تأثير استخدام مستويين مختلفين من مسحوق ورق الزيتون في صفات الدم في ذكور الأرانب

أحمد محمد محمد زكري

فرع الصحة العامة البيطرية– كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

الخلاصة

صممت التجربة لمعرفة تأثير مستويين مختلفين (5، 10)% من ورق الزيتون مع العليقة على صفات الدم في ذكور الأرانب. استخدم في التجربة واحد وعشرين أرنب ذكر محلي مع معدل وزن 1.1 و1.3 كغم وبعمر 4–5 أشهر من السوق المحلية، وقسمت بصورة عشوائية وبوزن متقارب ووضعت في أقفاص معدنية، غذيت الحيوانات من العلف المركز (Pellets) مع العلف الأخضر، قسمت الأرانب إلى ثلاث مجاميع متساوية وبواقع 7 حيوانات بالمجموعة ومتقاربة بالوزن. المعاملة الأولى (T1) (مجموعة السيطرة) قدم لها ماء الشرب والعلف المركز (Pellets) غير المخلوط مع ورق الزيتون المطحون، المعاملة الثانية (T2) قدم لها ماء الشرب وغذيت على العلف المركز المخلوط مع 5% ورق الزيتون المطحون/ علف مركز، في حين المعاملة الثالثة (T3) حيث قدم لها ماء الشرب وغذيت على العلف المركز المخلوط مع 10% ورق الزيتون المطحون مع العلف المركز. جمعت عينات الدم لقياس صفات الدم التالية: العدد الكلي لخلايا الدم البيض WBCs، والعد التفريقي لخلايا الدم البيض، والهيموغلوبين ونسبة خلايا الدم المرصوصة، أشارت النتائج إلى ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في المعاملات (T2)، (T3) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض ونسبة الخلايا اللمفية والخلايا الأحادية في العد التفريقي لخلايا الدم البيض WBCs ومستوى هيموغلوبين الدم ونسبة الخلايا المرصوصة في الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة، وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في نسبة العدلات في المعاملات (T2)، (T3) مقارنة مع مجموعة السيطرة في حين لا توجد فروق معنوية في نسبة العدلات والحمضات في الدم. نستنتج ان استخدام ورق الزيتون المطحون بنسبة (5، 10)% مع العليقة لعليقة ذكور الأرانب أدى إلى تحسن صفات الدم ورفع الاستجابة المناعية.

الكلمات المفتاحية: ورق الزيتون، ذكور الأرانب، المعايير الدمية، الاختلافات في الخلايا الدم البيض.

Effect of using two different levels of Ground Olive leaves on Blood traits of male Rabbits

A. M. M. Zakri

College of Veterinary Medicine\ University of Baghdad

Abstract

The present work was designed to demonstrate the effect of two different levels of Olive leaves (5, 10)% in diet on blood traits in male Rabbits. We used in Experiment Twenty one male Rabbits with body weight average 1.1-1.3 kg and 4-5 months age were bought from Local Markets, and they were divided randomly into three equal groups with equal weight, Put in Metal Cages were fed on concentrate pellets diet with green roughage, The male Rabbits were divided to three equal groups and by 7 animals/ group with equal weights. The 1st group (T1) (control group) was offered drinking water and fed concentrate pellets without ground olive leaves, the 2nd one (T2) offered drinking water and fed concentrate pellets with 5% ground olive leaves/diet, while the 3rd one (T3) offered drinking water and fed concentrate pellets with 10% ground olive leaves concentrate diet. Blood samples were collected for measuring the following parameters: Total WBC count, the percentage of WBC differential count, Hemoglobin and PCV percentage, The results revealed that, significant increases ($P<0.05$) in treated groups T2, T3 in total WBCs account, the percentage of WBC differential count Lymphocytes, Monocytes and Hb, PCV% as compare with T1 control group, and

significant decrease (P<0.05) in T2, T3 in Neutrophil% compare with control group while there is no significant differences in Eosinophil and Basophil % in blood. On conclusion it seems that the use of Ground Olive leaves at (5, 10)% diet in Male Rabbits diet will enhance the Blood parameters and increase immunity response.
E-mail:zakri2010@yahoo.com
Keyword: olive, Male Rabbits, blood parameters, differential account of WBCs

