ۲ برابر توصیه NRC (1994) به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0.05$). به‌احتمال افزایش سطح متیونین جیره نتوانست تأثیر زیان‌آور تانن بر این اندام را کاهش دهد. اثر متقابل سطح میوه بلوط و متیونین جیره بر وزن کبد و لوزالمعده معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

ویژگی‌های استخوان درشت‌نی

تأثیر سطوح مختلف میوه بلوط و متیونین جیره بر

در دوره پایانی و همچنین کل دوره آزمایش، استفاده از متیونین به میزان ۲ برابر سطح توصیه‌شده توسط NRC (1994) میزان افزایش وزن بدن را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.05$). دلیل این کاهش را می‌توان به کاهش معنی‌دار مصرف خوراک در دوره‌های بالا نسبت داد. گزارش شده است که استفاده از سطوح بالای مکمل اسیدهای آمینه باعث کاهش مصرف خوراک و حتی بروز مسمومیت در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Yamazaki *et al.*, 2006). اسیدهای آمینه میزان مصرف خوراک را از راه ساخت و سوخت‌وساز (متابولیسم) ترکیب‌های پیام‌رسان عصبی در مغز تنظیم می‌کنند. اثرگذاری نامطلوب نبود توازن اسیدهای آمینه از راه کاهش مصرف خوراک و تغییر در مصرف و سوخت‌وساز اسیدهای آمینه توسط مغز ایجاد می‌شوند ولی سازوکارهای دقیق آن مشخص نیست (D'Mello, 1994). در طول دوره آزمایش، اختلاف معنی‌داری از نظر ضریب تبدیل غذایی بین سطوح مختلف متیونین مشاهده نشد ($P > 0.05$).

در طول دوره آزمایش، اثر متقابل معنی‌داری بین سطح میوه بلوط و متیونین جیره در مورد فراسنجه‌های عملکرد مشاهده نشد ($P > 0.05$). این نتایج نشان می‌دهند، پاسخ جوجه‌ها به تانن موجود در میوه بلوط، تحت تأثیر سطح متیونین جیره قرار نگرفت و افزایش سطح متیونین جیره نتوانست از کاهش عملکرد جوجه‌ها در نتیجه مصرف میوه بلوط جلوگیری کند درحالی‌که بر پایه یافته‌های پیشین (Potter & Fuller, 1968; Elkin *et al.*, 1978; Houshmand *et al.*, 2015) انتظار می‌رفت که افزایش سطح متیونین جیره بتواند از بروز این اثرگذاری‌های زیان‌بار جلوگیری کند. در مراحل سم‌زدایی تانن‌ها در بدن، بخش زیادی از اسید تانیک متیله‌شده و به‌صورت ۴-ا-متیل اسید گالیک (4-O-Methyl gallic acid) از راه ادرار دفع می‌شود. تأثیر سودمند ترکیب‌هایی مانند متیونین در تانن‌زدایی، به تأمین گروه‌های متیل مورد نیاز برای این فرآیند متیله شدن (متیلاسیون) نسبت داده شده است (Potter & Fuller, 1968). در توافق با نتایج این پژوهش، نتایج تحقیقی نشان داد که بین سطح تانن و متیونین جیره اثر متقابل معنی‌داری

شاخص‌های استخوان درشتنی که با تقسیم وزن خاکستر استخوان به طول آن به دست می‌آید (Seedor, 1991) و شاخص دیگری به نام Robusticity که با تقسیم طول به ریشهٔ سوم وزن استخوان درشتنی محاسبه می‌شود (Reisenfeld, 1972) به عنوان معیارهای وضعیت استخوان درشتنی کاربرد دارند. هر چه شاخص Robusticity کمتر باشد، استخوان سالم‌تر است. برعکس، در مورد شاخص اول، میزان بالاتر نشان‌دهندهٔ سلامت بیشتر استخوان است. درصد کلسیم و فسفر استخوان درشتنی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی، تحت تأثیر سطح میوهٔ بلوط یا متیونین جیره و همچنین اثر متقابل بین آن‌ها قرار نگرفت ($P > 0.05$).

