

مقایسه دفع مشتقات پورینی و سنتز پروتئین میکروبی در گوساله‌های نر نژاد سیستانی و هلشتاین

سجاد کریمی دمنه^۱، محمد رضا دهقانی^{۲*} و مصطفی یوسف الهی^۲

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۱۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه زابل

^۲ بترتیب استادیار و دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه زابل

*مسئول مکاتبه: Email: Mohrezadehghani@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: از مشتقات پورینی می‌توان برای اندازه‌گیری پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه استفاده کرد. **هدف:** هدف از تحقیق، مقایسه دفع مشتقات پورینی و سنتز پروتئین میکروبی در دو نژاد سیستانی و هلشتاین بود. **روش کار:** جیره‌ها در سطح نگهداری و در یک طرح کامل تصادفی در ۲ نژاد که هر نژاد دارای ۷ رأس گوساله به عنوان تکرار بود تهیه و به دامها تغذیه شد. ادرار به روش نقطه‌ای برای ۱۰ روز و هر روز ۵ مرتبه جمع‌آوری شد تا مشتقات پورینی اندازه‌گیری شود. همچنین، به منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی (گلوکز، تری‌گلیسیرید، نیتروژن اورهای خون) در هر دو نژاد از همه گاوها نمونه‌گیری از طریق ورید و داج انجام شد. **نتایج:** نتایج نشان داد میزان جذب پروتئین میکروبی تولید شده در گوساله‌های سیستانی به مقدار ۴۲/۸۷ میلی مول در روز بود که به طور معنی‌داری بیشتر از گوساله‌های هلشتاین (۱۶/۳۸ میلی مول بر روز) بود ($P < 0.01$). میزان آلانتوئین دفعی و اسیداوریک در دو نژاد اختلاف معنی‌داری نداشت. در هر دو نژاد گلوکز، نیتروژن اورهای خون و تری‌گلیسیرید هم در نژاد سیستانی بیش از نژاد هلشتاین بود (به ترتیب ۰.۷۷/۴، ۲۳/۰۷ و ۳۶/۵۷ میلی گرم در دسی لیتر در نژاد سیستانی و ۱۶/۲۷، ۶۷/۵۱ و ۲۴/۴۲ میلی گرم در دسی لیتر در نژاد هلشتاین). **نتیجه‌گیری نهایی:** به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که با تغذیه جیره یکسان راندمان سنتز پروتئین میکروبی در نژاد سیستانی به طور معنی‌داری بیشتر از نژاد هلشتاین بود.

واژگان کلیدی: مشتقات پورینی، سنتز پروتئین میکروبی، سیستانی، هلشتاین

مقدمه

می‌شوند. روش‌های مختلفی برای تعیین میزان سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه استفاده می‌شود که می‌توان به شاخص‌های میکروبی همچون RNA (اسید ریبونوکلیئیک)، DAPA (دی آمینوپمیلیک اسید) یا ایزوتوپ‌های همچون S^{32} ، N^{15} ، P^{32} اشاره کرد. یکی از

پروتئین جیره در شکمبه توسط آنزیم‌های میکروبی شکمبه به پپتیدها، آمونیاک و اسیدهای آمینه تجزیه می‌شود که این ترکیبات در نتیجه فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه به پروتئین میکروبی تبدیل

واگنونی و همکاران ۱۹۹۷). نتایج نشان داد که دفع PD در گاوهای کوهاندار در حالت ناشتا با گاوهای اروپایی مشابه بود (اوسوجی و همکاران ۱۹۹۶، واگنونی و همکاران ۱۹۹۷ و وربیک و همکاران ۱۹۹۰). دفع PD در حالت ناشتا برای گاوهای کوهاندار ۰/۱۷ میلی مول در روز بود (اوسوجی و همکاران ۱۹۹۶). تاک شالا و همکاران (۲۰۰۱) میزان کل مشتقات پورینی و کراتینین را برای گاوهای کوهاندار و دورگه به ترتیب حدود ۸۲/۶ و ۱/۰۵ میلی مول در روز گزارش نمودند و همچنین، نشان دادند که مشتقات پورینی و کراتینین تفاوت معنی داری با مصرف جیره نگهداری نشان نداد اما دفع کراتینین با وزن بدن تفاوت معنی داری نشان داد. سین و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه بر روی گوساله‌های دورگه گزارش کردند که آلانتوئین ارتباط معنی داری با مصرف خوراک دارد و محصول اصلی مشتقات پورینی است. همچنین نشان داده شد که راندمان سنتز نیتروژن میکروبی تفاوت معنی داری دارد که علت افزایش راندمان استفاده از نیتروژن خوراک در حالت ناشتا بود. نتایج اوجدا و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد دفع کل مشتقات پورینی و آلانتوئین در گاوهای کوهاندار و دورگه در پاسخ به محدودیت‌های غذایی کاهش یافت و تفاوت معنی دار نبود. این محققین میزان پروتئین میکروبی سنتز شده در گاوهای کوهاندار را بالاتر از گاوهای دورگه برآورد کردند که به دلیل افزایش استفاده از حداکثر انرژی خوراک و ضریب تبدیل غذایی بالاتر نسبت به گاوهای دورگه بود. جرسیان و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند دفع متوسط آلانتوئین، اسید اوریک و کل مشتقات پورینی جذب شده و نیتروژن میکروبی سنتز شده در تلیسه‌های کوهاندار نلورا^۱ با سطح مصرف ماده خشک رابطه خطی داشت. این محققین دفع آلانتوئین را ۸۹/۶۹ و دفع اسید اوریک را ۱۰/۳۱ درصد از کل مشتقات پورینی گزارش کردند و علت آن را به فعالیت بالای آنزیم زانتین اکسیداز در بافت و خون در تبدیل هیپوزانتین و زانتین به اسید اوریک دانستند.

