Grado di cheratinizzazione dell'epitelio ruminale e valutazione dello stato corporeo in ovini tenuti su pascoli di Brachypodium rupestre

Paola Scocco[1], Francesca Mercati[2], Andrea Brusaferro[1], Piero Ceccarelli[2], Carlo Belardinelli[3], Alessandro Malfatti[1]

[1] *Scuola di Scienze Ambientali, Università di Camerino, Via Gentile III da Varano, 62032 Camerino, Italia*
paola.scocco@unicam.it
[2] *Dipartimento di Scienze Biopatologiche e Igiene delle produzioni animali e alimentari, Università di Perugia, Via S. Costanzo 4, 06126 Perugia, Italia*
[3] *Igiene degli alimenti di origine animale, Servizio Veterinario AV3-ASUR Marche, Viale E. Betti 15/A, 62032 Camerino, Italia*

Parole chiave
Brachypodium rupestre, Cheratinizzazione ruminale, Ovini, Prevenzione incendi boschivi, Valutazione dello stato corporeo (BCS).

Riassunto
L'articolo valuta e mette in correlazione i cambiamenti del grado di cheratinizzazione della mucosa ruminale con lo stato corporeo di ovini tenuti a pascolare per 20 giorni in un'area ad elevata copertura di paléo rupestre (*Brachypodium rupestre*). Il pascolo degli ovini in queste aree riduce il rischio di incendi boschivi. Tuttavia, l'assunzione di *Brachypodium rupestre* protratta per lunghi periodi può compromettere la salute generale degli animali. Lo scopo di questo studio è di determinare il periodo massimo di permanenza degli animali in queste aree. Ovini mantenuti su un pascolo semi-mesofilo sono stati utilizzati come gruppo di controllo. Nei giorni 1, 10 e 20 della sperimentazione, 5 animali di ogni gruppo sono stati sacrificati per la valutazione delle modificazioni del grado di cheratinizzazione dell'epitelio dell'atrio e del sacco ventrale del rumine. La valutazione dello stato corporeo, o body condition score (BCS), e il peso vivo (PV) sono stati monitorati su altri 10 soggetti per gruppo. Il gruppo di controllo ha mostrato piccole variazioni del grado di cheratinizzazione del rumine che non hanno inciso negativamente sul BCS o sul PV. Il gruppo sperimentale ha mostrato un significativo incremento del grado di cheratinizzazione, già entro i primi dieci giorni, che ha portato ad un graduale abbassamento del BCS e ad un calo di peso tra il decimo e il ventesimo giorno. I dati ottenuti suggeriscono che al fine della prevenzione degli incendi boschivi gli ovini dovrebbero essere utilizzati a turno con periodi di permanenza nei pascoli ad alta copertura di *Brachypodium rupestre* non superiori ai 10-12 giorni.

Veterinaria Italiana 2013, **49** (2), 203-209. doi: 10.12834/VetIt.2013.492.203.209

Introduzione

L'Unione Europea, oltre a promuovere e salvaguardare il benessere animale, sostiene ricerche finalizzate all'utilizzo di animali domestici per la prevenzione degli incendi boschivi (Regolamento CE 1782/2003). La presenza di necromassa nelle zone ecotonali tra bosco e pascolo, spesso caratterizzate da una densa copertura di *Brachypodium rupestre*, è una potenziale esca per lo sviluppo di incendi boschivi. Questa pianta erbacea, piuttosto alta, è poco appetita dagli ovini per le foglie molto fibrose e ricche di silicati (17). Tuttavia, pecore tenute in recinti in aree densamente coperte da *Brachypodium rupestre* tendono a sfruttare tutta la risorsa foraggera di cui dispongono e in questo modo rimuovono una possibile causa di innesco di incendio.

Se il *Brachypodium rupestre* non viene brucato tende a diffondersi nella prateria, limitando la crescita, la riproduzione (sessuale e vegetativa) e la dispersione di specie più appetibili (4, 10, 12, 19). Questa evenienza provoca la modificazione della composizione floristica del pascolo che può portare ad uno squilibrio ecologico che abbassa il valore e la biodiversità del pascolo stesso (1, 2, 7). Le praterie primarie delle montagne dell'Appennino italiano sono ricomprese all'interno di siti di importanza comunitaria (SIC) o di zone di protezione speciale (ZPS) (8). Ciò rende necessario limitare la dispersione di specie invasive che possano incidere negativamente sulla biodiversità di questi territori.

Gli allevatori che conducono le loro greggi al pascolo su aree ad elevato rischio di incendio possono usufruire di incentivi pubblici per la prevenzione degli stessi e a sostegno della zootecnia attraverso le opportunità offerte dalla Politica Agricola Comu-

nitaria (9) in relazione all'utilizzo delle *best practices* finalizzate alla conservazione della biodiversità e al rispetto del benessere animale.

