دراسة تأثير التغيرات الحرارية على بعض مكونات الدم الكيمياحيوية عند الخيول

*د. نبيل الحلاق **أ. د. عواد العواد

(الإيداع: 12 تموز 2018 ، القبول: 30 آيلول 2018)

الملخص:

كان الهدف من هذه الدراسة هو معرفة تأثير درجات الحرارة العالية خلال فصل الصيف والمنخفضة في فصل الشتاء على بعض مقومات الدم الحيوية عند خيول السباق. حيث بلغ عدد حيوانات التجربة (44) رأس خيل سباق منها (21) رأس استخدمت في الصيف و(23) رأس استخدمت في الشتاء، وجمعت عينات الدم من الوريد الوداجي لجميع الخيول وبمعدل عينة كل أسبوعين خلال كل فصل، ومن ثم تم قياس تركيز كلاً من الغلوكوز والكولسترول والشحوم الثلاثية والكالسيوم والبروتين الكلي والفوسفور والمغنزيوم وحمض البول.

أظهرت النتائج أنه بدرجة الحرارة المرتفعة خلال فصل الصيف أدت إلى ارتفاع مستوى غلوكوز الدم والبروتين الكلي وانخفاض تركيز المغنزيوم ولكن لم تؤثر على تراكيز (الكالسيوم والفوسفور والكولسترول والغلسيريدات الثلاثية). بينما أدت درجات الحرارة المنخفضة في فصل الشتاء إلى ارتفاع تركيز الغلسيريدات الثلاثية وانخفاض تراكيز (الغلوكوز والكالسيوم والفوسفور والبروتين الكلي وحمض البول) ولم تتأثر تراكيز (الكولسترول والمغنزيوم) خلال فصل الشتاء.

وبالتالي فإن التغيرات الحرارية أدت إلى اضطرابات بمستويات بعض مكونات الدم الكيميائية الحيوية في دم خيول السباق.

الكلمات المفتاحية: التغيرات الحرارية، فصل الصيف، فصل الشتاء، خيول السباق، مكونات الدم الكيمياحيوية.

*ماجستير بالكيمياء الحيوية-قسم وظائف الأعضاء-كلية الطب البيطري-جامعة حماه (طالب دكتوراه)

**أستاذ الكيمياء الحيوية-كلية الطب البيطري-جامعة حماه.

Study about the effects of temperature changes on some horse's blood biochemical compounds

Dr. Nabil Halaq **Prof.Dr. Awad Al Awad**

(Received: 12 July 2018, Accepted: 30 September 2018)

Abstract:

The aim of this study was to know the effect of high temperature during the summer and low in the winter on some race horse's blood biochemical compounds. Where the number of all experimental animals were (44) heads of race horses, including (21) heads used in the summer and (23) heads used in the winter, and blood samples were collected from the jugular vein of all horses on the rate of a sample every two weeks during each Season, and then measured the concentration of each Glucose, cholesterol, triglycerides, calcium, total protein, phosphorus, magnesium and uric acid.

The results showed that the high temperature during the summer resulted in high blood glucose and total protein concentration and decreased concentration of magnesium but did not affect concentrations of (calcium, phosphorus, cholesterol and triglycerides). While the low winter temperatures led to a high concentration of triglycerides and decreased concentration of (glucose, calcium, phosphorus, total protein and uric acid). The concentration of cholesterol and magnesium was not affected during the winter.

Thus, the thermal changes led to disorder in the level of some race horse's blood biochemical compounds.

Key words: thermal changes, summer, winter, race horses, blood biochemical compounds.

1- المقدمة Introduction

تلعب البيئة المحيطة دوراً هاماً في حياة الحيوان، وذلك من خلال مجموعة من العوامل أهمها المناخ الذي يعتبر حصيلة لجملة من العناصر مثل درجة الحرارة، الرطوبة، الندى، حركة الهواء، أشعة الشمس، الضغط الجوي (**جعلان**. 2006). وتعتمد الآثار الناجمة عن التغيرات البيئية عند الحيوان على مجموعة من العناصر أهمها شدة العامل البيئي ونوعية الحيوان. إلا أن بعض الحيوانات يمكنها التأقلم مع الظروف البيئية المحيطة بشكل مناسب، وتصبح قادرة على استعادة طاقتها الإنتاجية من اللحم والحليب والكفاءة التناسلية (**جعلان**. 2006).

أنواع الحيوانات حسب قدرتها على التكيف مع درجة الحرارة:

تنقسم الحيوانات من حيث قدرتها على التكيف مع درجة الحرارة إلى نوعين:

– الحيوانات ذات الدم الحار: وتشمل الطيور والثدييات وهي تقوم بتغيير طفيف في درجة حرارة جسمها عندما يحدث تغير ملحوظ في درجة حرارة الجو، أي أن لها القدرة على تنظيم درجة حرارة جسمها في حدود ضيقة في وجه التغير الواسع بدرجة حرارة الجو (عبد الله زايد وأحمد القماطي 1988).

– الحيوانات ذات الدم البارد: وتضم الأسماك والزواحف، وهي تقوم بتغيير ملحوظ في درجة أجسامها عندما تتغير درجة حرارة الجو أي أن ليس لها القدرة على التحكم في تثبيت درجة حرارة جسمها (عبد الله زايد وأحمد القماطي 1988).

تعتبر الخيول من الحيوانات ذات الدم الحار وهي وحيدة المعدة وتتميز بالقدرة على التكيف مع الظروف البيئية المحيطة ولكن تؤدي التغيرات البيئية إلى مجموعة من التغيرات الفيزيولوجية والإستقلابية.

يؤدي الإجهاد الحراري والتغيرات الحرارية المحيطة بالخيول إلى مجموعة من التغيرات الكيميائية الحيوية والاستقلابية ويعرف إجهاد الحر بأنه مجموعة من التغيرات المحيطة والتي تؤدي إلى زيادة التنفس وتوسع الأوعية المحيطية وزيادة فقدان الحرارة عن طريق التبخر وزيادة إنتاج الحرارة الاستقلابية. من جهة ثانية يؤدي إجهاد الحر إلى انخفاض التناول الاختياري للعلف وزيادة معدل الهضم (Cavalcante et al., 2012). لقد أشارت بعض الدراسات إلى زيادة الاحتياجات من الطاقة وانخفاض الاحتياجات من البروتين وذلك بسبب التوظيف لبعض المتوسطات في آليات متعددة كالنمو (Piccione., 2002& Caola). في حين تزداد الحاجة إلى الماء بسبب التبخر والتعرق. تتميز الخيول بتعرقها الشديد خلال الإجهاد الحراري مما يؤدي إلى فقدانها للكهارل، حيث لوحظ انخفاض في تركيز كل من البوتاسيوم والصوديوم والكلوريد والمغنزيوم والأحماض الدهنية بالدم والمترافقة مع ارتفاع في منسوب الفوسفور (Stewart et al., 2011). وتشير التقارير العلمية أن كمية الكالسيوم والفوسفور في العرق عند الخيول قليلة جداً وذلك بسبب زيادة نشاط هرمون جارات الدرق (PTH) تحت تأثير أشعة الشمس، حيث يعمل هذا الهرمون على زيادة تركيز ايونات الكالسيوم في مصل الدم والمترافق مع انخفاض تركيز فوسفور الدم نتيجة زيادة طرحه مع البول، من خلال تنشيط ارتشاف العظام للكالسيوم وزيادة امتصاصه عبر الأمعاء (Inoue et al., 2002).

وعليه تفقد الخيول حوالي (10 ل/سا) من السوائل عن طريق التعرق خلال التمارين أو أثناء التعرض للحرارة، حيث تحتوي هذه السوائل على الماء والأملاح مثل (البوتاسيوم والكلوريد والمغنزيوم والكالسيوم) (Robert et al., 2010). مما يؤدي إلى تغيرات في تراكيزها في الدم وتوازنها في الأنسجة الخلوية (Piccione et al., 2002).

