

اثرات استفاده از آب پنیر بر عملکرد و صفات کیفی تخم مرغ در مرغ‌های بومی با تنش سرمایی

محمدصادق صفائی فیروزآبادی^{۱*}، محمد مهدی زارع زاده مهریزی^۲، نگار هدایت^۳،

یاسمین نصری حسنی^۳

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲۳

چکیده

با سرد شدن هوا در فصل زمستان و با وجود محدودیت‌های دمایی، تولید تخم مرغ در مناطق روستایی و سایر مرغداری‌هایی که در تأمین دمای مطلوب با مشکل مواجه هستند؛ از نظر کیفی و کمی کاهش می‌یابد. آب پنیر ارزش غذایی و پروبیوتیکی دارد. مهم‌ترین اولویت این تحقیق، تعیین میزان اثر بخشی آب پنیر بر افزایش تخم‌گذاری مرغ‌های بومی در فصل زمستان و تنش‌های سرمایی می‌باشد. در این تحقیق از ۹۰ قطعه مرغ بومی تخم‌گذار در سن ۳۸ هفتگی طی مدت ۳۰ روز استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۳ تکرار (۹ قفس ۱۰ تایی) انجام شد. تیمارهای آزمایشی به ترتیب عبارت بودند از: ۱- گروه اول (شاهد) که در کل دوره آزمایش جیره پایه (بر اساس ذرت و کنجاله سویا) دریافت کردند و در دمای ۱۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند؛ ۲- گروه دوم در کل دوره آزمایش جیره پایه دریافت کردند و در دمای ۲۰-۱۶ درجه سانتیگراد نگهداری شدند؛ ۳- گروه سوم در کل دوره آزمایش جیره پایه به همراه محلول آب پنیر ۵٪ دریافت کردند و در دمایی مشابه گروه شاهد نگهداری شدند. در ادامه بعد از گذشت ۱۰ روز از اجرای تیمارهای مربوطه، تعداد تخم مرغ‌ها و بعضی از شاخص‌های کیفی آن در هر گروه اندازه‌گیری و آنالیز گردید. نتایج تحقیق حاکی از آن است که میزان تخم‌گذاری در گروه‌های دوم و سوم به ترتیب ۶۰٪ و ۵۰٪ افزایش یافت. تخم مرغ‌های گروه ۳ در مقایسه با گروه ۲ از نظر کیفیت بطور کلی بهتر بوده و رابطه معنی‌داری را ایجاد کرده بود ($P < 0/05$). پس می‌توان با اضافه کردن آب پنیر به جیره غذایی مرغ‌ان تخم‌گذار، مقداری از خسارت‌های ناشی از تنش سرمایی در کاهش تولید تخم مرغ را جبران نمود.

واژگان کلیدی: آب پنیر، تخم مرغ، پروبیوتیکی، تنش سرمایی

مقدمه

با توجه به گسترش روزافزون استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص در مزارع پرورش حیوانات،

امروزه شاهد توسعه سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و سویه‌های مقاوم به تیمارهای چند دارویی هستیم. امروزه پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها به علت مشکلات ناشی از آنها مانند باقی‌ماندگی دارویی و از بین بردن فلور طبیعی دستگاه گوارش مطرح می‌باشند. استفاده از این سویه‌ها به عنوان مکمل غذایی در جامعه اروپا مورد توجه قرار گرفته است

۱- مربی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه اردکان، اردکان-ایران

۲- فارغ‌التحصیل دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد شهرکرد-ایران

۳- دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Safaee_sadegh@yahoo.com

(۲۰۰۷، ۱۲۳)

جیره‌ی غذایی مرغ‌های بومی ضمن کاهش هزینه‌های نگهداری، بر تنش سرمایی غلبه کرد. همچنین نتایج به دست آمده از این تحقیق، پرورش دهندگان مرغان تخم‌گذار بومی را در ارزیابی سود و زیان تجهیز مرغداری‌های خود با وسایل گرمایشی یا استفاده از سیستم جایگزین مانند پروبیوتیک‌ها، کمک خواهد کرد.