In questo studio sono stati valutati il grado di cheratinizzazione della mucosa ruminale, mediante microscopia ottica, e i cambiamenti dello stato corporeo, basati sull'andamento del body condition score (BCS) e del peso vivo (PV), di ovini alimentati su pascolo a elevata copertura di *Brachypodium rupestre* nel tentativo di prevenire gli incendi boschivi. Lo scopo di questo studio è di quantificare il periodo in cui gli animali possono permanere in questo tipo di pascolo senza che il loro benessere sia influenzato negativamente.

Materiali e Metodi

Piano sperimentale

La sperimentazione è stata effettuata durante il mese di ottobre 2009 utilizzando 50 pecore (razza comisana x razza appenninica) di un anno di età. Tutti gli animali, nullipari, sono stati mantenuti senza arieti. Di questi, 25 pecore (gruppo sperimentale) sono state tenute per 4 giorni su un pascolo con scarsa copertura di *Brachypodium rupestre* (30%) e successivamente per 20 giorni trasferiti su terreno con elevata copertura (60%) di paléo rupestre. Un secondo gruppo costituito dalle restanti 25 pecore è stato tenuto su un pascolo naturale semi-mesofilo (gruppo di controllo) (5). In entrambi i gruppi, 10 pecore sono state utilizzate per la valutazione del BCS e del PV. Altre cinque pecore sono state sacrificate all'inizio dell'esperimento e dopo 10 e 20 giorni di alimentazione nei rispettivi pascoli (giorni: 1, 10 e 20). La distribuzione nei gruppi è stata equilibrata per BCS e PV iniziali.

Su tutti gli animali sono stati effettuati controlli clinici di routine per monitorare lo stato di salute, tra cui osservazioni macroscopiche dirette di labbra, lingua e mucose buccali al fine di evidenziare la presenza di eventuali macrolesioni.

Valutazione morfologica della mucosa ruminale

Le macellazioni sono avvenute presso il mattatoio pubblico di Visso (Macerata). I campioni prelevati

