بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف کنسانتره در جیره غذایی بر میزان سنتز پروتئین میکروبی در شکمبهٔ گاومیش بومی استان مازندران

یاشار وکیل‌فرجی[1*]، کاوه جعفری‌خورشیدی[2]، مجتبی زاهدی‌فر[3]

چکیده

عوامل مختلفی از جمله فراهم بودن منبع انرژی، تامین نیتروژن، pH شکمبه، نرخ عبور از شکمبه، حذف تک‌یاخته‌ها از شکمبه و مواد معدنی بر میزان سنتز پروتئین میکروبی اثر می‌گذارند. به طور طبیعی تامین انرژی، اولین عامل محدود کننده در سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه به شمار می‌رود. هدف از این تحقیق بررسی میزان تأثیر سطوح مختلف کنسانتره بر مقدار سنتز پروتئین میکروبی با استفاده از روش دفع مشتقات پورینی در ادرار می باشد. اثر ۴ جیره غذایی شامل: جیره تمام علوفه‌ای، جیرهٔ حاوی ۱۵٪ ، ۳۰٪ و ۴۵٪ کنسانتره در قالب طرح مربع لاتین روی ۴ رأس گاومیش نر بومی مازندران با متوسط وزنی ۱۰±۱۴۰ کیلوگرم انجام گرفت. میزان مشتقات پورینی دفع شده برای جیره‌های تمام علوفه‌ای، حاوی ۱۵٪ ، ۳۰ ٪ و ۴۵٪ کنسانتره به ترتیب ۱۴/۵۴، ۱۸/۱۱، ۲۱/۵۹، ۲۴/۵۵ (میلی‌مول در روز) و میزان نیتروژن میکروبی تولید شده برای جیره‌های فوق به ترتیب ۳۸/۷۶، ۶۰/۴۴، ۸۱/۴۸، ۹۹/۴۳ (گرم در روز) بود. میزان پروتئین میکروبی سنتز شده نیز برای این جیره‌ها به ترتیب ۲۴۲/۲۸، ۳۷۷/۷۴، ۵۰۹/۲۳ و ۶۲۱/۴۲ گرم در روز بود. با افزایش سطح کنسانتره در جیرهٔ غذایی، میزان مشتقات پورینی دفع شده در ادرار و نیتروژن یا پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/01$).

واژگان کلیدی : گاومیش، جیره غذایی، مشتقات پورینی، سنتز پروتئین میکروبی

مقدمه

علوفه بخش اصلی جیره غذایی دام‌های نشخوارکننده را تشکیل می‌دهد. نشخوارکنندگان باید مقدار مناسبی انرژی، پروتئین، عناصر معدنی و ویتامین مصرف کنند تا نیازهای غذایی خود را تامین کنند و این در حالی است که اکثر دام های بومی با علوفه‌های خشبی کم کیفیت و بقایای محصولات کشاورزی تغذیه می‌گردند. توده میکروبی شکمبه سهم عمده‌ای در تامین اسید آمینه‌های مورد نیاز دام‌های نشخوارکننده برای تامین نیازهای نگهداری، رشد و تولید دارد (۱۳). بنابراین کسب اطلاع از سهم میکروب‌ها در تغذیه دام

۱-کارشناسی ارشد علوم دامی، مدرس گروه علوم دامی دانشگاه آزاداسلامی واحد سنندج

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر

۳- استادیار موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

*-نویسنده مسئول yashar2008_83_60@yahoo.com

برای مشخص نمودن نوع مکمل غذایی و بهبود عملکرد تولید ضروری است. پروتئین میکروبی می‌تواند از ٤٢ تا ٩٣ درصد پروتئین قابل دسترس برای دام را تأمین کند (۱۳). از روش‌های مختلفی برای تعیین میزان سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه استفاده می‌شود که می‌توان به شاخص‌های میکروبی همچون RNA (اسید ریبونوکلئیک)، DAPA (دی آمینو پمیلیک اسید) یا ایزوتوپ‌هایی همچون 32S، 15N یا 32P اشاره کرد (۱۱).