المقدمة

تعتبر إضافة النباتات الطبية للعلائق كإضافات علفية اتجاهاً جيداً في مجال الإنتاج الحيواني الهدف منه تحسين الصفات الإنتاجية والمناعية والفسلجية للحيوانات وسد احتياجاتها الغذائية حيث يستفاد منها في زيادة الإنتاج ورفع الاستجابة المناعية لحيوانات المزرعة وخاصة الأرانب (1). تعتمد صحة الحيوان على عوامل كثيرة منها النظام الغذائي والتغذية الجيدة والإدامة على توفيرها حيث أثبتت الدراسات ان الإضافات العلفية تلعب دوراً في توفير الطاقة اللازمة لإنجاز فعاليات الحيوان الحيوية (2)، بدأت الأبحاث العلمية تولي اهتماماً كبيراً بالفوائد الطبية لشجرة الزيتون وخاصة الأوراق والثمار وباقي أجزاء النبات حيث اكتشفت ان اهم المواد الفعالة في أوراق الزيتون هي الفينولات التي تعتبر من مضادات الأكسدة المهمة في الدم (3). ان اهم هذه الفينولات تأثيراً في تحسين الاستجابة المناعية والفسلجية مادة اطلق عليها الاوليوروبين (Oleuropein) وتشكل أوراق الزيتون المصدر الأغنى لهذه المادة مقارنة ببقية أجزاء شجرة الزيتون إذ يحتوي الكيلو غرام الواحد من ورق الزيتون ما مقداره غرامين من الاوليوروبين، حيث وجد ان سمية أوراق الزيتون وبالأخص مادة الاوليوربين (فينولات الزيتون) تكاد تكون معدومة (4). ان قابلية استهلاك الألياف النباتية والمخلفات الزراعية تعد من العوامل المشجعة في تربية وإنتاج الأرانب (5)، حيث تتمكن من الاستفادة من الألياف بكفاءة عالية، وان سرعة مرور المواد الغذائية في القناة الهضمية تسمح بامتصاص اكبر كمية من الغذاء خلال وقت اقصر محققة استفادة كبيرة منه (6). وفي دراسات عديدة أجريت على استخدام ورق الزيتون في علائق الأرانب انه لا يوجد تأثير سلبي على صحة وكفاءته الإنتاجية (7). الهدف من إجراء البحث هو لمعرفة تأثير استخدام مستويين (5، 10)% من ورق الزيتون المطحونة والمخلوطة مع Pellets المركز المقدم للأرانب لتقدير العدد الكلي لخلايا الدم البيض WBCs والعد التفريقي لخلايا الدم البيض ومستوى الهيموغلوبين ونسبة PCV في الدم.

المواد وطرائق العمل

اجري البحث في البيت الحيواني/ كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد حيث استخدمت 21 من ذكور الأرانب المحلية ومعدل وزنها 1.1– 1.3 كغم وبعمر 4–5 أشهر، وقد تم شراؤها من السوق المحلية، وضعت الأرانب في أقفاص معدنية، غذيت الأرانب على العلف المركز Pellets، إضافة إلى تقديم العلف الأخضر، وقد قسمت إلى 3 مجاميع: المعاملة الأولى (T1) مجموعة السيطرة (Control) حيث قدم لها الماء والعليقة المركزة Pellets الخالية من أوراق الزيتون المطحونة، المجموعة الثانية (T2) قدمت لها الماء مع العليقة (5% زيتون)حيث تم خلط 50 غرام من ورق الزيتون المطحون مع 1 كغم من البلت (العلف المركز) والمجموعة الثالثة (T3) قدمت لها الماء والعليقة الحاوية على (10% زيتون) حيث تم خلط 100 غم من ورق الزيتون المطحون 1 كغم من البلت (العلف المركز). تم تجفيف ورق الزيتون بدرجة حرارة الغرفة ومن ثم طحنها باستخدام طاحنة كهربائية وعمل مسحوق من ورق الزيتون powder حيث تم خلطه مع العلف المركز حيث تم تنقيع العلف بالماء وعمل عجينة وخلطها ووضعها في مثرامة لحم كهربائية حيث تم تصنيع علف على شكل بلت مخلوط بمسحوق ورق الزيتون. حيث تم خلط 50 غم من ورق الزيتون المطحون مع 1 كغم من pellets (علف مركز) لمجموعة (5% زيتون) و100 غم