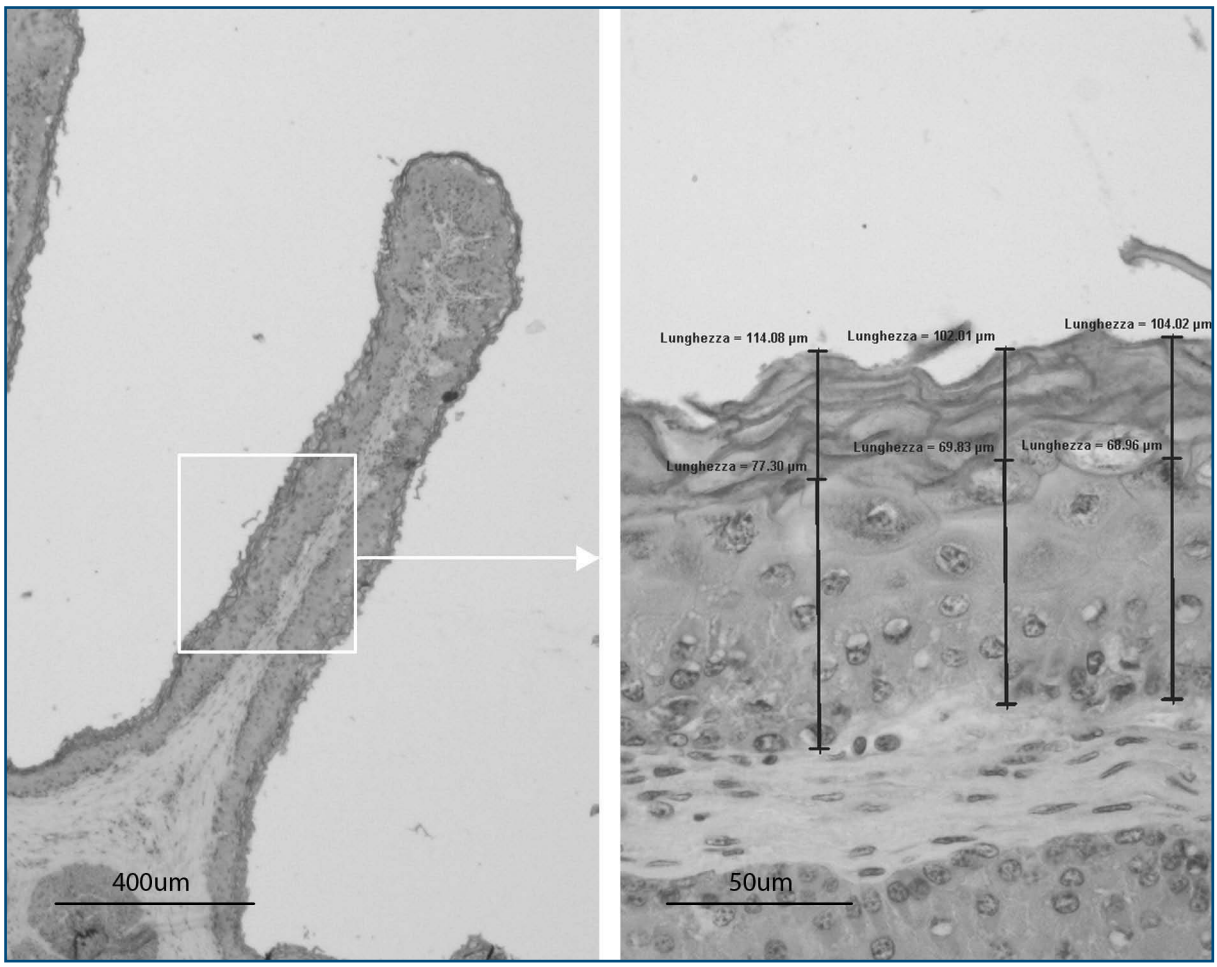


Figura 1. *Misurazione del grado di cheratinizzazione.* Nell'immagine a sinistra, il quadrato delimita un campo selezionato per le misurazioni, l'immagine a destra ne presenta l'ingrandimento. Sono indicate l'altezza totale dello strato epiteliale e quella degli strati nucleati.

Veterinaria Italiana 2013, **49** (2), 203-209. doi: 10.12834/VetIt.2013.492.203.209

dalla parete dell'atrio e del sacco ventrale del rumine sono stati fissati in soluzione di Bouin e inclusi in paraffina.

Per valutare lo strato di cheratina sono state eseguite valutazioni morfologiche su sezioni tissutali dello spessore di 5µm, sottoposte alle seguenti colorazioni: ematossilina/eosina, tricromica di Mallory, floxina B/orange G/alcian blue (16). Per evitare variazioni di colorazione dovute a differenze di temperatura o incubazione, tutti i campioni sono stati processati insieme durante ogni fase della procedura.

Per valutare modificazioni o danni della mucosa del rumine causati da *Brachypodium rupestre*, le sezioni sono state osservate al microscopio ottico (Eclipse E800, Nikon Corporation, Tokyo, Giappone) e fotografate con fotocamera digitale (Dxm 1200, Nikon Corporation, Tokio, Giappone). Le immagini sono state in seguito impiegate per valutare lo strato di cheratina. È stata misurata l'altezza totale dell'epitelio e quella degli strati nucleati. L'altezza dello strato di cheratina è stata calcolata come differenza. I valori ottenuti sono stati successivamente convertiti in percentuale in relazione all'altezza totale del rivestimento epiteliale. Per ciascun animale sono stati selezionati otto campi di 0,35x0,27 mm. In ogni campo sono state effettuate cinque misurazioni (Figura 1). Le immagini sono state elaborate con un software di analisi dell'immagine (Lucia Measurement, Laboratory Imaging Ltd, Praga, Repubblica Ceca).

Stato corporeo

Gli animali sono stati pesati nei giorni 1, 10 e 20 con bilancia elettronica (Kruuse PS250) e sottoposti a valutazione del BCS. Tale parametro è una stima complessiva dello stato corporeo dell'animale sulla base di proporzioni relative di muscoli e grasso ed è considerato un mezzo utile per valutare il benessere negli animali domestici (3, 11). Negli ovini, la valutazione si basa sui seguenti punti: palpazione dei processi spinosi delle vertebre toraciche e dei processi trasversi delle vertebre lombari, valutazione della massa muscolare/adiposa nella regione dorso-mediale, valutazione dello stato generale dell'animale. Ciascun animale è stato classificato mediante scala numerica (0-5, con graduazioni di 0,5) considerando il confronto con animali e strutture del corpo descritti e illustrati in una tabella di riferimento. Il valore del BCS è risultato dalla media di tutti i punteggi assegnati a ciascuno dei quattro parametri. In questo studio gli animali sono stati valutati da cinque operatori esperti.

