"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2021.1920959.1293

Alterations in acute phase proteins, hemogram and electrophoretic pattern of equine serum proteins following change of diet from forage to forage mixed with concentrate

Karampour, R.[1*], Razi Jalali, M.[2], Haji Hajikolaei, M.R.[3], Ghadrdan Mashhadi, A.[4]

1- PhD, Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
4- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
*Corresponding author's email: karampour.ruholah@gmail.com
(Received: 2021/1/24 Accepted: 2021/6/21)

Abstract

Despite extensive studies on the relationship between diet type and its effect on equine biochemical factors, little is known about horse serum and plasma proteins following changes in diet from forage to forage mixed with concentrate. Acute phase proteins are a group of serum proteins whose concentrations increase in response to infections, inflammation, trauma, and neoplasia. Therefore, in the present study, we evaluated the serum levels of serum biomarkers, fibrinogen and total protein concentration along with the nutritional behavior of horses during diet change. For this purpose, two types of diets, including forage (first treatment) and mixture of forage with concentrate (second treatment) were used for each horse for fifteen consecutive days. Complete blood cell counts as well as serum levels of fibrinogen, haptoglobin and amyloid type A were measured before and after dietary changes. Serum fibrinogen, haptoglobin and amyloid A levels were significantly increased in horses of the second treatment group compared to horses in the first treatment group ($p<0.05$). There was also a statistically significant difference in the complete blood cell count due to the change of diet from forage to forage mixed with concentrate ($p<0.05$). It seems that changes in the natural flora of the horse's digestive tract following a change in diet can protect the animal's body against acute inflammatory and traumatic injuries.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Acute phase protein, Concentrate, Forage Horse.

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2021.1920959.1293

مطالعه تغییرات ایجادشده در پروتئین‌های فاز حاد سرم، هموگرام و الگوی الکتروفورتیکی پروتئین‌های سرمی اسب متعاقب تغییر جیره غذایی از علوفه به علوفه مخلوط با کنسانتره

روح‌اله کرم‌پور[1*]، محمد راضی‌جلالی[2]، محمدرحیم حاجی‌حاجیکلایی[3]، علیرضا قدردان‌مشهدی[4]

۱- دانش‌آموخته دکترای تخصصی کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۳- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
٤- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: karampour.ruholah@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۵ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۳/۳۱)

چکیده

علی‌رغم مطالعات گسترده‌ای که در زمینه ارتباط نوع جیره و تأثیر آن بر فاکتورهای بیوشیمیایی اسب صورت گرفته، اما اطلاعات کمی در مورد پروتئین‌های سرم و پلاسمای اسب به دنبال تغییر جیره غذایی از نوع علوفه به علوفه مخلوط با کنسانتره وجود دارد. پروتئین‌های مرحله حاد گروهی از پروتئین‌های سرم هستند که غلظت آن‌ها در پاسخ به عفونت‌ها، التهاب، تروما و نئوپلازی افزایش می‌یابد. از این رو، در مطالعه حاضر به ارزیابی سطح سرمی نشانگرهای زیستی سرم، فیبرینوژن و همچنین غلظت پروتئین کل به همراه ارزیابی رفتار تغذیه‌ای اسب‌ها در هنگام تغییر جیره غذایی پرداختیم. بدین منظور، دو نوع جیره غذایی، شامل علوفه (تیمار اول) و علوفه مخلوط با کنسانتره (تیمار دوم) برای هر اسب به مدت پانزده روز متوالی استفاده شد. شمارش کامل سلول های خون و همچنین اندازه‌گیری سطح سرمی فیبرینوژن، هاپتوگلوبین و آمیلوئید نوع A، قبل و بعد از تغییر رژیم غذایی اندازه‌گیری شد. سطح فیبرینوژن، هاپتوگلوبین و آمیلوئید A سرم به طور معنی‌داری در اسبان گروه تیمار دوم در مقایسه با اسب‌های گروه تیمار اول افزایش داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین اختلاف آماری معنی‌داری در شمارش کامل سلول‌های خون بر اثر تغییر جیره غذایی از علوفه به علوفه مخلوط با کنسانتره مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). به نظر می‌رسد تغییر در فلور طبیعی دستگاه گوارش اسب متعاقب تغییر جیره غذایی می‌تواند بدن حیوان را در برابر صدمات حاد التهابی و آسیب‌زا محافظت کند.

کلیدواژه‌ها: اسب، جیره غذایی، علوفه، کنسانتره، پروتئین فاز حاد.

مقدمه

غلظت پروتئین‌های فاز حاد در طی پاسخ به هر یک از فرایندهایی که منجر به صدمه بافتی شود، افزایش می‌یابد. در انسان از اندازه‌گیری پروتئین‌های فاز حاد به طور معمول در تشخیص، دیده‌بانی و حتی پیش‌آگهی بیماری‌ها استفاده می‌شود اما در دامپزشکی و حتی اسب که از ارزش اقتصادی نیز برخوردار است، اندازه‌گیری آن‌ها به طور معمول انجام نمی‌گردد. اما با این حال، اندازه‌گیری غلظت این پروتئین‌ها می‌تواند تصویر خوبی از وضعیت‌های التهابی بدن دام به ما ارائه کرده و علاوه بر کمک در تشخیص، می‌تواند کلینیسین را در تشخیص شدت بیماری راهنمایی کرده تا به این طریق بهترین روش درمانی توسط وی انتخاب گردد (Gruys *et al.*, 2005). اهمیت این موضوع در دام‌های پر ارزشی مانند اسب و بیماری‌هایی مانند کولیک، لنگش و اسیدوز و سایر بیماری‌های التهابی که نیاز به درمان دقیق و اورژانسی دارند و با تغذیه اسب مرتبط هستند، دوچندان می‌شود.

تغذیه بیش از حد با غلات و یا تغییر ناگهانی جیره از علوفه به کنسانتره، ممکن است منجر به لنگش یا کولیک در اسب گردد (Willard *et al.*,1997) در پاسخ به عفونت، التهاب و ضربه، الگوی ساخت پروتئین‌های فاز حاد در کبد به طرز چشمگیری تغییر یافته، به‌طوری که طی فرآیندهای التهابی و عفونی، غلظت پروتئین‌های فاز حاد تغییر می‌کند. این تغییر در مورد پروتئین‌های منفی فاز حاد نظیر آلبومین و ترانسفرین شامل کاهش، اما در دسته دیگر که شامل پروتئین‌های مثبت فاز حاد از جمله سرم آمیلوئید تیپ A (serum amyloid A)، هاپتوگلوبین، فیبرینوژن، سرولوپلاسمین و CRP (C-Reactive Protein) به صورت افزایش می‌باشد (Kaneko *et al.*, 2008). از جمله پروتئین‌های فاز حاد در اسب، سرم آمیلوئید تیپ A (SAA) می‌باشد که در دام سالم به میزان خیلی اندک و غیرقابل تشخیص وجود دارد اما در پاسخ‌های فاز حاد به سرعت به میزان ۱۰ تا ۱۰۰۰ برابر افزایش می‌یابد (Jacobsen and Andersen, 2007). فیبرینوژن نیز یک پروتئین مهم فاز حاد است که در بیماری‌های التهابی یا نئوپلاستیک افزایش می‌یابد. از نظر بالینی، افزایش فیبرینوژن خون به عنوان شاخصی برای تشخیص التهاب استفاده می‌گردد. به گونه‌ای که در بیماری‌های عفونی گاو و برخی بیماری‌های اسب، افزایش فیبرینوژن خون، شاخص بهتری نسبت به نوتروفیلی می‌باشد (White *et al.*, 2006). طبق مطالعات مختلف پروتئین‌های فاز حاد در بسیاری از بیماری‌ها از جمله سالمونلوز حاد، تیلریوز، تورم ضربه‌ای صفاق و نگاری در گاو و تورم پستان حاد، غلظتشان تغییر کرده است (Potter *et al.*, 2004). علی‌رغم مطالعات گسترده‌ای که در زمینه ارتباط نوع جیره و تأثیر آن بر فاکتورهای بیوشیمیایی اسب صورت گرفته، ولی اطلاعات کمی در مورد پروتئین‌های سرم و پلاسمای اسب به دنبال تغییر جیره غذایی از علوفه به کنسانتره وجود دارد و به مطالعات بیش‌تری نیاز است. از این‌رو مطالعه حاضر به منظور تحقق اهداف زیر به انجام رسید:

ارزیابی فاکتورهای هموگرام (شمارش گلبول سفید (WBC)، شمارش گلبول های قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hg)، هماتوکریت (HCT)، حجم متوسط گلبول‌های قرمز خون (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC)، میانگین غلظت هموگلوبین

گلبول‌های قرمز (MCH)، وسعت توزیع گلبول قرمز (RDW) و پروکلسیتونین (PCT) به دنبال تغییر جیره از علوفه به علوفه مخلوط با کنسانتره.

ارزیابی میزان پروتئین‌های فاز حاد سرم (SAA و هاپتوگلوبین) و میزان فیبرینوژن پلاسما به دنبال تغییر جیره از علوفه به علوفه مخلوط با کنسانتره.