من ورق الزيتون المطحون مع 1 كغم من pellets (علف مركز). تم سحب عينات الدم ونهاية كل أسبوع مرة حيث بدأت أول سحبة دم وسميت o–time بعد تكيف الأرانب على البيئة والمكان لمدة أسبوعين وبعدها استمر سحب الدم نهاية كل أسبوع مرة حتى نهاية التجربة حيث استمرت شهرين وتم سحب الدم قبل كل وجبة علف لغرض إجراء فحوصات الدم (العد الكلي لخلايا الدم البيض WBCs كما في (8) والعد التفريقي لخلايا الدم البيض WBCs مثل العدلات والحمضات والقعدة والأحادية واللمفية كما في (9)، ومستوى Hb ونسبة خلايا الدم المرصوصة PCV (8). واستعمل برنامج SAS في التحليل الإحصائي لبيانات التجربة وقد قورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي LSD (Least significant differences)(10).

النتائج والمناقشة

يشير جدول (1) إلى ان هناك تفوق معنوي ($P<0.05$) لمجموعتي (T2,T3) المعاملة بالزيتون مقارنة بمجموعة السيطرة (T1) في عدد خلايا الدم البيض WBCs، وقد يعود ذلك لاحتواء أوراق الزيتون على الفينولات التي تعمل كعوامل مثبطة للأكسدة ومضادة للجذور الحرة ROS (Reactive oxygen species) والأخيرة متكونة نتيجة الأيض الخلوي وبالتالي حماية الخلية من التحطم بفعل هذه الجذور حيث تعمل الفينولات على تصليح الفعل المعاكس ROS على خلايا الدم البيض (11) وهذا يتفق مع (12) حيث أشار ان فينولات ورق الزيتون تعمل على المحافظة على غلاف الخلايا الدم البيض WBCs واستعمل إضافات علفية متمثلة كمضادات للأكسدة وتحفيز الجهاز المناعي وزيادة استجابته ومقاومته ضد الإجهاد من خلال رفع فعالية ووزن الأعضاء اللمفية وزيادة استجابة الأجسام المناعية للانتجينات(13). أما الارتفاع النسبي في معاملتي (T2،T1) يعود إلى تطور الجهاز المناعي للحيوانات بتقدم العمر (12).

جدول (1) تأثير ورق الزيتون المطحون على العدد الكلي لخلايا الدم البيض WBCs (خلية/ ملم^3)

الأسابيع	المعاملات		
	السيطرة (T1)	الزيتون 5% (T2)	الزيتون10(T3) %
0 – time	6250	6088	6290
الأسبوع الأول	6100	6488	6718
الأسبوع الثاني	6420	6888	7070
الأسبوع الثالث	7000	7500	9200
الأسبوع الرابع	6600	6890	8550
الأسبوع الخامس	6333	7700	9320
الأسبوع السادس	6230	8000	8915
الأسبوع السابع	6500	6330	9810
قيمة LSD	658.39 NS	863.51 *	875.02 *

*** (P<0.05), NS: Non-significant.**

وأوضح الجدولين (2، 3) ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في نسبة الخلايا اللمفية والأحادية في مجموعتي المعاملة (T2 و T3) منذ الأسبوع الثالث ولغاية نهاية التجربة، يعود إلى المركبات الفينولية الموجودة في ورق الزيتون تمتلك نشاط مضادات الأكسدة Antioxidants القوية والتي تمنع تحطم DNA الخلية اللمفية والأحادية (14). ان الجذور الحرة (ROS) تعمل على تحطيم شريط DNA في الخلية اللمفية من خلال خلق جذر الهيدروكسيل(OH^-) ضمن تفاعل Fenton reaction مع وجود الحديد (Fe^{+2}). فتقوم الفينولات الموجودة في ورق الزيتون بإزالة الجذور الحرة free radical scavenger ومستقطب أيونات المعادن metal ion chelates (15).