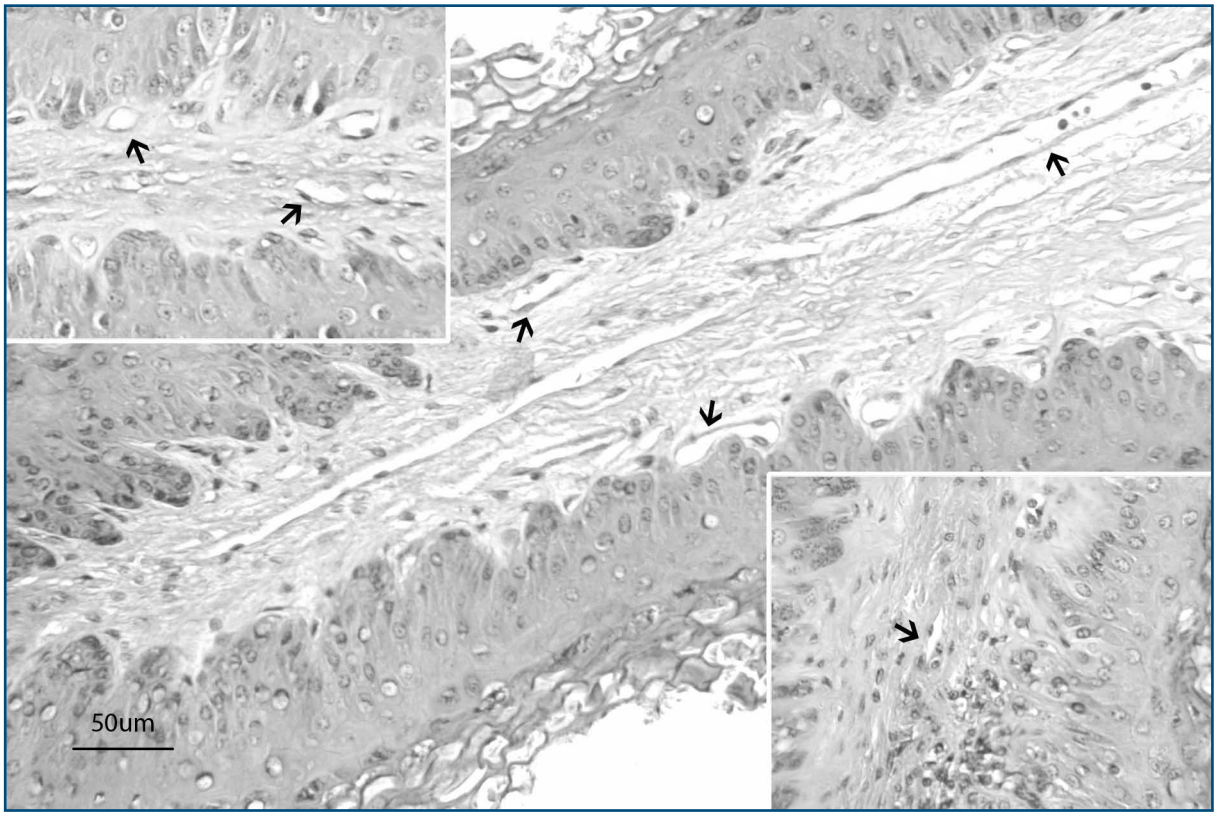


Figura 2. *Papilla dell'atrio del rumine colorata con ematossilina/eosina.* All'inizio dell'esperimento numerosi e ampi vasi sanguigni (↑) sono presenti sotto l'epitelio e nella zona profonda della tonaca propria-sottomucosa della papilla del rumine. Al giorno 10 (inserto a sinistra), il numero e il calibro dei vasi (↑) è diminuito. Alla fine del periodo sperimentale (inserto a destra), sono presenti solamente pochi e piccoli vasi (↑) nella zona profonda del tessuto connettivo.

Analisi statistica

Per confrontare la differenza tra gruppo di controllo e gruppo sperimentale è stata utilizzata l'analisi della varianza (one-way). I dati inter-gruppo sono stati considerati come campioni provenienti da popolazioni normali con la stessa varianza. Per verificare queste ipotesi, sono stati utilizzati il test di Shapiro-Wilk per la normalità e il test di Levene per l'omogeneità. Quando queste condizioni non sono risultate soddisfatte è stato applicato il test non parametrico di Mann-Witney (20). Le analisi sono state effettuate utilizzando il software SPSS PC 8,0.

Risultati

Durante la sperimentazione, gli animali del gruppo di controllo e del gruppo sperimentale non hanno presentato problemi clinici e non hanno evidenziato lesioni macroscopiche a livello di labbra, lingua o mucosa buccale. La microscopia ottica non ha evidenziato microlesioni nella mucosa dell'atrio e del sacco ventrale del rumine.