یکی از این روش‌های ساده و ارزان برای برآورد میزان پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه، تعیین مقدار مشتقات پورینی دفع شده از طریق ادرار است.خوراک‌های معمول نشخوارکنندگان دارای مقدار کمی اسیدهای نوکلئیک هستند که این اسیدهای نوکلئیک در داخل شکمبه تحت تأثیر فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه تقریباً به طور کامل تجزیه می‌شوند. بنابراین می‌توان گفت که اسیدهای نوکلئیکی که به رودهٔ کوچک وارد می‌شوند، عملاً منشاء میکروبی دارند. اسیدهای نوکلئیک میکروبی وقتی که به روده رسیدند، مورد تجزیه قرار می‌گیرند. نوکلئوزیدهای پورینی و پورین‌های آزاد جذب شده از طریق روده بسته به فعالیت آنزیمی به نام زانتین اکسیداز می‌توانند به مشتقات پورینی (هیپوزانتین، زانتین، اسید اوریک و آلانتوئین) تجزیه شوند. در گاو و گاومیش به علت فعالیت بالای زانتین اکسیداز در موکوس روده و خون، هیپوزانتین و زانتین به اسید اوریک تبدیل شده و بر این مبناء مشتقات پورینی موجود در ادرار گاو و گاومیش فقط اسیداوریک و آلانتوئین می‌باشند. مشتقات پورینی وارد شده به جریان خون می‌توانند از تجزیهٔ اسیدهای نوکلئیک بافتی نیز منشاء بگیرند. این بخش از مشتقات پورینی که از بافت‌ها منشاء می‌گیرد "مشتقات پورینی داخلی" گفته می‌شود و بخشی از مشتقات پورینی که مستقیماً از اسیدهای نوکلئیک میکروبی منشاء می‌گیرد "مشتقات پورینی خارجی" گفته می‌شود. مشتقات پورینی (PD[1]) عموماً در ادرار دفع شده و دفع مستقیماً با جذب پورین‌ها مرتبط است. بنابراین اگر نسبت پورین به نیتروژن میکروبی و قابلیت هضم پورین‌ها مشخص باشد، نیتروژن میکروبی جذب شده ازطریق روده می‌تواند از روی مقدار پورین جذب شده که از روی مشتقات پورینی دفع شده در ادرار تخمین زده شده، محاسبه شود (۹، ۱۰، ۱۱ و ۲۰).

رابطه بین مقدار تولید پورین‌ها با منشاء میکروب‌های شکمبه و دفع مشتقات پورینی ممکن است در بین نژادها و گونه‌های نشخوارکنندگان متفاوت باشد (٤، ٥ ،٦ ،١٠، ١١ و ٢٢).

دیپو و همکاران (۲۰۰۸)، مقدار سنتز پروتئین میکروبی را در شکمبه گاومیش موراه (*Bubalus bubalis*) با استفاده از شاخص دفع مشتقات پورینی اندازه‌گیری نمودند و در جیره غذایی از نسبت٤٠ ٪ کاه گندم و ٦٠٪ کنسانتره استفاده نموده و دام‌های آزمایشی را با سطوح ۹۵، ۸۰، ٦٠ و ٤٠٪ مصرف اختیاری روزانه تغذیه کردند. نتایج آزمایش نشان داد که رابطه مثبتی بین میزان دفع مشتقات پورینی از ادرار با سطح مصرف خوراک در گاومیش های موراه وجود دارد (۱۲).

هدف از انجام تحقیق، تخمین میزان پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه و همچنین میزان تأثیر سطوح مختلف کنسانتره بر مقدار سنتز پروتئین میکروبی با استفاده از روش دفع مشتفات پورینی در ادرار می باشد.

مواد و روش کار

محل و مدت انجام آزمایش: این آزمایش در مرکز تحقیقات علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر انجام شد. مدت زمان آزمایش ٨٤ روز، شامل ٤ دورهٔ ٢١ روزه بود. هر دورهٔ آزمایشی ٢١ روز به طول انجامید که ١١ روز به

1- Purine derivatives

عادت‌پذیری دام به جیره و ۱۰ روز متوالی به نمونه‌گیری اختصاص یافت.

