

قابلیت دسترسی مواد معدنی در نشخوارکنندگان

(ترجمه شده توسط: روشنگ جعفری - دکتری تخصصی تغذیه نشخوارکنندگان)

J. Nutr. B3: 1506S- 1509S-2003

مقدمه

جذب مس و سلیوم در نشخوارکنندگان نسبت به غیر نشخوارکنندگان بسیار پایین است. جذب پایین این مینرال ها در نشخوارکنندگان ناشی از تغییراتی است که در محیط شکمبه اتفاق می افتد. قابلیت دسترسی سلیوم بوسیله سطوح بالای گوگرد و همچنین حضور گلوکوزیدهای سیانوژنیک در بعضی لگوم ها، کاهش می یابد. تغذیه سلیوم آلی از منبع سلنومیتونین یا سلیوم با منشا مخمری، جذب بسیار بالاتری نسبت به سلنیت یا سلنات دارد.

مقدار بالای مولیبدن جیره در ترکیب با مقادیر متوسط تا بالای گوگرد در جیره سبب تشکیل تیومولیدات در شکمبه میشود. تیومولیدات به میزان قابل توجهی جذب مس را کاهش داده و در متابولیسم مس تداخل ایجاد میکند. مستقل از مولیبدن، مقادیر بالای گوگرد، جذب مس را احتمالا از طریق تشکیل سولفید مس کاهش می دهد. مقادیر بالای آهن جیره همچنین سبب کاهش قابلیت دسترسی مس می شود. فاکتورهای جیره ای که قابلیت دسترسی روی در نشخوارکنندگان را تحت تاثیر قرار می دهد بخوبی شناخته نشده اند. فیتات جذب مس در نشخوارکنندگان را تحت تاثیر قرار نمی دهد، به علت اینکه فیتاز میکروبی در شکمبه، فیتات را تجزیه میکند.

مگنیز در نشخوارکنندگان خیلی کم جذب میشود و مطالعاتی نشان می دهد مقادیر بالای فسفر و کلسیم می تواند جذب مگنیز را کاهش دهد.

J. Nutr. B3: 1506S- 1509S-2003

بازدهی جذب بسیاری از عناصر کمیاب و فاکتورهای جیره که قابلیت دسترسی مینرال ها را تحت تاثیر قرار می دهند، تفاوت بسیار زیادی بین نشخوارکنندگان و غیر نشخوارکنندگان دارد. در نشخوارکنندگان، هضم میکروبی در شکمبه بر هضم شیردان و روده باریک تاثیر گذار است. جیره نشخوارکنندگان معمولا دارای فیبر بالاست. اگرچه ارتباط مینرال ها با بخش های فیبری در اقلام خوراکی و یا اتصال مینرال ها با بخش فیبری غیر قابل هضم در دستگاه گوارش می تواند قابلیت دسترسی برخی مواد معدنی در نشخوارکنندگان را تغییر دهد. PH محیط شکمبه ای تا حدودی اسیدیست (۶-۶.۸) و

بسیاری از عناصر کمیاب در این PH به فرم غیر قابل حل هستند. حداقل برخی از کمپلکس های معدنی که در شکمبه شکل می گیرد، در وضعت اسیدی شیردان همچنان غیر قابل حل هستند. این مقاله بطور مختصر فاکتورهای جیره ای که قابلیت دسترسی زیستی سلیوم، مس و روی و منگنز در نشوارکنندگان را تحت تاثیر قرار می دهد، بررسی می کند. تفاوت در قابلیت دسترسی این منابع معدنی نیز شرح داده می شود.

سلیوم

جذب سلیوم در نشخوارکنندگان بسیار کمتر از غیر نشخوارکنندگان انجام میشود. جذب سلیوم بصورت مصرف خوراکی در گوسفند ۳۴٪ در مقایسه با ۸۵٪ در خوک است. جذب پایین سلیوم در نشخوارکنندگان، نتیجه کاهش سلیوم جیره به فرم غیر محلول مثل سلیوم یا سلیند در محیط شکمبه است.