تغذیهٔ جوجه‌ها با جیره‌های حاوی متیونین در سطح توصیه NRC (1994)، باعث افزایش معنی‌دار وزن، طول و چگالی استخوان درشتنی نسبت به جیره‌های حاوی متیونین در سطح ۲ برابر توصیه NRC (1994) در سن ۲۱ روزگی شد. تأثیر میزان متیونین جیره بر حجم، خاکستر، نسبت وزن خاکستر به طول، شاخص Robusticity، کلسیم و فسفر استخوان درشتنی در سن ۲۱ روزگی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). در سن ۴۲ روزگی، سطح متیونین جیره بر فراسنجه‌های استخوان درشتنی (به‌استثنای چگالی) تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). در کل دورهٔ آزمایش، اثر متقابل بین سطح میوهٔ بلوط و متیونین جیره بر ویژگی‌های استخوان درشتنی (به‌استثنای خاکستر و چگالی در سن ۲۱ روزگی) معنی‌دار نبود.

یکی از ویژگی‌های ضد تغذیه‌ای تانن‌ها، افزایش بروز ناهنجاری‌های استخوانی در طیور است (Elkin *et al.*, 1978). تانن‌ها با تشکیل کمپلکس‌های نامحلول با یون‌های فلزی دو ظرفیتی، قابلیت دسترسی این یون‌ها را برای جذب در روده کاهش می‌دهند (Rao & Prabhavathi, 1982). نتایج یک پژوهش نشان داد، تغذیهٔ مرغ‌ان تخم‌گذار لگهورن با سورگوم حاوی تانن بالا، میزان جذب مواد کانی (کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم، منگنز و آهن) را به شدت کاهش داد (Mahmood *et al.*, 2014). دلایل احتمالی برای کاهش جذب مواد کانی در

ویژگی‌های استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی در جدول ۶ نشان داده شده است. مصرف سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد میوهٔ بلوط در جیره منجر به کاهش معنی‌دار وزن استخوان درشتنی در سن ۲۱ روزگی نسبت به سطح ۰ درصد شد ($P < 0.01$). همچنین مصرف ۲۰ درصد میوهٔ بلوط در جیره منجر به کاهش معنی‌دار وزن استخوان درشتنی در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با سطوح ۰ و ۱۵ درصد شد ($P < 0.01$). مصرف سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد میوهٔ بلوط در جیره طول استخوان درشتنی را در سن ۲۱ روزگی در مقایسه با سطح ۰ درصد به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.01$). همچنین مصرف ۲۰ درصد میوهٔ بلوط در جیره باعث کاهش معنی‌دار طول استخوان درشتنی در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با سطوح ۰ و ۱۵ درصد شد ($P < 0.01$). مصرف سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد میوهٔ بلوط در جیره حجم استخوان درشتنی را در سن ۲۱ روزگی در مقایسه با سطح ۰ درصد به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.01$). همچنین مصرف ۲۰ درصد میوهٔ بلوط در جیره باعث کاهش معنی‌دار حجم استخوان درشتنی در سن ۴۲ روزگی در مقایسه با سطح ۰ درصد شد ($P < 0.05$). کاربرد سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد میوهٔ بلوط در جیره، چگالی استخوان درشتنی را در سن ۲۱ روزگی در مقایسه با سطح ۰ درصد به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P < 0.01$). مصرف میوهٔ بلوط در جیره بر چگالی استخوان درشتنی در سن ۴۲ روزگی تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). همچنین مصرف میوهٔ بلوط در جیره بر میزان خاکستر استخوان درشتنی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). مصرف ۲۰ درصد میوهٔ بلوط در جیره باعث کاهش معنی‌دار شاخص وزن خاکستر به طول استخوان درشتنی در سن ۴۲ روزگی شد ($P < 0.05$) که این نتایج نشان‌دهندهٔ اثر زیان‌بار سطح ۲۰ درصد میوهٔ بلوط بر استخوان درشتنی است. برخی از ویژگی‌های استخوان مانند استحکام، چگالی و میزان خاکستر (Park *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2004) به عنوان شاخص‌های معرف وضعیت استخوان درشتنی استفاده می‌شوند. همچنین یکی از

پرنده‌گان تغذیه‌شده با تانن ممکن است به‌واسطه قابلیت دسترسی کمتر به مواد کانی در نتیجه کاهش مصرف خوراک یا به دلیل اثر متقابل بین تانن و مواد کانی در روده باشد (Hassan *et al.*, 2003). با توجه به نقش مهم مواد کانی جیره و به‌ویژه کلسیم و فسفر در ساختار و سلامت استخوان‌ها، کاهش قابلیت استفاده آن‌ها توسط تانن‌های جیره می‌تواند وضعیت استخوان‌ها را تحت تأثیر نامطلوب قرار دهد.