مطالعه الگوی الکتروفورتیکی پروتئین‌های سرم خون به دنبال تغییر جیره از علوفه به علوفه مخلوط با کنسانتره.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر روی ٤ رأس اسب نر بالغ با میانگین سنی ۱۰ سال (از ۷ تا ۱۳ سال) که در بیمارستان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز نگه‌داری می‌شدند، انجام گرفت. قبل از شروع مطالعه، ابتدا معاینات بالینی به منظور اطمینان یافتن از سلامت کلی اسب‌ها انجام گرفته، سپس داروی ضد انگل آیورمکتین خوراکی به میزان ۲۰۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به فاصله ۲ هفته به هر یک از اسب‌ها خورانده شد (Bazzano *et al.*, 2020) و پس از دوره تطابق پذیری (شرایط یکسان از نظر جیره غذایی و آب)، در نهایت دو تیمار مختلف در دو بازه زمانی ۱۵ روزه بر روی هر یک از اسب‌ها اعمال گردید.

تیمار اول: در ۱۵ روز اول، روزانه یونجه خشک و آب به صورت آزاد در نظر گرفته شده و در پایان هر روز میزان جیره مصرفی محاسبه شد.

تیمار دوم: بلافاصله پس از پایان تیمار اول، روزانه جیره‌ای مخلوط از یونجه خشک و جو (جیره حاوی ۲۵ درصد یونجه خشک و ۷۵ درصد جو) بدون مکمل یا افزودنی دیگر به همراه آب به صورت آزاد در اختیار هر ٤ رأس اسب قرار گرفته و روزانه میزان جیره مصرفی هر یک محاسبه گردید.

زمان‌های نمونه‌گیری از خون، ٦ ساعت پس از تغذیه صبح و در روزهای صفر تا پانزدهم تیمار اول و در روزهای صفر تا پانزدهم تیمار دوم بود.

– **مطالعه تغییرات هموگرام**: نمونه خون از ورید وداج با استفاده از سیستم خون‌گیری تحت خلأ به میزان ۱۰ میلی‌لیتر اخذ شده و بلافاصله در دو لوله که یکی حاوی ضد انعقاد سیترات سدیم و دیگری بدون ماده ضد انعقاد بود منتقل شد. توسط دستگاه Cell Counter مدل Mindray 2800 Vet، مقادیر شاخص‌های CBC از قبیل WBC، RBC، Hgb، HCT، MCV، MCH، MCHC، RDW، PCT و شمارش تفریقی گلبول های سفید اندازه‌گیری گردید.

– **اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های فاز حاد**: برای اندازه‌گیری سرم آمیلوئید تیپ A و هاپتوگلوبین، نمونه خون از ورید وداج اخذ شد و پس از تشکیل لخته، با دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (مدل Centric 250 ساخت Demel) شد و سرم آن جدا گردید. برای اندازه‌گیری پروتئین‌های فاز حاد از روش الیزا با استفاده از کیت‌های تجاری Equine Serum Amyloid A ELISA ساخت شرکت Bio Chemd آمریکا استفاده شد (Minaei *et al.*, 2020).

– **اندازه‌گیری میزان فیبرینوژن پلاسما**: نمونه خون اخذشده در لوله حاوی ضد انعقاد سیترات سدیم، به منظور جداسازی پلاسما با دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای اندازه‌گیری میزان فیبرینوژن از روش کلاوس با استفاده از کیت‌های شرکت مهسایاران

استفاده گردید و کار با دستگاه هموسیل مدل ACL-Family ساخت شرکت Instrumentation Laboratory Company انجام شد.

– **مطالعه الگوی الکتروفورتیکی پروتئین‌های سرم خون:** الکتروفورز پروتئین‌های سرم خون با استفاده از محیط سلوژل میل شرکت مالتای ایتالیا اندازه‌گیری شد. در این روش بعد از گذاشتن سرم روی سطح ژل استات سلولز، در معرض جریان الکتریکی قرار داده شد. از آنجایی‌که پروتئین‌ها دارای اندازه و شارژ سطحی متفاوتی هستند، با سرعت‌های متفاوت حرکت کرده و میتوان آنها را با توجه به الگوی معروف الکتروفورز پروتئین‌های سرم SPEP (Serum Protein Electrophoresis) از نظر الکتروشیمیایی جدا کرد (Jafarian *et al.*, 2019).

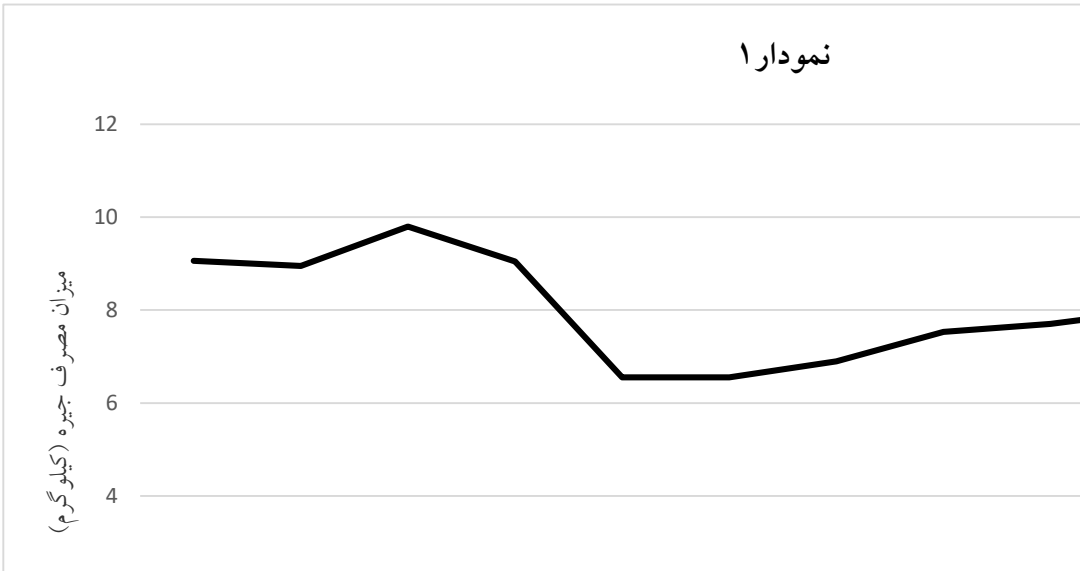
همچنین مقادیر پروتئین تام به روش بیوره اندازه‌گیری شد (Aryal, 2020). جذب رنگ آبی تولیدشده در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید و منحنی استاندارد پروتئین رسم شد.

– **بررسی رفتار تغذیه‌ای و سلامت اسب‌ها:** به منظور بررسی رفتار تغذیه‌ای و سلامت اسب‌ها در هر دو تیمار به ویژه در زمان تغییر جیره از علوفه به جیره حاوی کنسانتره بالا، مواردی مانند بی‌اشتهایی، لنگش و مدفوع‌خواری مورد ارزیابی قرار گرفتند.

– **تحلیل آماری داده‌ها:** برای واکاوی آماری داده‌های جمع‌آوری‌شده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. با توجه به اینکه بر اساس نتایج آزمون کولموگروف– اسمیرنوف، توزیع داده‌ها نرمال بود، از آزمون پارامتریک استفاده شد. برای پی بردن به محل اختلاف بین میانگین در مواردی که اختلاف آماری گروه‌های مختلف معنی‌دار بود، آزمون دانکن به کار گرفته شد. محاسبات آماری به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام و سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. داده ها در بخش نتایج به صورت Mean±SD بیان شدند. برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excell استفاده شد.

یافته‌ها

–**مقدار جیره مصرفی:** نتایج به دست آمده از مقدار جیره مصرفی بر حسب کیلوگرم، نشان داد که میزان آن در هنگام شروع مطالعه ۰/۱۲±۹/۰۶ کیلوگرم بوده است که در چهار روز پس از افزودن کنسانتره به جیره به کمترین میزان خود رسیده است (۰/۱۲±۶/۵۵ کیلوگرم) همچنین بیشترین مقدار جیره مصرفی (۰/۱۲±۹/۸۰ کیلوگرم) در هر دو تیمار مورد استفاده حدوداً دو هفته بعد از تغذیه اول و عادت‌پذیری ثبت شده است. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، تغییرات مقدار جیره مصرفی در تمام زمان‌ها معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۱- تغییرات میانگین مقدار مصرف جیره (کیلوگرم) در اسب‌های مورد مطالعه در تیمار دوم

نتایج به‌دست آمده از میانگین تعداد لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و مونوسیت‌ها در نمودار ۲ ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود درصد لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و مونوسیت‌ها در اسب‌ها در تیمار اول که از جیره علوفه استفاده می‌کردند، در مقایسه با تیمار دوم که از جیره مخلوط علوفه با کنسانتره تغذیه می‌شدند، تفاوت معنی‌داری نداشت ($p<۰/۰۵$).