جدول (2) تأثير ورق الزيتون المطحون على نسبة الخلايا اللمفية Lymphocyte (%)

الأسابيع	المعاملات		
	السيطرة (T1)	الزيتون 5% (T2)	الزيتون10(T3) %
0 – time	50.07	49.22	51.00
الأسبوع الأول	44.32	52.00	53.22
الأسبوع الثاني	49.77	51.17	55.71
الأسبوع الثالث	51.20	62.00	66.18
الأسبوع الرابع	46.00	59.88	72.00
الأسبوع الخامس	50.19	58.91	65.50
الأسبوع السادس	53.23	60.00	69.33
الأسبوع السابع	51.11	58.77	70.00
قيمة LSD	7.48NS	10.33 *	10.82 *

*** (P<0.05), NS: Non-significant.**

جدول (3) تأثير ورق الزيتون المطحون على نسبة الخلايا الأحادية Monocytes (%)

الأسابيع	المعاملات		
	السيطرة (T1)	الزيتون 5% (T2)	الزيتون10(T3) %
0 – time	15.11	14.62	14.93
الأسبوع الأول	14.67	13.99	17.13
الأسبوع الثاني	14.00	14.63	19.00
الأسبوع الثالث	13.32	17.33	18.78
الأسبوع الرابع	14.10	13.61	18.99
الأسبوع الخامس	13.91	18.88	19.32
الأسبوع السادس	14.88	18.91	18.77
الأسبوع السابع	13.33	19.87	19.13
قيمة LSD	3.58 NS	4.40 *	4.72 *

*** (P<0.05), NS: Non-significant**

لوحظ انخفاض معنوي في مجموعتي (T2 وT3) مقارنة مع مجموعة السيطرة (T1) في نسبة العدلات وذلك لان الأكسدة تؤدي إلى جرح الخلية وبالتالي تفرز الخلية هرمونات الإجهاد (الكـورتزول) Cortisol، الايبينفريـن Epinephrine والنور ايبينفـرين والـ Nor Epinephrine ويؤدي ذلك إلى ارتفاع نسبة النتروفيل بالدم لان هذه الهرمونات عوامل جذب للعدلات (16). كما وتؤدي الأكسدة إلى الالتهابات وهذا التفاعل يؤدي إلى حركة العدلات من الدم إلى الأنسجة Extra vascular tissues وزيادة الوسطاء Monocyte Chemoatracting Protein 1 (MCP1) و Macrophage Inflammatory Molecule 1α(MIPI α) لهذا تزداد العدلات في الدورة الدموية وكذلك البلعمة في الأنسجة لمنع التحطيم الشامل للمضيف (17). أثبتت الدراسات ان الفينولات في ورق الزيتون تعمل على تقليل جرح الخلية وبالتالي عدم إفراز السايتوكينات cytokines/chemokines التي تعتبر عوامل جذب للخلايا العدلات (N) وتحسين مقاومة الجسم للجهد التأكسدي (18) وبالتالي تعمل على انخفاض نسبتها بالدم كما في الجدول (4). في حين لم تلحظ أي فروقات معنوية في نسبة Esonophiles وBasophiles في جميع المعاملات (T1, T2, T3) وخلال أسابيع التجربة (19).

جدول (4) تأثير ورق الزيتون المطحون على نسبة خلايا العدلات Neutrophiles(%)

الأسابيع	المعاملات		
	السيطرة (T1)	الزيتون 5% (T2)	الزيتون 10(T3) %
0 – time	33.01	34.42	33.01
الأسبوع الأول	34.73	32.00	34.73
الأسبوع الثاني	34.00	33.00	34.00
الأسبوع الثالث	38.81	29.00	38.81
الأسبوع الرابع	36.55	31.00	36.55
الأسبوع الخامس	40.00	29.33	32.00
الأسبوع السادس	34.00	27.22	34.12
الأسبوع السابع	40.00	26.79	34.00
قيمة LSD	8.00NS	6.91 *	7.80 *

*** (P<0.05), NS: Non-significant.**

جدول(5) تأثير ورق الزيتون المطحون على نسبة الخلايا الحمضات (Esonophils%)

الأسابيع	المعاملات		
	السيطرة (T1)	الزيتون 5% (T2)	الزيتون 10(T3) %
0 – time	3.55	4.00	4.10
الأسبوع الأول	4.20	3.50	3.00
الأسبوع الثاني	4.00	4.44	3.90
الأسبوع الثالث	4.50	4.80	4.11
الأسبوع الرابع	3.88	3.30	5.50
الأسبوع الخامس	3.12	4.89	3.22
الأسبوع السادس	3.41	5.00	4.00
الأسبوع السابع	3.67	4.12	4.10
قيمة LSD	2.07 NS	1.94 NS	1.85 NS