روش‌های ساده و ارزان برای برآورد میزان پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه، تعیین مقدار مشتقات پورینی دفع شده از طریق ادرار است (چن و اورسکوف ۲۰۰۴). ارتباط معنی‌داری بین اسیدهای نوکلئیک خروجی از شکمبه و مشتقات پورینی ادرار وجود دارد که می‌توان از مشتقات پورینی ادرار جهت تخمین پروتئین میکروبی شکمبه استفاده کرد. پروتئین میکروبی می‌تواند از ۴۲ تا ۹۳ درصد پروتئین قابل دسترس برای دام را تأمین کند (چن و اورسکوف ۲۰۰۴، فائو ۱۹۹۷، فوجیه‌ارا و همکاران ۱۹۸۷ و وربیک و همکاران ۱۹۹۰). اساس این روش بر این فرضیه استوار است که بیش از ۹۹ درصد از آدنین و گوانین خوراک مصرفی توسط نشخوارکنندگان در شکمبه تجزیه شده و لذا بازهای پورینی وارد شده به روده باریک نشخوارکنندگان عمدتاً منشأ میکروبی داشته که به طور متوسط با ضریب ۸۳ درصد هضم و با ۸۰ درصد جذب می‌گردد (اوسوجی و همکاران ۱۹۹۶) مشتقات پورینی شامل آلانتوئین، اسید اوریک، هیپوزانتین و زانتین می‌باشند که در گاو و گاو میش به علت فعالیت بالای آنزیم زانتین اکسیداز در موکوس روده و خون هیپوزانتین و زانتین به اسید اوریک تبدیل شده و بر این مبنا مشتقات پورینی موجود در ادرار گاو و گاو میش فقط اسید اوریک و آلانتوئین می‌باشد (چن و همکاران ۱۹۹۰، چن و همکاران ۱۹۹۶ و چن و گومز ۱۹۹۵). دفع کل مشتقات پورینی (PD^۱) در گاوهای کوهان دار محلی اندونزی و شیرینی دورگه به ترتیب در محدوده ۵۲/۴۸ و ۱۵/۴۹ میلی مول در روز و آلانتوئین از ۲۱/۳۰ تا ۶۰/۰۷ میلی مول در روز برای بالاترین و پایین ترین سطح مصرف خوراک گزارش شد که تفاوت معنی داری نداشت (سوجونو و همکاران ۱۹۹۹). نتایج نشان داد که دفع کل مشتقات پورینی تحت جیره‌های یکسان در گاوهای کوهاندار با گاوهای اروپایی مشابه بود (چن و همکاران ۲۰۰۳، مو و همکاران ۲۰۰۴، توپس و الیوت ۱۹۶۳ و

^۱ - Purine derivatives

مفتول سیمی در دو طرف آن نصب گردید. نیم بطری‌ها با استفاده از یک کش که به مفتول‌های سیمی وصل می‌شد به دور کمر گوساله‌ها بسته و در محل خروج قضيیب مستقر گردید و در طی ۱۰ روز به روش نمونه-گیری نقطه‌ای^۲ هر روز ۵ نمونه ادرار و در ساعات‌های ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ به صورت عادی و بدون تحریک جمع‌آوری شد (چن و گومز ۱۹۹۵). به منظور رقیق شدن ادرار و کاهش pH آن به زیر ۳، مقدار ۲۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۲ درصد به ۲۰ میلی لیتر ادرار اضافه گردید و بعد از جمع‌آوری، pH ادرار اندازه‌گیری و در صورت قلیایی بودن به آن اسید سولفوریک افزوده تا pH کاهش یابد. در پایان هر روز ۵ نمونه ادرار با هم مخلوط و تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌های هر راس در پایان آزمایش با هم مخلوط و ۱۰ درصد آن برداشت تا آنالیز بر روی آن انجام شود. به منظور اندازه‌گیری آلانتوئین نیز از روش ارائه شده پیشنهادی سازمان بین‌المللی انرژی اتمی (۱۹۹۷) استفاده شد. با این روش مقادیر آلانتوئین موجود در نمونه پس از قرائت با دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل VIS ۶۴۰۵، آلمان) در طول موج ۵۲۲ نانومتر تعیین شدند. سپس با استفاده از کیت اسید اوریک شرکت طب گستران حیوان ایرانیان مقادیر اسید اوریک در طول موج ۶۴۰ نانومتر قرائت شد. مقادیر کراتینین با استفاده از دستگاه تجزیه اتوماتیک RA-1000 و کیت مخصوص در طول موج ۵۰۰ نانومتر تعیین شد. برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ادرار، نمونه‌ها در داخل فلاسک حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. pH در محل نمونه‌برداری تعیین شد (CRISON Basic20⁺(EU)). وزن مخصوص با رفراکتومتر، همچنین تعداد گلبول سفید، گلبول قرمز و سلولهای پوششی موجود در ادرار با استفاده از میکروسکوپ (عدسی ۴۰) تعیین شدند. برای اندازه‌گیری

همچنین نیترژن میکروبی سنتز شده را ۵۲/۶۵ گرم در روز گزارش کردند. تاکنون تحقیقی در مورد تعیین مشتقات پورینی در گاو سیستانی انجام نشده است. هدف از انجام این آزمایش بررسی تاثیر جیره‌های یکسان بر مقدار سنتز پروتئین میکروبی با استفاده از روش دفع مشتقات پورینی در ادرار و تعیین راندمان سنتز پروتئین میکروبی در گوساله‌های نر سیستانی و هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پژوهشکده دامهای خاص دانشگاه زابل در دی ماه تا پایان بهمن ماه سال ۱۳۹۲ انجام شد. مدت زمان آزمایش ۳۰ روز به طول انجامید.

دام‌های آزمایشی

تعداد ۱۴ راس گوساله نر نژاد سیستانی و هلشتاین (از هر نژاد ۷ رأس) با میانگین وزن 300 ± 30 کیلو گرم با سن ۱۵ ماه و اخته نشده از دو گله گاو سیستانی و هلشتاین تهیه و به محل اجرای طرح منتقل شدند. گوساله‌ها قبل از ورود به جایگاه انفرادی (به ابعاد ۳×۲ متر) وزن کشی شدند.