• گوگرد

سلیوم و گوگرد محتوای فیزیکی و شیمیایی مشابهی دارند و مطالعات نشان می دهد که افزایش گوگرد جیره، دسترسی سلیوم را کاهش می دهد. افزودن سولفات به جیره بزهای آبستن که سلیوم پایین مصرف می کردند، وقوع بیماری ماهیچه سفید را در آنها افزایش داد. همچنین غلظت سلیوم در کید و باکتری های شکمبه در گوسفندانی که میزان گوگرد خوراک آنها از ۲.۲ به ۴ گرم گوگرد به ازای کیلوگرم خوراک افزوده شده بود، کاهش داشت.

• نوع جیره

وقوع بیماری ماهیچه سفید در بره های تغذیه شده با یونجه حاوی سلیوم پایین، از بره های تغذیه شده با کنسانتره بر پایه جو نسبت به آنهایی که جیره بر پایه یونجه دریافت کرده بودند بیشتر بود. اختلاف در قابلیت دسترسی سلیوم در بین علوفه ها و کنسانتره های مختلف می تواند مرتبط با اختلاف در محتوای گوگرد و یا حضور ترکیباتی مثل گلوکوزیدهای سیانوژنیک که آنتاگونیست سلیوم هستند، باشد.

• گلوکوزیدهای سیانوژنیک

گلوکوزیدهای سیانوژنیک در لگوم های خاصی یافت میشوند و می توانند به سیانید در شکمبه متابولیزه شود. بزهای تغذیه شده با واریته ای از شبدر سفید که حاوی گلوکوزیدهای سیانوژنیک بالا هستند، بر کاهش سلیوم موثر بوده است.

• کلسیم

مطالعات محدودی پیشنهاد می کند که مقادیر بالا و پایین کلسیم، جذب سلیوم را کاهش می دهد. در گاوهای غیر شیری، جذب سلیوم با مقدار ۸ گرم کلسیم به ازای هر کیلوگرم جیره، بیشترین مقدار بود.

• قابلیت دسترسی منبع سلیوم

بیشتر مطالعات نشان می دهد که قابلیت دسترسی سلنیوم از منبع سلنیتو سلنات در نشخوارکنندگان مشابه است. سلنیوم از منبع سلنیوم سنتز شده با مخمر، سبب افزایش غلظت سلنیوم شیر و خون نسبت به سلنیت شده است. اما در اکثر منابع سلنیوم از منبع سلنومیتونین و سلنیت با بازدهی مشابهی جذب شده است.

مس

جذب مس در نشخوارکنندگان نسبت به غیر نشخوارکنندگان پایین است (کمتر از ۱ تا ۱۰٪). جذب پایین مس در این حیوانات ناشی از مجموعه واکنش هایی است که در محیط شکمبه اتفاق می افتد. قبل از توسعه شکمبه جذب مس در گوساله های شیرخوار بالاست (۷۰-۸۵٪) اما پس از شیرگیری به کمتر از ۱۰٪ کاهش می یابد. این بخوبی مشخص شده است نیاز مس به میزان قابل توجهی به سایر ترکیبات جیره خصوصا گوگرد و مولیبدن بستگی دارد.

• گوگرد و مولیبدن

سه واکنش بین مس، گوگرد و مولیبدن سالهاست که تایید شده است. این واکنش زمانی اتفاق می افتد که ظاهرا گوگرد و مولیبدن در غلظتی طبیعی در اقلام خوراکی موجود است و نشان داده شده که تیومولیدات در شکمبه شکل میگیرد. تیومولیدات از واکنش بین مولیبدات و سولفید شکل میگیرد. سولفید توسط میکروارگانیسم های شکمبه از طریق کاهش سولفات و تجزیه اسیدهای آمینه گوگرد دار ایجاد میشود. تیومولیدات ترکیب نامحلولی با مس تشکیل می دهد که امکان آزادسازی مس را حتی در شرایط غیر اسیدی ممکن می کند. اثرات سیستمیک متابولیسم مس که مرتبط با جذب تیومولیدات است شامل:

۱) افزایش ترشح مس از ذخائر کبدی

۲) اتصال مس به آلبومین پلاسما که سبب کاهش انتقال مس در دسترس به فرایندهای بیوشیمیایی می شود.

