

مقاله پژوهشی:

## تأثیر تنظیم کنندگان شیمیایی و بیولوژیکی pH بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی شکمبه، نگاری، کبد و کلیه بردهای عربی

فرشته وفایی<sup>۱</sup>، مرتضی چاجی<sup>۲\*</sup>، امید خراسانی<sup>۳</sup> و فرشاد باغان<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ایران

۲. استاد، گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ایران

۳. دکتری تغذیه دام، هنرستان خوارزمی دزفول، ایران

۴. استادیار، گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یاسوج، یاسوج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۱)

### چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای اثر افزودنی‌های تنظیم کننده pH شکمبه بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی شکمبه و نگاری، کبد و کلیه انجام گرفت. در آزمایش حاضر از ۱۲ رأس بره نر عربی  $9 \pm 3.5$  ماهه با وزن زنده  $35.95 \pm 3.55$  کیلوگرم در مدت ۳۵ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد، ۲- جیره شاهد + بافر بی‌کربنات سدیم (بافر)، ۳- جیره شاهد + باکتری مگاسپرا السانی و مخمراکرومایسیس سرویسیه (باکتری-مخمراک) بودند. در پایان آزمایش، پس از ذبح بردها برای مطالعات بافتی، از کبد، کلیه‌ها، شکمبه و نگاری نمونه برداری شد و مقاطع پنچ میکرومتر تهیه شدند. ضخامت کل دیواره نگاری در تیمار شاهد از سایر تیمارها بیشتر بود و نسبت به تیمار دریافت کننده بافر معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). ضخامت لایه عضلانی در نگاری در تیمار شاهد از سایر تیمارها بیشتر بود و این اختلاف نسبت به تیمار دریافت کننده بافر معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). ارتفاع پرز و عمق پرز نگاری در تیمار دریافت کننده باکتری-مخمراک به طور معنی داری از سایر تیمارها بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). ضخامت بافت پوششی شکمبه در تیمارهای دریافت کننده بافر و باکتری-مخمراک به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد بود ( $P < 0.05$ ). ارتفاع پرزهای شکمبه در تیمار شاهد بیشتر از تیمارهای دریافت کننده بافر و باکتری-مخمراک بود. نفوذ سلول‌های التهابی در بافت‌های کبد، کلیه و دستگاه گوارش مشاهده شد. در مجموع، عوامل تنظیم کننده pH در جیره‌های با کنسانتره بالا باعث محافظت بافت‌های مورد مطالعه شدند. افزون بر این، اثر باکتری-مخمراک به عنوان تنظیم کننده بیولوژیکی با بافر شیمیایی قابل رقابت بود.

**واژه‌های کلیدی:** بافت شکمبه، بافر، ساکرومایسیس سرویسیه، سلول‌های التهابی، مگاسپرا السانی.

## The effect of chemical and biological regulators of pH on histomorphometry and histopathology of rumen, reticulum, liver and kidney of Arabi lambs

Freshsheh Vafaei<sup>1</sup>, Morteza Chaji<sup>2\*</sup>, Omid Khorasani<sup>3</sup> and Farshad Baghban<sup>4</sup>

1. M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

3. Ph.D. of Animal Nutrition, Kharazmi Industrial School of Dezful, Iran

4. Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Azad University of Yasuj, Yasuj, Iran

(Received: Aug. 12, 2021 - Accepted: Oct. 3, 2021)

### ABSTRACT

The aim of this study was to compare the effect of rumen pH-adjusting additives on histomorphometry and histopathology of rumen, reticulum, liver, and kidney. Twelve Arabi male lambs,  $9 \pm 1$  months old and initial body weight of  $35.95 \pm 3.55$  kg were used in a completely randomized design with three treatments and four replicates in 35 days. The experimental treatments consisted of 1- A control diet, 2- Control diet+sodium bicarbonate buffer, 3- Control diet+*Megasphaera elsdenii*, and *Saccharomyces cerevisiae* (bacteria-yeast). At the end of the experiment, the lambs were slaughtered and tissue samples from the liver, kidney, reticulum, and rumen were collected, and the tissue sections with thickness of 5  $\mu\text{m}$  were prepared. The wall thickness of the reticulum in the control treatment was significantly higher than the buffer recipient treatment ( $P < 0.05$ ). Also, the thickness of muscle-layer in the reticulum in the control treatment was more than other treatments and was significantly higher compare to the buffer recipient treatment ( $P < 0.05$ ). Papillae height and Papillae depth of reticulum in the bacteria-yeast recipient treatment were significantly higher than other treatments ( $P < 0.05$ ). In addition, the thickness of rumen epithelial tissue in the buffer and bacteria-yeast recipient treatments was less than the control treatment ( $P < 0.05$ ). The height of rumen papillae in the control treatment was significantly higher than the buffer and bacteria-yeast treatments. Infiltration of inflammatory cells into the liver, kidney and gastrointestinal tissues was observed. In general, pH regulators, in high-concentrate diets protected the tissues, which were studied in the present experiment. In addition, the addition of bacteria-yeast effects as a biological regulator is comparable to the chemical buffer.

**Keywords:** Buffer, Inflammatory cells, *Megasphaera elsdenii*, *Saccharomyces cerevisiae*, Tissue.

\* Corresponding author E-mail: chaji@asnrukh.ac.ir; mortezachaji@yahoo.com

پروتوزآهای شکمبه را توسعه داده و استفاده از لاکتانس را افزایش دهد (Calsamiglia et al., 2012; Pinloche et al., 2013; Khorasani et al., 2020). لذا استفاده توانم از باکتری‌های مصرف کننده لاکتانس با مخمر ساکرومایسیس Pinloche et al., 2013) تأثیر داشته است (Khorasani et al., 2020). از این‌رو استفاده همزمان از آنها به همراه گونه‌های باکتریایی، از جمله مگاسفرا *السلنی*، عمل این باکتری‌ها را تقویت خواهد کرد. از طرفی استفاده از مخمر و ترکیبات فعال زیستی در مقایسه با مواد شیمیایی می‌توانند در کاهش التهاب ناشی از اسیدوز مؤثر باشند (Aschenbach et al., 2019).

در پژوهشی روی بره‌های پرورای با مصرف مخلوط باکتری مگاسفرا *السلنی* و مخمر ساکرومایسیس سرویسیه (باکتری-مخمر) نشان داده شد که نقش مؤثر هم افزایی باکتری-مخمر در ابتدای دوره و ۲۱ روز ابتدای آزمایش می‌باشد که در این بازه، میکرووارگانیسم‌های شکمبه حیوانات هنوز به تعییرات جیره عادت نکرده و استفاده از باکتری-مخمر می‌تواند مؤثر عمل کند (Khorasani et al., 2020).