مواد و روش کار

در این تحقیق به منظور بررسی تاثیر آب پنیر بر افزایش کیفی و کمی تخم‌مرغ از ۹۰ قطعه مرغ بومی تخم‌گذار در سن ۳۸ هفتگی طی مدت ۳۰ روز استفاده شد. طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۳ تکرار (۹ قفس ۱۰ تایی) انجام شد. در ابتدای آزمایش جهت تهیه و تنظیم جیره‌ی غذایی مورد نیاز پرورش و نگهداری تیمارهای مورد نظر با توجه به ترکیبات مواد مغذی موجود در اجزاء خوراک (بر اساس توصیه ۱۹۹۴ NRC) جیره‌ای حاوی ۶۶/۵ درصد ذرت، ۲۱/۳ درصد کنجاله سویا، ۹ درصد کرینات کلسیم، ۰/۸ درصد مونو کلسیم فسفات، ۰/۴ درصد نمک طعام، ۱ درصد روغن خوراکی طیور و ۱ درصد ویتامین‌های گروه B مشابه با کار محققینی چون اسکات و همکاران تهیه گردید (۱۶).

برای مقایسه روند تخم‌گذاری مرغ‌های بومی که به صورت طبیعی در فصل زمستان بر اثر تنش سرمایی (دمای ۸ درجه سانتیگراد) با کاهش تولید تخم‌مرغ به صورت کمی و کیفی مواجه هستند؛ با مرغ‌هایی مشابه از نظر ویژگی‌های نژادی و شرایط تغذیه‌ای که برای جبران دمای پایین هوا از یک فرآورده پروبیوتیکی همراه با جیره‌ی مصرفی استفاده می‌کنند ایجاد شرایط ایده‌آل دمایی (دمای ۲۰ - ۱۶ درجه سانتیگراد) برای گروه دیگری از مرغان بومی مورد آزمایش، نیاز است تا با مشاهده تعداد و کیفیت تخم‌مرغ‌های تولیدی در دو گروه اخیر ارزیابی درستی از میزان بهره‌وری در اضافه نمودن آب پنیر به جیره‌ی غذایی یا استفاده از تجهیزات

آب پنیر مایع زرد مایل به سبزی است که از تخمیر باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک در شیر حاصل می‌شود (۱). این مایع ارزشمند به علت غنی بودن از ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و مواد معدنی مختلف از دیرباز به عنوان یک غذای مکمل یا جایگزین شیر مادر، در رژیم غذایی کودکان یا جیره‌ی غذایی دام‌های تازه متولد شده استفاده می‌شد. مشاهده این موضوع که کودکان یا دام‌هایی که با آب پنیر تغذیه شده بودند کمتر به بیماری‌های عفونی مبتلا می‌شدند؛ ناشی از خواص پروبیوتیکی آن بود که در سالهای اخیر دانشمندان به این موضوع پر اهمیت پی بردند (۱۵). همچنین محققینی چون یورک و همکارانش افزایش کیفیت و تعداد تخم-گذاری مرغ‌های مورد آزمایش خود را ناشی از استفاده همزمان مواد معدنی و پروبیوتیک دانستند (۲۲).

آب پنیر به عنوان یک محصول فرعی در تولید پنیر دارای پروتئین‌های ارزشمندی مانند آلفا و بتا لاکتوگلوبولین‌ها است که می‌تواند در جیره‌ی غذایی حیوانات و گونه‌های مختلفی از پرندگان استفاده شود. این ماده می‌تواند ضمن تنظیم نمودن جیره‌ی غذایی طیور در سیستم گوارشی آنها منجر به افزایش جمعیت فلور میکروبی مفید شود (۸). همچنین این موضوع به صورت اختصاصی در مورد آب پنیر اضافه شده به آب مصرفی مرغ‌های گوشتی مثبت ارزیابی شده است (۱۴، ۱۷).