۳) حذف مس از متالوآنزیم ها

وقتی سطح سولفید شکمبه پایین باشد، مولیبدن اثرات کمی بر قابلیت دسترسی مس خواهد داشت.

مستقل از واکنش تیومولیدات با مس، گوگرد قابلیت دسترسی مس را کاهش می دهد. گوگرد به فرم سولفید قابلیت دسترسی مس را از طریق تشکیل فرم نامحلول سولفید مس در دستگاه گوارش کاهش می دهد (۱ تا ۴ گرم گوگرد به ازای هر کیلوگرم از خوراک)

• شرکت جوانه خراسان آهن

مطالعات زیاد نشان می دهد افزودن ۲۵۰ تا ۱۲۰۰ میلی گرم آهن به فرم کربنات آهن به ازای هر کیلوگرم خوراک به میزان قابل توجهی جذب مس در گاو و گوسفند را کاهش می دهد. لازم به ذکر است نشخوارکنندگان به میزان زیادی آهن از آب مصرفی، خاک و اقلام خوراکی دریافت میکنند.

در نشخوارکنندگان جوان، سطوح بالای آهن اثرات منفی در جذب مس ندارد و این امر احتمالا ناشی از عملکرد شکمبه است که نیاز به آهن برای متابولیسم مس دارد.

منابع مس

سولفات مس یک منبع استاندارد در مقایسه با سایر منابع آن است. اکسید مس در گاوهای شیری غیر قابل دسترس است. در مقابل کلرید مس ($\text{Cu}_2\text{OH}_3\text{Cl}$) ۱۲۱ تا ۱۹۶٪ نسبت به سولفات مس در زمانی که گوگرد و مولیبدن جیره بالا بود، قابلیت دسترسی بالاتری داشت. این اثر می تواند ناشی از انحلال پایین تر کلرید مس تری بازیک در محیط شکمبه باشد.

در مقایسه فرم آلی مس، مطالعات نشان می دهد که در حضور مقادیر بالای مولیبدن، پروتئینات مس قابلیت دسترسی بیشتری نسبت به سولفات مس داشته است.

روی

به نظر میرسد احتیاجات روی نشخوارکنندگان تحت تاثیر فاکتورهای جیره ای قرار می گیرد. اگرچه برخی از این فاکتورها بخوبی شناخته نشده است. کلسیم بالای جیره غلظت روی سرم را کاهش می دهد.

• منابع روی

مطالعات نشان می دهد قابلیت دسترسی روی در فرم اکسید و سولفات مشابه است. اگرچه مکانیزم آن هنوز بخوبی مشخص نشده است اما برخی از فرم های آلی ترکیبات روی دارای اثرات مثبتی بر تولید شیر، رشد و یا تولید مثل نسبت به فرم های غیر عالی آن داشته است.

منگنز

منگنزه میزان پایینی در نشخوارکنندگان جذب می شود (کمتر از ۱٪). فاکتورهای جیره ای که ممکن است قابلیت دسترسی منگنز را تحت تاثیر قرار دهد، بسیار محدود بررسی شده چون کمبود منگنز کمتر در نشخوارکنندگان مشاهده شده و مشکل اصلی و مهم در آنها نیست اما شواهدی نشان می دهد که کلسیم و فسفر بالا در جیره ها قابلیت دسترسی منگنز را کاهش می دهد.

قابلیت دسترسی اکسید منگنز feed grad نسبت به سولفات منگنز reagent grad ۷۰ در مقابل ۳۰٪ است. قابلیت دسترسی منگنز به فرم متیونین منگنز نسبت به سولفات ۱۲۰٪ گزارش شده است.