دام های مورد آزمایش: آزمایش با استفاده از تعداد ٤ رأس گاومیش نر بومی مازندران (شبه جزیره میانکاله) با میانگین وزن ۱٤۰±۱۰ کیلوگرم انجام گرفت.

جیره‌های غذایی مورد استفاده: چهار جیره‌غذایی شامل جیره‌ای تمام علوفه‌ای (کاه گندم) و جیره‌هایی حاوی ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد کنسانتره درسطح نگهداری به دام‌ها تغذیه شدند (جدول شماره ۱). در طول دورهٔ آزمایش آب به صورت آزاد در اختیار دام‌ها قرار می‌گرفت.

جدول شماره ۱- اجزای تشکیل دهنده جیره‌های مورد استفاده

اجزای جیره	جیره ۱	جیره۲	جیره۳	جیره ۴
کنسانتره*	۰	۱۵	۳۰	۴۵
کاه گندم	۱۰۰	۵	۵	۵
یونجه خشک	۰	۸۰	۶۵	۵۰
ME(Mcal/kg DM)	۱/۴۸	۲/۲۱	۲/۲۹	۲/۳۸
CP (%)	۴	۱۴/۹	۱۵/۳۵	۱۵/۸

*اجزای تشکیل دهنده بخش کنسانتره (٪) شامل موارد ذیل بوده است: دانـه ذرت (۱۰)، دانه جو (۲۷)، سبوس گندم (۳۲)، کنجاله سویا (۱۸)، تفاله چغندر قند (۴)، مـلاس چغنـدر قند (۴)، کربنات کلسیم (۱)، نمک طعام (۱)، مکمل معـدنی و ویتـامینی (۰/۵) و زئولیـت (۲/۵). این مخلوط حاوی ۱۸٪ پروتئین خام و ۲/۷۱ مگاکالری در کیلوگرم مـاده خـشک، انرژی قابل متابولیسم بوده است.

روش جمع‌آوری ادرار: پس از اتمام هر دورهٔ عادت‌پذیری (۱۱ روز) مقدار ادرار تولید شده با استفاده از قفسهای متابولیکی مخصوصی که برای جمع آوری ادرار آماده شده بود در ظروف جمع‌آوری به حجم ٤۰ لیتر به مدت ۲٤ ساعت جمع‌آوری می‌شدند. به منظور جلوگیری از تخریب باکتریایی مشتقات پورینی در ضمن جمع آوری، ادرار توسط اسید سولفوریک ۱۰ درصد اسیدی می‌شد تا pH آن به کمتر از ۳ کاهش یابد. پس از پایان هر ۲٤ ساعت از کل ادرار جمع شده در ظروف، نمونه‌ای به حجم ۵۰ میلی لیتر گرفته شده و سپس حجم ادرار اندازه گیری می‌شد. برای جلوگیری از رسوب‌کردن مشتقات پورینی در طی دورهٔ نگهداری رقیق کردن نمونه ها به مقدار ۵ برابر انجام شد.

اندازه‌گیری میزان مشتقات پورینی در ادرار: نمونه‌های ادرار جمع آوری شده، در داخل ظروف مخصوص نمونه‌گیری تا زمان آنالیز آزمایشگاهی در دمای ۲۰°c- در فریزر نگهداری می‌شدند. سپس با استفاده از کیت اسید اوریک شرکت زیست شیمی مقادیر اسید اوریک موجود در نمونه پس از قرائت در طول موج ٦٤۰ نانومتر مشخص شد. به منظور اندازه گیری آلانتوئین نیز از روش ارائه شده توسط چن و همکاران (۹) استفاده شد. با این روش مقادیر آلانتوئین موجود در نمونه پس از قرائت در طول موج ۵۲۲ نانومتر مشخص شدند.