جیره آزمایشی

حدود ۳ هفته عادت پذیری به جیره‌های آزمایشی در نظر گرفته شد. جیره‌ها در سطح نگهداری با نرم افزار (NRC, ۱۹۹۶) تنظیم و به مقدار یک درصد وزن بدن در دو وعده غذایی (صبح و عصر) در اختیار دام‌ها قرار گرفت (۶۵٪ علوفه و ۳۵٪ کنسانتره). دام‌ها پیوسته به آب آشامیدنی و نمک در آخور دسترسی داشتند. پسمانده غذا هر روز جمع‌آوری و ماده خشک تعیین تا مقدار مصرف ماده خشک روزانه هر راس دام تعیین شود. ترکیب و اجزای جیره در جدول (۱) نشان داده شده است.

روش جمع‌آوری ادرار

جمع‌آوری ادرار با استفاده از بطری‌های ۱/۵ لیتری انجام شد. بطری‌ها از تنه بریده شدند و دو دستگیره با

² - Spot sampling

شد. مایع پلاسما از بقیه خون جدا شد و با استفاده از کیت‌های شرکت طب گستران حیوان ایرانیان و دستگاه اتوآنالایزر (مدل Prom) مقادیر گلوکز، تری‌گلیسیرید و نیتروژن اورهای خون اندازه‌گیری شد.

فراسنجه‌های خونی خونگیری سه روز آخر آزمایش سه ساعت بعد از مصرف غذا از ورید و داج به وسیله سرنگ‌های یک بار مصرف انجام گردید و نمونه‌ها به درون فلاسک دارای یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد و در ۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ

جدول ۱- ترکیب جیره آزمایشی تغذیه شده به گوساله‌های نژاد سیستانی و هلشتاین

اجزا	DM (%)
یونجه خشک	۲۶/۳۹
کاه گندم	۳۹/۵۷
جو	۱۶/۵۱
سیوس گندم	۹/۹۷
کنجاله تخم پنبه	۱/۵۶
تفاله چغندر قند	۱/۳۲
تفاله زیتون	۱/۳۲
گندم بلغور شده	۱/۰۸
کنجاله کلزا	۰/۹۶
کربنات کلسیم	۰/۶۶
نمک	۰/۶۶
ترکیبات شیمیایی (%)	DM (%)
ME (مگا کالری/کیلوگرم)	۱/۱۹
CP	۱۰/۰۵
DM	۹۰/۱۱
CF	۱۱
NDF	۵۱/۴۰
ADF	۳۱/۲۷
Ca	۰/۷۶
P	۰/۲۳
RDP	۵۹/۴
RUP	۳۹/۶

ME: انرژی متابولیسمی CP: پروتئین خام DM: ماده خشک CF: فیبر خام NDF: فیبر نامحلول در شوینده خنثی ADF: فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Ca: کلسیم P: فسفر RDP: پروتئین تجزیه پذیر شکمبه ای RUP: پروتئین تجزیه ناپذیر شکمبه ای

مشتقات پورینی دفعی بر اساس شاخص PDC بدون نیاز به جمع آوری کل ادرار محاسبه و در این رابطه C کراتینین دفعی روزانه بر حسب ($\text{mmol/kg BW}^{0.75}$)

روابط مورد استفاده برای تعیین نیتروژن میکروبی با توجه به اینکه جمع آوری کل ادرار مشکل است برای تعیین پروتئین میکروبی از روش جمع آوری نقطه‌ای ادرار استفاده شد. با استفاده از معادله زیر میزان

۲/۸۰ میلی مول در روز بود که تفاوت‌های مشاهده شده معنی‌دار نبود. از لحاظ عددی دفع مشتقات پورینی در نژاد هلشتاین بیشتر از نژاد سیستانی بود که احتمالاً دلیل آن راندمان جذب بالاتر این مشتقات در نژاد سیستانی بوده است. محققین گزارش کردند با تغذیه جیره در سطح نگهداری، دفع آلانتوئین، اسید اوریک و کراتینین از ادرار گاوهای کوهاندار و آنگولا تفاوت معنی‌داری نشان نداد که یافته‌ها با نتایج این آزمایش مطابقت دارد (اوسوجی و همکاران ۱۹۹۶ و سوجونو و همکاران ۱۹۹۹). رنو و همکاران (۲۰۰۰) با مطالعه بر روی نژادهای مختلف پرواری نشان دادند که با افزایش مصرف ماده خشک دفع مشتقات پورینی افزایش یافت. نتایج اوجدا و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد دفع کل مشتقات پورینی و آلانتوئین در گاوهای کوهاندار و دورگه در پاسخ به محدودیت‌های غذایی کاهش یافت و تفاوت معنی‌دار نبود. این محققین میزان پروتئین میکروبی سنتز شده در گاوهای کوهاندار را بالاتر از گاوهای دورگه برآورد کردند که دلایل آن افزایش استفاده از حداکثر انرژی خوراک و ضریب تبدیل غذایی بالاتر نسبت به گاوهای دورگه بیان شد.