شرکت جوانه خراسان

1. Whitehead, D. C., Goulden, K. M. & Hartley, R. D. (1985) The distribution of nutrient elements in cell wall and other fractions of the herbage of some grasses and legumes. *J. Sci. Food Agric.* 36: 311–318.
2. Kabaija, E. & Smith, O. B. (1988) Trace element kinetics in the digestive tract of sheep fed diets with graded levels of dietary fibre. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 59: 218–224.
3. Waghorn, G. C., Shelton, I. D. & Sinclair, B. R. (1990) Distribution of elements between solid and supernatant fractions of digesta in sheep given six diets. *N. Z. J. Agric. Res.* 33: 259–269.
4. Wright, P. L. & Bell, M. C. (1966) Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine. *Am. J. Physiol.* 211: 6–10.
5. Peterson, P. J. & Spedding, D. J. (1963) The excretion by sheep of ⁷⁵Se incorporated into red clover: the chemical nature of the excreted selenium and its uptake by three plant species. *N. Z. J. Agric. Res.* 6: 13–23.
6. Cousins, F. B. & Cairney, I. M. (1961) Some aspects of the Se metabolism in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 12: 927–943.
7. Hintz, H. F. & Hogue, D. E. (1964) Effect of selenium, sulfur, and sulfur amino acids on nutritional muscular dystrophy in the lamb. *J. Nutr.* 82: 495–502.
8. Pope, A. L., Moir, R. J., Somers, M., Underwood, E. J. & White, C. L. (1979) The effect of sulphur on ⁷⁵Se absorption and retention in sheep. *J. Nutr.* 109: 1448–1455.
9. Ivancic, J. & Weiss, W. P. (2001) Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 84: 225–232.
10. van Ryssen, J. B. J., van Malsen, P. S. M. & Hartmann, F. (1998) Contribution of dietary sulfur to the interaction between selenium and copper in sheep. *J. Agric. Sci. Camb.* 130: 107–114.
11. Whanger, P. D., Weswig, P. H., Oldfield, J. E., Cheeke, P. R. & Muth, O. H. (1972) Factors influencing selenium and white muscle disease: forage types, salts, amino acids and dimethyl sulfoxide. *Nutr. Rep. Int.* 6: 21–37.
12. Koenig, K. M., Rode, L. M., Cohen, R. D. & Buckley, W. T. (1997) Effects of diet and chemical form of selenium on selenium metabolism in sheep. *J. Anim. Sci.* 75: 817–827.
13. Gutzwiller, A. (1993) The effect of a diet containing cyanogenetic glycosides on the selenium status and the thyroid function of sheep. *Anim. Prod.* 57: 415–419.
14. Beilstein, M. A. & Whanger, P. D. (1984) Effects of cyanide on selenium metabolism in rats. *J. Nutr.* 114: 929–937.
15. Harrison, J. H. & Conrad, H. R. (1984) Effect of dietary calcium on selenium absorption by the nonlactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 67: 1860–1864.
16. Alfaro, E., Neathery, M. W., Miller, W. J., Gentry, R. P., Crowe, C. T., Fielding, A. S., Etheridge, R. E., Pugh, D. G. & Blackmon, D. M. (1978) Effects of varying the amounts of dietary calcium on selenium metabolism in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 70: 831–836.
17. Podoll, K. L., Bernard, J. B., Ullrey, D. E., DeBar, S. R., Ku, P. K. & Magee, W. T. (1992) Dietary selenate versus selenite for cattle, sheep, and horses. *J. Anim. Sci.* 70: 1965–1970.
18. Ortman, K. & Pehrson, B. (1999) Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. *J. Anim. Sci.* 77: 3365–3370.
19. Knowles, S. O., Grace, N. D., Wurms, K. & Lee, J. (1999) Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk and casein selenium concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.* 82: 429–437.
20. Ehlig, C. F., Hogue, D. E., Allaway, W. H. & Hamm, D. J. (1967) Fate of selenium from selenite or selenomethionine, with or without vitamin E, in lambs. *J. Nutr.* 92: 121–126.
21. Behne, D. A., Kyriakopoulos, A., Scheid, S. & Gessner, H. (1991) Effects of chemical form and dosage on the incorporation of selenium into tissue proteins in rats. *J. Nutr.* 121: 806–814.