محاسبه میزان پورین‌های جذب شده: با قرار دادن مقدار کل مشتقات پورینی دفع شده در ادرار (Yمیلی‌مول در روز) در معادلهٔ ارائه شده توسط لیانگ (۱٤) برای گاومیش مقدار پورین‌های خارجی جذب شده (X میلی‌مول در روز) به دست آمد.

$$Y= 0.12X + 0.20\ W\ 0.75$$
$$X= (Y- 0.20\ W\ 0.75) \div 0.12$$

محاسبه میزان نیتروژن (پروتئین) میکروبی سنتز شده: سپس با قرار دادن مقدارX در رابطهٔ ارائه شده توسط چن و همکاران (۹) مقدار نیتروژن میکروبی سنتز شده (گرم در روز) مورد محاسبه قرار گرفت. در نهایت با ضرب مقادیر به دست آمده در عدد ٦/۲۵ مقدار پروتئین میکروبی (گرم در روز) محاسبه شد. ٦/۲۵ ثابتی است که برای تبدیل میزان نیتروژن به معادل پروتئینی آن در آزمایشات تعیین پروتئین خام مورد استفاده قرار می گیرد.

طرح آماری مورد استفاده: در این آزمایش از چهار جیره‌غذایی در قالب طرح مربع لاتین استفاده شد. مدل ریاضی طرح:

$$Xij(k)= M + Ri + Cj + T(k) + eij(k)$$

اجزای این مدل عبارتند از:

Xij(k) = مقدار نمونه از حیوان I ام در دوره j ام

تحت تاثیر جیره غذایی kام.

M= میانگین تیمارها، Ri= اثر ردیف یا حیوان، Cj=اثر ستون یا دوره‌ها، T(k)= اثر تیمار یا جیره‌های غذایی، Eijk= خطای آزمایش

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از مدل برنامه ریزی خطی از روش SAS آنالیز شده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن صورت پذیرفت.

نتایج

الگوی دفع مشتقات پورینی: نتایج این تحقیق نشان داد که سهم هر کدام از مشتقات پورینی دفع شده از ادرار، شامل آلانتوئین و اسید اوریک به ترتیب ۸۸/۸ و ۱۱/۲ درصد بوده است جدول شماره (۲).

جدول شماره ۲- الگوی دفع مشتقات پورینی از طریق ادرار در گاومیش‌های مورد آزمایش

جیره غذایی	آلانتوئین (٪ از کل PD)	اسید اوریک (٪ از کل PD)
تمام علوفه ای	۹۰/۸	۹/۲
حاوی ۱۵٪ کنسانتره	۸۷/۴	۱۲/۶
حاوی ۳۰٪ کنسانتره	۸۸/۶	۱۱/۴
حاوی ۴۵٪ کنسانتره	۸۸/۷	۱۱/۳
میانگین	۸۸/۸	۱۱/۲

مقدار دفع آلانتوئین، اسید اوریک، PD و مقدار پروتئین میکروبی سنتز شده: با توجه به جدول (۳) مقدار دفع آلانتوئین، اسید اوریک، کل مشتقات پورینی دفع شده (PD)، پورین‌های میکروبی جذب شده و مقدار نیتروژن و پروتئین میکروبی سنتز شده با افزایش سطح مصرف کنسانتره به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0.01$).

افزایش مقدار کنسانتره در جیره میزان مشتقات پورینی دفع شده در ادرار را تحت تأثیر قرار داد. آلانتوئین با افزایش کنسانتره از صفر به ٤٥ درصد به طور معنی‌داری در تمام سطوح تحت تأثیر قرار گرفت و از ۱۳/۲۱ به ۲۱/۷۹ میلی‌مول در روز افزایش یافت ($p<۰/۰۱$). بین سطوح ۳۰ تا ٤٥ ، درصد اسید اوریک به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نگرفت. همچنین در سطوح ۳۰ و ۱۵ درصد اختلاف در دفع اسید اوریک معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۱$). اما بین سطوح ٤٥ و ۱۵ درصد، و سطوح ٤٥، ۳۰، ۱۵ درصد با جیرهٔ کاملاً علوفه‌ای (صفر درصد) اختلاف معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$). کل دفع مشتقات پورینی، نیتروژن میکروبی و پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه به طور معنی‌داری با افزایش کنسانتره تحت تأثیر قرار گرفتند و به ترتیب از۱٤/٥۳٦ به ۲٤/٥٤۹ (میلی‌مول در روز) ، از ۳۸/۷٦٥ به ۹۹/٤۲۷ (گرم در روز) و از ۲٤۲/۲۸۳ به ٦۲۱/٤۲۱ (گرم در روز) افزایش یافتند.