استفاده از بافر بی‌کربنات سدیم در جیره دام‌ها نیز از راه‌های مختلف آسیب‌های حاصل از بروز اسیدوز حاد و تحت حاد شکمبه‌ای را برطرف کرده و یا کاهش می‌دهد (Erdman et al., 1980). بنابراین اگر با استفاده از یک ماده قابل دسترس نظریه بافرهای شیمیایی (بی‌کربنات سدیم) یا مواد بیولوژیکی (باکتری‌های مصرف کننده اسید و غیره) با حفظ سلامت شکمبه، محیطی مناسب برای فعالیت میکرووارگانیسم‌ها تأمین شود، هزینه‌های افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک کاهش می‌یابد و از طرفی، از بروز مشکلات بعدی مانند لنگش و یا مشکلاتی که ممکن است تا زمان ذبح مشخص نشوند، مانند آبسه‌های کبدی، جلوگیری شده است (Aschenbach et al., 2019).

با توجه به این‌که گاهی استفاده از جیره‌های پر کنسانتره به تنها یا همراه با افزودنی‌های تعدیل کننده pH (مانند بافر یا افزودنی میکروبی و غیره)، ممکن است بر عملکرد دام و فراسنجه‌های تخمیری شکمبه به ویژه pH تأثیر گذار باشند و گاهی نیز این آثار دیده نشوند، شاید بتوان گفت که بروز تعییر در

## مقدمه

بافت پوششی شکمبه عهده‌دار چندین وظیفه فیزیولوژیکی مهم، شامل جذب مواد مغذی و انتقال آن‌ها، متابولیسم اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و باز چرخ اوره است (Aschenbach et al., 2002). رشد و تکامل طبیعی ساختار بافتی شکمبه، با مصرف مواد مغذی انجام گرفته و به جذب اسیدهای چرب فرار وابسته است (Krause & Oetzel, 2006). جذب از شکمبه و نگاری به ساختار مرفلولوژیکی آن‌ها بستگی دارد و تغییر در مرفلولوژی، زمینه ساز اختلال در اعمال این بافت‌ها است (Zitnan et al., 2003). برخی محققین رشد بافت‌های دستگاه گوارش را به سه عامل نژاد، سن و نوع جیره مرتبط دانسته‌اند (Montagne et al., 2003).

تغذیه دام‌ها با جیره‌های با کنسانتره بالا می‌تواند موجب بروز مشکلات متابولیکی از جمله اسیدوز شود که از جمله نتایج آن مرگ باکتری‌های گرم منفی و به دنبال آن انتشار اندوتوكسین‌ها (لیپوپلی ساکاریدها- LPS) به داخل خون از طریق دیواره شکمبه آسیب دیده است که منجر به فعال کردن واسطه‌های التهابی و تأثیرگذاری بر عملکرد تولیدی حیوانات می‌شود (Garcia Diaz et al., 2018).

تشخیص اسیدوز شکمبه و در نتیجه درمان آن دشوار است و در بیشتر موارد، درمان چندان مؤثر نیست. به طور کلی، اساس بر پیشگیری است و اقدامات پیش گیرانه باید مبتنی بر مدیریت تغذیه باشد. از جمله راهکارها برای پیش‌گیری، استفاده از پروبیوتیک‌ها مانند مخمر زنده و پروتئین‌های مشتق شده از دیواره سلول خارجی مخمر ساکرومایسیس سرویسیه است که به عنوان تعديل کننده سیستم ایمنی نشخوارکننده شناخته شده‌اند (Li et al., 2011). تأثیر احتمالی افزودنی pH های میکروبی بر دستگاه گوارش از طریق تنظیم شکمبه و ایمنی بدن می‌باشد که برای بهبود هضم، عملکرد و سلامتی حیوانات مفید است (Silberberg et al., 2013). پیشنهاد شده است که مخمر ساکرومایسیس سرویسیه می‌تواند جمعیت مگاسفرا *السلنی* (Calsamiglia et al., 2012) و رشد و فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز، باکتری‌های مصرف کننده لاکتانس، مگاسفرا *السلنی* و سلنوموناس رومیناتیوم و

یافتند (Sedighi et al., 2019; Khorasani et al., 2020) شرایط تغذیه و مدیریت پرورش برده‌های انتخاب شده قبل از آزمایش یکسان بود. جیره بردها با استفاده از جداول احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک (NRC, 2007) تنظیم شدند و به صورت کاملاً محلوط به نسبت ۳۰درصد علوفه و ۷۰درصد کنسانتره در دو نوبت (ساعت هشت صبح و چهار عصر) در حد اشتها به همراه دسترسی آزاد به آب در اختیار بردها قرار گرفت (جدول ۱).

#### جدول ۱. اجزای خوراک و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی پایه تغذیه شده به بردها

Table 1. Feed ingredients and chemical composition of the experimental basal diet fed to lambs

Ingredients	Amounts (% of DM)
Alfalfa hay	20.1
Wheat straw	9.9
Barley grain	30.0
Corn grain	21.0
Soybeans meal	12.35
Wheat bran	5.5
Calcium carbonate	0.4
Common salt	0.25
Vitamin and mineral supplements <sup>1</sup>	0.5
Chemical composition	
Dry matter	89.1
Organic matter	94.8
Ash	5.17
Crude protein	16.1
Ether extract	2.65
NDFom <sup>2</sup>	29.0
ADFom <sup>3</sup>	16.5
ME <sup>4</sup> (Mcal/kg DM)	2.65
Non-fiber carbohydrates <sup>5</sup>	47.03

۱. هر کیلوگرم مکمل ویتامین- مواد معدنی حاوی ۵۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین A، ۱۰۰ هزار واحد بین المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۱۰۰۰۰۰ IU/mg؛ ویتامین E، ۶۰ هزار میلی گرم، فسفر، ۳۰ هزار میلی گرم سدیم، ۱۹ هزار میلی گرم منیزیم، ۳ هزار میلی گرم روی، ۳ هزار میلی گرم آهن، ۱۹ هزار میلی گرم منگنز، ۳۰۰ میلی گرم مس، ۱۰۰ میلی گرم کروم، ۱ میلی گرم سلنیوم، ۱۰ میلی گرم ید، ۴۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدانت.

۲. Premix contained (per kg): Vitamin A, 500,000 IU/mg; vitamin D<sub>3</sub>, 100000 IU/mg; vitamin E, 100 mg/kg; Ca, 180 g/kg; P, 60000 mg/kg; Na, 60000 mg/kg; Mg, 19000 mg/kg; Zn, 3000 mg/kg; Fe, 3000 mg/kg; Mn, 19000 mg/kg; Cu, 300 mg/kg; Co, 100 mg/kg; Se, 1 mg/kg; I, 100 mg/kg; antioxidant, 400 mg/kg; carrier, up to 1000 g.