22. Aspila, P. (1991) Metabolism of selenite, selenomethionine and feed-incorporated selenium in lactating goats and dairy cows. *J. Agric. Sci. Finland* 63: 9–74.
23. Pehrson, B., Knutsson, M. & Gyllensward, M. (1989) Glutathione peroxidase activity in heifers fed diets supplemented with organic and inorganic selenium compounds. *Swed. J. Agric. Res.* 19: 53–56.
24. Underwood, E. J. & Suttle, N. F. (1999) *The Mineral Nutrition of Livestock*, 3rd ed. CABI Publishing, Oxon, U.K.
25. Suttle, N. F. (1975) Changes in the availability of dietary copper to young lambs with age and weaning. *J. Agric. Sci. Camb.* 84: 225–229.
26. Dick, A. T. (1953) The control of copper storage in the liver of sheep by inorganic sulphate and molybdenum. *Aust. Vet. J.* 29: 233–239.
27. Gooneratne, S. R., Buckley, W. T. & Christensen, D. A. (1989) Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Can. J. Anim. Sci.* 69: 819–845.
28. Suttle, N. F. (1991) The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition. *Annu. Rev. Nutr.* 11: 121–140.
29. Allen, J. D. & Gawthorne, J. W. (1987) Involvement of the solid phase of rumen digesta in the interaction between copper, molybdenum and sulphur in sheep. *Br. J. Nutr.* 58: 265–276.
30. Price, J., Will, A. M., Paschaleris, G. & Chesters, J. K. (1987) Identification of thiomolybdates in digesta and plasma from sheep after administration of ⁹⁹Mo-labelled compounds into the rumen. *Br. J. Nutr.* 58: 127–138.
31. Mason, J., Kelleher, C. A. & Letters, J. (1982) The demonstration of protein-bound ⁹⁹Mo-di- and trithiomolybdates in sheep plasma after the infusion of ⁹⁹Mo-labelled molybdate into the rumen. *Br. J. Nutr.* 48: 391–397.
32. Suttle, N. F. (1975) The role of organic sulphur in the copper-molybdenum-S interrelationship in ruminant nutrition. *Br. J. Nutr.* 34: 411–420.
33. Gengelbach, G. P. (1994) Effect of Copper Deficiency on Cellular Immunity in Cattle. Ph.D. dissertation, North Carolina State University, Raleigh.
34. Suttle, N. F. (1974) Effects of organic and inorganic sulphur on the availability of dietary copper to sheep. *Br. J. Nutr.* 32: 559–568.
35. Bird, P. R. (1970) Sulphur metabolism and excretion studies in ruminants. III. The effect of sulphur intake on the availability of copper in sheep. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 8: 212–218.
36. Bremner, I., Humphries, W. R., Phillippo, M., Walker, M. J. & Morrice, P. C. (1987) Iron-induced copper deficiency in calves: dose response relationships and interactions with molybdenum and sulphur. *Anim. Prod.* 45: 403–414.
37. Phillippo, M., Humphries, W. R. & Garthwaite, P. H. (1987) The effect of dietary molybdenum and iron on copper status and growth in cattle. *J. Agric. Sci. Camb.* 109: 315–320.
38. Prabowo, A., Spears, J. W. & Goode, L. (1988) Effects of dietary iron on performance and mineral utilization in lambs fed a forage-based diet. *J. Anim. Sci.* 66: 2028–2035.
39. Kegley, E. B. & Spears, J. W. (1994) Bioavailability of feed-grade copper sources (oxide, sulfate, or lysine) in growing cattle. *J. Anim. Sci.* 72: 2728–2734.
40. Spears, J. W., Kegley, E. B., Mullis, L. A. & Wise, T. A. (1997) Bioavailability of copper from tri-basic copper chloride in cattle. *J. Anim. Sci.* 75(suppl. 1): 265.
41. Kincaid, R. L., Blauwiel, R. M. & Cronrath, J. D. (1986) Supplementation of copper as copper sulfate or copper proteinate for growing calves fed forages containing molybdenum. *J. Dairy Sci.* 69: 160–163.
42. Ward, J. D., Spears, J. W. & Kegley, E. B. (1996) Bioavailability of copper proteinate and copper carbonate relative to copper sulfate in cattle. *J. Dairy Sci.* 79: 127–132.
43. Wittenberg, K. M., Boila, R. J. & Shariff, M. A. (1990) Comparison of copper sulfate and copper proteinate as copper sources for copper-depleted steers fed high molybdenum diets. *Can. J. Anim. Sci.* 70: 895–904.