All'osservazione morfologica, la mucosa del rumine ha presentato un considerevole aumento del grado di cheratinizzazione dell'epitelio e una riduzione del numero e del calibro dei vasi nel gruppo sperimentale, come mostrato in Figura 2. Nel gruppo di controllo, il grado di cheratinizzazione è risultato leggermente aumentato, non sono state evidenziate differenze apprezzabili del numero e del calibro dei vasi.

I livelli di cheratina, misurati nei due comparti del rumine nei tre differenti momenti della sperimentazione, sono riassunti in Tabella I e mostrati nelle Figure 3 e 4. Nel gruppo sperimentale, la percentuale di cheratinizzazione nell'atrio è aumentata dal 17,2% al 31,7%, nel sacco ventrale è salita dal 20,0% al 37,3%. Nel gruppo di controllo la percentuale di cheratinizzazione è passata dal 17,0% al 19,5% a livello dell'atrio e dal 20,2% al 22,1% nel sacco ventrale.

All'inizio dell'esperimento le differenze della percentuale di cheratinizzazione dell'atrio e del sacco ventrale del rumine tra il gruppo di controllo e il gruppo sperimentale non sono risultate significative. Al giorno 10 e 20, la percentuale di cheratinizzazione tra i due gruppi ha mostrato differenze significative sia a livello dell'atrio ($P<0,001$) che del sacco ventrale del rumine ($P<0,001$).

Tabella I. *Valori medi di cheratinizzazione (in percentuale) del PV (kg) e del BCS in pecore mantenute su pascolo a* Brachypodium rupestre *(gruppo sperimentale) o semi-mesofilo (gruppo di controllo).*

Giorni	Cheratina (%)						PW (kg)			BCS		
	Atrio			Sacco ventrale								
	Gruppo di controllo	Gruppo sperimentale	P	Gruppo di controllo	Gruppo sperimentale	P	Gruppo di controllo	Gruppo sperimentale	P	Gruppo di controllo	Gruppo sperimentale	P
1	17,0	17,2	0,4030	20,2	20,0	0,5790	50,63	50,83	0,924	2,72	2,75	0,8060
10	19,2	30,9	0,0001	21,7	32,9	0,0001	51,65	51,66	0,994	2,67	2,05	0,0030
20	19,5	31,7	0,0001	22,1	37,3	0,0001	51,25	49,04	0,230	2,59	1,65	0,0001

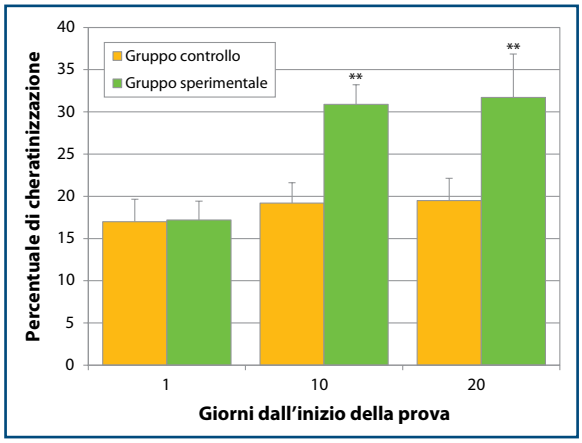


Figura 3. *Percentuale media di cheratina (±SD) nell'epitelio dell'atrio del rumine nel gruppo di controllo e nel gruppo sperimentale ai giorni 1, 10 e 20. (** P = 0,0001 rispetto al gruppo controllo).*

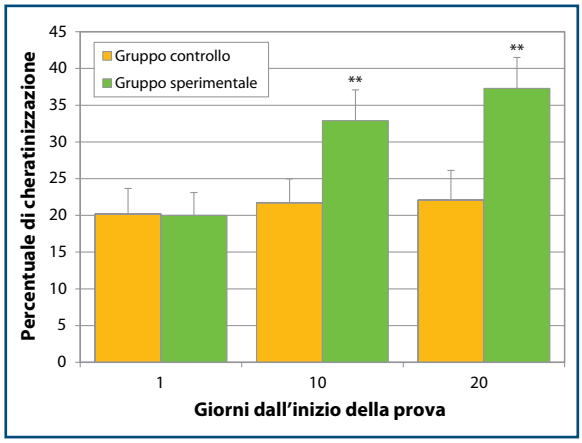


Figura 4. *Percentuale media di cheratina (±SD) nell'epitelio del sacco ventrale del rumine nel gruppo di controllo e nel gruppo sperimentale ai giorni 1, 10 e 20. (** P = 0,0001 rispetto al gruppo controllo).*