*** (P<0.05), NS: Non-significant.**

جدول (6) تأثير ورق الزيتون المطحون على نسبة خلايا القعدة Basophils (%)

الأسابيع	المعاملات		
	السيطرة (T1)	الزيتون 5% (T2)	الزيتون10(T3) %
0 – time	2.0	0	2
الأسبوع الأول	1.2	1.1	0.66
الأسبوع الثاني	0	0	0.21
الأسبوع الثالث	1	2	0.90
الأسبوع الرابع	0	1	1.50
الأسبوع الخامس	0	2	0
الأسبوع السادس	1	0	1
الأسبوع السابع	2	0.33	0

قيمة LSD	1.13 NS	1.36 NS	1.21 NS

*** (P<0.05), NS: Non-significant.**

لوحظ ارتفاع مستوى الهيموغلوبين في الدم لمجموعتي (T2، T3) مقارنة T1 مجموعة السيطرة وهذا يتفق مع (20) ان استعمال ورق الزيتون كمثبط للأكسدة في العلائق يؤدي إلى ارتفاع مستوى Hb في الدم، وان الفينولات في ورق الزيتون تعمل على تحفيز مراكز إنتاج الخلايا الحمر وبالتالي زيادة إنتاج Hb في الدم بالإضافة ان الأرانب كانت تحت رعاية وإدارة ونظام غذائي جيد أدى إلى ارتفاعه (21). وجد أيضا ارتفاع نسبي في نسبة خلايا الدم المرصوصة من الأسبوع (2، 3) في مجموعتي (T2، T3) لنهاية التجربة مقارنة بالسيطرة، تعتبر الفينولات في ورق الزيتون عامل مساعد في فعالية الأنزيمات المسؤولة عن نضوج كريات الدم الحمراء إضافة إلى ارتفاع نسبة PCV ومستوى الهيموغلوبين بالدم (22) بالإضافة إلى ان هناك علاقة طردية بين Hb و PCV% وان كلاهما يؤكد الآخر في مستوياتهما في الدم (23) وكون الحيوانات كانت تحت رعاية ونظام غذائي جيدين على مدار أسابيع التجربة (24).

جدول (7) تأثير ورق الزيتون المطحون على هيموغلوبين الدم Hb (gm/dl)

الأسابيع	المعاملات		
	السيطرة (T1)	الزيتون 5% (T2)	الزيتون 10(T3) %
0 – time	10.44	10.55	10.00
الأسبوع الأول	9.32	10.56	12.73
الأسبوع الثاني	9.11	11.00	12.81
الأسبوع الثالث	9.00	10.00	11.23
الأسبوع الرابع	8.75	12.00	12.38
الأسبوع الخامس	9.12	10.70	12.55
الأسبوع السادس	9.45	11.88	11.00
الأسبوع السابع	10.41	12.00	12.11
قيمة LSD	2.67 NS	3.42 *	3.53 *

*** (P<0.05), NS: Non-significant.**

جدول (8) تأثير ورق الزيتون المطحون على نسبة خلايا الدم المرصوصة PCV (%)

الأسابيع	المعاملات		
	السيطرة (T1)	الزيتون 5% (T2)	الزيتون 10(T3) %
0 – time	30.22	32.00	31.77
الأسبوع الأول	31.00	30.00	36.42
الأسبوع الثاني	31.11	35.21	35.00
الأسبوع الثالث	32.78	38.88	43.00
الأسبوع الرابع	30.15	36.00	41.23
الأسبوع الخامس	30.88	33.88	38.77
الأسبوع السادس	32.12	35.77	36.28
الأسبوع السابع	31.00	37.00	38.88
قيمة LSD	4.09 NS	6.15 *	6.72 *

*** (P<0.05), NS: Non-significant.**

References

1. Newall, C. A. (2001). Herbal Medicines. A Guide for health care professionals. The pharmaceutical Press, London, PP.135-136.