جدول شماره ۳- اثر سطوح مختلف کنسانتره بر میزان دفع مشتقات پورینی در ادرار و پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبهٔ گاومیش*

مشتقات پورینی	جیره‌ها				(SE)
	کاملاً علوفه‌ای	۱۵٪ کنسانتره	۳۰٪ کنسانتره	۴۵٪ کنسانتره	
آلانتوئین (میلی‌مول در روز)	۱۳/۲۱ ± ۰/۳۰ ^{d}	۱۵/۸۳ ± ۱/۲۶ ^{c}	۱۹/۱۴ ± ۱/۴۳ ^{b}	۲۱/۷۹ ± ۰/۷۳ ^{a}	۰/۴۸
اسید اوریک (میلی‌مول در روز)	۱/۳۲ ± ۰/۱۵ ^{d}	۲/۲۷ ± ۰/۲۲ ^{bc}	۲/۴۴ ± ۰/۱۱ ^{ab}	۲/۷۵ ± ۰/۳۰ ^{a}	۰/۰۶
کل مشتقات پورینی (میلی‌مول در روز)	۱۴/۵۳ ± ۰/۳۶ ^{d}	۱۸/۱۱ ± ۱/۴۳ ^{c}	۲۱/۵۸ ± ۱/۵۰ ^{b}	۲۴/۵۴ ± ۰/۹۵ ^{a}	۰/۴۹
پورین های میکروبی جذب شده (میلی‌مول در روز)	۵۳/۳۲ ± ۳/۴۲ ^{d}	۸۳/۱۳ ± ۱۰/۹۸ ^{c}	۱۱۲/۰۷ ± ۱۰/۱۱ ^{b}	۱۳۶/۷۶ ± ۶/۹۰ ^{a}	۴/۱۵
نیتروژن میکروبی(گرم در روز)	۳۸/۷۶ ± ۲/۴۹ ^{d}	۶۰/۴۳ ± ۷/۹۸ ^{c}	۸۱/۴۷ ± ۷/۳۵ ^{b}	۹۹/۴۲ ± ۵/۰۱ ^{a}	۳/۰۲
پروتئین میکروبی(گرم در روز)	۲۴۲/۸ ± ۱۵/۵۸ ^{d}	۳۷۷/۴ ± ۴۹/۹۳ ^{c}	۵۰۹/۲۲ ± ۴۵/۹۷ ^{b}	۶۲۱/۴۲ ± ۳۱/۳۷ ^{a}	۱۸/۸۸

*درج حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ($P<۰/۰۱$) می‌باشد.

بحث

همانطور که در نتایج نیز اشاره شد میزان دفع آلانتوئین، اسید اوریک،کل مشتقات پورینی دفع شده و در نتیجهٔ آن نیتروژن میکروبی و پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه با افزایش سطح کنسانتره در جیره افزایش یافت که این افزایش و وجود اختلافات معنی دار و غیر معنی دار میان سطوح مختلف کنسانتره در جیره را می‌توان به صورت زیر تشریح کرد:

تفاوت‌ها در مقدار آلانتوئین دفع شده از ادرار: آلانتوئین فرآورده اصلی دفع شده از ادرار در اثر متابولیسم پورین‌ها بوده که این موضوع با نتایج ارائه شده توسط سایر محققین (۹، ۱۵،۱٦،۱۷) مطابقت دارد. افزایش میزان دفع آلانتوئین همزمان با افزایش سطح مصرف کنسانتره در جیره غذایی، نشان دهنده افزایش مقدار ماده آلی قابل هضم و قابل تخمیر است (۱، ۲ و ۱۵). از طرفی افزایش سطح کنسانتره جیره غذایی سبب افزایش ماده خشک مصرفی روزانه می گردد که خود در ازدیاد مقدار دفع آلانتوئین از ادرار موثر است (۱۵و۱۹). وجود اختلاف معنی دار ($P<0.05$) بین جیره های حاوی ۱۵، ۳۰ و ٤٥ درصد کنسانتره با جیره تمام علوفه ای بیانگر حساسیت بالای این مشتق پورینی در برابر اجزای جیره غذایی است.

تفاوت‌ها در مقدار اسید اوریک دفع شده از ادرار: عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در میزان دفع اسیداوریک بین جیره‌های حاوی ۱۵ و ۳۰٪ و همچنین ۳۰ و ٤٥٪ کنسانتره در جیره‌غذایی، نشان می‌دهد که مقدار اسید اوریک از ثبات بیشتری برخوردار است. لذا برای مشاهده اختلاف بین جیره‌ها لازم است میزان کنسانتره در جیره غذایی تا حد زیادی افزایش یابد.

تفاوت‌ها در مقدار کل مشتقات پورینی دفع شده: با توجه به نتایج این تحقیق می توان مشاهده کرد کل مشتقات پورینی دفع شده که شاخص دقیق و قابل قبولی برای تخمین میزان سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه است، به طور معنی داری با افزایش نسبت کنسانتره در جیره غذایی تحت تاثیر قرار گرفت ($P<0.05$) و افزایش یافت. افزایش دفع کل مشتقات پورینی را همانند آلانتوئین می‌توان به افزایش میزان دریافت ماده آلی قابل هضم و افزایش ماده خشک مصرفی روزانه نسبت داد (۱۵و۱۹).

تفاوت‌ها در نیتروژن میکروبی تولید شده و پروتئین میکروبی سنتز شده: در این بررسی از معادله ارائه شده توسط لیانگ و همکاران (١٤) برای گاومیش استفاده شد. میزان نیتروژن میکروبی و پروتئین میکروبی تولید شده با افزایش نسبت کنسانتره در جیره غذایی افزایش یافتند. این افزایش را می‌توان با افزایش نسبت کنسانتره، افزایش ماده خشک مصرفی روزانه مرتبط دانست (۱۹). از طرفی می‌توان انتظار داشت که قابلیت هضم جیره غذایی و مقدار ماده آلی قابل هضم مصرفی روزانه نیز افزایش یابد. با افزایش کنسانتره در جیره غذایی، بر میزان انرژی قابل متابولیسم و انرژی قابل متابولیسم قابل تخمیر (FME)[1] نیز افزوده شده که این موضوع سبب افزایش میزان تولید پروتئین میکروبی در شکمبه می‌گردد (۳).

با افزایش سطح کنسانتره در جیره سنتز پروتئین میکروبی افزایش می‌یابد. این افزایش می‌تواند به علت افزایش مادهٔ آلی هضم شده در شکمبه(DOMR)[2] در نتیجهٔ افزایش نسبت کنسانتره به علوفه باشد. بر مبنای ARC، ۱۹۸٤ تولید پروتئین میکروبی ۳۲ گرم به ازای هر کیلوگرم DOMR می‌باشد بنابراین با افزایش DOMR سنتز پروتئین میکروبی افزایش خواهد یافت. از طرف دیگر با افزایش نسبت کنسانتره قابلیت هضم مادهٔ آلی جیره نیز افزایش خواهد یافت که می‌تواند عامل دیگری در افزایش سنتز پروتئین میکروبی باشد.

1- Fermentable metabolizable energy
2- Digested organic matter in the rumen

منابع

1- ARC, (1980):. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock, *Technical Review*. Farnham Royal, CAB, UK.

2- ARC, 1984. Report of the protein group of the agricultural research council working party on the nutrient requirements of ruminants, *The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock*. Surrey: The Gresham Press.