جدول ۵. تأثیر سطح میوه بلوط و متیونین جیره بر وزن نسبی (درصد وزن بدن) کبد و لوزالمعده جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی

Table 5. Effect of dietary oak acorn (OA) and methionine level on relative weight (percent of body weight) of liver and pancreas of broilers at 21 and 42 days of age

Parameter	Dietary OA level (%)			SEM	P value	Dietary Methionine level		SEM	P value	Interaction	P value
	0	15	20			NRC (1994)	Twice NRC (1994)				
Liver											
d 21	2.90	3.20	2.90	0.16	0.29	3.14	2.86	0.13	0.12	NS	0.90
d 42	2.59	2.42	2.62	0.13	0.51	2.60	2.49	0.11	0.43	NS	0.91
Pancreas											
d 21	0.33	0.32	0.36	0.012	0.07	0.33	0.35	0.009	0.26	NS	0.72
d 42	0.22 ^b	0.21 ^b	0.25 ^a	0.008	0.001	0.24 ^a	0.22 ^b	0.006	0.05	NS	0.13

a-b: در هر ردیف، میانگین‌های دارای حرف‌های غیرمشترک اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

a-b: Means within each row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

جدول ۶. تأثیر سطح میوه بلوط و متیونین جیره بر ویژگی‌های استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی

Table 6. Effect of dietary oak acorn (OA) and methionine level on tibia characteristics of broilers at 21 and 42 days of age

Parameter	Dietary OA level (%)			SEM	P value	Dietary Methionine level		SEM	P value	Interaction	P value
	0	15	20			NRC (1994)	twice NRC (1994)				
Weight (g)											
d 21	2.02 ^a	1.65 ^b	1.71 ^b	0.07	0.002	1.92 ^a	1.66 ^b	0.06	0.003	NS	0.54
d 42	7.33 ^a	6.72 ^a	5.65 ^b	0.35	0.006	6.51	6.62	0.28	0.77	NS	0.52
Length (cm)											
d 21	6.38 ^a	5.60 ^c	6.16 ^b	0.06	0.002	6.29 ^a	6.07 ^b	0.05	0.0024	NS	0.18
d 42	9.54 ^a	9.60 ^a	9.13 ^b	0.11	0.007	9.47	9.38	0.09	0.49	NS	0.41
Volume (cm ³)											
d 21	2.84 ^a	1.96 ^b	1.85 ^b	0.13	0.0001	2.28	2.16	0.10	0.41	NS	0.29
d 42	7.23 ^a	6.31 ^{ab}	5.57 ^b	0.37	0.013	6.11	6.63	0.30	0.23	NS	0.13
Density											
d 21	0.74 ^b	0.85 ^a	0.92 ^a	0.03	0.0002	0.89 ^a	0.78 ^b	0.023	0.002	0.013	0.013
d 42	1.02	1.07	1.02	0.02	0.24	1.07 ^a	1.01 ^b	0.019	0.038	NS	0.11
Ash (%)											
d 21	45.99	45.86	42.16	1.4	0.10	43.76	45.58	1.11	0.26	0.015	0.015
d 42	40.42	42.16	37.47	1.3	0.06	41.03	39	1.06	0.19	NS	0.64
Tibia bone ash/ bone weight index (mg/mm)											
d 21	12.34	10.56	11.14	0.57	0.10	11.95	10.74	0.46	0.08	NS	0.14
d 42	25.77 ^a	23.11 ^a	18.99 ^b	0.99	0.0005	22.21	23.04	0.81	0.47	NS	0.24
Robusticity index ²											
d 21	5.10	5.19	5.18	0.05	0.48	5.13	5.18	0.045	0.45	NS	0.32
d 42	4.88	5.12	5.14	0.08	0.07	5.04	5.05	0.07	0.97	NS	0.31
Calcium (%)											
d 21	17.52	18.50	20.17	1.4	0.41	18.62	18.84	1.12	0.89	NS	0.20
d 42	20.51	19.08	17.81	1.03	0.21	19.09	19.17	0.84	0.94	NS	0.16
Phosphorus (%)											
d 21	10.14	9.89	10.76	0.83	0.75	10.31	10.21	0.68	0.92	NS	0.98
d 42	8.95	9.19	8.35	0.44	0.38	8.87	8.79	0.36	0.89	NS	0.22