با سرد شدن هوا در فصل زمستان و با توجه به محدودیت‌های دمایی و ایجاد استرس‌های سرمایی که به دلیل تضعیف سیستم ایمنی منجر به افزایش باکتری‌های فرصت طلبی چون سالمونلا در دستگاه گوارش می‌شود (۱۸)، تولید تخم مرغ در مناطق روستایی و سایر مرغداری‌هایی که در تأمین دمای مطلوب با مشکل مواجه هستند؛ از نظر کیفی و کمی کاهش می‌یابد. از این رو می‌توان با اضافه کردن یک منبع طبیعی و ارزشمند پروبیوتیکی مانند آب پنیر به

نتایج

نتایج تحقیق حاکی از آن است که میزان تخمگذاری در گروه‌های دوم و سوم به ترتیب ۶۰٪ و ۵۰٪ نسبت به شرایط اولیه‌ی حاکم در هر گروه افزایش یافت. اما نکته‌ی قابل توجه این بود که تعداد تخم مرغ‌های گروه اول ۲۰٪ کاهش یافت. افزایش تعداد تخمگذاری در گروه‌های دوم و سوم به ترتیب از بهبود وضعیت دمایی و اضافه نمودن محلول آب پنیر ۵٪ به جیره‌ی غذایی مرغ‌های تخمگذار بومی ناشی می‌شود. افزایش ۱۰ درصدی شاخص کمی تعداد تخمگذاری در گروه دوم نسبت به گروه سوم نشانگر این موضوع است که ایجاد شرایط ایده‌آل دمایی تأثیر بیشتری در شدت تخمگذاری داشته است ولی این شدت تخمگذاری با شاخص‌های کیفی مرتبط با مقاومت و شکل طبیعی پوسته همراه نبود. در گروه سوم با توجه به مصرف آب پنیر علاوه بر افزایش نسبی تعداد تخمگذاری، شاهد این موضوع بودیم که تخم‌مرغ‌های جمع‌آوری شده از این گروه مقاومت بیشتری در برابر شکستگی و ترک‌خوردگی داشتند؛ همچنین شکل طبیعی و مرغوب پوسته در گروه سوم منجر به ایجاد بازار پسندی بهتری نسبت به گروه شاهد و گروه دوم شده بود.

جدول ۱- میانگین وزن تخم مرغ‌ها در گروه‌های مختلف قبل و پس از آزمایش

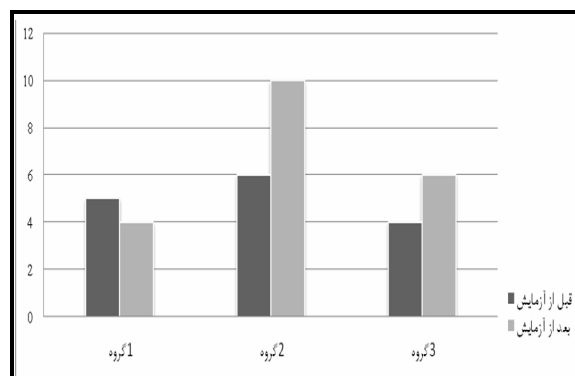
میانگین وزن تخم مرغ (gT) گروه آزمایشی	میانگین وزن قبل از آزمایش	میانگین وزن پس از آزمایش
گروه اول (شاهد)	۴۷	۴۸
گروه دوم	۴۸	۵۰
گروه سوم	۴۸	۵۲

علاوه بر افزایش تعداد تخم‌مرغ‌های تولیدی در گروه‌های دوم و سوم، با توجه به جدول بالا شاهد افزایش نسبی میانگین وزن تخم‌مرغ‌ها در گروه سوم نسبت به گروه دوم و گروه شاهد هستیم. این در حالی

گرمایشی در فصل زمستان داشته باشیم. به همین منظور در این پژوهش از ۳ تیمار استفاده شد.

تیمارهای آزمایشی به ترتیب عبارت بودند از: ۱- گروه اول (شاهد) که در کل دوره‌ی آزمایش جیره‌ی پایه دریافت کردند و در دمای ۱۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. ۲- گروه دوم در کل دوره‌ی آزمایش جیره‌ی پایه دریافت کردند و در دمای ۲۰-۱۶ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. ۳- گروه سوم در کل دوره‌ی آزمایش جیره‌ی پایه که با محلول آب پنیر ۵٪ (محلولی حاوی ۹۵٪ آب و ۵٪ آب پنیر که رقیق کردن این محلول به علت عدم از بین بردن تنظیم جیره غذایی به خاطر همراه بودن باکتری‌های مفید و پروتئین بالای این فرآورده می‌باشد). به میزان ۱۰ درصد کل جیره مخلوط می‌شد، دریافت کردند و در دمایی مشابه گروه شاهد نگهداری شدند.