نمودار ۲- مقایسه میانگین درصد لنفوسیت، ائوزینوفیل، نوتروفیل و مونوسیت در استفاده از دو جیره علوفه و مخلوط علوفه با کنسانتره

-**شمارش سلول‌های خونی اسب‌ها:** نتایج حاصل از میانگین شاخص‌های خونی به تفکیک جیره مصرفی، در جدول ۱ ارائه شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در هر میکرولیتر خون، در تیمار دوم افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار اول که علوفه مصرف می‌کردند، داشت ($p<۰/۰۵$). میانگین هموگلوبین نیز برحسب گرم بر دسی‌لیتر در زمان استفاده از جیره حاوی کنسانتره نسبت به زمان استفاده از جیره علوفه، به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($p<۰/۰۵$). همچنین میانگین هماتوکریت برحسب درصد در زمان استفاده از جیره حاوی کنسانتره نسبت به زمان استفاده از جیره علوفه، به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($p<۰/۰۵$). میانگین MCH برحسب پیکوگرم در زمان استفاده از جیره علوفه نسبت به زمان استفاده از جیره حاوی کنسانتره، به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($p<۰/۰۵$). همین‌طور میانگین MCHC بر حسب گرم بر دسی‌لیتر خون، هنگام مصرف جیره علوفه در تیمار اول (۲۷/۰±۵۹/۱٤) دارای افزایش معنی‌داری نسبت به زمان مصرف کنسانتره (۰/۱۵±۲۷/۱۳) بود ($p<۰/۰۵$)، اما از لحاظ سایر شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده، بین تیمار اول و دوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$).

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های خونی در استفاده از دو جیره علوفه و مخلوط علوفه با کنسانتره (میانگین±انحراف معیار)

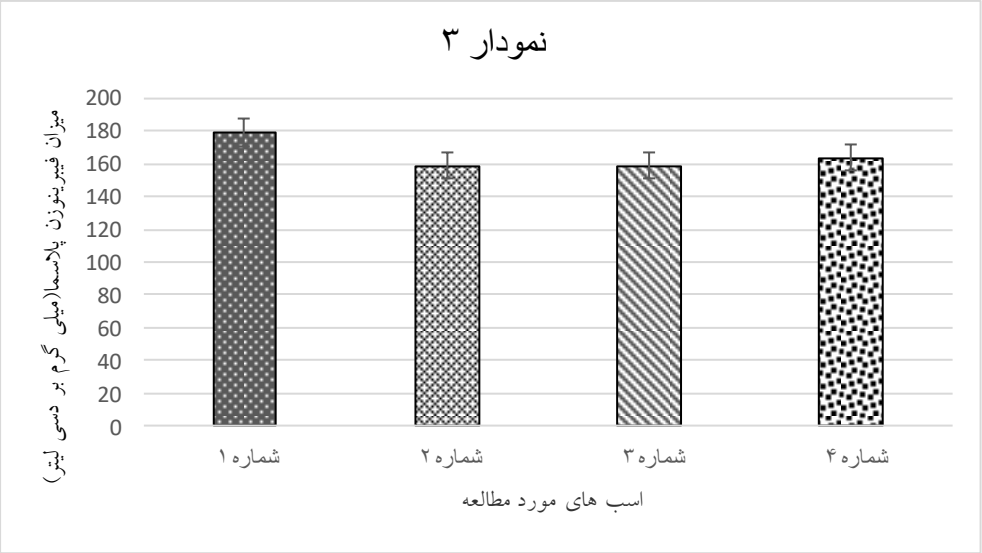
شاخص خونی (واحد)	علوفه	مخلوط علوفه با کنسانتره
گلبول قرمز (μ / 10^6l)	٤/٩٤ ± ۰/۰۸	۵/۵۷ ± ۰/۰۸*
هماتوکریت (درصد)	۲۹/۲۲ ± ۰/٤٤	۳۲/٤۳ ± ۰/۵۰*
هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	۸/۰۱ ± ۰/۱۵	۸/۸٤ ± ۰/۱٦*
MCV (فمتولیتر)	۵۹/۱۵ ± ۰/۱۳	۵۸/۸۷ ± ۰/۱۳
MCH (پیکوگرم)	۱٦/۳۲ ± ۰/۰۹	۱۵/۹۰ ± ۰/۰۹*
MCHC (گرم بر دسی لیتر)	۲۷/۵۹ ± ۰/۱٤	۲۷/۱۳ ± ۰/۱۵*
RDW (درصد)	۱۵/۳٤ ± ۰/۰۵	۱۵/٤٤ ± ۰/۰۹
PLT (μ / 10^2l)	۲۷٤/۳ ± ۲۸/۰۲	۳۲۱/۹ ± ٤۷/۰٤
MPV (فمتولیتر)	٦/۵٤ ± ۰/۱۰	٦/۵۲ ± ۰/۱۲
PDW (فمتولیتر)	۱٦/۱۱ ± ۰/۱۵	۱۵/۹۵ ± ۰/۱۱
PCT (درصد)	۰/۱۸ ± ۰/۰۲	۰/۲۲ ± ۰/۰٤

*: نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر ردیف می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

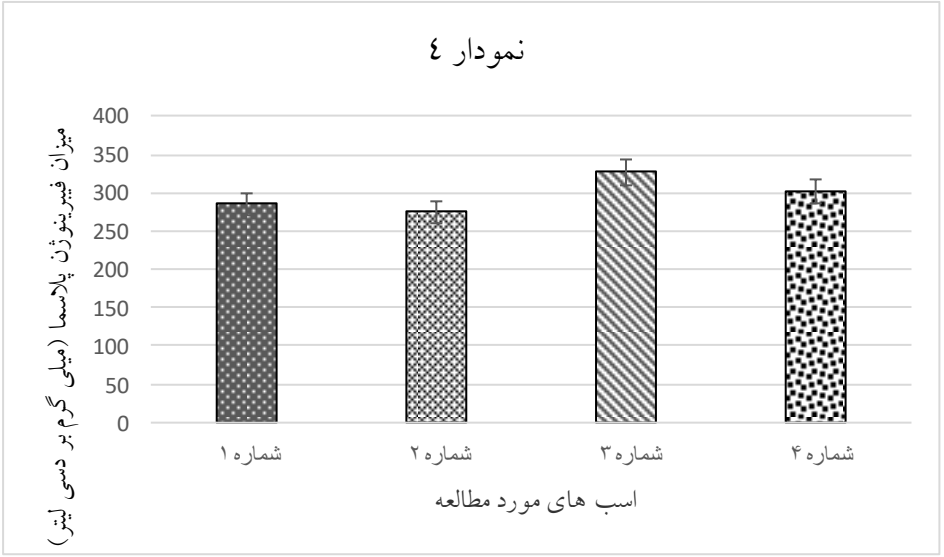
-**سطح فیبرینوژن پلاسما:** نتایج حاصل از اندازه‌گیری میانگین فیبرینوژن پلاسما بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در اسب‌های مورد مطالعه به تفکیک جیره مصرفی، در نمودارهای ۳ و ٤ ارائه شده است.

همانطور که مشاهده می‌شود، در تیمار اول که از جیره علوفه استفاده گردید، بین اسب‌های مورد مطالعه، اختلاف معنی‌داری از نظر میانگین سطح فیبرینوژن مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). در تیمار دوم نیز که به جیره کنسانتره افزوده شد، باز هم تفاوت معنی‌داری بین میزان فیبرینوژن پلاسما بین اسب‌های مختلف وجود نداشت ($p>۰/۰۵$).

در نمودار ۵ میزان میانگین فیبرینوژن پلاسما به صورت مقایسه‌ای بین دو تیمار اول و دوم آورده شده است. میانگین فیبرینوژن پلاسما در جیره علوفه ۲/۳۲±۱۶۵/۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده و به طور معنی‌داری از میانگین فیبرینوژن پلاسما در جیره حاوی کنسانتره به میزان ۱٤/٥٤±۲۹٦/٦ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، پایین‌تر می‌باشد ($p<۰/۰۵$). روند تغییرات فیبرینوژن نشان می‌دهد که مقدار آن از ۱۷/۰۱±۱۵۰/۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در روز اول استفاده از علوفه تا روز آخر روند صعودی داشته اما میزان آن با روز آخر استفاده از جیره علوفه که ۳/٦٤±۱۷۹/۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده تفاوت معنی‌داری نشان نداده است، اما با تغییر جیره میزان آن به طور معنی‌داری افزایش نشان داده است به نحوی که میزان آن در روز آخر استفاده از جیره کنسانتره به طور معنی‌داری نسبت به روز اول استفاده از کنسانتره بالاتر بود ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۳- مقایسه میزان فیبرینوژن پلاسما (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در اسب‌های مورد مطالعه در تیمار اول