a-c: در هر ردیف، میانگین‌های دارای حرف‌های غیرمشترک اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

۲. نسبت طول استخوان به ریشه سوم وزن استخوان درشتنی.

a-c: Means within each row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

2. Tibia length to cube root of tibia weight ratio.

از کاهش عملکرد ایجادشده در نتیجه تغذیه با میوه بلوط جلوگیری کند. بنابراین استفاده از این سطوح میوه بلوط با توجه به میزان تانن موجود در آن قابل توصیه نیست. بنابراین در پژوهش‌های آینده، ضرورت دارد تأثیر مصرف سطوح کمتر میوه بلوط نیز در جیره جوجه‌های گوشتی بررسی و ارزیابی شود.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این پژوهش، استفاده از سطوح ۱۵ و ۲۰ درصد میوه بلوط به‌عنوان جایگزین ذرت باعث کاهش معنی‌داری در عملکرد جوجه‌های گوشتی شد. همچنین، استفاده از سطح ۲۰ درصد میوه بلوط بر برخی ویژگی‌های استخوان درشتنی تأثیر نامطلوب داشت. افزایش سطح متیونین جیره نتوانست

REFERENCES

- Ahmed, A. E., Smithard, R. & Ellis, M. (1991). Activities of enzymes of the pancreas, and the lumen and mucosa of the small intestine in growing broiler cockerels fed on tannin- containing diets. *British Journal of Nutrition*, 65, 189-197.
- Al-Mamary, M., Al-Habori, M., Al-Aghbari, A. & Al-Obeidi, A. (2001). *In vivo* effects of dietary sorghum tannins on rabbit digestive enzymes and mineral absorption. *Nutrition Research*, 21, 1393-1401.
- AOAC. (1995). *Official methods of analysis* (16th ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington, USA.
- Bouderoua, K., Mourot, J. & Selselet-Attou, G. (2009). The effect of green oak acorn (*Quercus ilex*) based diet on growth performance and meat fatty acid composition of broilers. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 6, 843-848.
- D' Mello, J. P. F/ (1994). *Amino acids in farm animal nutrition*. (1st ed). CAB International, Wallingford, UK.
- Elkin, R. G., Featherston, W. R. & Rogler, J. C. (1978). Investigations of leg abnormalities in chicks consuming high tannin sorghum grain diets. *Poultry Science*, 57, 757-762.
- Hamou, H., Bouderoua, K., Sisbane, I. & Mourot, J. (2012). Effect of green oak acorn based diet on performance and fatty acid composition of cooked breast meat. *International Journal of Applied Animal Sciences*, 1, 94-101.
- Hassan, I. A. G., Elzubeir, E. A. & El Tinay, A. H. (2003). Growth and apparent absorption of minerals in broiler chicks fed diets with low or high tannin contents. *Tropical Animal Health and Production*, 35, 189-196.
- Houshmand, M., Hojati, F. & Parsaie, S. (2015). Dietary nutrient manipulation to improve the performance and tibia characteristics of broilers fed oak acorn (*Quercus brantii* Lindl). *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17, 17-24.
- Jansman, A. J. M. (1993). Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals. *Nutrition Research Reviews*, 6, 209-236.
- Kim, W. K., Donalson, L. M., Herrera, P., Woodward, C. L., Kubena, L. F., Nisbet, D. J. & Ricke, S. C. (2004). Research note: Effects of different bone preparation methods (fresh, dry, and fat-free dry) on bone parameters and the correlations between bone breaking strength and the other bone parameters. *Poultry Science*, 83, 1663-1666.
- Mahmood, S., Ajmal Khan, M., Sarwar, M. & Nisa, M. (2008). Use of chemical treatments to reduce antinutritional effects of tannins in salseed meal: Effect on performance and digestive enzymes of broilers. *Livestock Science*, 116, 162-170.
- Mahmood, S., Ajmal Khan, M., Sarwar, M., Nisa, M., Lee, W. S., Kim, S. B., Hur, T. Y., Lee, H. J. & Kim, H. S. (2007). Use of chemical treatments to reduce tannins and trypsin inhibitor contents in salseed (*Shorea robusta*) meal. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 20, 1462-1467.
- Mahmood, S., Hassan, A., Fawwad, A. & Zafar, I. (2014). Estimation of tannins in different sorghum varieties and their effects on nutrient digestibility and absorption of some minerals in caged white leghorn layers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 16, 217-221.
- Makkar, H. P. S. (2003). *Quantification of tannins in tree and shrub foliage*. A laboratory manual. FAO/IAEA.
- Manssori, B. & Acamovic, T. (2007). The effect of tannic acid on the excretion of endogenous methionine, histidine and lysine with broilers. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 134, 198-210.
- National Research Council (1994). *Nutrient requirements of poultry* (9th rev. ed). National Academy Press, Washington, DC.