۳. NDFom, ash-free neutral detergent fibre.

۴. ADFom, ash-free acid detergent fibre.

۵. Calculated from each feed ingredients.

5. Calculated as: NFC=1000 – (NDFom g/kg + crude protein g/kg + ether extract g/kg + ash g/kg).

مایع شکمبه در سه ساعت بعد از خوراک دهی صبح، در هفته چهارم از طول دوره تغذیه pH ۷ توسط لوله معدی از دامها گرفته شد، بخش رویی برای اطمینان از حذف بزاق دور ریخته شد و pH (pH متر دیجیتال، WTW مدل ۳۱۱۰، آلمان) آن اندازه گیری شد. خون‌گیری از بردها در هفته آخر از طول آزمایش در ۳ ساعت پس از مصرف خوراک از ورید و داج انجام شد. پس از خون‌گیری نمونه‌های خون در داخل لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد EDTA ریخته شد و سانتریفیوژ

این شاخصه‌ها با روش تغذیه و مدیریت آن یا زمان‌های نمونه‌گیری همبستگی دارد. برای مثال، بیشتر نمونه‌گیری‌های نقطه‌ای (چند ساعت قبل یا بعد از تغذیه صبح) برای اندازه گیری pH و ترکیبات تخمیری استفاده می‌شود که این روش ممکن است به طور کامل گویای تغییرات شاخصه‌های تخمیری نظری pH، اسیدهای چرب فرآر و نظری آن نباشد و اثر گذاری تیمارها را نشان ندهند. از این‌رو، مطالعات بافت شناسی می‌تواند تأثیر این نوع جیره‌ها را بهتر آشکار کند. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای اثر استفاده از دو تا از انواع تنظیم‌کننده‌های pH شامل بافر بی‌کربنات سدیم با ترکیب باکتری-محمر بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی بافت شکمبه، نگاری کبد و کلیه بردهای تغذیه شده با جیره‌های پر کنسانتره انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در آزمایش حاضر از ۱۲ راس برده نر عربی ۹±۱ ماهه با وزن اولیه ۳۵/۹۵±۳/۵۵ کیلوگرم استفاده شد. طول دوره آزمایش ۳۵ روز دوره عادت پذیری و ۲۱ روز دوره رکوردبداری و آزمایش بود. قبل از آغاز پژوهش همه بردها برای پیشگیری از آلودگی با انگل‌های بیرونی (یک میلی لیتر آزانتوول ۱۰ درصد در هفت لیتر آب به روش اسپری؛ شرکت بایر آلمان) و انگل‌های داخلی (تریکلابندازول با لومامیزل، ۱۲ میلی لیتر برای هر برده، شرکت دارو پخش ایران) و برای پیشگیری از انترووتوكسمی (واکسن انترووتوكسمی، سه میلی لیتر برای هر برده، موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی-ایران) واکسینه شدند. بردها در قفسه‌های متابولیکی (۱/۲×۱/۴ متری) نگهداری شدند. بردها به صورت تصادفی گروه بندی شدند و هر گروه به یکی از سه تیمار شامل: ۱- جیره‌ی شاهد (فاقد افزودنی)، ۲- جیره شاهد+ بافر (یک درصد جیره روزانه به صورت سرک در دو وعده غذایی)، ۳- جیره شاهد+ محمر ساکرومایسیس سرویسیه (دو گرم در روز به ازاء هر دام) که به صورت محلول با باکتری مگاسفر/السدنی (سه میلی لیتر بهازای هر دام حاوی  $4/5 \times 10^8$  cfu/ml) در ۵۰ میلی لیتر آب مقطرا که هر روز صبح به صورت مستقیم (DFM) به هر دام خورانده می‌شد، اختصاص

نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) با مدل خطی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد انجام گرفت. از مدل آماری زیر استفاده شده است:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

که در این رابطه،  $\varepsilon_{ij}$  مقدار مشاهده شده،  $\mu$  میانگین جامعه،  $T_i$  اثر عوامل تیمار نام،  $\varepsilon_{ij}$  آثار خطاً آزمون است.

## نتایج و بحث

### هیستومورفومتری شکمبه و نگاری

تأثیر تیمارهای آزمایشی شامل بافر سدیم بی‌کربنات و باکتری-مخمر بر ساختار هیستومورفومتری شکمبه و نگاری در جدول ۲ آمده است. ضخامت کل دیواره نگاری در تیمار شاهد از سایر تیمارها بیشتر بود و نسبت به تیمار دریافت‌کننده بافر معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). ضخامت لایه عضلانی در نگاری در تیمار شاهد از سایر تیمارها بیشتر بود و این اختلاف نسبت به تیمار دریافت‌کننده بافر معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). ارتفاع پرز و عمق پرز در تیمار دریافت‌کننده باکتری-مخمر از سایر تیمارها بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). بین سایر شاخص‌های نگاری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. ضخامت بافت پوششی شکمبه در تیمارهای دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود ( $P < 0/05$ ). بین سایر شاخص‌های شکمبه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد؛ اما ارتفاع پرزهای شکمبه در تیمار شاهد به صورت عددی بیشتر از تیمارهای دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر بود.

**مگاسفرا السلنی مسئول خنثی کردن ۴۰ درصد**  
اسیدهای تولیدی در شکمبه است (Aschenbach *et al.*, 2011). در پژوهشی روی گاوها گوشتی نشان داده شد که گاوها مصرف کننده محلول مگاسفرا السلنی، مدت زمان بیشتری را صرف نشخوار می‌کنند که نتیجه آن تولید براق بیشتر، تنظیم pH و افزایش مصرف خوارک می‌باشد (DeClerck *et al.*, 2020) بنابراین با توجه به اینکه خوارک در مرحله نشخوار وارد نگاری می‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که حجم بیشتری از اسیدهای

شد (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه)، پلاسمای جدا شده در دمای ۲۰-۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شد و سپس آنزیم‌های کبدی شامل آسپارتات آمینو ترانس فراز (AST)، آلانین آمینو ترانس فراز (ALT) و آلkalین فسفاتاز (ALP) با دستگاه اتوآنالایزر (هیتاچی، مدل ۹۰۲، ژاپن) اندازه‌گیری شدند.

در پایان آزمایش بردهای هر تیمار کشتار شدند. سپس، بلافضله محوطه شکمی باز و دستگاه گوارش از ناحیه مری تا انتهای قولون جدا و خارج شد. پس از شتشوی شکمبه و نگاری با آب مقطر، بخشی در حدود یک سانتی متر مربع از ناحیه شکمی شکمبه و نگاری جدا شد و در محلول ۱۰ درصد فرمالین خنثی تثبیت شد. همچنین نمونه‌هایی به ابعاد ۱ سانتی متر مکعب از کبد و کلیه نیز جدا و هریک از نمونه‌ها به طور جداگانه در ظروف درب بسته حاوی فرمالین ۱۰ درصد خنثی قرار داده شدند (Garcia Diaz *et al.*, 2018; Khorasani *et al.*, 2021).

پس از ۲۴ ساعت فرمالین ظروف تعویض شد و نمونه‌ها جهت بررسی هیستومورفومتری و تغییرات بافتی به مرکز پاتولوژی دامپزشکی اصفهان منتقل شدند. در آزمایشگاه نمونه‌های بافتی با استفاده از قالب‌های لوک هارت به صورت عرضی در پارافین قالب‌گیری و با کمک میکروتوم چرخان مقاطعی به ضخامت پنج میکرومتر تهیه و با استفاده از هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند (Wang *et al.*, 2009) و تغییرات بافتی با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری شاخص‌های مورد مطالعه در بزرگنمایی‌های مختلف با استفاده از میکروسکوپ Nikon (مدل 100 YS100) ساخت ژاپن) با عدسی‌های مدرج و کالیبره شده، انجام شد.