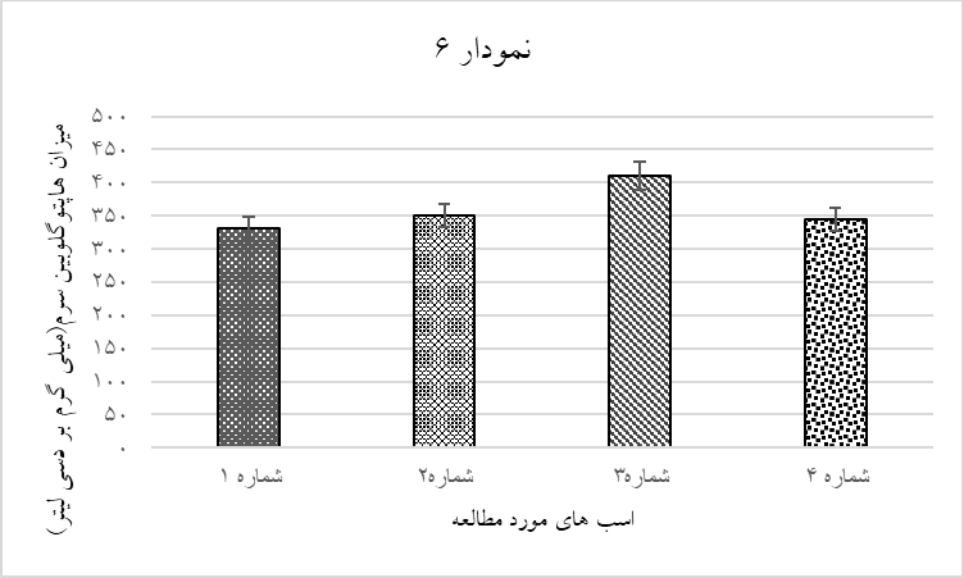
نمودار ٤- مقایسه میزان فیبرینوژن پلاسما (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در اسب های مورد مطالعه در تیمار دوم

نمودار ۵- میزان فیبرینوژن پلاسما (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در اسب های مورد مطالعه در استفاده از دو جیره علوفه و مخلوط علوفه با کنسانتره
✦: نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

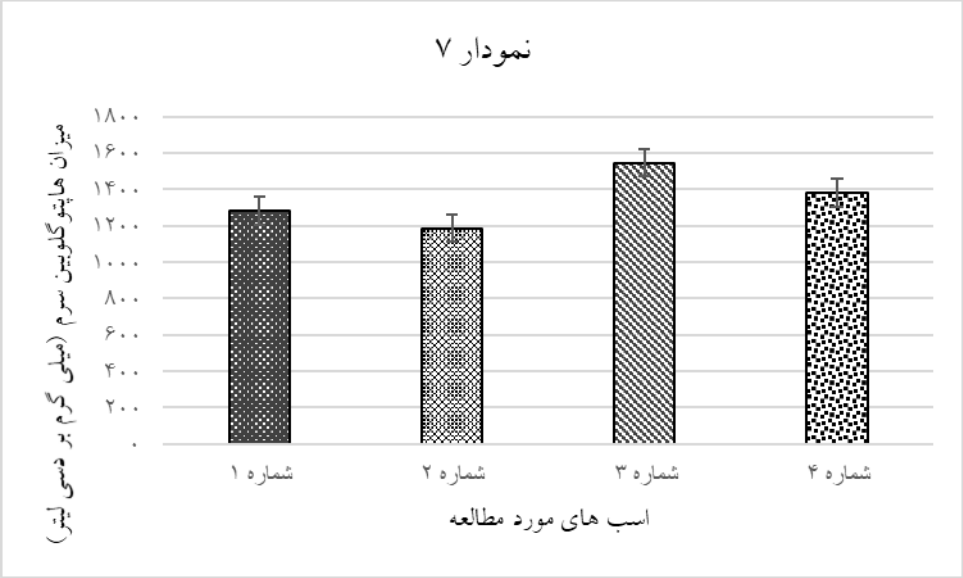
-**سطح هاپتوگلوبین سرم**: همانطور که در نمودارهای ٦ و ٧ مشاهده می‌شود، بین اسب‌های مختلف در هر دو تیمار، تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین سطح سرمی هاپتوگلوبین وجود نداشت ($p>۰/۰۵$).

اما همانطور که در نمودار ٨ ملاحظه می‌شود، میانگین سطح سرمی هاپتوگلوبین با جیره علوفه به میزان ۵/۱۰±۳٦۰/۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به طور معنی‌داری از میانگین سرمی هاپتوگلوبین با جیره یونجه خشک و جو به میزان ۱۲۵/۳±۱۳٤۳/۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر پایین‌تر بود ($p<۰/۰۰۰۱$).

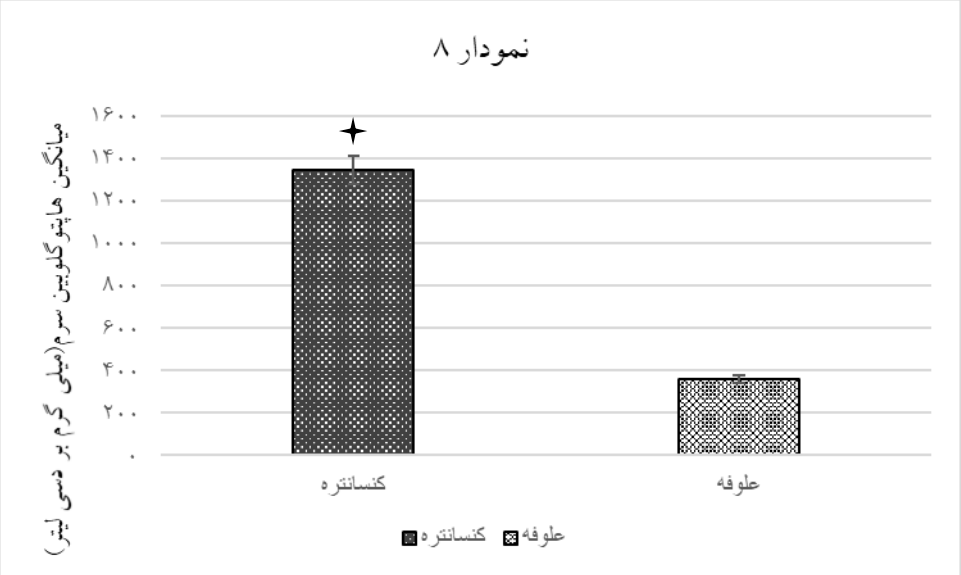
تغییرات هاپتوگلوبین سرم از میزان ٦۰/۸۹±۳۳۵/۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در روز اول استفاده از علوفه تا روز آخر، روند صعودی داشته اما میزان آن با روز آخر استفاده از جیره علوفه که ۳۵/۰۰ ± ۳٦٤/۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده تفاوت معنی‌داری نشان نداده است، اما با تغییر جیره از علوفه به کنسانتره میزان آن به طور معنی‌داری افزایش نشان داده است به نحوی که میزان آن در روز آخر استفاده از جیره کنسانتره به طور معنی‌داری نسبت به روز اول استفاده از کنسانتره بالاتر بود ($p<۰/۰۵$).



نمودار ٦– مقایسه میزان هاپتوگلوبین سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از جیره علوفه در اسب‌های مورد مطالعه



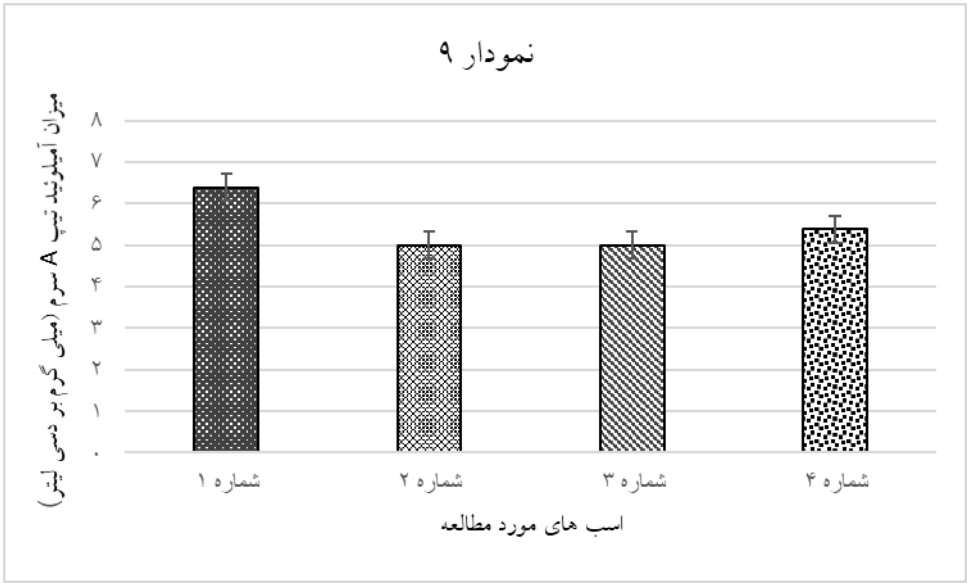
نمودار ۷– مقایسه میزان هاپتوگلوبین سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از جیره مخلوط علوفه با کنسانتره در اسب‌های مورد مطالعه