مقدار دفع ترکیبات پورینی (آلانتوئین و اسید اوریک) آلانتوئین فرآورده اصلی دفع شده از ادرار در اثر متابولیسم پورین‌ها بود که تخمین آلانتوئین دفعی حاصل از این آزمایش چه در نژاد سیستانی و چه در نژاد هلشتاین تفاوتی نداشت که با نتایج چن و گومز (۱۹۹۲) و باربوسا و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد. برآورد آلانتوئین دفعی در نژاد سیستانی ۱/۷۳ و در نژاد هلشتاین ۲/۳۱ میلی مول در روز بود که تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج آزمایش نشان داد استفاده از جیره در سطح نگهداری میزان مشتقات پورینی دفع شده را تحت تأثیر قرار نداد. مقادیر بالاتر دفع آلانتوئین در نژاد هلشتاین می‌تواند مربوط به مصرف بالاتر ماده خشک باشد. با توجه به این که دفع آلانتوئین با مصرف ماده خشک ارتباط مستقیم دارد، آلانتوئین تحت تأثیر

است. از این شاخص برای اندازه‌گیری نقطه‌ای استفاده شده است (چن و همکاران ۱۹۹۰).

$$\text{PDC index} = \frac{[\text{PD}]}{[\text{Creatinin}]} \times \text{BW}^{0.75}$$

$$\text{PD (mmol/d)} = \text{PDC index} \times \text{C}$$

در گوساله نژاد سیستانی و هلشتاین پس از محاسبه مشتقات پورینی دفعی (Y)، میزان مشتقات پورینی جذب شده (X) به ترتیب با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (چن و گومز ۱۹۹۵).

$$Y = 0.85X + (0.147 \times W^{0.75})$$

برای نژاد سیستانی

$$Y = 0.85X + (0.385 \times W^{0.75})$$

برای نژاد هلشتاین

با وجود مقدار مشتقات پورینی جذب شده میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (IAEA ۱۹۹۷).

$$\text{Microbial } N(\text{gN/d}) = \frac{X(\text{mmol/d}) \times 70}{0.116 \times 0.83 \times 1000} = 0.727 X$$

تجزیه آماری داده‌ها

برای تجزیه آماری داده‌های بدست آمده، از نرم افزار SAS (۲۰۰۲) نسخه ۹ و رویه GLM استفاده و میانگین حداقل مربعات داده‌ها با آزمون T مقایسه شدند. مدل آماری آزمایش به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + x_i + \xi_{ij}$$

که در این مدل Y_{ij} = مقدار عددی هر مشاهده، μ

میانگین کل جمعیت، X_j = اثر تیمار و ξ_{ij} = خطای

آزمایش می‌باشد.

نتایج و بحث

الگوی دفع مشتقات پورینی

فراسنجه‌های تولید پروتئین میکروبی در دو نژاد سیستانی و هلشتاین در جدول (۲) نشان داده شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که کل مشتقات پورینی (آلانتوئین و اسیداوریک) دفع شده از ادرار، در گوساله‌های سیستانی و هلشتاین به ترتیب ۲/۳۵ و

اوریک ادرار با هم نسبت عکس دارند که این عامل به شدت جریان پروتئین میکروبی در روده کوچک بستگی دارد (توپس و الیوت ۱۹۶۵). آلانتوئین قسمت بیشتر مشتقات پورینی را شامل می‌شود (باربوسا و همکاران ۲۰۰۶ و ۲۰۱۱). متوسط دفع آلانتوئین و اسید اوریک را برای گاو کوهاندار هند به ترتیب ۷۲/۴۸ و ۷/۰۶ میلی مول در لیتر گزارش شد و با افزایش مصرف ماده خشک میزان دفع آلانتوئین و به دنبال آن سنتز میکروبی افزایش یافت.

مقدار مصرف ماده خشک قرار گرفت. علت کمتر بودن آلانتوئین در نژاد سیستانی احتمالاً می‌تواند مربوط به فعالیت بالای آنزیم زانتین اکسیداز و تصفیه گلوومرولی کمتر در نژادهای کوهاندار باشد (چن و اورسکوف ۲۰۰۴).

برآورد اسید اوریک دفع شده در گوساله‌های هلشتاین ۰/۱۳ میلی مول از لحاظ عددی بیشتر از گوساله‌های سیستانی بود که به ترتیب ۰/۶۲ و ۰/۴۹ میلی مول در روز نشان داده شد. این تفاوت‌ها اختلاف معنی داری نداشت. نشان داده شده است که دفع آلانتوئین و اسید

جدول ۲- فراسنجه‌های تولید پروتئین میکروبی، مصرف ماده خشک و دفع مشتقات پورینی از طریق ادرار گوساله‌های نر

سیستانی و هلشتاین

P value	SEM	هلشتاین	سیستانی	فراسنجه‌ها
۰/۰۰۰۱	۱/۹	۳۰۶/۸ ^a	۲۷۶/۴ ^b	وزن بدن (کیلوگرم)
۰/۳	۰/۲	۱/۲۱	۱/۱۰	مصرف ماده خشک (کیلوگرم)
۰/۲	۰/۱۳	۲/۳۱	۱/۷۳	آلانتوئین دفعی (میلی مول در روز)
۰/۰۰۲	۰/۱	۱/۴۱ ^a	۰/۷۱ ^b	کراتینین دفعی (میلی مول در روز)
۰/۱	۰/۰۷	۰/۶۲	۰/۴۹	اسید اوریک (میلی مول در روز)
۰/۰۲	۸/۷	۱۲۳/۲۷ ^a	۲۲۱/۷۵ ^b	شاخص مشتقات پورینی-کراتینین
۰/۳	۰/۴	۲/۸۰	۲/۳۵	کل مشتقات پورینی دفعی (میلی مول در روز)
۰/۰۰۶	۳/۸	۱۶/۳۸ ^b	۴۲/۸۷ ^a	تخمین مشتقات پورینی جذب شده (میلی مول در روز)
۰/۰۰۶	۲/۸	۱۱/۹ ^b	۳۱/۰۶ ^a	تخمین نیتروژن میکروبی (گرم در روز)

اعداد حروف نامشابه در جدول از نظر آماری با یک دیگر اختلاف معنی داری دارند. SEM اختلاف خطای استاندارد