كما ويمكن أن تفقد الخيول عن طريق التعرق عند التعرض الشديد للحرارة العالية حوالي (15 ل/سا) من السوائل وبمعدل (60 ل/يوم) (Frape, 2010). يختلف التركيب الكيميائي للعرق عند الخيول عنه في الإنسان (Inoue et al., 2001)، فهو يحوي على الكهارل ومواد آزوتية مثل الكرياتين وحمض البول وحموض أمينية والبروستغلاندين والفيتامينات (Frape,

2010)، كما وتطرح الأمونيا، ويوجد في العرق أيضاً الغلوكوز ويكون بتراكيز قليلة حيث يحافظ الجسم على منسوبه في تيار الدم من خلال زيادة تقويض الكربوهيدرات في الكبد وزيادة معدل الهضم (Robert et al., 2010).

من جهة ثانية أُثبت وجود حمض اللبن lactic acid في العرق والذي تزيد كميته مع الجهد العضلي، كما تطرح مع العرق بعض الأدوية أيضاً (Robert et al., 2010). لقد فسرت حامضية العرق PH = 4-6 من خلال تواجد حمض اللبن وبعض الحموض الأمينية فيه (Frape, 2010).

ويحوي العرق أيضاً على كميات وافرة من المواد الدهنية وخاصة الكولسترول والغلسيريدات الثلاثية والتي بلغت نسبتها إلى مجموع المواد الدهنية (20% و75%) على الترتيب، بالإضافة إلى كميات قليلة من الكولسترول المؤستر والشمع وحموض دسمة طيارة مثل حمض الكابرليك (لها دور في حدوث الرائحة) كما يحتوي على مقادير ضئيلة من الستيروئيدات الأندروجينية مثل (دي هيدرو أندروستيرون dehydro epiandrosterone) (Robert et al., 2010).

وهنا لابد من التأكيد على أهمية هذه الأملاح ودورها الحيوي في إنجاز معظم التفاعلات الكيميائية الحيوية، حيث يقود فقدانها أو انخفاضها في الجسم إلى مجموعة من الاضطرابات الاستقلابية وانخفاض في الاستجابة المناعية واضطرابات مرضية عند الخيول مثل (الحماض الاستقلابي-نقص في الاكسجين والطاقة- ارتجافات عضلية-استسقاءات قلبية-اضطرابات كلوية ..... الخ) (Piccione et al., 2002).

يعاكس إجهاد البرد الإجهاد الحراري فهو يؤدي إلى زيادة الاستهلاك الاختياري للعلف مع بقاء معدل الهضم ثابتاً، وقد يكون ذلك بسبب نوعية الأعلاف المقدمة للخيول والتي تكون ثابتة خلال فصل الشتاء (carapeto et al., 2006) تترافق هذه الآلية مع ارتفاع في معدل الفقدان من الطاقة فوق المعدل الحراري وذلك بسبب الحاجة إلى إنتاج الحرارة، مما أدى إلى ارتفاع تركيز غلوكوز الدم (Holcomb et al., 2014). وللحفاظ على نسبة ثابتة من الطاقة يتراجع منسوب البروتين في الدم، حيث تستخدمه الخيول كمصدر للطاقة فقط (Cavalcante et al., 2012). لقد أوضحت معظم الدراسات التراجع في القدرة على استهلاك الماء عند الخيول في حالات البرد (Cymbaluk., 1994). حيث قاد ذلك إلى ارتفاع مستويات غلوكوز الدم مما أدى إلى زيادة الإستقلاب وخاصة في الخيول المعرضة للبرد بصورة مزمنة (Holcomb et al., 2014). كما لوحظ زيادة في تقويض الكربوهيدات والبروتين، في حين وجد زيادة في مستويات الأحماض الدهنية الطيارة والكولسترول والغلسيريدات الثلاثية في دم الخيول المعرضة لإجهاد البرد وكذلك بالنسبة للهيماتوكريت (Piccione et al., 2002). بينما انخفض تركيز الكالسيوم والفوسفور في الدم، ويعود هذا الانخفاض إلى مجموعة من العوامل منها انخفاض نشاط هرمون جارات الدرق وزيادة نشاط هرمون الكالسيتونين والذي يعمل على تثبيط الارتشاف العظمي للكالسيوم والفوسفور وبالتالي انخفاض تركيزها في مصل الدم (Inoue et al., 2002). ولم يكن لإجهاد البرد تأثير على تراكيز الصوديوم والبوتاسيوم في الدم عند الخيول، وانخفضت بروتينات مصل الدم جميعها أثناء البرد (Yashiki et al., 1995). في حين حافظ تركيز المغنزيوم على معدلاته الطبيعية خلال فصل الشتاء بسبب كثرة الأعلاف الخضراء وخاصة الفصة والتي تتميز بغناها بعنصر المغنزيوم بالإضافة إلى بعض العناصر الأخرى (Stewart et al., 2011).

هذا ويوضح الجدول التالي الحدود الطبيعية لتراكيز بعض مكونات الدم الكيميائية الحيوية عند الخيول وذلك بحسب (National Research Council. NRC., 2007):

الجدول رقم (1): المجال الطبيعي لتركيز بعض مكونات الدم الكيميائية الحيوية عند الخيول

	المجال الطبيعي		الواحدة
	الدنيا	العليا	
الغلوكوز	62	134	مغ/دل
الكولسترول	71	142	مغ/دل
الغلسيريدات الثلاثية	33.7	67.4	مغ/دل
الكالسيوم	10.2	13.4	مغ/دل
البروتين الكلي	5.6	7.6	مغ/دل
الفوسفور	1.5	4.7	غ/دل
المغنزيوم	1.4	2.7	مغ/دل
حمض البول	11	27	مغ/دل

وتختلف هذه التراكيز من مخبر لآخر تبعاً للظروف المخبرية والنوع و ...الخ من العوامل المؤثرة على الاختبارات.

2–هدف من البحث:

معرفة تأثير درجات الحرارة على مستويات كلاً من (الغلوكوز–الكولسترول–الغلسيريدات الثلاثية–الكالسيوم–البروتين الكلي –الفوسفور–المغنزيوم–حمض البول) في دم خيول السباق (عربية–انكليزية) خلال فصلي الصيف والشتاء ضمن ظروف تربية وتغذية مختلفة.

3–المواد وطرائق العمل Materials And Methods

بلغ عدد الخيول التي أجريت عليها الدراسة (44) رأس خيل، تم اختيارها من الخيول المتواجدة في محافظة دمشق وريفها ومن بعض الأندية الرياضية وكانت موزعة على مجموعات:

– المجموعة الأولى (مجموعة فصل الصيف):

بلغ عدد الخيول في هذه المجموعة (21) رأس خيل سباق استخدمت هذه الخيول في الفترة الممتدة من 2015/6/15 ولغاية 2015/9/15. بلغ متوسط درجة الحرارة خلال هذه الفترة (41–22)ْ م حيث بلغت الذروة في شهر تموز.

– المجموعة الثانية (مجموعة فصل الشتاء):

بلغ عدد الخيول في هذه المجموعة (23) رأس خيل سباق استخدمت هذه الخيول في الفترة الممتدة من 2015/12/15 ولغاية 2016/3/15. بلغ متوسط درجة الحرارة خلال هذه الفترة (15–3)ْ م.

خضعت جميع هذه الخيول لظروف تربية وتغذية مختلفة كما هو مطبق في كل مربط أو نادي أو إسطبل، وذلك حسب البرامج والبروتوكولات المتبعة من قبل كل مربي أو نادي، ولم يكن هناك تدخل في هذه الأمور خلال هذه الدراسة، أي

ضمن الظروف الطبيعية المتبعة وكانت حالة التغذية عادية.

أجريت كامل الفحوص السريرية على جميع الخيول خلال فصلي السنة وتضمنت مايلي:

- قياس درجة حرارة الجسم.
- قياس النبض.
- فحص حالة التنفس.
- فحص الأغشية المخاطية المرئية.
- فحص القوائم والحوافر.

وبعد إجراء هذه الفحوص لم تلاحظ أي أعراض مرضية على أي حيوان وكانت جميعها سليمة صحياً وبحالة جيدة جداً خلال كامل مراحل التجربة. باستثناء بعض الالتهابات الرئوية وبعض حالات الإسهال والمغص والتي قدم لها العلاج المناسب فوراً.