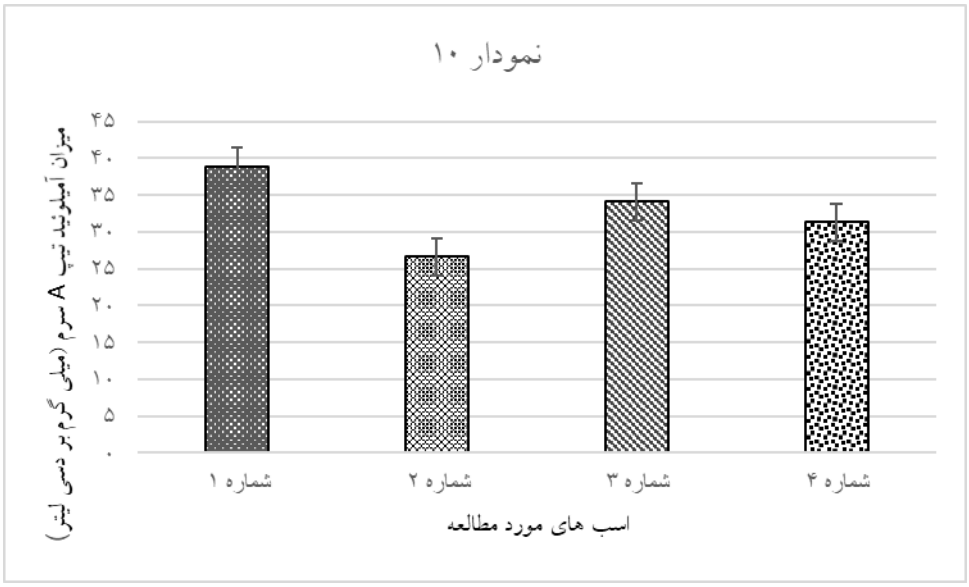
نمودار ۸- مقایسه میانگین هاپتوگلوبین سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از دو جیره علوفه و مخلوط علوفه با کنسانتره
✦: نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

-**سطح سرم آمیلوئید تیپ A**: همان‌طور که در نمودارهای ۹ و ۱۰ ملاحظه می‌گردد، میانگین سطح سرمی آمیلوئید تیپ A در مقایسه اسب‌های مختلف در هر دو جیره دارای تفاوت معنی‌داری نبود ($p>۰/۰۵$). اما با مقایسه میانگین سطح سرمی آمیلوئید تیپ A بین دو جیره که در نمودار ۱۱ ترسیم شده است، این میزان با مقدار ۰/۳۱ ± ۵/٤٤ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در جیره حاوی علوفه به طور معنی‌داری از میزان سرمی آمیلوئید تیپ A در جیره حاوی کنسانتره با مقدار ۳/۲۱ ± ۳۲/۷۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، پایین‌تر بود ($p<۰/۰۰۰۱$).

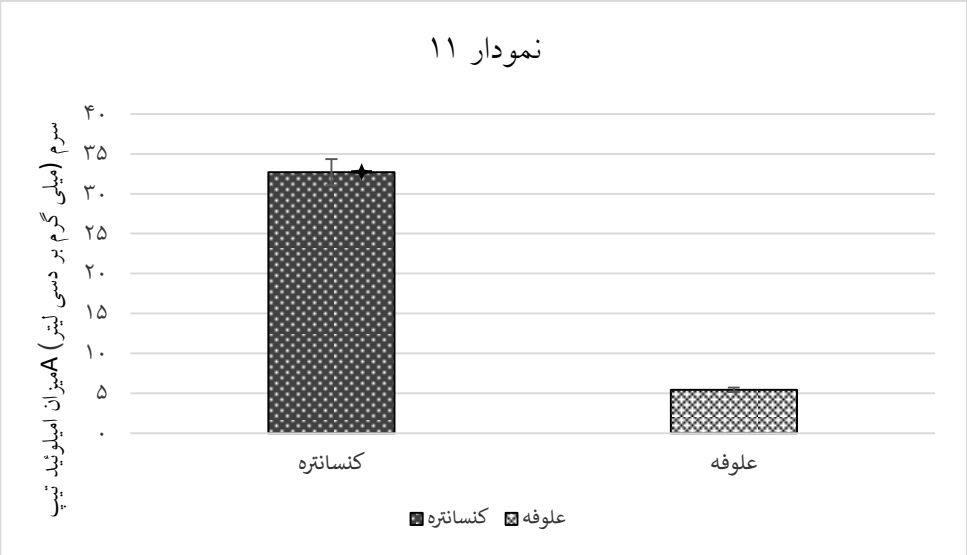
روند تغییرات سرمی آمیلوئید تیپ A نشان داد که مقدار آن از ۲/۲۲ ± ٤/۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در روز اول استفاده از علوفه تا روز آخر روند صعودی داشته اما میزان آن با روز آخر استفاده از جیره علوفه که ۱/٦۳ ± ۵/۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بوده تفاوت معنی‌داری ندارد، اما با تغییر جیره از علوفه به کنسانتره میزان آن به طور معنی‌داری افزایش نشان داده است به نحوی که میزان آن در روز آخر استفاده از جیره کنسانتره به طور معنی‌داری نسبت به روز اول استفاده از کنسانتره بالاتر بود ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۹- مقایسه میزان آمیلوئید تیپ A سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از جیره علوفه در اسب‌های مورد مطالعه



نمودار ۱۰- مقایسه میزان آمیلوئید تیپ A سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از جیره مخلوط علوفه با کنسانتره در اسب‌های مورد مطالعه

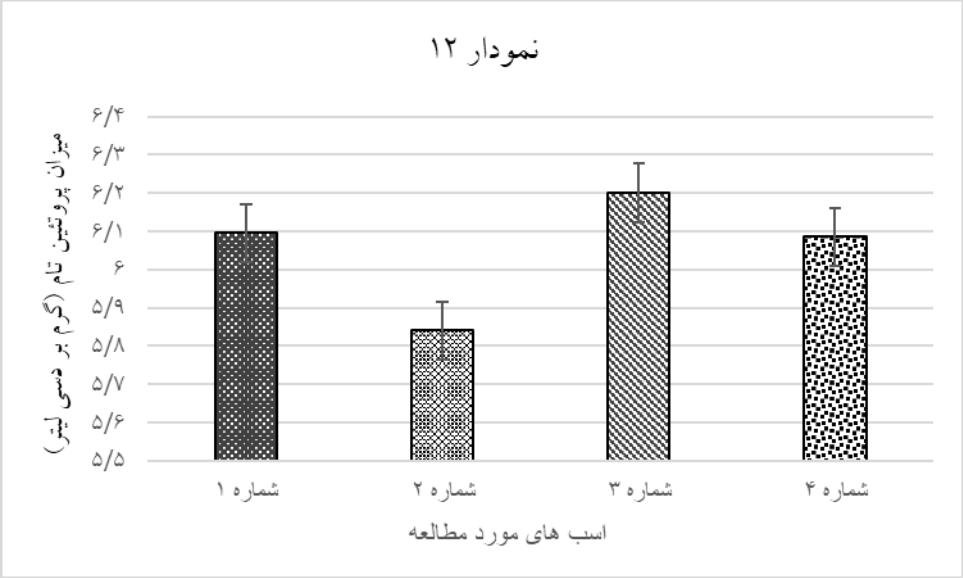


نمودار ۱۱- مقایسه میانگین آمیلوئید تیپ A سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از دو جیره علوفه و مخلوط علوفه با کنسانتره
✦: نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

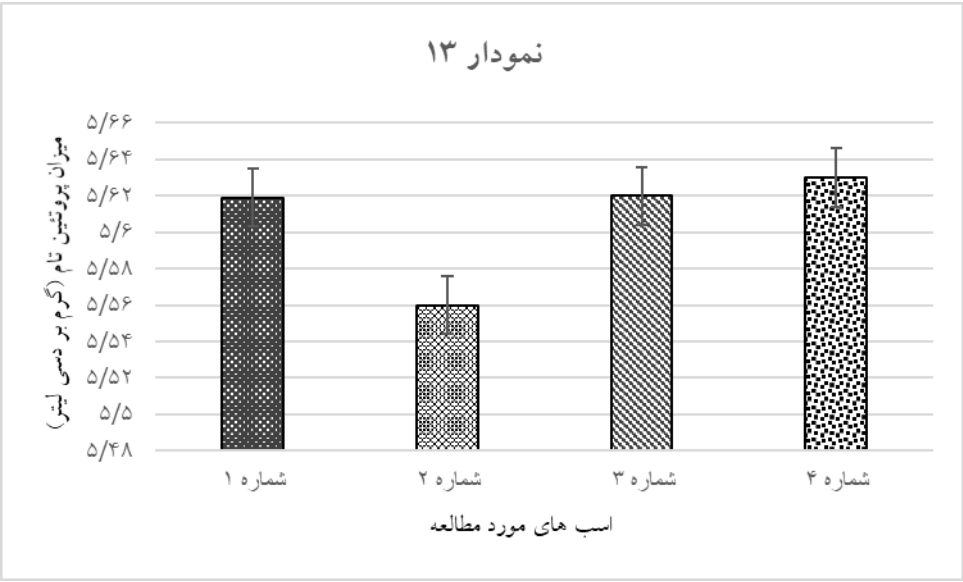
-میزان پروتئین‌تام سرم: همان‌طور که در نمودارهای ۱۲ و ۱۳ مشاهده می‌شود، میانگین سطح سرمی پروتئین‌تام با جیره علوفه، یونجه خشک و جو در اسب‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$).