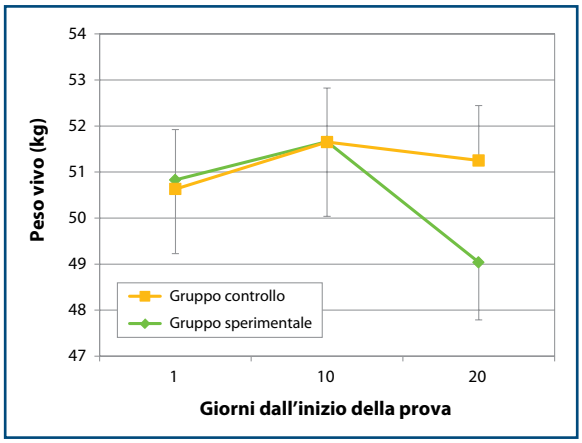


Figura 5. *Variazioni della media del peso corporeo (±SD) nel gruppo di controllo e nel gruppo sperimentale ai giorni 1, 10 e 20.*

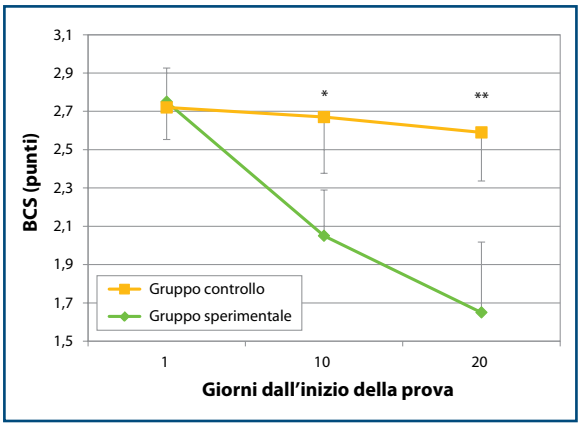


Figura 6. *Andamento del BCS medio (±SD) durante il periodo sperimentale ai giorni 1, 10 e 20. (*P = 0,003 rispetto al gruppo di controllo; **P = 0,0001 rispetto al gruppo di controllo).*

Le variazioni del PV del gruppo di controllo e del gruppo sperimentale sono indicate nella Tabella I e mostrate nella Figura 5. Una considerevole riduzione del PV è stata osservata durante il secondo periodo di pascolo su terreno densamente coperto a *Brachypodium rupestre*. Gli animali hanno presentato un decremento totale medio del PV di 1,79 kg. Nel gruppo di controllo il PV è aumentato di 0,62 kg nonostante si sia verificata una leggera riduzione durante il secondo periodo di pascolo. L'analisi della varianza non ha mostrato differenze significative tra il gruppo di controllo e quello sperimentale in nessuno dei momenti di valutazione (Tabella I).

Le variazioni del BCS del gruppo di controllo e del gruppo sperimentale sono indicate nella Tabella I e mostrate nella Figura 6. Le pecore che hanno pascolato su *Brachypodium rupestre* hanno mostrato una riduzione del BCS (-0,62) al giorno 10 e ulteriore (-1,19) dopo 20 giorni. Nel gruppo di controllo il BCS è risultato diminuito leggermente (-0,13) al giorno 20. All'inizio della prova non sono state rilevate differenze significative del BCS medio tra il gruppo di controllo e quello sperimentale. Al giorno 10 è stata evidenziata una differenza significativa (P=0,003) aumentata dopo 20 giorni (P<0,001).

Discussione

Durante la sperimentazione tra il gruppo di controllo e quello sperimentale sono state osservate differenze significative della cheratinizzazione della mucosa ruminale e del BCS, mentre le modificazioni del PV non sono state significativamente diverse. Sebbene il decremento medio di 1,79 kg del PV non sia statisticamente significativo dovrebbe, comunque, essere tenuto in considerazione dal punto di vista della perdita economica per l'allevatore. Gli animali del gruppo di controllo hanno mostrato un lieve calo del PV alla fine del periodo sperimentale legato, probabilmente, al minor valore nutrizionale delle specie vegetali disponibili, dopo la selezione operata durante i primi 10 giorni di pascolo (21) e alle modificazioni della composizione chimica delle piante, dovute all'incremento dei contenuti in cellulosa e lignina (10).

Il maggior incremento nella cheratinizzazione è stato osservato a carico del sacco ventrale del rumine. La presenza di materiale coriaceo e fibroso nella massa ingesta, che rimane a lungo nel sacco ventrale, può spiegare le differenze nella cheratinizzazione in quanto il contatto diretto con la parete del prestomaco può indurre uno stress meccanico. Dopo soli 10 giorni di pascolo in parcelle a densa copertura di *Brachypodium rupestre*, è stato osservato un alto grado di cheratinizzazione sia nell'atrio (30,9%) che nel sacco ventrale (32,9%).