بعد از گذشت ۱۰ روز از اجرای تیمارهای مربوطه، تعداد و وزن تخم‌مرغ‌ها (شاخص‌های کمی) و بعضی از شاخص‌های کیفی مانند مقاومت پوسته تخم‌مرغ‌ها در حین تخم‌گذاری و جمع‌آوری در برابر شکستگی و اشکال غیر طبیعی تخم‌مرغ در هر گروه ارزیابی و آنالیز گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به هر گروه از نرم افزار آماری SAS و برای مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی در سطح خطای ۵ درصد از آزمون چند دامنه‌های دانکن (در ارتباط با هر صفت) استفاده شد.



نمودار ۱- میانگین تعداد تخم‌گذاری به صورت روزانه در گروه‌های مختلف قبل و پس از آزمایش

(۲۰۰۴) گزارش کردند که استفاده از مواد پروبیوتیکی می‌تواند با جذب بیشتر مواد گوارشی باعث کاهش مصرف جیره شود (۹). مطالعات آزمایشگاهی مشابه حاکی از آن است که پروبیوتیک‌ها علاوه بر تأثیر مثبت بر روی شدت تخم‌گذاری، می‌توانند بر روی شاخص‌های کیفی وزن پوسته تخم مرغ تأثیر بگذارند (۱۳).

آب پنیر در دستگاه گوارش به خصوص در سکوم باعث افزایش جمعیت باکتری‌های مفیدی چون لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدو باکترها می‌شود و همچنین pH سیستم گوارشی را از طریق افزایش تولید اسیدهای چرب فرار کاهش می‌دهد، بنابراین محیط را برای رشد باکتری‌های پاتوژن مانند سالمونلا، نامساعد می‌سازد (۲). این پدیده باعث می‌شود در تنش سرمایی که سیستم ایمنی پرندۀ تخم‌گذار تضعیف می‌شود به صورت غیر مستقیم در مقابل باکتری‌های پاتوژن از خود مقاومت نشان دهد.

پروبیوتیک لاکتوباسیلی دارای اثرات مثبتی بر روی افزایش و تقویت ایمنی سلولی و همورال جوجه‌های گوشتی و تخم‌گذار می‌باشد. جهت دستیابی به بهترین نتایج استفاده از پروبیوتیک‌ها در افزایش ایمنی طیور، باید به سوبه‌ی میکروارگانیزم مورد نظر، سن حیوان و میزان مصرف پروبیوتیک توجه نمود (۶). همچنین مطالعات حاکی از آن است که استفاده از پروبیوتیک‌هایی با منشأ لاکتوباسیلی مانند آب پنیر و ماست نسبت به سایر گونه‌های پروبیوتیکی باعث پاسخ‌های ایمنی روده‌ای بیشتری می‌شوند (۳).

یکی از عوامل کاهش تولید تخم مرغ در تنش‌های سرمایی وقوع بیماری‌های روده‌ای اسهال آور می‌باشد. مکانیسم‌های مختلف کنترل اسهال یا جلوگیری از وقوع این عارضه توسط گونه‌های مختلف لاکتوباسیلی موجود در آب پنیر توسط دانشمندان بررسی و کشف شده است. یکی از این مکانیسم‌ها کاهش تعداد باکتری‌های کلی‌فرمی موجود در سکوم پرندگان توسط لاکتوباسیلوس‌ها می‌باشد (۵). همچنین گونه

است که تمام گروه‌ها از یک نوع جیره‌ی غذایی استفاده کرده بودند ولی گروه سوم با توجه به اضافه شدن آب پنیر به جیره‌ی غذایی از نظر شاخص‌های کیفی و کمی تخم مرغ مانند مقاومت پوسته و میانگین وزن تخم مرغ نسبت به سایر گروه‌ها رابطه معنی‌داری را در سطح خطای ۵ درصد ایجاد کرده بود ($P < 0/05$).