بلغ عدد العينات المجموعة خلال هذه الدراسة (308) عينة، حيث جمعت عينة دم من كل رأس خيل بمعدل عينة كل أسبوعين خلال فترتي الصيف والشتاء.

تم جمع العينات من الوريد الوداجي لجميع الخيول وذلك بأنابيب مفرغة من الهواء لا تحوي على مانع تخثر. حفظت جميع هذه العينات بحافظات تحوي على الثلج ونقلت مباشرة خلال فترة قصيرة من الزمن (120 دقيقة تقريباً) إلى مخبر الكيمياء الحيوية، حيث ثفلت هذه العينات باستخدام جهاز الطرد المركزي من نوع (Nahita 2690) اسباني الصنع وبسرعة دوران 3000 لفة بالدقيقة ولمدة /10/ دقائق بغية الحصول على مصل الدم وتم وضع مصل الدم بفيالات معقمة ونظيفة وتم حفظ هذه الفيالات في البراد على الدرجة 4 ْم لحين إجراء التحاليل المخبرية.

تم إجراء الاختبارات التالية:

- معايرة (قياس) تركيز الغلوكوز في مصل الدم: تم الكشف عن الغلوكوز بالطريقة الأنزيمية (Enzymatic method) بمجموعة تحليل جاهزة لشركة (BioSystems) الإسبانية (Weissman & Klin., 1978).
- معايرة (قياس) تركيز الغلسيريدات الثلاثية في مصل الدم: تم إجراء هذا الاختبار بالطريقة الأنزيمية (Enzymatic method) بمجموعة تحليل جاهزة لشركة (Wiener lab) الألمانية (Bucolo & David., 1973).
- معايرة (قياس) تركيز الكولسترول في مصل الدم: تم إجراء هذا الاختبار بالطريقة اللونية (colorimetric method) بمجموعة تحليل جاهزة (Wiener lab) الألمانية (Young., 2000).
- معايرة (قياس) تركيز الكالسيوم في مصل الدم: تم إجراء هذا الاختبار بالطريقة اللونية (colorimetric method) بمجموعة تحليل جاهزة لشركة (Wiener lab) الألمانية (Kessler & wolfman., 1984).
- معايرة (قياس) تركيز البروتين الكلي في مصل الدم: تم إجراء هذا الاختبار بطريقة البيوريت (biuret method) بمجموعة تحليل جاهزة لشركة (BioSystems) الإسبانية (Gornall et al., 1949).
- معايرة (قياس) تركيز المغنزيوم في مصل الدم: تم إجراء هذا الاختبار بالطريقة اللونية باستخدام الأكسليد الأزرق1 (colorimetricmethod by using xylidy 1 blue) بمجموعة تحليل جاهزة لشركة (BioSystems) الإسبانية (Chromýa et al., 1973).
- معايرة (قياس) تركيز الفوسفور في مصل الدم: تم إجراء هذا الاختبار بطريقة (U.Vdetermination) بمجموعة تحليل جاهزة لشركة (BioSystems) الإسبانية (Daly & Ertingshausen., 1972).

أجريت الدراسة الإحصائية باستخدام البرنامج الإحصائي على الحاسوب (IBM SPSS Statistics 20) حيث تم تحليل البيانات إحصائياً باستخدام اختبار (One Way ANOVA) حيث تم إدخال البيانات إلى البرنامج بعد أن تم كتابتها على

الإكسيل وأجرينا المقارنات بين التحاليل الناتجة حيث تم الحصول على قيمة المتوسط لكافة النتائج والانحراف المعياري، وقد تم تحديد الفروق المعنوية باستخدام اختبار Duncan عندما تكون($P\leq0.05$). ومن ثم تم تحويل نتائج التحاليل الإحصائية إلى مخططات بيانية وبعد ذلك تم إخراج العينات ورسم المخططات وكتابة النتائج وتنسيقها على ملف الورد.

4- النتائج Results

تركيز الغلوكوز:

يوضح الجدول (2) والمخطط (1) نتائج تغيرات تركيز الغلوكوز عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء منذ بداية كل فصل ولغاية نهايته. حيث أدت درجات الحرارة العالية خلال فصل الصيف إلى ارتفاع تركيز الغلوكوز في الدم في منتصف هذا الفصل ليسجل (12±122 مغ/دل)، حيث كانت الفروق معنوية ($p<0,05$) بين بداية هذا الفصل وبعد منتصفه بأربع أسابيع.

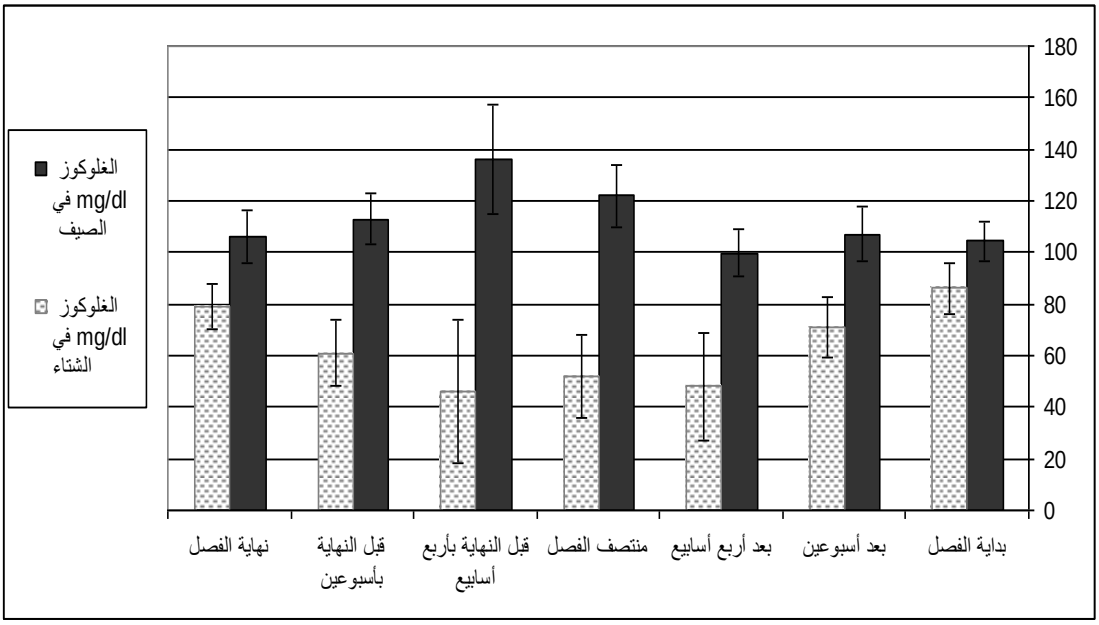
وعلى العكس من ذلك فإن درجات الحرارة المنخفضة خلال فصل الشتاء كان لها تأثير سلبي على منسوب الغلوكوز في الدم عند خيول السباق، حيث أخذ تركيز الغلوكوز بالانخفاض تدريجياً بعد بداية هذا الفصل بأسبوعين واستمر هذا الانخفاض ليصل إلى أدنى قيمة له قبل نهاية هذا الفصل بأربع أسابيع ليسجل (42±31,8 مغ/دل) عند كل من خيول السباق، ثم عاد ليرتفع قليلاً ليسجل في نهاية هذا الفصل قيمة قريبة من المستوى المسجل في بدايته، حيث كانت الفروق معنوية ($p<0,05$) بين بداية هذا الفصل ومنتصفه وقبل نهايته بأربع أسابيع الجدول (2) والمخطط (1). كما بين الجدول (2) والمخطط (1) وجود فروق معنوية ($p<0,05$) في تركيز الغلوكوز عند مقارنة فصل الصيف مع فصل الشتاء.