کراتینین

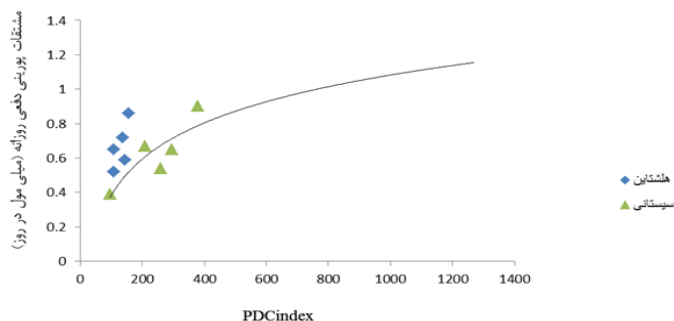
(۱۹۶۶). باربوسا و همکاران (۲۰۰۶) متوسط دفع کراتینین را برای گاو کوهاندار هند ۲۷/۱ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن گزارش کردند و نشان دادند که میزان دفع کراتینین با جثه دام ارتباط مثبتی دارد. چن و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند غلظت کراتینین رابطه‌ای با رژیم غذایی نداشت و شاخص PDC تحت تأثیر سطح تغذیه و زمان نمونه‌گیری قرار نگرفت. همچنین، ساهالی^۳ و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که زمان نمونه‌برداری تأثیری بر غلظت مشتقات پورینی و کراتینین و یا نسبت PD به کراتینین در ادرار گاوهای

کراتینین دفعی در گوساله‌های هلشتاین ۱/۴۱ و در گوساله‌های سیستانی ۰/۷۱ میلی مول در روز بود و تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0/01$). علت این اختلاف می‌تواند به وزن بدن و نژاد بستگی داشته باشد. افزایش مقدار کراتینین دفعی هم ممکن است به دلیل جثه بزرگتر گوساله‌ها باشد که از نظر آماری تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0/01$). کراتینین یک محصول زائد تولیدی در عضلات اسکلتی است که از کراتین فسفات حاصل شده و میزان دفع آن همواره ثابت است و وابسته به وزن بدن است (آلبین و کلانتون

³- Nsahlai et al

بالاتری ($R^2=0.47$) را با شاخص PDC در مقایسه با نژاد هلشتاین داشته است.

کوهاندار و دورگه نداشت. شکل ۱ نشان می‌دهد که دفع مشتقات پورینی روزانه در نژاد سیستانی همبستگی



شکل ۱- ارتباط بین دفع روزانه مشتقات پورینی (Y, mmol/d) و شاخص PDC index (X) در نمونه ادرار نقطه‌ای

گوساله‌های سیستانی و هلشتاین

برای گاو سیستانی ($Y=144.8+39.7X$ ($R^2=0.47$) و برای هلشتاین ($Y=302.27X$ ($R^2=0.30$) بود

تولید پروتئین میکروبی، میزان تولید اسیدهای نوکلئیک و مشتقات پورینی به عنوان یک معیار دارد و در نهایت سبب افزایش سنتز پروتئین میکروبی در این نژاد شد. مصرف ماده خشک از لحاظ عددی در نژاد سیستانی در مقایسه با نژاد هلشتاین کمتر بود. تولید پروتئین میکروبی بیشتر در نژاد سیستانی می‌تواند احتمالاً به دلیل تفاوت در جمعیت میکروبی یا در تجزیه پذیری بیشتر خوراک در شکمبه گاوهای زیبو در مقایسه با نژاد هلشتاین باشد (وانپات و همکاران ۲۰۰۹، ستینری و همکاران ۱۹۹۳ و فرانزولین و دهوریتی ۱۹۹۹). نتایج این آزمایش با آزمایشی که میزان نیتروژن میکروبی را در گاوهای کوهاندار محلی ۱۱/۲۷ گرم در روز نشان داد، مشابه است. این محققین بیان کردند که هنگامی که ماده آلی قابل هضم کاهش یافت، نیتروژن میکروبی هم کاهش یافت (تاک شالا و همکاران ۲۰۰۴). مو و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که دفع نیتروژن میکروبی در گاوهای زرد چینی با سطح خوراک مصرفی رابطه معنی داری دارد ($P<0.05$) و با کاهش مصرف خوراک نیتروژن میکروبی کاهش یافت. مشتقات پورینی جذب

نیتروژن میکروبی تولید شده و پروتئین میکروبی سنتز شده

میزان مشتقات پورینی جذب شده (میلی مول در روز) برای دو نژاد سیستانی و هلشتاین به ترتیب ۴۲/۸۷ و ۱۶/۳۸ بدست آمد که تفاوت معنی داری نشان داد ($P<0.01$). نژاد سیستانی توانسته مقدار پورین بیشتری را جذب نماید که می‌تواند به دلیل افزایش مقدار ورودی پروتئین میکروبی به روده کوچک باشد. نیتروژن میکروبی تولید شده در گوساله‌های سیستانی ۳۱/۰۶ و در گوساله‌های هلشتاین ۱۱/۹ گرم در روز بدست آمد که با هم تفاوت معنی داری داشتند ($P<0.01$). با توجه به عملکرد بهتر گوساله‌های سیستانی نسبت به هلشتاین می‌توان اشاره کرد که گوساله‌های سیستانی توانایی بهتری در استفاده از ازت و انرژی جیره را داشته که این خود سبب افزایش پروتئین میکروبی سنتز شده در گوساله‌های سیستانی نسبت به هلشتاین گردید. میزان پورین جذب شده در گوساله‌های سیستانی بالاتر از گوساله‌های هلشتاین بود که این تغییر ارتباطی نزدیک با میزان تکثیر و تجزیه میکروارگانیسم‌های شکمبه،

میکروبی سنتز شده را برای گاوهای کوهاندار ۳۱/۲۹ گرم در روز نشان داد که تفاوت معنی داری داشته و جذب بهتر مشتقات پورینی در گاوهای کوهاندار را نشان دادند. موراس (۲۰۰۳) با مطالعه بر روی گاو هلشتاین و گاو کوهاندار نشان داد که با افزایش مقدار ماده خشک مصرفی در جیره سنتز پروتئین میکروبی افزایش یافت.