بحث

افزایش کیفی و کمی تخم‌گذاری در گروه استفاده کننده از فرآورده پروبیوتیکی آب پنیر با نتایج پژوهش‌های محققینی که برای بهبود جذب و بازده تبدیل غذا از مکمل‌های پروبیوتیکی استفاده کرده بودند؛ هم سویی قابل توجهی داشت (۱۹، ۱۱). در این تحقیق ما به دنبال یک راهکار مناسب بودیم تا ضمن رفع نواقص کیفی تخم مرغ‌های تولیدی در دمای ایده‌آل به معرفی ویژگی‌های پروبیوتیکی آب پنیر که می‌تواند علاوه بر بهبود شاخص‌های کیفی تخم مرغ به افزایش شاخص‌های کمی آن در تنش سرمایی کمک کند، پردازیم. با توجه به افزایش میانگین ۴ گرمی برای هر تخم مرغ در گروه سوم، به فرض مثال بعد از اضافه کردن آب پنیر به جیره‌ی غذایی در یک مرغداری صنعتی ۱۰۰۰۰ قطعه-ای که روزانه ۸۰۰۰ عدد تخم مرغ تولید می‌کند بدون مصرف جیره‌ی بیشتر با افزایش ۳۲ کیلوگرمی تخم مرغ مواجه هستیم.

بر اساس مطالعه دانشمندان بر روی اثر آب پنیر در جذب مواد از روده‌ها گزارشات حاکی از آن است که آب پنیر می‌تواند جذب مواد معدنی (کلسیم، فسفر، مس، آهن و منیزیم) را در روده‌ها افزایش دهد (۱۸). این موضوع باعث شده که مرغ‌های بومی گروه سوم که از آب پنیر استفاده می‌کردند به علت جذب بهتر مواد معدنی، پوسته تخم مرغ آنها از مقاومت بیشتری برخوردار باشد؛ این موضوع خود باعث شده که تخم مرغ‌ها از نظر میزان وزن‌گیری از سایر گروه‌ها کیفیت بیشتری داشته باشد. همچنین کورتگلو و همکاران

منابع

- 1- Barteczko, J. (1997): The alternative in vitro method for estimation of fermentation processes in broilers. Zesz. Nauk. Przegł. Hod. 32: 217-223.
 - 2- Bilgili, SF. Moran, ET. (1990): Influence of whey and probiotic supplemented withdrawal feed on the retention of salmonella incubated into marked age broiler. Polut. Sci. 69(10): 1670-1674.
 - 3- Brisbin, JT. Zhou, H. Gong J, Sabour P, Akbari MR, Haghghi HR, Yu H, Clarke A, Sarson AJ, Sharif S. (2008): Gene expression profiling of chicken lymphoid cells after treatment with *Lactobacillus acidophilus* cellular components. Dev. Comp. Immunol. 32: 563-574.
 - 4- Dalloul, RA. Lillehoj HS, Tamim NM, Shellem TA, Doerr JA. (2005): Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 28: 351-361.
 - 5- Francis, C. Janky DM, Arafa AS, Harms RH. (1978): Interrelationship of *Lactobacillus* and zinc bacitracin in diets of turkey poults. Poult. Sci. 57: 1687-1689.
 - 6- Gomez Gil, B. Roque, A. Turnbull JF. (2000): The use and selection of probiotic bacteria for use in the larval aquatic organism. Aquaculture. 191: 259-270.
 - 7- Griggs, JP. Jacob, JP. (2005): Alternatives to antibiotics for organic poultry production. J. Appl. Poult. Res. 14: 750-756.
 - 8- Kermanshahi, H. Rostami, H. (2006): Influence of supplemental dried whey on broiler performance and cecal flora. International Journal of Poultry Science. 5(6): 538-543.
- Lactobacillus acidophilus* مشاهده شده در آب پنیر می‌تواند موجب کاهش قابل توجه باکتریهای بیماریزایی چون *E. coli* و *Salmonella enteritidis* در چینه‌دان و روده کوچک طیور شود (۲۱). یکی دیگر از بیماری‌هایی که باعث اسهال شدید همراه با التهاب و تخریش روده در مرغ‌های تخمگذار می‌شود بیماری انگلی کوکسیدیوز است. آب پنیر با بهبود ایمنی موضعی با این انگل مبارزه می‌کند و با افزایش قدرت تقسیم میتوز در سلول‌های جداره روده، صدمات وارده را جبران می‌کند (۴).
- افزایش عملکرد و صفات کیفی تخم مرغ مرغ‌های بومی در این آزمایش از خواص پروبیوتیکی آب پنیر ۵ درصد ناشی می‌شود که با استفاده از لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدو باکترها می‌تواند ضمن ایجاد یک فلور میکروبی مفید در دستگاه گوارش پرنده به تحریک سیستم ایمنی، تسهیل هضم، سنتز و جذب برخی از مواد معدنی و ویتامین‌ها کمک کند. پس می‌توان با اضافه کردن آب پنیر به جیره‌ی غذایی مرغ‌های تخمگذار، مقداری از خسارت‌های ناشی از تنش سرمایی در کاهش تولید تخم مرغ را جبران نمود و از عواقب مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها جلوگیری کرد.