تركيز الكولسترول:

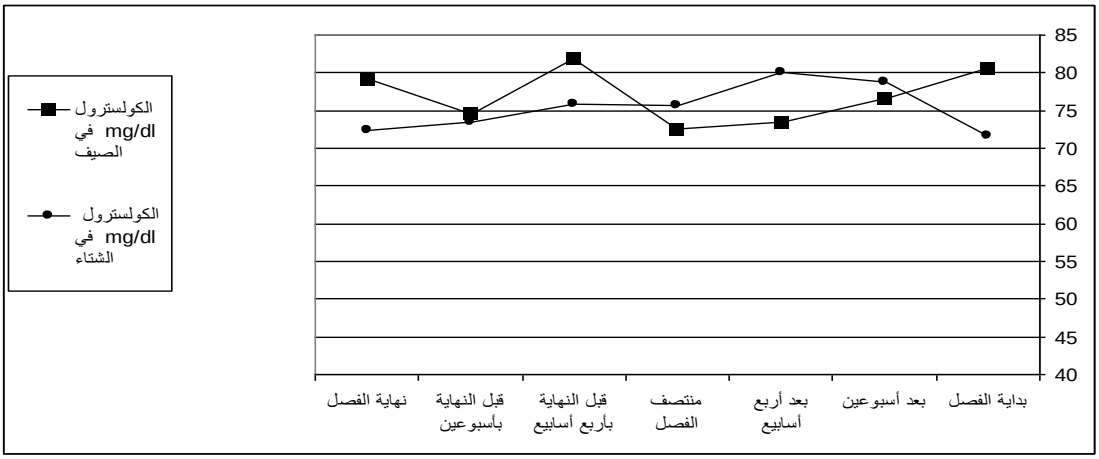
يبين الجدول (2) والمخطط (2) نتائج قياس تركيز الكولسترول عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء وذلك منذ بداية كل فصل ولغاية نهايته. حيث لم تتأثر قيم الكولسترول عند خيول السباق ليسجل قيم طبيعية ومقبولة طيلة فصلي الصيف والشتاء ولم يلاحظ وجود فروق معنوية في كلا الفصلين.

تركيز الغلسيريدات الثلاثية:

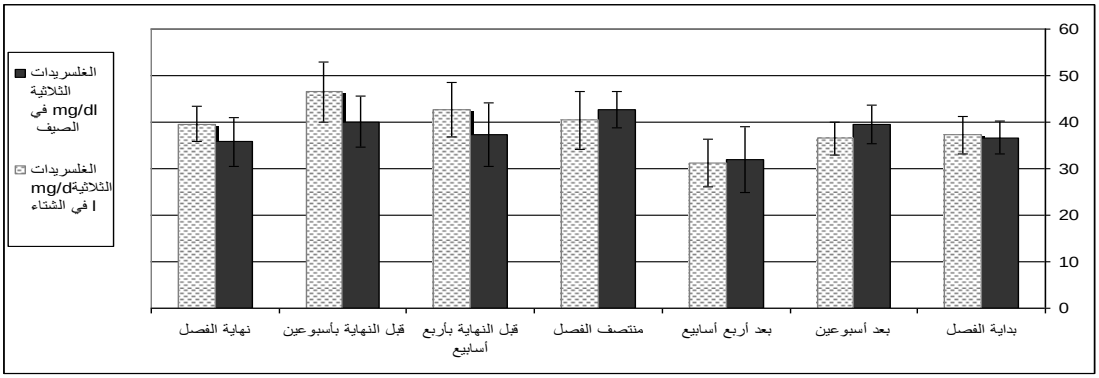
بلغ متوسط تركيز الغلسيريدات الثلاثية عند خيول السباق في بداية فصل الصيف (3.6±36.7 مغ/دل) وحافظ على هذا المستوى طيلة هذا الفصل باستثناء ارتفاع طفيف في منتصف هذا الفصل ولم تكن الفروق معنوية كما هو موضح في الجدول (2) والمخطط (3). أما في فصل الشتاء فارتفع مستوى الغلسيريدات الثلاثية معنوياً ($p<0,05$) عند خيول السباق اعتباراً من منتصف هذا الفصل ولغاية نهايته مقارنة مع بدايته ليسجل أعلى مستوى له قبل نهاية هذا الفصل بأسبوعين (6.4±46.5 مغ/دل).



المخطط رقم (1): يوضح تغيرات تركيز الغلوكوز مغ/دل عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء



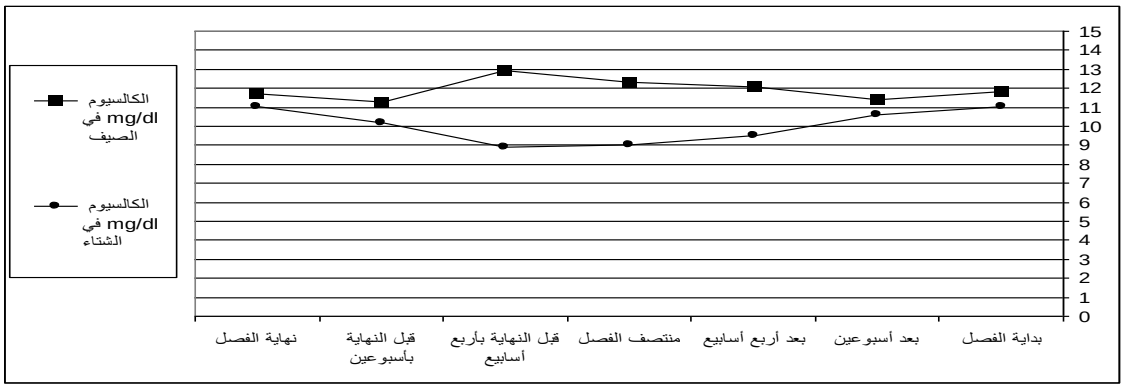
المخطط رقم (2): يوضح تغيرات تركيز الكولسترول مغ/دل عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء



المخطط رقم (3): يوضح تغيرات تركيز الغلسيريدات الثلاثية مغ/دل عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء

- تركيز الكالسيوم:

تبين النتائج المسـجلة في الجدول (2) والمخطط (4) أن تركيز الكالسـيوم انخفض وبشـكل معنوي عند خيول السـباق في فصل الشتاء مقارنة مع فصل الصيف حيث سجل تركيز الكالسيوم أدنى قيمة له عند خيول السباق قبل نهاية فصل الشتاء بأربع أسـابيع (8.9±1.5 مغ/دل) وكانت الفروق معنوية ($p<0,05$) مقارنة مع بداية ونهاية هذا الفصـل. وعلى النقيض من ذلك فأظهر الجدول (2) والمخطط (4) أنه لم يكن هناك تأثير للتعرض إلى الحرارة العالية خلال فصل الصيف (إجهاد الحر) على تركيز الكالسـيوم بل على العكس من ذلك حافظ على مسـتويات ثابتة طيلة فصـل الصـيف عند خيول السـباق ليصل إلى أعلى مستوياته قبل نهاية هذا الفصل بأربع أسابيع (0.94±12.9 مغ/دل)، ولم تكن الفروق معنوية طيلة فصل الصيف.



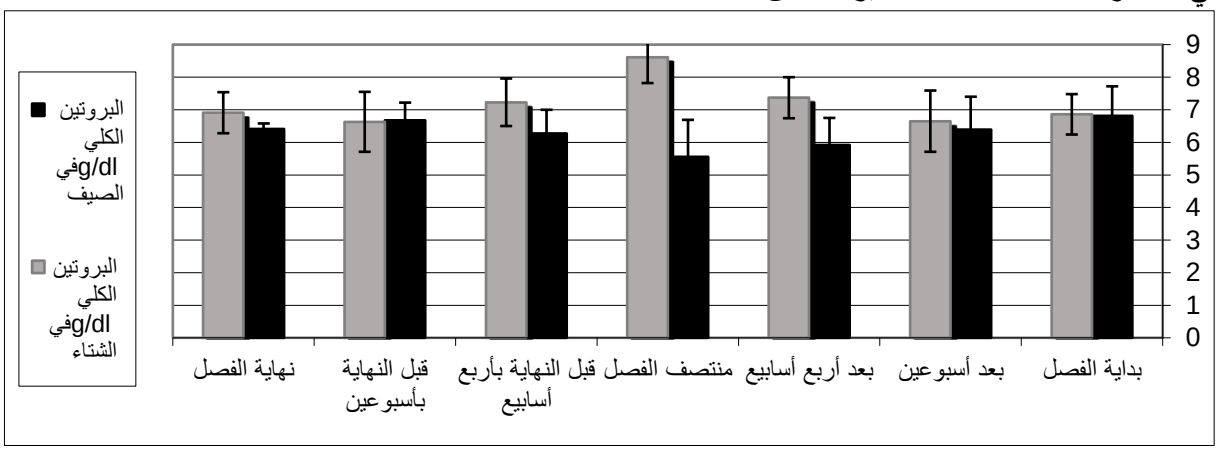
المخطط رقم (4): يوضح تبدلات تركيز الكالسيوم مغ/دل عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء

الجدول رقم (2): يوضح تبدلات تراكيز كل من الغلوكوز والكولسترول والغلسيريدات الثلاثية والكالسيوم والبروتين الكلي والفوسفور والمغنزيوم وحمض البول عند خيول السباق خلال فصل الصيف N=21 وفصل الشتاء N=23 SD±متوسط حيث تشير الاختلافات في الأحرف الإنكليزية الصغيرة إلى وجود اختلافات معنوية (p<0,05) ضمن الصف الواحد، بينما تشير الاختلافات في الأحرف الإنكليزية الكبيرة إلى وجود اختلافات معنوية (p<0,05) ضمن العمود الواحد لنفس المتغير.