در هر گروه سه نمونه و از هر نمونه پنج برش بافتی و در هر برش بافتی حداقل چهار میدان میکروسکوپی شمارش و اندازه‌گیری شد. مطالعات میکرومتری شامل ارتفاع، ضخامت و عمق پرز و بررسی‌های هیستومورفومتریک نظری ضخامت بافت پوششی، لایه عضلانی و ضخامت کل دیواره شکمبه و نگاری روی نمونه‌ها انجام شد. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و ۴ تکرار انجام شد. همه داده‌ها با

کنسانتره دانهای زیاد، به طور قابل توجهی تعداد و اندازه پرزهای شکمبه را افزایش می‌دهد (Niwińska et al., 2017; Khorasani et al., 2021). در واقع با مصرف کنسانتره زیاد در بردها، افزایش ارتفاع و تراکم پرزهای شکمبه گزارش شده است (Odongo et al., 2006). به طور کلی، اندازه، سطح و سایر خصوصیات پرزها به طور عمده تحت تأثیر اسیدهای چرب فرآر و pH قرار دارند (Shen et al., 2004). افزایش ارتفاع و سطح پرزهای شکمبه دام مصرف‌کننده کنسانتره بالا باعث افزایش ظرفیت جذب می‌شود و به نوبه خود حیوان را از تجمع اسیدهای چرب فرآر و کاهش محسوس pH محافظت می‌کند؛ و در واقع به بافت پوششی شکمبه در جذب سریع‌تر اسیدهای چرب فرآر Krause & Oetzel, 2009) و ثبات pH شکمبه کمک می‌کند (Wang et al., 2006; Mashayekhi et al., 2020) بنابراین، با توجه به اینکه یکی از دلایل افزایش ارتفاع پرز، ضخامت پرز و یا سطح پرز در شرایط اسیدوز، افزایش ظرفیت جذب اسیدهای چرب فرآر و کمک به پایداری pH شکمبه است در تیمارهای دریافت‌کننده‌های تنظیم‌کننده pH را می‌توان نتیجه کاهش تجمع ناگهانی اسیدهای چرب فرآر در این تیمارهای دریافت‌کننده‌های تنظیم‌کننده pH را در این تیمارهای دانست که نقش اساسی در بروز اسیدوز دارند (Khorasani et al., 2021). در واقع در تیمارهای pH حاوی تنظیم‌کننده pH، بدلیل کنترل نسبی اسیدوز در جدول ۳، افزایش فعالیت باکتری‌های سلولایتیک و افزایش تولید استات، افزایش ارتفاع پرز در تیمارهای مصرف‌کننده بافر و باکتری-مخمر از تیمار شاهد کمتر بوده است (Malekhhahi et al., 2016; Khorasani et al., 2021).

### هیستوپاتولوژی شکمبه - نگاری و کبد

در بررسی هیستوپاتولوژیک شکمبه (شکل ۱)، هر سه تیمار از نظر بافت شناسی سالم بودند، در واقع اختلاف قابل توجهی بین سه تیمار مشاهده نشد؛ فقط به میزان اندکی حضور سلول‌های التهابی اعم از لنفوسيت و پلاسماسل در پارین مخاط و در داخل پرزها مشاهده شد؛ بنابراین از نظر مقایسه‌ای اختلافی بین تیمارها مشاهده نشد.

چرب فرآر تولیدی در شکمبه در دامهای مصرف‌کننده باکتری-مخمر در مرحله نسخوار وارد نگاری می‌شوند و همین موضوع را با توجه به نقش اسیدهای چرب فرآر در افزایش ارتفاع پرز، می‌توان عامل افزایش ارتفاع پرز و عمق پرز در نگاری دانست. در پژوهشی با مصرف مخلوط باکتری مگاسفرا/السلنی و مخمر ساکرومایسیس سرویسیه در بردهای پرواری ارتفاع و عمق کریپت در تیمار باکتری-مخمر از لحاظ عددی نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (Khorasani et al., 2021)؛ که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

در آزمایش حاضر ضخامت بافت پوششی شکمبه در تیمارهای دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر به طور معنی‌داری از تیمار شاهد کمتر بود ( $P < 0.05$ ). در واقع تولید بیش از حد اسیدهای چرب فرآر در جیره‌های باکتری-مخمر از لحاظ عددی نسبت به تیمار شاهد کمتر بود (Khan et al., 2016) و انتقال اسیدهای چرب فرآر را به عمیق ترین لایه‌های اپیتلیوم کاهش می‌دهند (Newbold et al., 1995). پژوهشگران دیگر نیز در بردهای پرواری، با مصرف مخمر ساکرومایسیس سرویسیه و مونتینین مشاهده کردند که مصرف این عوامل تنظیم‌کننده pH، باعث کاهش ضخامت لایه شاخی نسبت به تیمار شاهد شد (Garcia Diaz et al., 2018) که با نتایج آزمایش حاضر در کاهش ضخامت بافت پوششی در تیمارهای دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر مطابقت دارد. با مصرف بافر و باکتری-مخمر در بردهای پرواری، نیز کاهش ضخامت بافت پوششی گزارش شد (Khorasani et al., 2021) که علت آن را افزایش فعالیت باکتری‌های سلولایتیک، افزایش تولید استات و بهبود pH شکمبه دانسته‌اند که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. لذا، در آزمایش حاضر استفاده از باکتری-مخمر توانسته است با خنثی کردن آثار مضر جیره‌های پر کنسانتره، مانع تبعات منفی افزایش ضخامت لایه پوششی شکمبه شود.

تحقیقات نشان داده‌اند که رژیمهای غذایی با

صورت تورم ابری (*Cloudy Swelling*) سلول‌های کبدی و پرخونی سینوزوئیدهای کبدی مشاهده شد. در تیمار دریافت‌کننده بافر مانند تیمار شاهد پرخونی، هپاتیت پری پورتال، پرخونی سینوزوئیدها، تغییرات دزتراتیو هپاتوسیت‌ها به صورت تورم ابری سلول‌های کبدی و اتساع و پرخونی وریدهای کبدی مشاهده شد. در تیمار دریافت‌کننده باکتری-مخمر الگوی هیستوپاتولوژی تا حدود زیادی مشابه تیمارهای شاهد و دریافت‌کننده بافر بوده است و ضایعات با همان شکل و شدت مشاهده شد.

در بررسی هیستوپاتولوژیک نگاری (شکل ۲)، در هر سه تیمار مانند شکمبه مهترین یافته بافت شناسی نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای اعم از لنفوسيت و پلاسماسل در پارین و در داخل پردهای نگاری بود. سایر ساختارهای مو Fowlerیک سالم و قادر آثار پاتولوژیک بودند.