La permanenza in parcelle a densa copertura di *Brachypodium rupestre* ha inciso già dopo 10 giorni anche sullo stato corporeo degli animali: le modificazioni del BCS sono considerate un indicatore più sensibile, rispetto ai cambiamenti del PV, dello stato nutrizionale degli animali. Il PV include, infatti, anche il peso del contenuto gastrointestinale (3). Le modificazioni del PV possono indurre una sotto o sovra-stima del benessere dell'animale in quanto una relativa scarsità di nutrienti può essere legata ad una assoluta scarsità di cibo come pure ad una assunzione di risorse trofiche inadeguate, portando sia ad una perdita che ad un aumento del PV, spingendo gli animali a sovralimentarsi nel tentativo di soddisfare i propri fabbisogni.

La valutazione del BCS è un metodo semplice e non costoso che permette di stimare lo stato corporeo e avere una indicazione della direzione (e, con una certa approssimazione, il tasso di variazione) dei processi metabolici primari, sia anabolici che catabolici. L'affidabilità del BCS è confermata dal confronto con parametri ematici endocrini e metabolici (3).

Un recente studio ha dimostrato che le variazioni della mucosa del sacco ventrale del rumine sono correlate al ciclo vegetativo del pascolo (6), analogamente, durante il ciclo vegetativo del pascolo le modificazioni del BCS sono correlate alle variazioni morfometriche della mucosa ruminale. Il grado di cheratinizzazione dell'epitelio nel sacco ventrale e nell'atrio del rumine ha mostrato valori medi più alti quando il BCS medio è risultato basso, in relazione al periodo di secchezza del pascolo durante il ciclo vegetativo del 2007, anno da considerare siccitoso. Il minor grado di cheratinizzazione si è avuto in corrispondenza del periodo di fioritura del 2008, anno piuttosto piovoso, che ha fatto registrare il BCS medio più alto (6). Il BCS diminuisce quando è bassa la qualità e/o la quantità delle risorsa foraggera, situazione che induce una diminuzione dell'estensione della superficie assorbente del rumine e, quindi, l'assorbimento degli acidi grassi volatili (14, 18). La capacità assorbente, facilitata dalla riduzione degli strati epiteliali (13), è ridotta dall'incremento della cheratinizzazione della mucosa. La probabile riduzione della funzione assorbente nelle pecore utilizzate in questo studio è supportata dal decremento del numero di capillari nella tonaca propria sottomucosa del rumine, analogamente a quanto osservato in animali nutriti con foraggio fibroso dallo scarso valore nutrizionale (13, 14, 15).

Il gruppo di controllo ha mostrato piccole variazioni del grado di cheratinizzazione della mucosa ruminale che, verosimilmente, non hanno alterato la capacità assorbente del rumine né sono risultate collegate a una riduzione significativa del BCS. Al contrario, il gruppo sperimentale ha mostrato un considerevole incremento del grado di cheratinizzazione dell'epitelio ruminale in seguito all'assunzione di foraggio coriaceo e fibroso a basso valore nutrizionale. Nel sacco ventrale del rumine l'alto grado di cheratinizzazione ha presumibilmente alterato la capacità assorbente risultando correlabile con il peggioramento dello stato corporeo sia durante il primo sia nel secondo periodo di permanenza su pascolo ad elevata copertura di *Brachypodium rupestre*. Il rapido declino del BCS medio nel gruppo sperimentale è risultato, verosimilmente, dovuto alle variazioni nella struttura della mucosa ruminale combinato con la bassa qualità nutrizionale del foraggio presente sul pascolo, declino che precede la perdita di peso dell'animale.

Conclusioni

Il rumine ha risposto rapidamente agli stimoli meccanici dovuti all'elevata fibrosità delle foglie del *Brachypodium rupestre*. L'incremento della cheratinizzazione ha preceduto la diminuzione di altri parametri, quali BCS e PV, che divengono apprezzabili quando il benessere degli animali è stato inficiato dall'assunzione di foraggio di scarso valore nutrizionale. L'andamento del grado di cheratinizzazione dell'epitelio ruminale potrebbe essere indicativo della diminuzione dello stato corporeo.

Considerato il rapido aumento della cheratizzazione e l'effetto negativo sul BCS già nei primi 10 giorni di alimentazione su un pascolo ad elevate copertura di *Brachypodium rupestre*, gli animali non dovrebbero rimanere in questi ambienti pastorali per più di 10-12 giorni. La valutazione del BCS può rappresentare un utile strumento di controllo dello stato di benessere degli ovini che pascolano su praterie con risorse foraggere di scarso valore nutrizionale, al fine di prevenire consistenti perdite del PV.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare la dottoressa Paola Coliolo e la signora Maria Gabriella Mancini per la loro eccellente assistenza tecnica. Sono, inoltre, riconoscenti al Centro di Calcolo dell'Università di Camerino per l'utilizzo del programma SPSS.