44. Ward, J. D., Spears, J. W. & Kegley, E. B. (1993) Effect of copper level and source (copper lysine vs. copper sulfate) on copper status, performance, and immune response in growing steers fed diets with or without supplemental molybdenum and sulfur. *J. Anim. Sci.* 71: 2748–2755.
45. Nockels, C. F., DeBonis, J. & Torrent, J. (1993) Stress induction affects copper and zinc balance in calves fed organic and inorganic copper and zinc sources. *J. Anim. Sci.* 71: 2539–2545.
46. Miller, W. J. (1970) Zinc nutrition of cattle: a review. *J. Dairy Sci.* 53: 1123–1135.
47. Underwood, E. J. (1977) *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 4th ed. Academic Press, New York.
48. Ott, E. A., Smith, W. H., Stob, M. & Beeson, W. M. (1964) Zinc deficiency syndrome in the young lamb. *J. Nutr.* 82: 41–50.
49. Perry, T. W., Beeson, W. M., Smith, W. H. & Mohler, M. T. (1968) Value of zinc supplementation of natural rations for fattening beef cattle. *J. Anim. Sci.* 27: 1674–1677.
50. Pond, W. G. & Wallace, M. H. (1986) Effect of gestation-lactation diet calcium and zinc levels and of parenteral vitamins A, D and E during gestation on ewe body weight and on lamb weight and survival. *J. Anim. Sci.* 63: 1019–1025.
51. Pond, W. G. (1983) Effect of dietary calcium and zinc levels on weight gain and blood and tissue mineral concentrations of growing Columbia- and Suffolk-sired lambs. *J. Anim. Sci.* 56: 952–959.
52. Kegley, E. B. & Spears, J. W. (1992) Performance and mineral metabolism of lambs as affected by source (oxide, sulfate, or methionine) and level of zinc. *J. Anim. Sci.* 70(suppl. 1): 302.
53. Sandoval, M., Henry, P. R., Littell, R. C., Cousins, R. J. & Ammerman, C. B. (1997) Estimation of the relative bioavailability of zinc from inorganic zinc sources for sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 66: 223–235.
54. Spears, J. W. (1996) Organic trace minerals in ruminant nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 58: 151–163.
55. Spears, J. W. (1989) Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects on growth and performance of growing heifers. *J. Anim. Sci.* 67: 835–843.
56. Roja, L. X., MCDowell, L. R., Cousins, R. J., Martin, F. G., Wilkinson, N. S., Johnson, A. B. & Velasquez, J. B. (1995) Relative bioavailability of two organic and two inorganic zinc sources fed to sheep. *J. Anim. Sci.* 73: 1202–1207.
57. Kincaid, R. L., Chew, B. P. & Cronrath, J. D. (1997) Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: effects on uptake and immunity. *J. Dairy Sci.* 80: 1381–1388.
58. Wright, C. L. & Spears, J. W. (2001) Effects of zinc source and dietary level on zinc metabolism in Holstein bull calves. *J. Anim. Sci.* 79(suppl. 1): 86.
59. Cao, J., Henry, P. R., Guo, R., Holwerda, R. A., Toth, J. P., Littell, R. C., Miles, R. D. & Ammerman, C. B. (2000) Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *J. Anim. Sci.* 78: 2039–2054.
60. Hidioglow, M. (1979) Manganese in ruminant nutrition. *Can. J. Anim. Sci.* 59: 217–236.
61. VAN Bruwaene, R., Gerber, G. B., Kirchmann, R., Colard, J. & VAN Kerkom, J. (1984) Metabolism of ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn, ⁵⁹Fe and ⁶⁰Co in lactating dairy cows. *Health Phys.* 46: 1069–1082.
62. Henry, P. R., Ammerman, C. B. & Littell, R. C. (1992) Relative bioavailability of manganese from a manganese-methionine complex and inorganic sources for ruminants. *J. Dairy Sci.* 75: 3473–3478.