		بداية الفصل	بعد أسبوعين	بعد أربع أسابيع	منتصف الفصل	قبل النهاية بأربع أسابيع	قبل النهاية بأسبوعين	نهاية الفصل
الغلوكوز مع/دل	فصل الصيف	$^{a}104.3\pm7.9^{A}$	$^{ab}107\pm10.5^{A}$	$^{b}99.8\pm9.1^{A}$	$^{ab}122\pm12^{A}$	$^{a}136\pm21^{A}$	$^{ab}113\pm9.8^{A}$	$^{ab}106\pm10.1^{A}$
	فصل الشتاء	$^{bc}86\pm9.8^{B}$	$^{abc}71\pm11.9^{B}$	$^{ab}48\pm21^{B}$	$^{b}52\pm16^{B}$	$^{ac}46\pm28^{B}$	$^{ab}61\pm12.6^{B}$	$^{a}79\pm8.5^{B}$
الكولسترول مع/دل	فصل الصيف	$^{a}80.6\pm9.9^{A}$	$^{a}76.5\pm9.2^{A}$	$^{a}73.4\pm8.7^{A}$	$^{a}72.5\pm8.6^{A}$	$^{a}81.9\pm9.1^{A}$	$^{a}74.6\pm10.1^{A}$	$^{a}79.2\pm9.7^{A}$
	فصل الشتاء	$^{a}71.6\pm8.2^{A}$	$^{a}78.7\pm7.6^{A}$	$^{a}80.14\pm10.3^{A}$	$^{a}75.6\pm6.9^{A}$	$^{a}75.8\pm9.8^{A}$	$^{a}73.4\pm8.4^{A}$	$^{a}72.3\pm7.6^{A}$
الغلسيريدات الثلاثية مع/دل	فصل الصيف	$^{a}36.7\pm3.6^{A}$	$^{a}39.5\pm4.2^{A}$	$^{a}31.9\pm7.1^{A}$	$^{a}42.6\pm3.9^{A}$	$^{a}37.3\pm6.8^{A}$	$^{a}40.05\pm5.5^{A}$	$^{a}35.8\pm5.2^{A}$
	فصل الشتاء	$^{ab}37.2\pm4.1^{A}$	$^{ab}36.5\pm3.5^{A}$	$^{b}31.2\pm5.1^{A}$	$^{ab}40.4\pm6.2^{A}$	$^{a}42.7\pm5.9^{A}$	$^{a}46.5\pm6.4^{A}$	$^{ab}39.6\pm3.7^{A}$
الكالسيوم مع/دل	فصل الصيف	$^{a}11.8\pm0.88^{A}$	$^{a}11.4\pm0.16^{A}$	$^{a}12.1\pm1.6^{A}$	$^{a}12.3\pm2.1^{A}$	$^{a}12.9\pm0.94^{A}$	$^{a}11.3\pm0.86^{A}$	$^{a}11.7\pm1.5^{A}$
	فصل الشتاء	$^{a}11.01\pm0.75^{A}$	$^{ab}10.6\pm0.69^{A}$	$^{b}9.5\pm0.56^{B}$	$^{ab}9.01\pm1.3^{A}$	$^{ab}8.9\pm1.5^{B}$	$^{ab}10.2\pm0.79^{A}$	$^{a}11.04\pm0.91^{A}$
البروتين الكلي غ/دل	فصل الصيف	$^{a}6.81\pm0.91^{A}$	$^{a}6.39\pm1.01^{A}$	$^{a}5.92\pm0.83^{A}$	$^{a}5.56\pm1.13^{B}$	$^{a}6.27\pm0.73^{A}$	$^{a}6.68\pm0.54^{A}$	$^{a}6.41\pm0.17^{A}$
	فصل الشتاء	$^{b}6.86\pm0.62^{A}$	$^{b}6.65\pm0.94^{A}$	$^{ab}7.37\pm0.63^{A}$	$^{a}8.61\pm0.79^{A}$	$^{ab}7.23\pm0.73^{A}$	$^{b}6.63\pm0.92^{A}$	$^{b}6.91\pm0.63^{A}$
الفوسفور مع/دل	فصل الصيف	$^{a}3.7\pm0.22^{A}$	$^{a}4.1\pm0.54^{A}$	$^{ab}3.62\pm0.71^{A}$	$^{a}3.9\pm0.49^{A}$	$^{a}4.01\pm0.35^{A}$	$^{b}3.09\pm0.26^{B}$	$^{a}4.2\pm0.54^{A}$
	فصل الشتاء	$^{ab}2.5\pm0.75^{B}$	$^{ab}1.8\pm2.3^{A}$	$^{ab}1.9\pm1.7^{A}$	$^{ab}2.2\pm1.5^{A}$	$^{ab}2.4\pm1.1^{B}$	$^{a}3.7\pm0.33^{A}$	$^{b}2.3\pm0.87^{B}$
المغنزيوم مع/د	فصل الصيف	$^{b}1.6\pm0.02^{B}$	$^{a}1.9\pm0.04^{B}$	$^{ab}2.01\pm0.9^{A}$	$^{a}1.82\pm0.04^{B}$	$^{b}1.73\pm0.05^{B}$	$^{a}1.92\pm0.03^{B}$	$^{ab}2.03\pm0.8^{A}$
	فصل الشتاء	$^{a}2.3\pm0.16^{A}$	$^{a}2.6\pm0.3^{A}$	$^{a}2.22\pm0.09^{A}$	$^{a}2.2\pm0.04^{A}$	$^{a}2.4\pm0.11^{A}$	$^{a}2.7\pm0.09^{A}$	$^{a}2.6\pm0.06^{A}$
حمض البول مع/دل	فصل الصيف	$^{b}16.5\pm1.4^{A}$	$^{b}14.2\pm0.83^{A}$	$^{b}16.3\pm0.44^{B}$	$^{b}17.1\pm1.8^{A}$	$^{ab}18.2\pm1.6^{A}$	$^{b}17.3\pm0.68^{A}$	$^{b}16.3\pm1.7^{A}$
	فصل الشتاء	$^{b}15.3\pm3.7^{A}$	$^{ab}17.5\pm2.6^{AB}$	$^{ab}19.5\pm1.8^{A}$	$^{ab}20.2\pm3.9^{A}$	$^{a}21.4\pm1.9^{A}$	$^{ab}19.6\pm3.5^{A}$	$^{ab}19.8\pm2.1^{A}$

–تركيز البروتين الكلي:

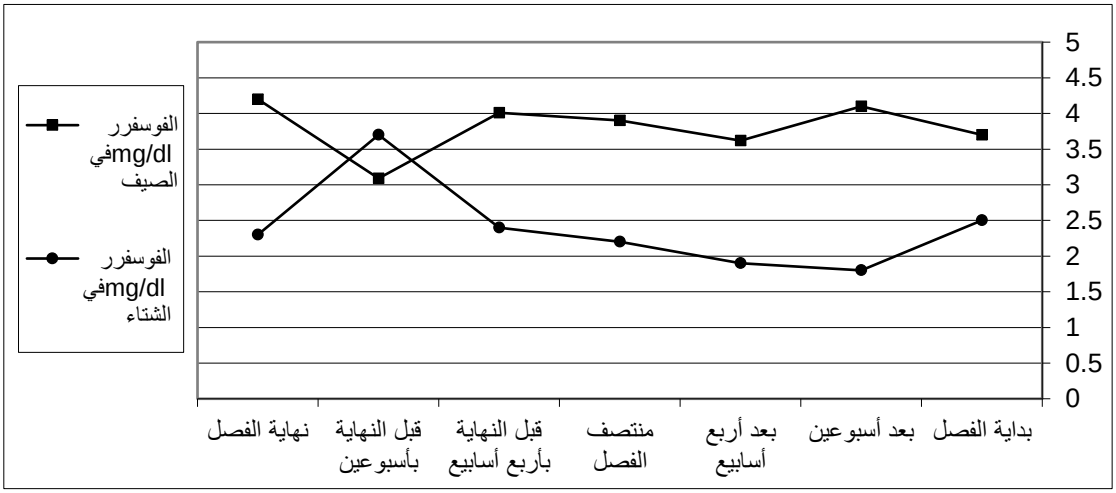
لقد أظهرت الدراسة أنه طرأ انخفاض طفيفاً على تركيز البروتين الكلي في منتصف فصل الصيف مقارنة مع بداية الفصل ولم يسجل فروق معنوية طيلة هذا الفصل كما هو مدون في الجدول (2) والمخطط (5). أما في فصل الشتاء فأدى إجهاد البرد إلى انخفاض تركيز البروتين الكلي عند خيول السباق، حيث بدأ انخفاض التركيز اعتباراً من بداية فصل الشتاء ليصل إلى ذروته في منتصف الفصل ليسجل (8.61±0.79 غ/دل) ومن ثم انخفض تدريجياً ليعود إلى القيم المسجلة في بداية هذا الفصل، حيث كانت الفروق معنوية ($p<0,05$) بين القيم المسجلة في منتصف فصل الشتاء مقارنة مع القيم المسجل في بداية ونهاية هذا الفصل عند خيول السباق.



المخطط رقم (5): يوضح تغيرات تركيز البروتين الكلي غ/دل عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء

–تركيز الفوسفور:

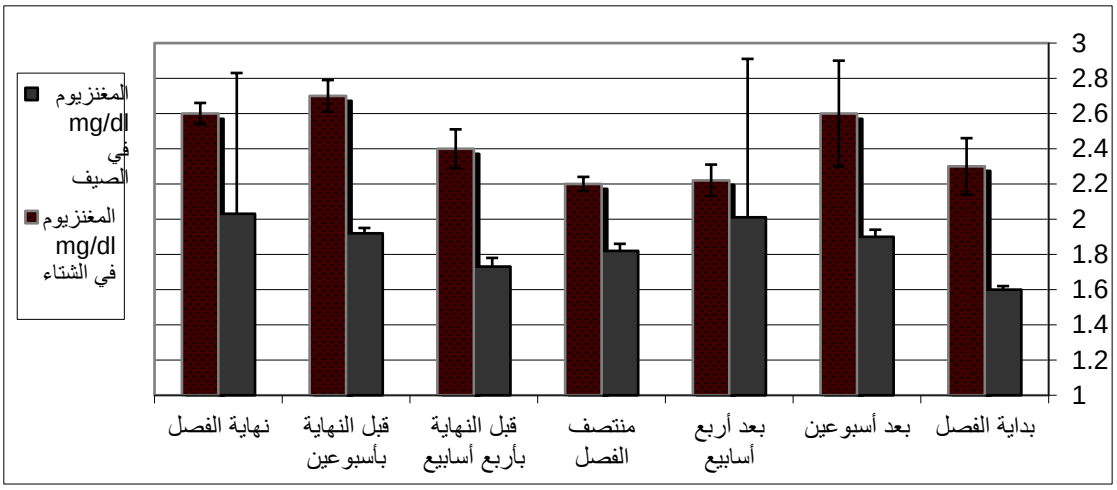
أظهرت النتائج المدونة في الجدول (2) والمخطط (6) أن تركيز الفوسفور لم يتأثر خلال فصل الصيف حيث لم يسجل فروق معنوية طيلة هذا الفصل باستثناء القيمة المسجلة قبل نهاية فصل الصيف بأسبوعين (3.09±0.26مغ/دل) والتي انخفضت انخفاضاً معنوياً ($p<0,05$) مقارنة مع باقي القيم المسجلة خلال فصل الصيف. أما خلال فصل الشتاء فإن تركيز الفوسفور سجل انخفاضاً معنوياً ($p<0,05$) عند خيول السباق مقارنة مع فصل الصيف وخاصةً بعد بداية فصل الشتاء بأربع أسابيع وفي منتصف الفصل وقبل نهاية فصل الشتاء بأربع أسابيع حيث بلغ تركيز الفوسفور بعد بداية فصل الشتاء بأربع أسابيع (1.7±1.9 مغ/دل) وبفارق معنوي ($p<0,05$) مع القيمة المسجلة خلال فصل الصيف لنفس الفترة (3.62±0.71 مغ/دل).



المخطط رقم (6): يوضح تغيرات تركيز الفوسفور مغ/دل عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء

–تركيز المغنزيوم:

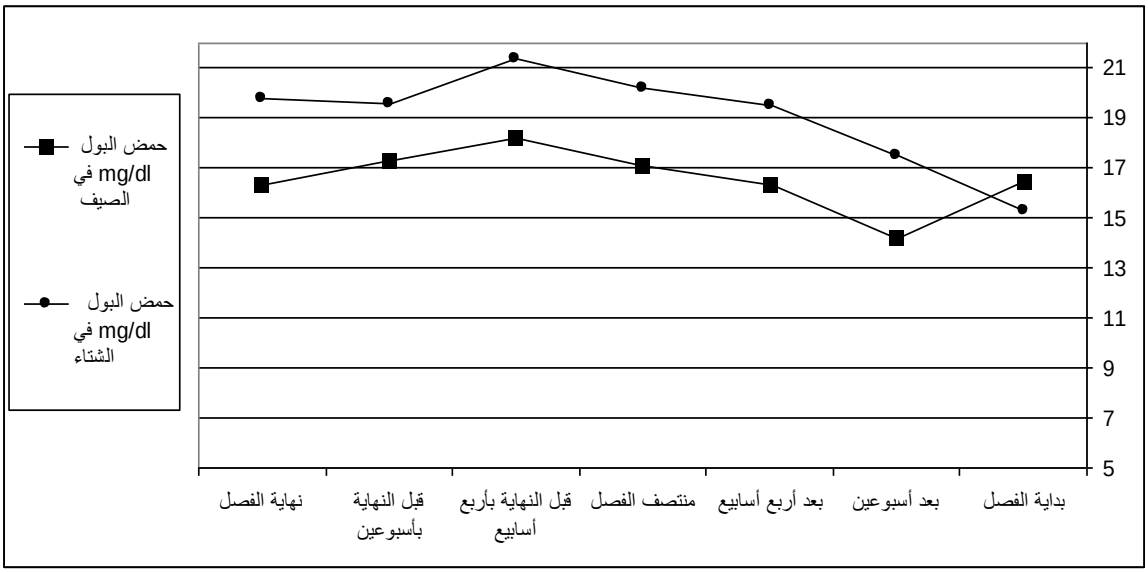
أدى الإجهاد الحراري خلال فصل الصيف إلى اضطرابات في تركيز المغنزيوم في الدم عند خيول السباق. فانخفض التركيز إلى قيم متدنية مباشرةً منذ بداية فصل الصيف واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية هذا الفصل الجدول (2) والمخطط رقم (7)، وسجلت فروق معنوية ($p<0,05$) بين القيم المسجلة في بداية فصل الصيف (1.6±0.02 مغ/دل) وقبل نهاية فصل الصيف بأربع أسابيع (1.73±0.05 مغ/دل) مقارنة مع القيم المسجلة بعد بداية فصل الصيف بأسبوعين (1.92±0.03 مغ/دل) وقبل نهاية فصل الصيف بأسبوعين (1.6±0.02 مغ/دل) عند خيول السباق. أما خلال فصل الشتاء فلم يلاحظ أي تغيرات في تركيز المغنزيوم وحافظ التركيز على نسب طبيعية خلال فصل الشتاء عند خيول السباق ولم يسجل أي فروق معنوية.