از طرفی همان‌طور که در نمودار ١٤ ملاحظه می‌گردد، میانگین سطح سرمی پروتئین‌تام با جیره علوفه به میزان ۰/۰۲ ± ٦/۰۷ گرم بر دسی‌لیتر به طور معنی‌داری از میانگین سرمی پروتئین‌تام با یونجه خشک و جو به میزان ۰/۰۵ ± ٥/٦١ گرم بر دسی‌لیتر بالاتر بود ($p<۰/۰۵$).

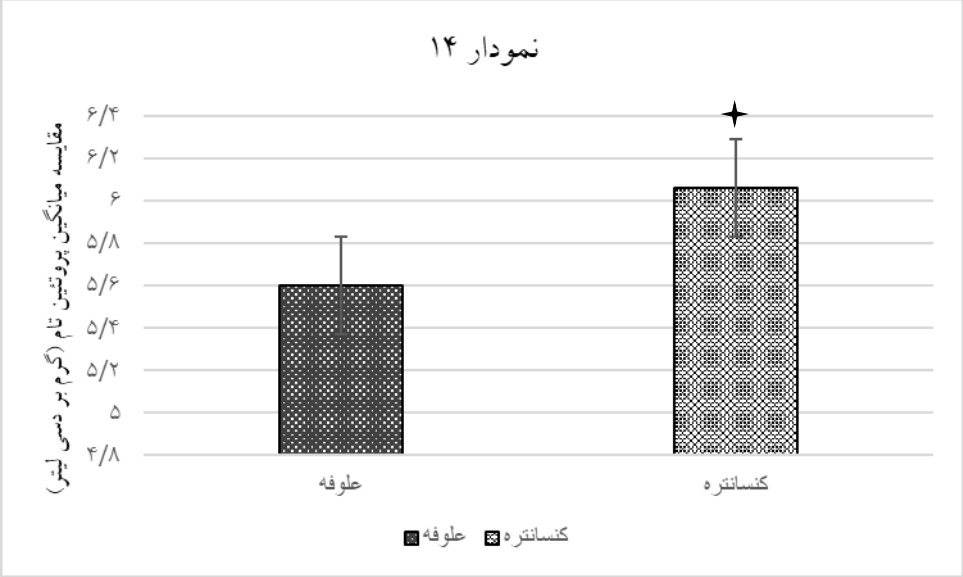
روند تغییرات پروتئین‌تام نشان می‌دهد که مقدار آن از ۰/۲۱ ± ٦/۰٤ گرم بر دسی‌لیتر در روز اول استفاده از علوفه تا روز آخر روند نزولی داشته اما میزان آن با روز آخر استفاده از جیره علوفه که ۰/۱۸ ± ٦/۰۲ گرم بر دسی‌لیتر بوده تفاوت معنی‌داری نشان نداده است، اما با تغییر جیره از علوفه به کنسانتره میزان آن به طور معنی‌داری کاهش نشان داده است به نحوی که میزان آن در روز آخر استفاده از جیره کنسانتره به طور معنی‌داری نسبت به روز اول استفاده از کنسانتره پایین‌تر بود ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۱۲– مقایسه میزان پروتئین تام (گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از جیره علوفه در اسب‌های مورد مطالعه



نمودار ۱۳– مقایسه میزان پروتئین تام (گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از جیره مخلوط علوفه با کنسانتره در اسب‌های مورد مطالعه

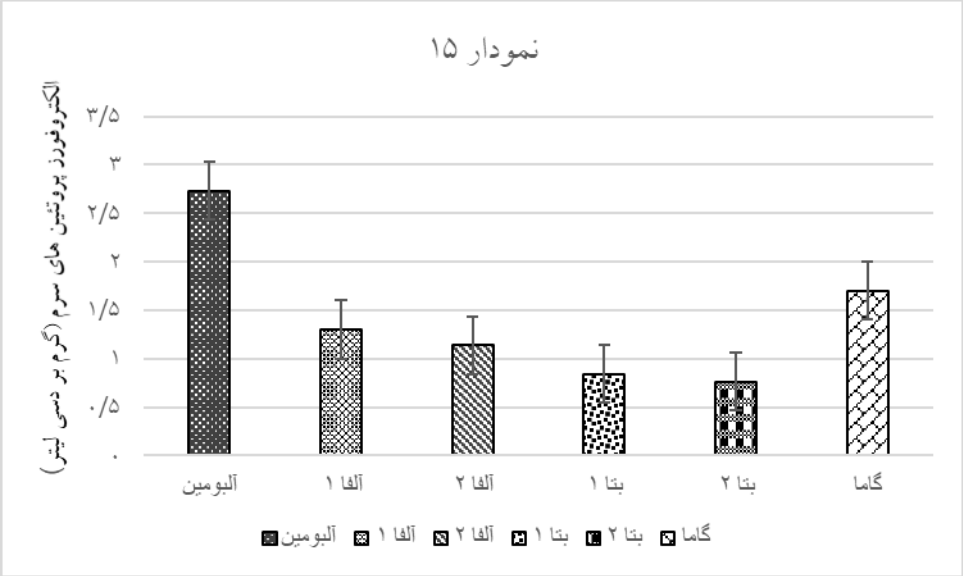


نمودار ١٤- مقایسه میانگین پروتئین تام (گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از دو جیره علوفه و مخلوط علوفه با کنسانتره

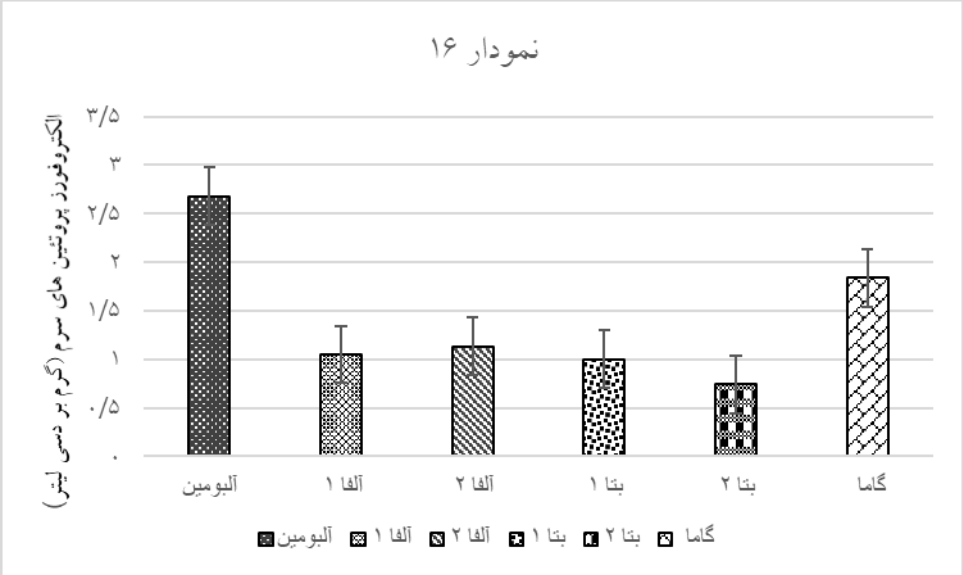
✦: نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

-الکتروفورز پروتئین‌های سرم خون: نتایج حاصل از الکتروفورز پروتئین‌های سرم خون بر حسب گرم بر دسی‌لیتر به تفکیک تیمار اول و دوم و مقایسه این دو با هم در نمودارهای ۱۵، ١٦ و ۱۷ ارائه شده است.

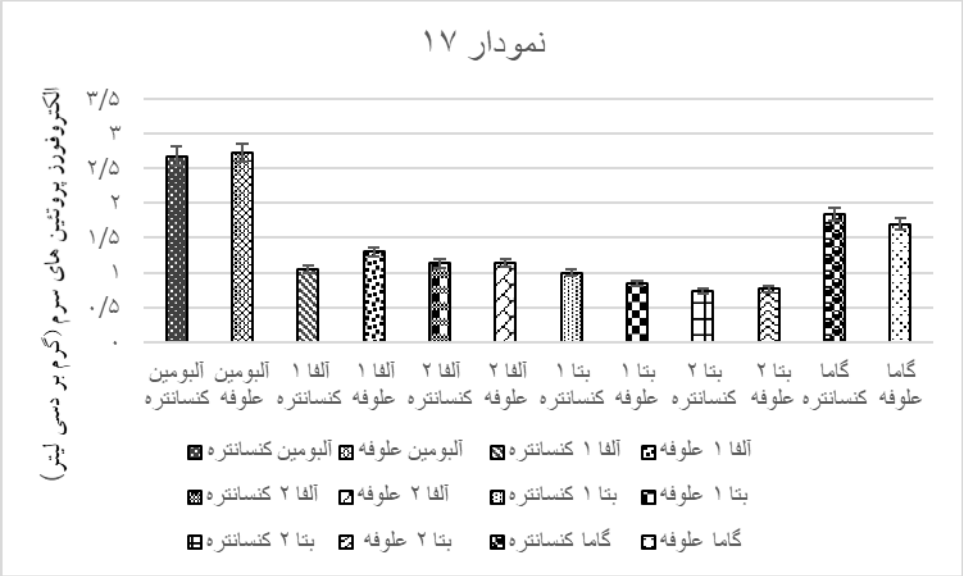
همانطور که در نمودار ها مشاهده می‌شود، بین میزان آلبومین، گاما گلوبین، آلفا-۱-گلوبین، آلفا-۲-گلوبین، بتا-۱-گلوبین و بتا-۲-گلوبین در اسب‌ها بین دو جیره علوفه و کنسانتره تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و تغییر جیره از علوفه به کنسانتره تغییر معنی‌داری در الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم ایجاد نکرد ($p>۰/۰۵$).