18. Ortiz, L. T., Alzueta, C., Trevino, J. & Castano, M. (1994). Effects of faba bean tannins on the growth and histological structure of the intestinal tract and liver of chicks and rats. *British Poultry Science*, 35, 743-754.
19. Park, S. Y., Birkhold, S. G., Kubena, L. F., Nisbet, D. J. & Ricke, S. C. (2003). Effect of storage condition on bone breaking strength and bone ash in laying hens at different stages in production cycles. *Poultry Science*, 82, 1688-1691.
20. Potter, D. K. & Fuller, H. L. (1968). Metabolic fate of dietary tannins in chickens. *Journal of Nutrition*, 96, 187-191.
21. Rahmani, H. R. & Abarghoui, A. H. (2005). The acorn's tannin may affect the microbial content of broilers ileum. In *Proceedings of the 15th European Symposium on Poultry Nutrition, Balatonfüred, Hungary*, Pp. 344-346.
22. Rao, B. S. N. & Prabhavathi, T. (1982). Tannin content of foods commonly used in India and its influence on ionisable iron. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33, 89- 96.
23. Reisenfeld, A. (1972). Metatarsal robusticity in bipedal rats. *American Journal of Physical Anthropology*, 40, 229-234.
24. Rezaei, M. & Semnaninejad, H. (2016). Effects of different levels of raw and processed oak acorn (*Quercus castaneifolia*) on performance, small intestine morphology, ileal digestibility of nutrients, carcass characteristics and some blood parameters in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 4, 127-138.
25. Saffarzadeh, A., Vincze, L. & Csap, J. (2000). Determination of some anti-nutritional factors and metabolizable energy in acorn (*Quercus branti*), *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* as new poultry diets. *Acta Agraria Kaposvariensis*, 4, 41-47.
26. SAS (2005). User's Guide. Version 9. SAS Institute, Cary, NC.
27. Seedor, J. G., Quarruccio, H. A. & Thompson, D. D. (1991). The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, 6, 339-346.
28. Sinaei, Kh. & Houshmand, M. (2016). Effects of dietary inclusion of raw or treated Iranian acorn (*Quercus brantii Lindl*) on the performance and cecal bacteria of broilers. *Poultry Science Journal*, 4, 73-79.
29. Varmaghani, S., Yaghoobfar, A. & Gharadagh, A. (2006). Usage of detannified oak kernel (DOK) in broiler diets. *Pajuhesh and Sazandegi*, 70, 50-58 (In Farsi).
30. Wareham, C. N., Wiseman, J., Cole, D. J. A. & Craigon, J. (1991). The possible role of methionine in the detoxification of faba bean (*Vicia faba L.*) tannins in chick diets. *British Poultry Science*, 32, 1017-1026.
31. Yamazaki, M., Murakami, H., Nakashima, K., Abe, H. & Takemasa, M. (2006). Effects of excess essential amino acids in low protein diet on abdominal fat deposition and nitrogen excretion of the broiler chicks. *The Journal of Poultry Science*, 43, 150-155.