در بررسی هیستوپاتولوژیک کبد (شکل ۳) در تیمار شاهد پرخونی، نفوذ اندک سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در اطراف وریدهای مرکزی و فضاهای پورت (هپاتیت پری پورتال) همراه با تغییرات دزتراتیو به

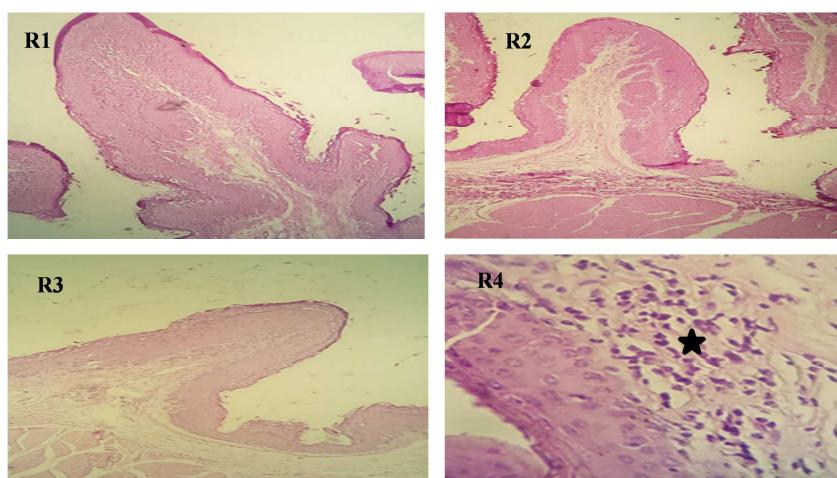
جدول ۲. هیستومورفومتری بافت شکمبه و نگاری در بردهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی  
Table 2. Histomorphometry of rumen and reticulum in lambs fed with experimental diets

Variables(µm)	Control	Treatment Buffer	Me+Sc	SEM	P-value
Reticulum wall thickness	2353.3 <sup>a</sup>	1942.5 <sup>b</sup>	2291.7 <sup>a</sup>	74.299	0.0401
Thickness of tunica muscularis	2305.0 <sup>a</sup>	1881.7 <sup>b</sup>	2230.0 <sup>b</sup>	74.012	0.0330
Thickness epithelial tissue	103.333	103.333	110.00	3.724	0.7255
Papillae depth	1320.0 <sup>b</sup>	1373.3 <sup>b</sup>	1783.3 <sup>a</sup>	69.048	0.0035
Papillae thickness	391.67	343.33	375.00	18.240	0.5753
Papillae height	1615.0 <sup>b</sup>	1473.3 <sup>b</sup>	1975.0 <sup>a</sup>	71.727	0.0048
Rumen wall thickness	1726.7	1731.7	1623.3	106.043	0.9062
Thickness of tunica muscularis	1616.7	1498.3	1525.0	76.624	0.8224
Thickness epithelial tissue	386.7 <sup>a</sup>	183.3 <sup>b</sup>	196.7 <sup>b</sup>	79.624	0.0035
Papillae depth	2293.3	2318.3	1885.0	99.670	0.1359
Papillae thickness	407.67	506.67	526.67	33.451	0.3092
Papillae height	2570.0	2496.7	2105.0	105.631	0.1556

SEM: خطای معیار میانگین؛ شاهد: قادر هر گونه افزودنی، بافر: بی کربنات سدیم، باکتری-مخمر: مگاسپرا السدنی + ساکارومایسیس سرویسیه

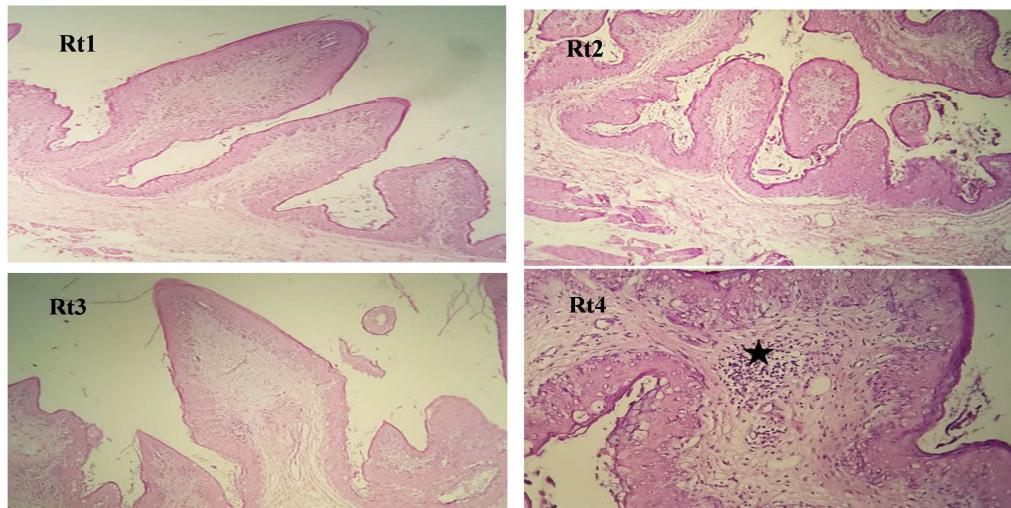
a-b: تفاوت میانگین‌های در هر ردیف با حروف متفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ). a-b

SEM: standard error of means; Control treatment = without any supplementation, Bicarbonate buffer treatment = sodium bicarbonate supplementation, Me+Sc treatment = *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae*  
a,b: Means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).



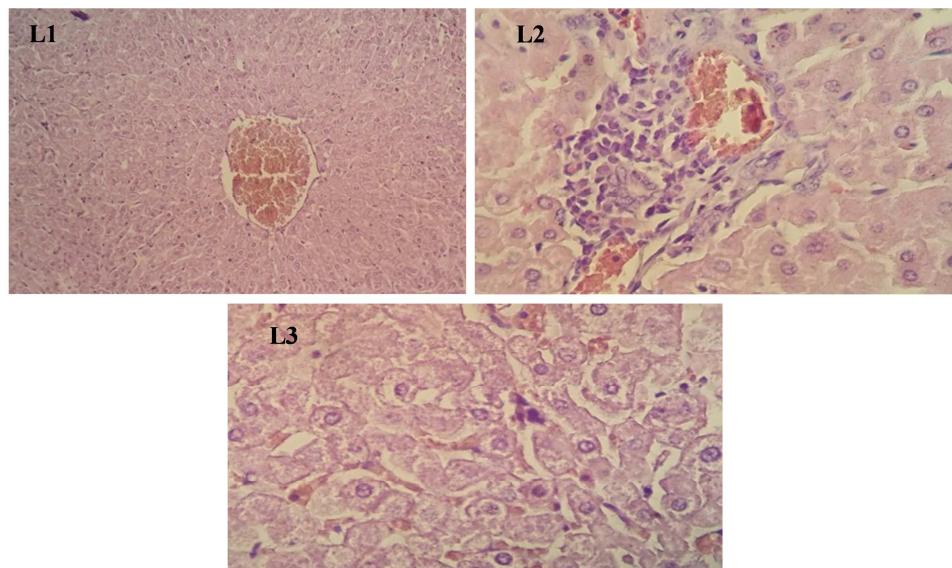
شکل ۱. هیستوپاتولوژی شکمبه R: R1 تیمار دریافت‌کننده بافر بی کربنات سدیم، R2 تیمار شاهد، R3 تیمار دریافت‌کننده باکتری-مخمر، (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگنمایی  $\times 40$ ). R4: نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگنمایی  $\times 100$ ). تصاویر R1-R4 نشان می‌دهند که پرزهای شکمبه ساختار طبیعی خود را حفظ کرده‌اند و قادر آثار پاتولوژیک هستند و در تصویر R4 سلول‌های التهابی در پارین مخاط پر شکمبه (ستاره) مشاهده می‌شوند.