2. Finkel, T. & Holbrook, J. (2000). Oxidant, oxidative stress and the biology of aging. Nature, 408 (9): 239-247.
3. Philips, J. (2011). Olive tree and raw leafy greens shown to reduce information Hawkes health forum version, 4(1):1-6.
4. الكنزاوي، عمر خالد. (2008). تأثير الاوليوروبين (Oleuropein) في بعض الصفات الفسلجية والإنتاجية في الأرانب. ورق الزيتون صيدلية المستقبل لعلاج اخطر الأمراض، معهد بحوث الصحراء، القاهرة، مصر. 3:117-118.
5. Owen, J. E.; Morgan, D. J. & Barlow, J. (1997). The Rabbits as a procedure of meat and skin in developing countries. Rep. Trop. Prods. Inst. G., 108.
6. Cheeke, P. R. (2013). Olive leaves as feed stuff for rabbits. J. App. Rabbits Res., 3(3): 16-18.
7. سلطان، خالد حساني وعبد الرحمن، صائب يونس. (2006). تأثير المستخلص المغلي لورق الزيتون في بعض الصفات الفسلجية والإنتاجية في الأرانب. مجلة زراعة الرافدين العراقية. 34 (4): 74-81.
8. Seiverd, C. E. (1973). Hematology for medical Technologies. 4th ed., Lea and Febiger. Philadelphia. PP. 117-120.
9. John Sir, V. D. & Lewis, S. M. (1984). Basic hematological techniques, practical Hematology, 6th ed., PP. 22-45.
10. SAS. (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
11. Heckert, R. A.; Estevez, E. R. & Pettit-Riley, R. (2002). Effects of density and perch availability on the immune status of broilers. Poult. Sci., 81:451-457.
12. Durlu-Özkaya, F. & Özkaya, M. T. (2011). Oleuropein using as an additive for feed and products used for Humans. J. Food Process Technol., 2 (3): 1-7.
13. Klasing, K. C. (1998). Avian macrophages: regulators of local and systemic immune responses. Poult. Sci., 77: 983-989.
14. Lu, Y. & Larry, M. (2005). Oxidative stress augmented the production of matrix metalloproteinase-1, cyclooxygenase-2, and prostaglandin E2 through enhancement of NF-kB activity in lipopolysaccharide activated human primary monocytes. J. Immun., 175:5423-5429.
15. Datta, S.; Dhar, P.; Mukherjee, A. & Ghosh, S. (2010). Influence of polyphenolic extracts from *Enydra fluctuans* on oxidative stress induced by acephate in rats. Food Chem. Toxicol., 48 (10): 2766-2771.
16. Lanig, S.; Anna, R.; Robert, W. & Enid, L. (2008). Human blood neutrophil Response to prolonged exercise with or without a thermal clamp. J. Appl. Phys., 104 (7):20-26.
17. Bengmark, S. (2004). Acute and chronic phase reaction- a mother of disease. Clin. Nutr., 23(3): 1256-1266.
18. Santagelo, C.; Rosaria, V. & Beatrice, S. (2007). Polyphenols intracellular signaling and inflammation. Ann. Ist. Super. Santit., 43(4): 394-405.
19. Simon, H. U. (2007). Eosinophilic Disorders. J. Allergy and Clin. Immunol., 119(6):1291-300.
20. Ahmadvand, H. (2012). Effects of coenzyme Q10 on hemoglobin A1C,serum urea and creatinine in alloxan-induced Type 1 diabetic rats. Iran J. Pharm. Therapeut., 11(2): 64-67.
21. Elwood, P. C.; Shinton, N. K.; Wilson, C. I.; Sweetnam, P. & Frazer, A. C. (1971). Haemoglobin, Vitamin B12 and Folate Levels in the Elderly. Br. J. Haematol., 21(5): 557-563.
22. Adeyemo, O. K. (2007). Haematological Profile of Clariasngariepinus (Burchell, 1822) Exposed to Lead. Turk. J. Fish Aquat. Sci., 7: 163-169.
23. Breazile, J. E.; Beames, C. G.; Cardielhac, P. T. & New Comer, W. S. (1971). Text Book of Veterinary Physiology. Lea and Febiger, Philadelphia. P. 250.
24. McManus, C.; Paludo, G. R.; Louvandini, H.; Gugel, R.; Sasaki, L. C. & Paiva, S. R. (2009). Heat tolerance in Brazilian sheep: physiological and blood parameters. Trop. Anim. Health Prod., 41 (1): 95-101.