المخطط رقم (7): يوضح تبدلات تركيز المغنزيوم مغ/دل عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء

–تركيز حمض البول:

بلغ متوسط تركيز حمض البول بداية فصل الصيف في مجموعة الشاهد (16.5±1.4 مغ/دل) ولم يلاحظ تغيرات معنوية بين النتائج المسجلة خلال هذا الفصل. ولوحظ وجود ارتفاع معنوي ($p<0,05$) في تركيز حمض البول قبل نهاية فصل الشتاء بأربع أسابيع (21.4±1.9 مغ/دل) مقارنة مع بداية فصل الشتاء كما هو موضح في الجدول (2) والمخطط (8).



المخطط رقم (8): يوضح تبدلات تركيز حمض البول مغ/دل عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء

5–المناقشة Discussion

أظهرت هذه الدراسة أن متوسط تركيز الغلوكوز في مصل الدم عند خيول السباق خلال فصل الصيف كان ضمن الحدود الطبيعية ولكن العليا، حيث ارتفع تركيز غلوكوز الدم في قبل نهاية فصل الصيف بأربع أسابيع ليسجل (136±21 مغ/دل). لقد عزى الباحث (Robert et al., 2010) الارتفاع في منسوب الغلوكوز إلى ارتفاع معدل الهضم وزيادة استقلاب السكر (زيادة تحويل الجليكوجين المخزن في الكبد إلى جلوكوز–6–فوسفات، ثم إلى غلوكوز تحت تأثير أنزيم الفوسفاتاز الكبدي). في هذا المنحى قد تلعب مصادر الغذاء النباتية العديدة في فصل الصيف دوراً محورياً في ذلك، وهذا يتوافق مع ما ذكره كل من (Robert et al., 2010 & Cavalcante et al., 2012). في هذا الصدد ننصح بإجراء أبحاث قادمة ترتبط بالتغذية ومعايرة نشاط بعض الأنزيمات الأخرى في سبيل استحداث السكر خلال فصلي الصيف والشتاء.

لقد سجلت النتائج انخفاضاً معنوياً في تركيز غلوكوز الدم خلال فصل الشتاء، وخاصة في منتصف هذه الفترة ليسجل (46±28 مغ/دل). بين الباحث (Holcomb et al., 2014) أن سبب هذا الانخفاض عائد إلى زيادة معدل الفقد من الطاقة فوق المعدل الحراري، وبسبب الحاجة إلى إنتاج الحرارة وزيادة معدل الاستقلاب. تفسير دقيق لهذه الحالة من خلال مراجعة الأبحاث العلمية لم يكن مقنعاً.

إلى حد كبير توافق هذا الرأي مع النتائج المسجلة بعد معايرة الكولسترول والغلسيريدات الثلاثية، حيث بينت نتائج الدراسة الحالية أنه لم يكن هناك تأثير لفصل الصيف (إجهاد الحر) على تركيز الكولسترول والغلسيريدات الثلاثية في مصل الدم عند خيول السباق. قد يفسر ذلك كون خيول السباق تتلقى رعاية غذائية بعناية فائقة، بالإضافة إلى ذلك فإن خيول السباق تخضع لتمارين يومية مما يؤدي إلى المحافظة على مستويات الكولسترول والغلسيريدات الثلاثية في الدم بشكل أفضل. بالإضافة إلى ذلك فإن العرق يحوي على كميات وافرة من المواد الدهنية وخاصة الكولسترول والغلسيريدات الثلاثية وهذا متوافق مع ما ذكره (Robert et al., 2010)، حيث بين أن العرق يحوي على كميات وافرة من المواد الدهنية وخاصة الكولسترول حيث يشكل الكولسترول 75% من هذه المواد الدهنية والغلسيريدات الثلاثية 20% من كمية الدهون المعزولة عبر العرق.

أما بالنسبة إلى فصل الشتاء (إجهاد البرد) فقد أظهرت النتائج المدونة في الجدول رقم (1) والمخطط رقم (2) أن تركيز الكولسترول حافظ على مستويات ثابتة خلال هذا الفصل عند خيول السباق ليسجل وسطياً (75.42±6.7) مغ/دل، ولم تكن الفروق معنوية خلال هذه الفترة. بينما انخفض تركيز الغلسيريدات الثلاثية عند خيول السباق بعد بداية فصل الشتاء بأربع أسابيع ليسجل (31.2±5.1) مغ/دل، واختلف بذلك مع ما ذكره (Piccione et al., 2002) حيث وجد زيادة في مستويات الكولسترول والغلسيريدات الثلاثية في دم الخيول المعرضة لإجهاد البرد. إن معايرة الكولسترول والغلسيريدات الثلاثية وبقاءها ضمن الحدود الطبيعية أكد الفرضية التي ذكرت أعلاه، حول دور الأستيل كوأنزيم آ ومشتق المرافق الأنزيمي كوأنزيم آ لحمض الدسم النشط ودوره الحيوي في اصطناع الكولسترول والغلسيريدات الثلاثية على الترتيب (وهو عبارة عن مرافق أنزيمي يتميز بدوره الحيوي البارز في تكوين وأكسدة الأحماض الدهنية وفي أكسدة البيروفات في دورة حمض الستريك، ويتم تشكيله في الميتاكوندريا للخلية عند أكسدة الحمض الدهني).

وحافظ تركيز الكالسيوم والفوسفور عند خيول السباق والجر خلال فصل الصيف على مستوياتهما الطبيعية، ولم يكن لفصل الصيف تأثير على تركيز كل من الكالسيوم والفوسفور عند الخيول، مع الأخذ بعين الاعتبار إمكانية طرح للكالسيوم والفوسفور مع العرق، لكن قد تلعب آليات التعويض المتمثلة بهرمون جار الدرق تحت تأثير أشعة الشمس دوراً محورياً في ذلك جيدة ومثالية للتعويض مترافقة مع إعادة امتصاص الكالسيوم والفوسفور في الكليتين مع القدرة على زيادة تحرير أيونات الكالسيوم والفوسفور وجاء ذلك متوافقاً مع ما ذكره (Inoue et al., 2002). أما في فصل الشتاء فقد انخفض تركيز

الكالسيوم والفوسفور في مصل دم خيول السباق وكانت أدنى مما هو مسجل خلال فصل الصيف، ولكن بقي تركيز الكالسيوم ضمن الحدود الطبيعية} الجدول رقم (1) والمخططات رقم (4–6)} ، في حين انخفض تركيز الفوسفور بشكل معنوي بعد بداية فصل الشتاء بأسبوعين وأربع أسابيع ليسجل على الترتيب (2.3±1.8-1.7±1.9) مغ/دل كما هو مبين في {الجدول رقم(1) والمخططات رقم(4–6)}. وقد يكون هذا الانخفاض عائداً إلى زيادة نشاط هرمون جارات الدرق وزيادة نشاط هرمون الكالسيتونين والذي يعمل على تنشيط الكالسيوم والفوسفور في تمعدن العظام وبالتالي انخفاض تركيزها في مصل الدم، وأيد ذلك (Inoue et al., 2002).

وسُجل في هذه الدراسة انخفاض في تركيز البروتين الكلي خلال فصل الصيف عند خيول السباق وخاصة في منتصفه ليسجل (5.56±1.13–5.2±1.3 غ/دل)، ويفسر ذلك من خلال إجهاد الحر، حيث تراجع بناء البروتينات وانخفاض التناول الاختياري للعلف وزيادة معدل الهضم متوافقاً بذلك مع ما أورده كل من (Piccione., 2002& Cavalcante et al., 2012& Caola., 2002)، حيث أكدوا أن إجهاد الحر يؤدي إلى انخفاض التناول الاختياري للعلف وزيادة معدل الهضم وبذلك تنخفض الاحتياجات من البروتين بسبب الانخفاض المصاحب في عمليات الاستخدام الحيوي للبروتين. من جهة ثانية لم يكن لإجهاد البرد (فصل الشتاء) أي تأثير على تركيز البروتين الكلي وكانت جميع القيم المسجلة ضمن الحدود الطبيعية ويمكن أن يكون ذلك عائداً إلى زيادة استهلاك العلف وتوافق ذلك مع ما ذكره (carapeto et al., 2006).