Finanziamenti

Questo lavoro è stato finanziato dalla Regione Marche, Progetto n°16 L.R. 37/99-DGR 1234/05 Zootecnia e Prevenzione Incendi.

Bibliografia

1. Bobbink R. & Willems J.H. 1987. Increasing dominance of *Brachipodium pinnatum* (L.) Beauv in chalk grasslands: a threat to a species-rich ecosystem. *Biol Cons*, **40**, 301-314.
2. Bonanomi G. & Allegrezza M. 2004. Effetti della colonizzazione di *Brachipodium rupestre* (Host) Roemer et Schultes sulla diversità di alcune fitocenosi erbacee dell'Appennino centrale. *Fitosociologia*, **41**, 51-69.
3. Caldeira R.M., Belo A.T., Santos C.C., Vazques M.I. & Portugal A.V. 2007. The effect of long-term feed restriction and over-nutrition on body condition score, blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Rumin Res*, **68**, 242-255.
4. Campbell B.D., Grime J.P. & Mackey J.M.L. 1992. Shoot thrust and its role in plant competition. *J Ecol*, **80**, 633-641.
5. Catorci A., Gatti R. & Ballelli S. 2007. Studio fitosociologico della vegetazione delle praterie montane dell'Appennino maceratese. *Braun-Blanquetia*, **42**,101-143.
6. Ceccarelli P., Scocco P., Malfatti A., Vitali F. & Catorci A. 2009. Changes of sheep ruminal mucosae related to seasonal plant growth: when the anatomy is involved in the management of pastural systems. *It J Anat Embryol*, **114**, 72.
7. Celaya R., Martinez A. & Osoro K. 2007. Vegetation dynamics in Cantabrian heathlands associated with improved pasture areas under single or mixed grazing by sheep and goats. *Small Rumin Res*, **72**, 165-177.
8. Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. *Off J*, **L 206**, 22/7/1992, 7–50.
9. Council Regulation (EC) No 1782/2003 of 29 September 2003 establishing common rules for direct support schemes under the common agricultural policy and establishing certain support schemes for farmers and amending Regulations (EEC) No 2019/93, (EC) No 1452/2001, (EC) No 1453/2001, (EC) No 1454/2001, (EC) 1868/94, (EC) No 1251/1999, (EC) No 1254/1999, (EC) No 1673/2000, (EEC) No 2358/71 and (EC) No 2529/2001. *Off J*, **L 270**, 21/10/2003, 1-69.
10. Crofts A. & Jefferson R.G. 1994. The lowland grassland management handbook. English Nature/Royal Society for Nature Conservation, Ashford, UK, 238 p.
11. Ferguson J.D., Galligan D.T. & Thomsen N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci*, **77**, 2695-2703.
12. Grime J.P. 2001. Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties, John Wiley & Sons, New York, USA, 456 p.
13. Hofmann R.R. 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia*, **78**, 443-457.
14. Hofmann R.R., Kock R.A., Ludwig J. & Axmacher H. 1988. Seasonal changes in rumen papillary development and body condition in free ranging Chinese water deer (*Hydropotes inermis*). *J Zool*, **216**, 103-117.
15. Kamler J. 2001. Morphological variability of forestomach mucosal membrane in red deer, fallow deer and mouflon. *Small Rumin Res*, **41**, 101-107.
16. Melis M., Carpino F. & Di Tondo U. 1992. Tecniche in anatomia patologica. Edi-Ermes, Milan, Italy, 512 p.
17. Roggero P.P., Bagella S. & Farina R. 2002. Un archivio dati di Indici specifici per la valutazione integrate del valore pastorale. *Riv Agron*, **36**, 149-156.
18. Scocco P., Brusaferro A. & Catorci A. 2012. Comparison between two different methods for evaluating rumen papillae measures related to different diets. *Microsc Res Tech*, **75**, 884-889.
19. Sebastià M.T., de Bello F., Puig L. & Taull M. 2008. Grazing as a factor structuring grasslands in the Pyrenees. *Appl Veg Sci*, **11**, 215-222.
20. Sokal R.R. & Rohlf F.J. 1981. Biometry. Freeman W.H. and Company, New York, USA, 859 p.
21. Weir W.C. & Torell D.T. 1959. Selective grazing by sheep as shown by a comparison of the chemical composition of range and pasture forage obtained by hand clipping and that collected by esophageal-fistulated sheep. *J Anim Sci*, **18**, 641-649.