شده در گاو سیستانی بیشتر از نژاد هلشتاین بود. این یافته مطابق با نتایج رنو (۲۰۰۳) است. این تحقیق که بر روی گاوهای کوهاندار و جرسی، کوهاندار و هلشتاین و دورگه و هلشتاین انجام شد نشان داد شد که تحت جیره یکسان میزان مشتقات پورینی جذب شده و نیتروژن میکروبی سنتز شده به ترتیب ۷۴/۷۱ میلی گرم در روز برای گاوهای کوهاندار و ۴۱/۰۸ گرم در روز برای گاوهای هلشتاین بود. همچنین، میزان پروتئین

جدول ۳- مقایسه میانگین فراسنجه‌های خونی در دو نژاد سیستانی و هلشتاین

P value	SEM	هلشتاین	سیستانی	(میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۰۰۰۷	۱/۰۸	۶۷/۵۱ ^b	۷۷/۴ ^a	گلوکز
۰/۰۰۱	۱/۵	۱۶/۲۷ ^b	۲۳/۰۷ ^a	نیتروژن اوره ای خون
۰/۰۰۴	۲/۴	۲۴/۴۲ ^b	۳۶/۵۷ ^a	تری گلیسیرید

SEM= انحراف خطای استاندارد

فرآیندهای آنابولیزم باشد. این محققین بیان کردند علت افزایش گلوکز، ازت اوره ای خون و تری گلیسیرید در خون، سازگاری گاوهای کوهاندار با مصرف غذاهای پسماند و فقیر و ضریب تبدیل غذایی بالا در این دام‌ها می‌باشد. آریکا و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند نیتروژن اوره‌ای خون در تلیسه‌های کوهاندار به طور معنی داری بیشتر از تلیسه‌های هلشتاین بود. موران (۱۹۸۳) نشان داد تفاوتی در ازت و نیتروژن دفعی در گاوهای کوهاندار و گاومیش وجود ندارد اما میزان نیتروژن اوره‌ای خون در گاو کوهاندار پایین تر از گاومیش بود. تومیوکی و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند تحت رژیم غذایی کم کیفیت مقدار ازت اوره ای خون در گاومیش بالاتر از گاوهای کوهاندار بود که علت را افزایش نیتروژن در بزاق گاومیش دانستند. اما میزان گلوکز خون در گاوهای کوهاندار بالاتر از گاومیش نشان داده شد، دلیل آن دریافت انرژی بیشتر از پروتئین بافت بدن در حالت ناشتا عنوان شد.

فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های سیستانی و هلشتاین

مقدار فراسنجه‌های خونی اندازه‌گیری شده در گوساله‌های سیستانی و هلشتاین در جدول ۳ نشان داده شده. گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون و تری-گلیسیرید تفاوت معنی داری در دو نژاد داشتند. به طوری که این فراسنجه‌ها در نژاد سیستانی بیش از نژاد هلشتاین بود. با تغذیه جیره‌های یکسان گاو سیستانی احتمالاً بهتر توانسته از خوراک انرژی کسب نماید و این سبب افزایش گلوکز و تری گلیسیرید شده است. باز چرخش ازت به شکمبه در گاوهای کوهاندار بیش از گاوهای اروپایی است و می‌تواند دلیل احتمالی برای بالاتر بودن میزان NH_3 در خون گاوهای سیستانی باشد. سانتاناو همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند تحت جیره‌های نگهداری در گاوهای کوهاندار نلور غلظت گلوکز، نیتروژن اوره‌ای و تری گلیسیرید تفاوت معنی داری نشان داد. ممکن است علت افزایش ازت اوره ای خون تفاوت در کاتابولیزم پروتئین، آمینواسید و

جدول ۴- تأثیر جیره آزمایشی بر برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ادرار گوساله‌های نر نژاد سیستانی و هلشتاین

P value	SEM	هلشتاین	سیستانی	فراسنجه‌های مورد بررسی
۰/۸	۰/۱	۸/۳۰	۸/۶۰	pH
۰/۸	۰/۶	۱۰۲۷/۳	۱۰۲۷/۷	وزن مخصوص (گرم در لیتر)
۰/۵	۰/۳	۱/۳۳	۱/۶۶	گلبول سفید (HPF*)
۰/۴	۰/۰۶	۱/۳۳	۱/۰۶	گلبول قرمز (HPF*)
۰/۵	۰/۴	۱/۴۳	۱/۱۳	سلول‌های پوششی (HPF*)

میانگین‌ها در هر سطر دارای اختلاف معنی داری نمی‌باشند ($P > 0.05$).

* HPF=High Power Flat (در میدان دید بزرگ میکروسکوپ "با بزرگ نمایی عدسی ۴۰").

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ادرار

نتایج مربوط به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی ادرار گوساله‌های سیستانی و هلشتاین در جدول ۴ نشان داده شده است. ادرار محصول نهایی فعالیت کلیه‌ها پس از یک سری واکنش‌های پیچیده برای تعادل فیزیولوژیک بدن است. مکانیسم‌های طبیعی و پاتولوژیک بر ترکیب آن اثر می‌گذارد و ادرار نه تنها در بیماری‌های کلیوی تغییر می‌یابد، بلکه بسیاری از اختلالات خارج کلیوی نیز باعث تغییر ادرار شده و از نظر تشخیصی با ارزش هستند (مجابی ۱۳۷۹ و خاکی و همکاران ۱۳۸۴). در هر دو نژاد pH ادرار تفاوت معنی داری نداشت. جیره غذایی می‌تواند بر pH ادرار تأثیرگذار باشد و pH طبیعی ادرار در علفخواران قلیایی است (مجابی ۱۳۷۹ و خاکی و همکاران ۱۳۸۴). در هر دو نژاد بین وزن مخصوص ادرار تفاوت معنی دار نبود که ممکن است به علت شرایط یکسان خوراک‌دهی باشد. در تعیین وزن مخصوص، مقدار مواد جامد محلول در ادرار اندازه‌گیری می‌شود و نشان می‌دهد که کلیه‌ها تا چه اندازه قادرند با بازجذب آب، ادرار را غلیظ کنند. وجود املاح در ادرار اثر قابل توجهی در وزن مخصوص آن دارد (مجابی ۱۳۷۹ و خاکی و همکاران ۱۳۸۴). نتایج ارائه