Figure 1. Histopathology of rumen (R): R1; Control treatment, R2; Bicarbonate buffer treatment, R3; *Megasphaera elsdenii* + *Saccharomyces cerevisiae* treatment. (Hematoxylin-Eosin staining, X40). R4; Infiltration of mononuclear inflammatory cells. (Hematoxylin-Eosin staining, X100). Images R1-R4 show that the ruminal villi have kept their natural structure and lacking pathological affects, and in the R4 image the inflammatory cells were observed into lamina propria of the ruminal villi (star).



شکل ۲. هیستوپاتولوژی نگاری Rt: Rt1 تیمار شاهد، Rt2 تیمار دریافت‌کننده بافر بی کربنات سدیم، Rt3 تیمار دریافت‌کننده باکتری-مخمر. (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگنمایی  $\times 40$ ). Rt4. نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگنمایی  $\times 100$ ). تصاویر Rt1-Rt4 نشان می‌دهند که پرزهای نگاری ساختار طبیعی خود را حفظ کرده‌اند و قادر آثار پاتولوژیک هستند و در تصویر Rt4 سلول‌های التهابی در پارین مخاط پر نگاری (ستاره) مشاهده می‌شود.

Figure 2. Histopathology of reticulum (Rt): Rt1; Control treatment, Rt2; Bicarbonate buffer treatment, Rt3; *Megasphaera elsdenii* + *Saccharomyces cerevisiae* treatment. (Hematoxylin-Eosin staining. X40). Rt4; Infiltration of mononuclear inflammatory cells. (Hematoxylin-Eosin staining. X100). Images R1-R4 show that the reticulum villi have kept their natural structure and lacking pathological affects, and in the R4 image the inflammatory cells were observed into lamina propria of the reticulum villi (star).



شکل ۳. هیستوپاتولوژی کبد L: L1؛ پرخونی مرکزی مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگنمایی  $\times 40$ )، L2 نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای اعم از لنفوцит و پلاسماسل در ناحیه پورت و پرخونی مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگنمایی  $\times 100$ )، L3؛ اتساع سینوزئیدی و تغییرات دثنا‌تیو هپاتوسیت‌ها و پرخونی سینوزئیدها مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگنمایی  $\times 400$ )

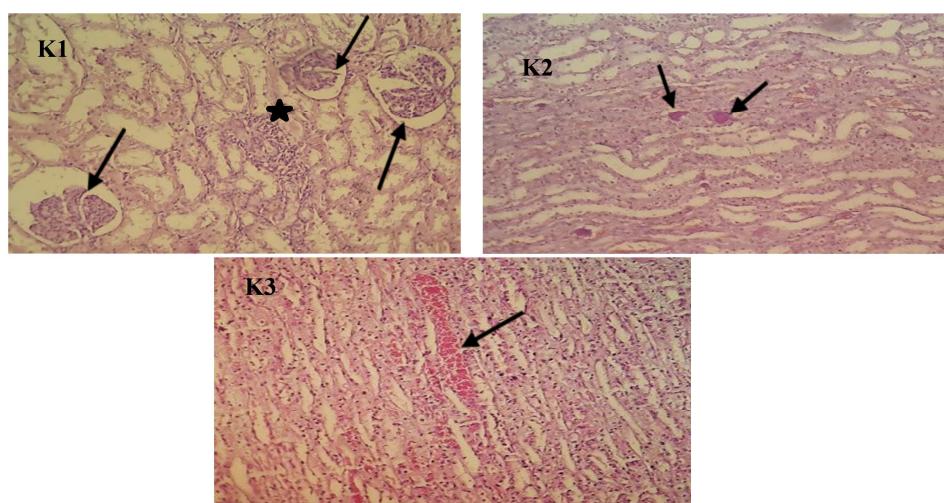
Figure 3. Histopathology of Liver (L): L1; Central vein congestion was observed, (Hematoxylin-Eosin staining X40). L2; Infiltration of mononuclear inflammatory cells including lymphocytes and plasma cells in the portal region (Periportal Hepatitis) and congestion were observed, (Hematoxylin-Eosin staining X100). L3; Sinusoidal distension, degenerative changes of hepatocytes and sinusoidal congestion were observed (Hematoxylin-Eosin staining X400).

است، حتی اگر آسیب ماهیت تحت بالینی داشته باشد (Joz-Ghasemi *et al.*, 2018). در آزمایش حاضر آنزیم‌های کبدی (جدول ۳) در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداده‌اند، اما کاهش آنزیم AST در تیمارهای تنظیم‌کننده pH را می‌توان از نتایج مثبت آزمایش حاضر تلقی کرد. در آزمایشی مقدار آنزیم‌های کبدی در بردهای پرواری در تیمارهای دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر از تیمار شاهد کمتر بود (Khorasani *et al.*, 2020) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. طبق DeClerck *et al.* (Khorasani *et al.*, 2021) و بردهای پرواری (al., 2020) باعث کاهش ضایعات التهابی در دامهای مصرف‌کننده عوامل تنظیم‌کننده pH شده است.

#### هیستوپاتولوژی کلیه

در بررسی هیستوپاتولوژیک کلیه (شکل ۴) در تیمار شاهد پرخونی بهویژه در ناحیه مدوله، اتساع لوله‌های ادراری و تغییرات دژنراتیو مانند تورم ابری و نکروز لوله‌های ادراری و اتساع فضاهای ادراری در گلومرول‌های بخش قشری و کستهای بازوфیلیک (احتمالاً ناشی از رسوب مواد معدنی) در داخل لوله‌های بخش مدوله مشاهده شد.