وبينت النتائج المدونة في هذه الدراسة أن إجهاد الحر (فصل الصيف) أدى إلى انخفاض تركيز المغنزيوم في مصل دم خيول السباق والجر ليسجل في بداية فصل الصيف (0.02±1.6 مغ/دل) الجداول (1) والمخطط (7). ويمكن تفسير ذلك بسبب زيادة طرح المغنزيوم مع العرق خلال فصل الصيف. لقد أيد ذلك كل من الباحثين (Stewart et al., 2011 & Robert et al., 2010 & Piccione et al., 2002) حيث بينوا أنه تفقد الخيول كميات كبيرة من السوائل عن طريق التعرق أثناء إجهاد الحر. وتحتوي هذه السوائل على الأملاح والكهارل مثل (البوتاسيوم والكلوريد والمغنزيوم والكالسيوم)، مما يؤدي إلى تغيرات في تركيزها في الدم وتوازنها في الأنسجة الخلوية. وعلى النقيض من ذلك فقد كان تركيز المغنزيوم ثابتاً طيلة فصل الشتاء، وقد يُعزى ذلك إلى وفرة الأعلاف الخضراء خلال فصل الشتاء وخاصة الفصة التي تتميز بمحتواها الغني بالمغنزيوم متوافقاً بذلك مع ما ذكره (Stewart et al., 2011).

أما بالنسبة لتركيز حمض البول فقد أظهرت الدراسة أن خيول السباق حافظت على مستويات ثابت من تركيز حمض البول في الدم خلال فصل الصيف، بينما في فصل الشتاء فقد انخفض تركيز حمض البول في مصل دم خيول السباق معنوياً في بداية فترة الشتاء (15.3±3.7 مغ/دل) مقارنة مع القيمة المسجلة قبل نهاية الشتاء بأسبوعين كما هو مدون في الجدول رقم (1) والمخطط رقم (8). وقد تفسر هذه التغيرات في تركيز حمض البول بسبب طرح كميات قليلة منه مع العرق متوافقاً مع ما ذكره (Frape., 2010).

لقد ترافق انخفاض منسوب البروتين في مصل الدم بثبات تركيز حمض البول في حدود ثابتة تقريباً. في حين انخفض البروتين في فصل الشتاء مع ارتفاع طفيف في منسوب حمض البول في مصل الدم. الاستثناء الوحيد كان في القيمة المسجلة قبل نهاية فصل الشتاء بأسبوعين.

6- الاستنتاجات

أدى الإجهاد الحراري (الحرارة العالية خلال فصل الصيف والحرارة المنخفضة خلال فصل الشتاء) إلى اضطراب في تراكيز بعض مقومات الدم الكيميائية الحيوية حيث:

- ارتفع تركيز الغلوكوز عند خيول السباق خلال فصل الصيف وانخفض خلال فصل الشتاء.
- لم يتأثر تركيز الكولسترول خلال فصلي الصيف والشتاء عند خيول السباق.
- ارتفع تركيز الغلسريدات الثلاثية خلال فصل الشتاء ولم يتأثر في الصيف.
- لم يتأثر تركيز الكالسيوم خلال فصل الصيف وانخفض التركيز خلال فصل الشتاء.
- ارتفع تركيز البروتين الكلي بشكل طفيف خلال فصل الصيف وانخفض التركيز خلال فصل الشتاء.
- لم يتأثر تركيز الفوسفور خلال فصل الصيف وانخفض التركيز خلال فصل الشتاء.
- انخفض تركيز المغنزيوم خلال فصل الصيف ولم يتأثر التركيز خلال فصل الشتاء.

7- التوصيات والمقترحات

- معايرة تراكيز كل من الغلوكوز والكولسترول والغلسيريدات الثلاثية والكالسيوم والبروتين الكلي والفوسفور والمغنزيوم وحمض البول في مصل الدم عند خيول السباق خلال فصلي الصيف والشتاء بشكل دوري خلال فصلي الصيف والشتاء.
- العمل على الحد من تأثيرات التغيرات الحرارية على الخيول من خلال تقديم التهوية المناسبة والتبريد الملائم خلال فصل الصيف، وتقديم التدفئة الجيدة خلال فصل الشتاء.
- تقديم المتممات العلفية والفيتامينات للتخفيف من الإجهاد الحراري وأثاره السلبية على مكونات الدم.

تعميق الأبحاث العلمية حول تأثير التغيرات الحرارية على خيول السباق وسبل الوقاية.

8- المراجع:

References

Carapeto V, Barrera M, Cinta Mane R, Zaragoza MC (2006): Serum α-globulin fraction in horses is related to changes in the acute phase proteins. J Equine Vet Sei., 26:120-127.

Cavalcante PH, Silva AC, Sakamoto S, Soto-Blanco B. (2012): Serum protein fractions in Brazilian-breed donkeys using agarose gel electrophoresis. Turk J Vet Anim Sci., 36:9-12.

Cymbaluk, N. F. (1994): Thermoregulation of horses in cold. Winter weather: A review. Livest. Prod. Sci. 40:65-71.

Frape, D. (2010): Water requirement and fluid losses. In: Equine Nutrition and Feeding, Wiley Blackwell publications, 37-45.

Giuseppe Piccione, Francesco Fazio, Elisabetta Giudice, Fortunata Grasso, Massimo Morgante., (2005): Nycthemeral change of some haematological parameters in horses. Page 124-128.

Holcomb.K. E., C. B. Tucker, and C. L. Stull. (2014): preference of domestic horses for

shade in a hot, sunny environment. J. Anim. Sci.92:1708–1717.

Inoue.Y., Osawa.T., Mastui.A., Asai.Y., Murakami.Y., And Yano.H., (2002): Changes of Serum Mineral Concentrations in Horses During Exercise. Equine Research Institute, Japan., Asian–Aust.J.Anim. Sci. Vol 15, No.4:531–536.

National Research Council (NRC) (2007): Equine Blood Biochemistry.

Piccione G., Caola G., Refinetti R. (2002): The circadian rhythm of body temperature of the horse. Biol. Rhythm Res. 33:113–119.

Piccione G., Caola G. (2002): Biological rhythm in livestock. J. Vet. Sci. 3:145–157.

Robert,c., A. Goachet, A. Fraipont,D.M. Votion,E. Vanerck,J.L. Lecler (2010): Hydration and electrolyte balance in horses during an endurance season. Equine Vet. J 42,98–104.

Stewart AJ., (2011): magnesium disorder in horses. VET cline North Am, Equine pract.

Yashiki K., Kusunose R., Takagi S. (1995): Diurnal variations of blood constituents in young Thoroughbred horse. J. Equine Sci. 6:91–97.

Kessler G, Wolfman M. (1984): An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clim Chem. 10:686.

Young DS. (2000): Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press.

Weissman M, Klin B. (1978): Evaluation of glucose determination in untreated serum samples. Clin Chem.4:420–422.

Daly JA, Ertingshausen G. (1972): Direct method for determination of inorganic phosphate in serum with centerfichem. Clin Chem. 18:236.

Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. (1949): determination of serum protein by means of the biuret reagent. J Biol Chem. 177:751.

Bucolo G, David H. (1973): Quantitative determination of serum triglycerides by the use of the enzymes. Clin Chem. 19:475.

Barham D. and Trinder P. (1992): Analyst. 97,142–145.

Chromýa V, Svoboda V, and Štěpánová I. (1973): Spectrophotometric determination of magnesium in biological fluids with xylidyl blue II. Biochem Med 1973, 7/2: 208–217.

المراجع العربية:

- **عبد الله زايد،** أحمد القماطي (1988): فسيولوجيا الحيوان (التكاثر والإدرار).

– **جعلان . دور البيئة في حياة الحيوان** 2006.