شده مربوط به وجود گلبول‌های سفید و قرمز و همچنین سلول‌های پوششی در ادرار بیانگر میانگین تعداد آن‌ها در میدان دید بزرگ میکروسکوپ با بزرگ نمایی عدسی ۴۰ می‌باشد و در هیچ یک از موارد بین دو نژاد تفاوت معنی داری وجود نداشت. وجود بیش از ۵-۴ گلبول قرمز در میدان دید، نشان دهنده خونریزی (هماتوری) است که می‌تواند ناشی از التهاب مجاری ادراری باشد. گفته می‌شود که وجود بیش از ۸-۵ گلبول سفید در میدان دید، نشان دهنده التهاب مجاری ادراری و تناسلی است و سلول‌های پوششی جدا شده از کلیه‌ها و مجاری آن تنها ارزش تشخیصی دارند (مجابی ۱۳۷۹ و خاکی و همکاران ۱۳۸۴).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد دفع مشتقات پورینی در صورت مصرف جیره یکسان در گوساله‌های نژاد سیستانی و هلشتاین تفاوت معنی داری نداشت و با تغذیه جیره‌های یکسان، راندمان سنتز پروتئین میکروبی در گاو سیستانی به طور معنی داری بیش از گاو هلشتاین بود.

منابع مورد استفاده

- خاکی ز، اطیابی ن، عباسعلی پور کبیر م و خضرائی پ، ۱۳۸۴. بیوشیمی بالینی حیوانات اهلی، انتشارات دانشگاه تهران.
 مجابی ع، ۱۳۷۹. بیوشیمی دامپزشکی بالینی، جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران.

- Albin RC and Clanton DC, 1966. Factors contributing to the variation in urinary creatinine and creatinine-nitrogen ratios in beef cattle. *J Anim Sci* 25:107-112.
- Arcia G, Braulio MVM, Diaz A, Angel MA, Epigmenio CG, Eliazar, OZ and Jesus JR, 2012. Effect of grazing *cratylia argentea* associated with *brachiaria brizantha-toledo* on quality pasture and weight gain in Holstein × zebu heifers. *Trop and Subtrop Agroeco* 15:1-11
- Barbosa AM, Valadares RFD, Valadares Filho SC, 2006. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis deconcentrado e de fontes proteicas sobre a excreção de creatinina, de ureia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35:870-877.
- Barbosa AM, Valadares RFD, Valadares Filho SC, 2011. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nelore cattle. *J Anim Sci* 89:510-519.
- Chen XB, Mejia AT, Kyie DJ and Ørskov ER. 1995. Evaluation of the use of purine derivative; creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: in sheep. *J Agric Sci* 125: 137-143.
- Chen XB, Jayasuriya MCN and Makkar HPS, 2003. Measurement and application of purine derivatives: creatinine ratio in spot urine samples of ruminants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp: 167-179.
- Chen XB, Ørskov ER and Hovell FDD, 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. *Brit J Nut* 63: 121-129.
- Chen XB, Samaraweera L, Kyle DJ, Ørskov ER and Abeygunawardena H, 1996. Urinary excretion of purine derivatives and tissue xanthine oxidase activity buffaloes, white special re fence to differences between buffaloes and *Bos tarus*. *Brit J Nut* 75:397-407.
- Chen XB and Gomes MJ, 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – An overview of the technical details. International feed resources unit, Rowett research institute, Bucksburn Aberdeen AB2 9SB, UK Occasional Publication, 1-8.
- Chen XB and Gomes MJ, 1995. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives an overview of the technical details. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen AB2 9SB. UK.
- Chen XB and Ørskov ER, 2004. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. In estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivative (ed.H.S. Makkar and X.B.Chen), pp.180-210 FAO/IAEA, Kluwer Academic Publishers Dordrecht.
- FAO/IAEA, 1997. Estimation of rumen microbial protein production from purine derivatives in urine, 945:8-9.
- Fujihara T, Orskov ER, Reeds PJ, Kyle DJ, 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *J Anim Sci* 109: 7-12.
- Franzolin R, Dehority BA, 1999. Comparison of protozoal populations and digestion rates between water buffalo and cattle fed an all forage diet. *J Appl Anim Res* 16:33.
- IAEA (International Atomic Energy Agency), 1997. Estimation of Rumen Microbial Protein Production from Purine Derivatives in Urine. A laboratory manual for the FAO/IAEA coordinated research programme on development, standardization and validation of nuclear based technologies for measuring microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity. Vienna, Austria.
- Jercyane MSB, Rilene FDV, Samantha GP, Sebastiao CVF, Luciana LP and Luiz FCS, 2012. Estimation of endogenous contribution and urinary excretion of purine derivatives from the total digestible nutrient intake in Nelore heifers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41:1899-1906.
- Moran JB, 1983. Aspect of nitrogen utilization in Asiatic water buffalo and Zebu cattle. *J Agric Sci* 100:13-23.
- Moraes EHBK, 2003. Suplementos múltiplos para criação e terminação de novilhos mestiços em pastejo durante os períodos de seca e transição seca-água., Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Vicosa, 69.