با استفاده از تلقیح درون شکمبه‌ای دانه‌های خرد شده برنج و ایجاد اسیدوز شکمبه به صورت تجربی، نفوذ سلول‌های التهابی به بافت شکمبه، نگاری، هزارلا و شیردان و پوسته پوسته شدن بافت پوششی دیواره شکمبه مشاهده شده است (Rose, 1989). در شرایط اسیدوز بافت پوششی به دلیل پاراکراتوز برای باکتری‌ها و اندوتوکسین (لیپوپلی ساکاریدها- LPS) قابل نفوذ می‌باشد که پس از این نفوذ و جابجایی می‌تواند باعث آبسه‌های کبدی و التهاب شود (Meissner *et al.*, 2017). در واقع، اسیدوز شکمبه یکی از دلایل تحریک‌کننده ایجاد آبسه‌های کبدی در نشخوارکنندگان است و آنزیم‌های کبدی (جدول ۳) به عنوان شاخصی از سلامت کبد در نشخوارکنندگان می‌باشند. این آنزیم‌ها دارای فعالیت بالایی در سیتوزول سلول‌های کبدی هستند و با نکروزشدن و یا آسیب‌های حد و مزمن سلول‌های کبدی، سطح سرمی این آنزیم‌ها در سرم به دلیل تراوش به خون افزایش می‌یابد (Russell & Roussel, 2007). آسپارتات ترانس آمیناز (AST) یکی از آنزیم‌های کبدی است که در شرایط آسیب کبدی افزایش می‌یابد (Azimpour *et al.*, 2014) و افزایش فعالیت در سرم خون شاخص مهمی برای آسیب کبدی AST



شکل ۴. هیستوپاتولوژی کلیه: K1؛ آتروفی گلومرولی همراه با افزایش فضاهای ادراری در گلومرول‌ها و حضور سلول‌های التهابی در بخش قشری (ستاره)، مشاهده شد. K2؛ اتساع لوله‌های ادراری و کستهای بازوفیلیک که احتمالاً ناشی از رسوب مواد معدنی در داخل لوله‌های ادراری است مشاهده شد. K3؛ پرخونی در ناحیه مدوله مشاهده شد (رنگ آمیزی هماتوكسیلین-ائوزین و بزرگنمایی ۴۰×).

Figure 2. Histopathology of kidney: K1; Glumerolar atrophy with increased urinary spaces of glumeroli were observed. K2; Distension of urinary tubules and basophilic casts probably due to mineral precipitations were observed into the urinary tubules, K3; Congestion in the medulla was seen as well. (Hematoxylin-Eosin staining. X40).

جدول ۳. غلظت آنزیم‌های کبدی خون و pH مایع شکمبه در برههای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی  
Tables 3. The concentration of blood liver enzymes and rumen fluid pH in sheep fed with diets

Variables	Treatment			SEM	P-value
	Control	Buffer	Me+Sc		
pH <sup>1</sup>	6.54 <sup>b</sup>	6.87 <sup>a</sup>	6.80 <sup>a</sup>	0.0654	0.0257
Liver enzymes (U/L) <sup>2</sup>					
AST (SGOT)	73.00	57.00	68.00	12.315	0.9130
ALT (SGPT)	17.500	22.00	30.500	3.792	0.4599

SEM: خطای معیار میانگین؛ تیمار شاهد: فاقد هر گونه افزودنی، تیمار بافر: بی کربنات سدیم، تیمار باکتری-مخمر: مگاسفرا/السدنی+ساکرومایسیس سرویسیه

۱. pH ۳ ساعت بعد از خوراک دهی صبح

۲. AST=آسپارتات ترانس آمیناز، ALT=alanine aminotransferase

۳. تفاوت میانگین‌های در هر ردیف با حروف متفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) می‌باشد.

SEM: standard error of means; Control treatment= without any supplementation, Buffer treatment = sodium bicarbonate supplementation, Me+Sc treatment = *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae*

1. Three hours after morning feeding

2. AST= aspartate aminotransferase; ALT= alanine aminotransferase

a, b: Means with different superscripts in the same row differ significantly ( $P < 0.05$ ).

شکمبه‌ای همراه با انبویی از تظاهرات سیستمیک مانند اسهال، کمبود آب بدن، آبسه‌های کبدی، افزایش شیوع التهاب، عفونت‌های ریه، قلب و کلیه، علائم عصبی به دلیل اثر مستقیم لاکتات بر سلول‌های عصبی مشاهده می‌شود (Hernández *et al.*, 2014) از طرفی تغذیه دستی یا در هنگام چرای گیاهانی مانند برها و گل ابریشم که در خوزستان به وفور دیده می‌شود و دارای تانن، اگزالات و سایر متabolیت‌های ثانویه هستند، می‌توانند اثر برگشت ناپذیری را بر بافت کلیه دام‌ها داشته باشند. در واقع رسوبات کلسیم در توبول‌های ادرای و پرخونی گلومرول‌ها را می‌توان به اگزالات موجود در گیاه برها نسبت داد که تشکیل این بلورها علاوه بر دیتراسیون توبول‌های کلیوی و به دنبال آن مرگ سلول‌ها باعث کاهش فیلتراسیون در کلیه‌ها می‌شود (EL-Khodery *et al.*, 2008; Hovda *et al.*, 2010) لذا این احتمال وجود دارد که نتایج مربوط به کلیه‌ها بیشتر ناشی از رفتار تغذیه‌ای گذشته دام‌های مورد آزمایش باشد که البته به طور قطعی مشخص نیست و نیاز به بررسی دارد.

#### نتیجه گیری کلی

مطالعات بافت‌شناسی انجام‌شده در آزمایش حاضر، تأثیر جیره‌های پر کنسانتره را بر سلامت بافت‌های حیاتی که با آزمایش‌های معمول عملکردی قبل تشخیص نمی‌باشند را آشکار کرد. در واقع عوامل تنظیم‌کننده pH نظری بافر و بهویژه ترکیب باکتری-مخمر، با افزایش فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده فیبر (سلولایتیک‌ها)

به علاوه در بخش قشری آتروفی گلومرول‌ها همراه با وسیع شدن فضاهای ادراری نیز مشهود بود. در تیمار دریافت‌کننده بافر، پرخونی گلومرول‌ها، خونریزی، تغییرات دیتراتیو لوله‌های ادراری به شکل تورم ابری و نکروز سلول‌های پوششی لوله‌های ادراری، اتساع لوله‌های ادراری، رسوب مواد پروتئینی در داخل لوله‌های ادراری و نفوذ مختصر سلول‌های التهابی تک هسته‌ای غالباً لنفوسيت در بخش قشری مشاهده شد. در این تیمار کست‌های سلولی و کست‌های بازوپلیک، احتمالاً ناشی از رسوب مواد معنی در لوله‌های ادراری به میزان کم مشاهده شد. در تیمار دریافت‌کننده باکتری-مخمر پرخونی، خونریزی، دیتراسیون لوله‌های ادراری، اتساع لوله‌های ادراری، رسوب مواد پروتئینی، کست‌های سلولی به میزان کمتر مشاهده شد و حضور کست‌های بازوپلیک (احتمالاً ناشی از رسوب مواد معنی) در لوله‌های ادراری مدولاً به فراوانی بود. در بخش قشری علاوه بر تغییرات دیتراتیو ذکر شده در لوله‌های ادراری، تغییرات دیتراتیو در گلومرول‌های کلیوی به شکل آتروفی گلومرول‌ها همراه با اتساع فضاهای ادراری مشاهده شد. لذا، استفاده از جیره‌ی پرکنسانتره باعث ایجاد ضایعات هرچند اندک در کلیه‌ها شد و عوامل تنظیم‌کننده pH باعث کاهش بروز این ضایعات شدند. تحقیقات بسیار اندکی در خصوص هیستوپاتولوژی کلیه در شرایط اسیدوز موجود است، اما به طور کلی وققی که حیوانات مقدار زیادی کربوهیدرات غیر ساختمانی با NDF کم مصرف می‌کنند؛ پاراکراتوز

نیز داشته باشد که البته باید مورد آزمایش قرار گیرد. لذا، استفاده از افزودنی‌های بیولوژیکی با اثر همانند بافرهای شیمیایی، جهت تعديل pH شکمبه در جیره‌های با کنسانتره زیاد توصیه می‌شود.