3- AFRC, (1993): Energy and protein requirements of ruminants. *CAB International*, Wallingford, Oxon, UK.

4- Cetinkaya, N., Yaman, S., Gucus, A.I., Ozcan, H., Uluturk, S., (1999): Measuring microbial protein supply from purine excretion in Yerli Kara cattle. *TECDOC-1093. IAEA, Vienna*, pp. 69–79.

5- Cetinkaya, N., Yaman, S., Gucus, A.I., Ozcan, H., Uluturk, S., (2001): Urinary excretion of purine derivatives in Yerli Kara cattle. *Turk. J. Nucl. Sci*. 27, 13– 32.

6- Cetinkaya, N., Yaman, S., Ozdemir Baber, N.H., (2006): The use of purine derivatives /creatinine ratio in spot urine samples as an index of microbial protein supply in Yerli Kara crossbred cattle. *Livestock Science* 100, 91–98.

7- Chen, X.B., (1989): Excretion of purine derivatives by sheep and cattle and it use for the estimation of absorbed microbial protein. *Ph.D. thesis*, University of Aberdeen.

8- Chen, X.B., Hovell, F.D. DeB., Ørskov, E.R., Brown, D.S., (1990): Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. *Br J Nutr* 63, 131–142.

9- Chen, X. B., Gomes, M. J., (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.

10- Chen, X., Samaraweera, L., Kyle, D.J., Ørskov, E.R., Abeygunawardene, H., (1996): Urinary excretion of purine derivatives and tissue xanthine oxidase activity in buffaloes, with special reference to differences between buffaloes and Bos Taurus. *Br J Nutr* 75, 397–407.

11- Chen, X. B., Ørskov, E. R., (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. P. S. Makkar and X. B. Chen), pp. 180-210. FAO/IAEA, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

12. Dipu, M.T., George, p. singh, verma, A.k. and Mehra, U.R. (2008): Measurement of microbial protein supply in murah Buffalo (*Bubalus bubalis*) using urinary purine derivatives excretion and PDC index. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 21(12):1736-1744.

13. Djouvinov, D. S., Todorov, N. A., (1994): Influence of dry matter intake and passage rate on microbial protein synthesis in the rumen of sheep and its estimation by cannulation and a non-invasive method. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 289-304.

14- Liang, J. B., Pimpa, O., Balcells, J., Abdullah, N., Jeland, Z., (2004): An overview on the use of urinary purine derivatives excretion as a method for estimation of rumen microbial protein production in swamp buffaloes and zebu cattle. In Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivative (ed. H. P. S.

15- Lindberg, J.E., (1985): Urinary allantoin excretion and digestible organic matter intake in dairy goats. *Swedish J Agric Res* 15, 31–37.

16- Lindberg, J.E., (1989): Nitrogen metabolism and urinary excretion of purines in goat kids. *Br J Nutrition* 61, 309-321.

17- Matsumoto, M., Kobaiashi, T., Itabashi, H., 1996. *Effect of dietary nucleic acids intake on the urinary allantoin excretion of kids*. Anim. Sci. Technol. 7:310-313.

18- SAS., 1996. SAS/STAT User's Guide, Version 6 (4th Ed.). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

19- Mupangwa, J.F., Ngongoni, N.T., Topps, J.H., Acamovic, T., Hamudikuwanda, H., Ndlovu, L.R., (2000): Dry matter intake, apparent digestibility and excretion of purine derivatives in sheep fed tropical legume hay. *Small Ruminant Research* 36, 261-268.

20- Orellana Boero, P., Balcells, J., Martı´n-Oru´e, S., Liang, J.B., Guada, J.A., (2001): Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. *Livest Prod Sci* 68, 243–250.

21- Verbic, J., Chen, X.B., MacLeod, N.A., Ørkov, E.R., (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.

22- Vo, T.K.T., Ørskov, E.R., (2006): Causes of differences in urinary excretion of purine derivatives in buffaloes and cattle. *J Anim Sci* 82: 355–358.