نمودار ۱۵– الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم (گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از جیره علوفه در اسب‌های مورد مطالعه



نمودار ۱۶– الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم (گرم بردسی‌لیتر) در استفاده از جیره مخلوط علوفه با کنسانتره در اسب‌های مورد مطالعه



نمودار ۱۷- مقایسه الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم (گرم بر دسی‌لیتر) در استفاده از دو جیره علوفه و مخلوط علوفه با کنسانتره

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بررسی تأثیر تغییر جیره بر تغییرات هموگرام در اسب های تحت مطالعه نشان داد که میزان گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در زمان استفاده از جیره مخلوط علوفه با کنسانتره نسبت به علوفه به طور معنی‌داری بالاتر بود. همچنین نتایج نشان داد که میزان MCH و MCHC در زمان استفاده از جیره علوفه نسبت به علوفه مخلوط با جو بالاتر بود. با این حال تفاوت معنی‌داری بین سایر شاخص‌های اندازه-گیری شده در زمان استفاده از هر دو جیره مشاهده نشد. مطالعات نشان داده‌اند که برخی شاخص‌های خونی اسب مانند هموگلوبین تحت تأثیر جیره غذایی قرار می‌گیرند و همچنین جیره با انرژی بیشتر موجب تولید هموگلوبین بالاتری نسبت به جیره با انرژی کمتر می‌گردد (wickler *et al.*, 1995; Hussein *et al.*, 2004). در مطالعه حاضر نیز میزان انرژی جیره علوفه مخلوط با کنسانتره نسبت به علوفه بالاتر بود که این تفاوت در انرژی می‌تواند یکی از دلایل بالا بودن میزان هموگلوبین در هنگام مصرف کنسانتره نسبت به علوفه بوده باشد. از طرفی میزان آهن و پروتئین به ازای صدگرم جو نسبت به یونجه به ترتیب حدود ٤ و ٣ برابر می‌باشد. با توجه به این نکته که قسمت اعظم آهن جذب‌شده به منظور سنتز "هم" در بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد و برای تکمیل ساختار هموگلوبین نیاز به دو جز اصلی آهن و اسیدهای آمینه می‌باشد، به نظر می‌رسد که این عوامل نیز می‌توانند توجیه‌کننده بالاتر بودن میزان هموگلوبین در هنگام مصرف جیره کنسانتره نسبت به علوفه باشند (Soltani *et al.*, 2019). تحقیقات نشان داده است که تغذیه گاوهای شیری و گوشتی با جیره با کنسانتره بالا باعث افزایش غلظت SAA می‌شود، اما میزان هاپتوگلوبین پلاسما را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. امانوئل و همکاران در سال ۲۰۰۸ و

زبلیو همکاران در سال ۲۰۰۹ طی مطالعات خود نشان دادند که تغییر جیره به کنسانتره در گاوهای شیری موجب افزایش میزان SAA می‌گردد که با مطالعه ما همخوانی داشت (Emmanule *et al*., 2008; Zebeli *et al*., 2009). از طرفی مطالعات مختلف نشان داده‌اند که در اسب سنتز SAA نه‌تنها در سلول‌های کبدی صورت می‌گیرد، بلکه به‌طور موضعی در دستگاه گوارش، راه‌های هوایی و غدد پستانی نیز تولید می‌گردد و پیشنهاد شده که تولید موضعی SAA به سیستم دفاعی بدن در مقابل میکروارگانیسم‌ها کمک می‌کند (schoster *et al*., 2013).

براندوو همکاران در سال ۲۰۱۶ گزارش کردند که گاو شیرده تغذیه‌شده با کنسانتره تجاری، غلظت هاپتوگلوبین بالاتری نسبت به گروه کنترل داشتند (Brandao *et al*., 2018). شل و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز در مطالعه‌شان بیان کردند در گاو گوشتی تغذیه‌شده با کنسانتره نسبت به گروه کنترل، میزان هاپتوگلوبین به طور معنی‌داری بالاتر بود (schell *et al*., 2016). از آنجایی‌که از هاپتوگلوبین اغلب به عنوان نشانگر التهاب عمومی استفاده می‌شود، افزایش کلی غلظت هاپتوگلوبین در مطالعه ما ممکن است بیشتر نشان‌دهنده پاسخ مثبت التهابی ناشی از تغییر جیره بوده باشد.

به‌طورکلی نشان داده شده است که تغییر جیره موجب ایجاد تغییراتی در شرایط حاکم بر سیستم گوارشی اسب شده و این تغییرات موجب تغییر در فلور و pH طبیعی سکوم می‌گردد و از طرفی شانس ابتلا حیوان به کولیک را نیز افزایش می‌دهد. با توجه به تک-معده ای بودن اسب بیشتر مواد غذایی قابل جذب از جمله پروتئین‌ها و کربوهیدرات، قبل از رسیدن به انتهای دستگاه گوارش هضم و جذب می‌گردند و در انتهای روده نیز باکتری‌های هضم‌کننده فیبر گیاهی استقرار دارند. در نتیجه تغییرات ناشی از جیره که می‌تواند موجب از بین‌رفتن این باکتری‌ها و تغییر در فلور طبیعی سکوم گردد، می‌تواند باعث تحریک التهاب و در نتیجه افزایش پروتئین‌های فاز حاد خصوصاً SAA که سنتز خارج کبدی نیز دارند، بشود. از طرفی تغییرات pH ناشی از تغییر در جیره غذایی از یک طرف و تغییر در فلور طبیعی سکوم از طرف دیگر، می‌تواند منجر به ایجاد کولیک در اسب گردد (Shirazi *et al*., 2008).

هارلو و همکاران در سال ۲۰۱۶ طی مطالعه‌ای نشان دادند که تغییر در جیره غذایی اسب موجب بروز تغییر در فلور طبیعی سکوم و در نتیجه احتمال بروز کولیک می‌گردد (Harlow *et al*., 2016)، از طرفی پیل و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز نشان دادند که در اسب‌های دچار کولیک میزان فیبرینوژن، هاپتوگلوبین و آمیلوئید تیپ A به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه سالم افزایش می‌یابد (Pihl *et al*., 2016). این نتایج با نتایج مطالعه ما که نشان می‌دهد تغییر جیره موجب افزایش میزان فیبرینوژن، هاپتوگلوبین و آمیلوئید تیپ A می‌گردد، همخوانی داشت.

در مطالعه حاضر تأثیر تغییر جیره غذایی علاوه بر پروتئین‌های فاز حاد، بر میزان پروتئین‌تام و الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم نیز مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج نشان داد که سطح پلاسمایی پروتئین‌تام با جیره علوفه به طور معنی‌داری از میانگین پلاسمایی پروتئین تام با یونجه خشک و جو بالاتر بود.

از طرفی بین میزان آلبومین، گاما گلوبین، آلفا-۱-گلوبین، آلفا-۲-گلوبین، بتا-۱-گلوبین و بتا-۲-گلوبین

در اسب‌ها بین دو جیره تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و تغییر جیره از علوفه به علوفه با کنسانتره تغییر معنی‌داری در الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم ایجاد نکرده بود.

دیرکوندی و کلانتری در سال ۲۰۱۸ به بررسی تأثیر سه نوع جیره غذایی بر شاخص‌های متابولیکی در اسب‌های نژاد ترکمن پرداختند. نتایج مطالعه ایشان نشان داد که تفاوت معنی‌داری از نظر الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم در استفاده از جیره‌های مختلف وجود ندارد، هرچند میزان پروتئین‌تام در هنگام مصرف جیره‌های مختلف متفاوت بود (Direkvandi *et al.*, 2018). نتیجه مطالعه آنها با مطالعه حاضر همخوانی داشت.

طی مطالعه‌ای نشان داده شده است که افزایش پروتئین‌تام در هنگام استفاده از جیره با پروتئین بالاتر به دلیل افزایش تولید BUN می‌باشد. بنابراین، تغییرات معنی‌داری در الگوی الکتروفورز پروتئین‌های سرم مشاهده نمی‌گردد (sadet bourgeteau *et al.*, 2010). با این حال نیکرک و همکاران در سال ۱۹۹۷ در مطالعه خود اعلام کردند که پروتئین جیره غذایی موجب تغییر در پروتئین‌تام نمی‌گردد، که این موضوع با نتایج مطالعه ما همخوانی ندارد (Van niekerk *et al.*, 1997).