تشکر و قدردانی

انجام این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه اردکان محقق گردیده است. بدین وسیله از زحمات این معاونت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

- 9- Kurtoglu, V. kurtoglu F, Seker E, Coskun B, Balevi T, Polat ES. (2004): Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol. In: Food Additives & Contaminants. 21(9): 817-823.
- 10- Lutful Kabir, SM.(2009):The role of probiotics in the poultry industry. Int. J. Mol. Sci10: 3531-3546.
- 11- Nahaston, SN. Nakaue HS, Mirosh LW. (1992): Effect of direct-fed microbials on nutrient retention and production parameters of laying pullets. Poultry Sci. 71:111.
- 12- Nava, GM. Bielke LR, Callaway TR, Castaneda MP. (2005): Probiotic alternatives to reduce gastrointestinal infections. Animal Health Res. Rev. 6: 105-118.
- 13- Panda, AK. Reddy MR, Rama RA, Praharah NK. (2003): Production performance, serum/yolk cholesterol and immune competence of white leghorn layers as influenced by dietary supplementation with probiotic. In: Trop Anim Health Prod. 35(1): 85-94.
- 14- Pourreza, J. Alipour MM. (2004): Effect of whey in drinking on the performance of broiler chicken. J. Sci. Technol. Agric. Natur. Resour. 7(4): 167.
- 15- Schingoethe, DJ. (1976): Whey utilization in animal feeding: a summary and evaluation. J. Dairy Sci. 59: 556-570
- 16- Schutte, JB. Smink, W. (1998):Requirement of the laying hen for apparent faecal digestible lysine. Poul. Sci. In press.
- 17- Shariatmadari, F. Forbes, JM. (2005): Performance of broiler chickens given whey in the food and/or drinking water. Br. Poultry Sci. 46(4): 498-505.
- 18- Tellez, G. Dean, CE. Corrier DE, Deloach, Jr. Laeger L, Harris BM. (1993): Effect of dietary lactose on cecal morphology, pH, organic acids and salmonella emeritidis organ invasion in leghorn chickens. Poultry Sci. 72: 636-642.
- 19- Tortuero, F. Fernandez E. (1995): Effect of inclusion of microbial culture in barley-based diets fed to laying hens. Anim. Feed. Sci. Tec. 53: 255-265.
- 20- Trafalska, E. Grzybowska K. (2004): Probiotics-An alternative for antibiotics? Wiad Lek. 57: 491-498.
- 21- Watkins, BA. Miller BF, Neil DH. (1982): In vivo effects of Lactobacillus acidophilus against pathogenic Escherichia coli in gnotobiotic chicks. Poultry Sci. 61: 1298-1308.
- 22- Yoruk, M A. Gul M, Hayirl A, Macit M. (2004): The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. In: Poultry Science. 83: 84-88.