- Mo F, Wang YX, Xing Z, Yang YF and Chen XB, 2004. The effect of different levels of feed intake on the urinary excretion of urine derivatives in chinese yellow cattle. Springer Science+Business Media Dordrecht 105-107.
- Nsahlai IV, Osuji PO and Umunna NN, 2000. Effect of form and quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary spot samples, daily microbial N supply and predictability of intake. Anim Feed Sci and Technol 85:223-238.
- Osuji PO, Nsahlai IV and Khalili H, 1996. Effect of fasting on the urinary excretion of nitrogen and purine derivatives by zebu (*Bos indicus*) and crossbred (*Bos indicus* x *Bos taurus*) cattle. J Appl Anim Res 10: 39-47.
- Ojeda A, Ornella P, Balcells J and Belenguer A, 2005. Urinary excretion of purine derivatives in *Bos indicus* x *Bos Taurus* crossbred cattle. Brit J Nut 93: 821-828.
- Renno LN, Valadares RFD, Valadares Filho SC, 2000. Concentração plasmática de ureia e excreções de ureia e creatinina em novilhos. Revista Brasileira de Zootecnia, 29:1235-1243.
- Renno LN, Valadares RFD, Valadares Filho SC, 2003. Níveis de proteína na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: estimativa da produção de proteína microbiana por intermédio dos derivados de purinas na urina. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40.
- SAS Institute INC. 2002. SAS user,s Guide: Statistics. Version. 9.00. Statistical Analysis Systems Institute Inc., Cary NC. USA.
- Settineri D, Pace V, Annicchiarico G, 1993. Fibrous fractions degradation of some animal feeds in rumen of buffalo and cattle. In proceedings: International symposium prospects of buffalo production in the Mediterranean and the Middle East. Cairo, Egypt. 290-293.
- Soejono M, Yusiati LM, Budhi SPS, Widyobroto BP and Backrudin Z, 1999. Estimation of rumen microbial protein supply for indigenous ruminant using nuclear and purine excretion techniques in Indonesia, Nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock. Brit Soc ANIM Sci 69-74.
- Santana MHA, Rossi Junior P, Almeida R and Schuntzemberger AM, 2013. Blood call and metabolic profile of nellor bulls and their correlations with residual feed intake and feed conversion ratio, Brasileira de Saude e Producao Animal. 14: 527-537.
- Singh M, Sharma K, Dutta N, Singh P, Verma AK and Mehra UR, 2007. Estimation of Rumen Microbial Protein Supply Using Urinary Purine Derivatives Excretion in Crossbred Calves Fed at Different Levels of Feed Intake. J Anim Sci 20:1567-1574.
- Takshala S, Pathirana KK and Jayasuriya MCN, 2004. Urinary excretion of purine derivatives as an indicator of microbial protein supply in srilankan local zebu cattle and crossbred milking cows. Springer Science+Business Media Dordrecht, 97-100.
- Takshala S, Pathirana KK and Kumarasiri A, 2001. Urinary excretions of Purine Derivatives (PD) as a predictor of nutritional status of local Zebu cattle and their crosses. J Anim Sci 1:1-5.
- Tomoyuki K, Witthaya S, Pimpaporn P, Ramphrai C and Mitsunori K, 2006. Comparative Study on Energy and Nitrogen Metabolisms between Brahman Cattle and Swamp Buffalo Fed with Low Quality Diet. J Anim Sci 40: 183 – 188.
- Topps JH and Elliott RC, 1963. Nitrogen metabolism of African cattle fed diets with an adequate energy, low protein content. J Nature 197:668-670.
- Topps JH and Elliott RC, 1965. Relationship between concentration of ruminal nucleic acids and excretion of purine derivatives by sheep. J Anim Sci 205:498-499.
- Vagnoni DB, Broderick GA, Clayon MK and Hatfield RD, 1997. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines, J Dairy Sci 80: 1695-1702.
- Verbic J, Chen XB, Macleod NA and Ørskov ER, 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. J Agric Sci Camb 114: 243-248.

Wanapat M, Sommart K, Wachirapakorn C, Uriyapongson S and Wattanachant C, 1994. Recent advances in swamp buffalo nutrition and feeding. In proceedings: 1st Asian Buffalo Association Congress. Khon Kaen, Thailand: 155-187.

Comparison of purine derivatives excretion and microbial protein synthesis in Holstein and Sistani breed male Calves

S Karimi Damane¹, MR Dehghani^{2*} and M Yousef Elahi²

Received: November 03, 2013 Accepted: July 04, 2015

¹ MSc Student, Department of Animal Science, University of Zabol, Zabol, Iran

² Assistant Professor and Associative Professor, respectively, Department of Animal Science, University of Zabo, Zabol, Iran

of Animal Science, University of Zabol, Zabol, Iran

*Corresponding Author: E mail: Mohrezadehghani@yahoo.com

Abstract:

BACKGROUND: Purine derivatives can be used for measuring of microbial protein synthesized in the rumen. **OBJECTIVES:** The aim of research was compare of purine derivatives excretion and microbial protein synthesis in two breeds of Sistani and Holstein. **METHODS:** The rations were prepared in a completely randomized design in maintenance level and were fed to animals in 2 breeds that each composed of 7 calves as replicate. The urine was collected with spot sampling method to measure of purine derivatives for 10 days and 5 times every day. The blood samples was prepared for measuring of blood parameters (glucose, triglycerides and Blood urea nitrogen) in all of calves of two breeds from Jugular vein too. **RESULTS:** Results showed the amount of microbial protein synthesis in Sistani Calves was 42.87mmol/day that was more significantly than Holstein Calves (16.38 mmol/day) ($P<0.01$). The amount of allantoin and uric acid in both breeds was not significantly different. The concentration of glucose, nitrogen of Blood urea nitrogen and triglycerides was significantly different in both breeds ($P<0.01$). The amount of glucose, nitrogen of urea blood and triglyceride was more in the Sistani breed compare to Holstein breed (respectively 77.4, 23.07 and 36.57 mg/dl in Sistani breed and 67.51, 16.27 and 24.42 mg/dl in Holstein breed). **CONCLUSIONS:** Generally, the results of this experiment showed that efficiency of microbial protein synthesis in Sistani breed was more significantly than Holstein breed with feeding the equal ration.

Keywords: Purine derivatives, Microbial protein synthesis, Sistani, Holstein