نتایج به‌دست آمده از مطالعه همزمان (Firouzabadi *et al.*, 2017)، که روی اسب‌ها انجام شد نشان داد که میانگین غلظت لیپوپلی‌ساکارید پلاسما بر حسب واحد اندوتوکسین بر میلی‌لیتر تنها در زمان ۲٤ تا ۷۲ ساعت بعد از تغییر جیره معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). بیشترین میانگین غلظت لیپوپلی‌ساکارید پلاسما در زمان ۲٤ ساعت پس از تغییر ناگهانی جیره از علوفه به کنسانتره و با کاهش و مرگ باکتری‌ها همراه بوده است. کمترین میانگین غلظت لیپوپلی‌ساکارید پلاسما بعد از گذشت یک هفته از مصرف یونجه ایجاد شده است. در نتیجه می‌توان بیان کرد که یکی از دلایل افزایش پروتئین‌های فاز حاد می‌تواند افزایش میزان لیپو پلی ساکارید در خون باشد.

به‌طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از آن است که تغییر جیره غذایی از علوفه به مخلوط علوفه با کنسانتره باعث تغییرات عمده‌ای در میزان هموگلوبین، پروتئین‌تام، پروتئین‌های فاز حاد شامل فیبرینوژن، هاپتوگلوبین و آمیلوئید تیپ A می‌گردد که این موضوع می‌تواند به دلیل نوع تغذیه و یا التهاب حاد ایجاد شده به دلیل تغییر در فلور طبیعی دستگاه گوارش اسب بوده باشد، از طرفی الگوی الکتروفورز در حین استفاده از دو جیره غذایی علوفه و کنسانتره تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. به نظر می‌رسد که جیره مخلوط علوفه با کنسانتره نسبت به علوفه موجب ایجاد واکنش‌های التهابی می‌گردد و از طرفی میزان هموگلوبین خون را بالا می‌برد، هرچند قضاوت در این مورد نیاز به مطالعات بیشتر و دقیق‌تری دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز از بابت تامین هزینه اجرای این تحقیق قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Aryal, S. (2020). Biuret test for protein. Biochemistry and Biotechnology, 24(1): 55-60.
- Brandao, X., Daie, M., Paulal, G., Silvam, I., Marcondes, T., Shenkoru, S., et al. (2018). Effect of replacing calcium salts of palm oil with camelina seed at 2 dietary ether extract levels on digestion, ruminal fermentation, and nutrient flow in a dual-flow continuous culture system. American Dairy Science Association Journal, 22(7): 1-15.
- Bazzano, M., Salvo, D., Diaferia, F., Veronesi, F. and Galarini, R. (2020). Anthelmintic Efficacy and Pharmacokinetics of Ivermectin Paste after Oral Administration in Mules Infected by Cyathostomins. Animals, 10(2): 224-229.
- Direkvandi, E., Rozbehan, Y. and Fazaeli, H. (2018). Effect of different sources of grain on nutrient digestibility in horses by using two internal markers. Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 107(2): 3-12.
- Emmanuel, S.M. and Dunn, B.N. (2008). Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cow. Journal of Dairy Science, 91(3): 606-614.
- Safaee Firouzabadi, M.S., Haji Hajikolaei, M.R., Baniadam, A., Ghadrdan Mashhadi, A.R. and
- Ghorbanpoor, M. (2018). Cecal cannulation in horse; an experimental study. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 11(4): 353-359. [In Persian]
- Harlow, B.E. (2019). Changes to the equine hindgut microflora in response to antibiotic challeng. Journal of Animal and Food Science, 14(2): 24-26.
- Harris, P. (1999). Review of equine feeding and stable management practices in the UK concentrating on the last decade of the 20th century. Equine Veterinary Journal, 31(7): 46-54.
- Hassanpour, A., Alipour Kheirkhah, H.R. and Moghaddam, S. (2017). Evaluation of serumic concentration of Haptoglobin and Serum Amyloid A in horses affected with strangles. Veterinary Clinical Pathology, 11(43): 345-349. [In Persian]
- Hussein, H., Vogedes, L., Fernandez, G. and Frankey, R. (2004). Effects of cereal grain supplementation on apparent digestibility of nutrients and concentrations of fermentation end-products in the feces and serum of horses consuming alfalfa cubes. Journal of Animal Science, 82(3): 1986-1996.
- Jafarian, P. and Hassanpour, A. (2019). Evaluation of serumic indices of renal function in horses with piroplasmosis. Veterinary Clinical Pathology, 12(48): 54-59. [In Persian]
- Jacobsen, S. and Andersen Ph. (2007). The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. Equine Veterinary Education, 19(3): 38-46.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W. and Bruss, M.L. (2008). Clinical biochemistry of domestic animals. Journal of Academic Press, 24(7): 11-19.
- Kienzel, E. (1994). Small intestinal digestion of starch in the horse. Revue de Medecine Veterinaire (France), 4(1): 59-64.
- Lindberg, J. (2002). Use of non-starch carbohydrate energy sources in performance horses. Nutrition of the Performing Horse-An International Perspective. Equine Nutrition Research, 3(5): 1-46.
- Minaii, E. and Araghi-Sooreh, F. (2020). Assessment of Streptococcus equi infection in apparently healthy working horses of Urmia region by indirect ELISA method. Veterinary Clinical Pathology, 14(55): 5-15.
- Pagan, J.D., Lawrence, T. and Lawrence, L. (2010). Feeding protected sodium bicarbonate attenuates hindgut acidosis in horses fed a high-grain ration. The Impact of Nutrition on the Health and Welfare of Horses, 3(1): 19-22.
- Potter, G.D. (2004). Protein requirements of horses for maintenance and work. Publication Of European Association for Animal Production, 111(24): 149-156.
- Pihl, T., Scheeper, E., Sanz. M. and Goddard, A. (2017) Acute-phase proteins as diagnostic markers in horses with colic. Journal of Veterinary Emergency and Clinical Care, 26(5): 664-674.

- Sadet-Bourgeteau, S., Julliand, V., Ellis, A., Longland, A., Coenen, M. and Miraglia, N .(2010). Equine microbial gastro-intestinal health. The Impact of Nutrition on the Health and Welfare of Horses, 128(4): 161-82.
- Santos, A., Rodrigues, M., Bessa, R., Ferreira, L. and Martin-Rosset, W. (2011). Understanding the equine cecum-colonecosystem: current knowledge and future perspectives. Animal, 5(2): 48-56.
- Schoster, A., Arroyo, L.G., Staempfli, H.R. and Weese, J.S. (2013). Comparison of microbial populations in the small intestine, large intestine and feces of healthy horses using terminal restriction fragment length polymorphism. BMC Research Notes, 6(5): 91-100.
- Shirazi-Beechey, S. (2008). Molecular insights into dietary induced colic in the horse. Equine Veterinary Journal, 40(3): 414-421.
- Soltani, G.H., Ozmaie, S.S., Sakha, M. and Safi, S.H. (2019). Effects of organic and inorganic selenium supplements on serumic levels of thyroid hormones in mixed breed horses. Veterinary Clinical Pathology, 12(48): 124-134. [In Persian]
- schell, T., Branson, J., Armstrong, S. and Lewis, M. (2016). Effect of OmniGen-AF® supplementation on the metabolic profile of growing beef cattle. Journal of Research Publication, 3(15): 156-159.
- Van Weyenberge, S., Sales, J. and Jansense, G. (2006). Passage rate of digesta through the equine gastrointestinal tract: a review. Livestock Science, 99(2): 3-12.
- Van niekerk, E. (1997). The effect of dietary protein on reproduction in the mare. The composition and evaluation of the digestibility of dietary protein from different sourse. Journal of the South African Veterinary Association, 4(1): 20-25.
- Varloud, M., Fonty, G., Roussel, A., Guyonvarch, A. and Julliand, V. (2007). Postprandial kinetics of some biotic and abiotic characteristics of the gastric ecosystem of horses fed a pelleted concentrate meal. Journal of Animal Science, 85(3): 2508-2516.
- White, N.A. (2006). Colic prevalence, risk factors and prevention. Advances in Equine Nutrition, 25(4): 313-317.
- Willard, J.G., Willard, J., Wolfram, S. and Baker, J. (1977). Effect of Diet on Cecal Ph and Feeding Behavior of Horses. Journal of Animal Science, 45(2): 87-93.
- wickler, P.S., Pauley, R.E. and Bray, C. (1995). Performance at high altitude of horses and mules receiving fat supplemented diets. Equine veterinary Journal, 27(18): 406-409.
- Dijkstra, J., Tafaj, M., Steingass, B.N., Ametaj, W. and Drochner, M. (2008). Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the response of ruminal PH and milk of product to composition of diet. Journal of Dairy Science, 95(5): 2046-2066.
- Study of changes in acute phase proteins of serum, hemogram and electrophoretic pattern of horse serum proteins following change of diet from forage to forage mixed with concentrate.