شرایط تخمیری در شکمبه را تعديل داده و آرامش و سلامت بیشتری را برای دام فراهم می‌آورد که می‌تواند در بهبود هضم و عملکرد دام نیز مؤثر باشد و حتی ممکن است آثار مثبتی را بر صفات کیفی گوشت دام

## REFERENCES

- Aschenbach, J. R., Borau, T. & Gäbel, G. (2002). Glucose uptake via SGLT-1 is stimulated by  $\beta$ 2-adrenoceptors in the ruminal epithelium of sheep. *The Journal of Nutrition*, 132(6), 1254-1257.
- Aschenbach, J. R., Penner, G. B., Stumpff, F. & Gäbel, G. (2011). Ruminant nutrition symposium: role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. *Journal of Animal Science*, 89(4), 1092-1107.
- Aschenbach, J. R., Zebeli, Q., Patra, A. K., Greco, G., Amasheh, S. & Penner, G. B. (2019). Symposium review: The importance of the ruminal epithelial barrier for a healthy and productive cow. *Journal of Dairy Science*, 102(2), 1866-1882.(1)
- Azimpour, S., Shaghayegh, A. & Gholam Hosseini, B. (2014). The effect of hypervitaminosis A on the liver of newborn lambs. *Journal of Veterinary Clinical Research*, 5(2), 1-8. (In Farsi)
- Calsamiglia, S., Blanch, M., Ferret, A. & Moya, D. (2012). Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? causes and tools for its control. *Animal Feed Science and Technology*, 172(1-2), 42-50.
- DeClerck, J. C., Wade, Z. E., Reeves, N. R., Miller, M. F., Johnson, B. J., Ducharme, G. A. & Rathmann, R. J. (2020) Influence of *Megasphaera elsdenii* and feeding strategies on feedlot performance, compositional growth, and carcass parameters of early weaned, beef calves. *Translational Animal Science*, 4(2), 863-875.
- EL-Khodery, S., EL-Boshy, M., Gaafar, K. & Elmashad, A. (2008). Hypocalcaemia in Ossimi sheep associated with feeding on beet tops (*Beta vulgaris*). *Turkish Journal Veterinary and Animal Science*, 32(3), 199-205.
- Erdman, R. A., Botts, R. L., Hemken, R. W. & Bull, L. S. (1980). Effect of dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide on production and physiology in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 63(6), 923-930.
- Garcia Diaz, T., Ferriani Branco, A., Jacovaci, F. A., Cabreira Jobim, C., Bolson, D. C. & Pratti Daniel, J. L. (2018). Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep: Ruminal parameters, inflammatory response and rumen morphology. *PloS One*, 13(2), e0193313.
- Hernández, J., Benedito, J. L., Abuelo, A. & Castillo, C. (2014). Ruminal acidosis in feedlot: from aetiology to prevention. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Hovda, K. E., Guo, C., Austin, R. & McMartin K. E. (2010). Renal toxicity of ethylene glycol results from internalization of calcium oxalate crystals by proximal tubule cells. *Toxicology letters*, 192(3), 365-372.
- Joz-Ghasemi, S., Amanlou, H., Dehghan Banadaki, M., & Nagaraja, T. G. (2018). Investigation of the occurrence of liver abscesses in lactating and dry Holstein cows and its effect on some blood parameters and histology of hepatocytes. *Iranian Journal of Animal Science*, 48(4), 473-481.(In Farsi)
- Khan, M. A., Bach, A., Weary, D. M. & Von Keyserlingk, M .A. G. (2016). Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 885-902.
- Khorasani, O., Chaji, M. & Baghban, F. (2021). Effect of chemical buffer and *Megasphaera elsdenii*-yeast on histomorphometry and histopathology of rumen and liver of Arabian fattening lambs fed with concentrated diets. *Animal Production*, 23(1), 47-59.(In Farsi)
- Khorasani, O., Chaji, M., & Baghban, F. (2020). Comparison of the effect of sodium bicarbonate buffer with *Megasphaera elsdenii* as a rumen-consuming acid on growth performance, digestibility, rumen and blood parameters of lambs in high concentrate. *Journal of Animal Science Researches*, 30(2), 85-99.(In Farsi)
- Krause, K. M. & Oetzel, G. R. (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal feed science and technology*, 126(3-4), 215-236.
- Li, G. H., Ling, B. M., Qu, M. R., You, J. M. & Song, X. Z. (2011). Effects of several oligosaccharides on ruminal fermentation in sheep: an in vitro experiment. *Revue de Medecine Veterinaire*, 162(4), 192-197.
- Malekkhahi, M., Tahmasbi, A. M., Naserian, A. A., Danesh-Mesgaran, M., Kleen, J. L., AlZahal, O. & Ghaffari, M. H. (2016). Effects of supplementation of active dried yeast and malate during subacute ruminal acidosis on rumen fermentation, microbial population, selected blood metabolites and milk production in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 213, 29-43.

19. Mashayekhi, M. R., Erfani-majd, N., Sari, M. & Rezaei, M. (2020). Investigating the effects of slow-release urea and molasses on histomorphometric tissue of rumen and abomasum and rumen fermentation parameters of fattening lamb. *Iranian Veterinary Journal*, 16(1), 82-93.(In Farsi)
20. Meissner, S., Hagen, F., Deiner, C., Günzel, D., Greco, G., Shen, Z. & Aschenbach, J. R. (2017). Key role of short-chain fatty acids in epithelial barrier failure during ruminal acidosis. *Journal of Dairy Science*, 100(8), 6662-6675.
21. Montagne, L., Pluske, J. R. & Hampson, D. J. (2003). A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young nonruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*, 108(1-4), 95–117.
22. Newbold, C. J., Wallace, R. J., Chen, X. B. & McIntosh, F. M. (1995). Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *Journal of Animal Science*, 73(6), 1811–1818.
23. Niwińska, B., Hanczakowska, E., Arciszewski, M. B. & Klebaniuk, R. (2017). Exogenous butyrate: implications for the functional development of ruminal epithelium and calf performance. *Journals Animal*, 11(9), 1522-1530.
24. NRC. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. *National Academy Press Washington DC*.
25. Odongo, N. E., AlZahal, O., Lindinger, M. I., Duffield, T. F., Valdes, E. V., Terrell, S. P. & McBride, B. W. (2006). Effects of mild heat stress and grain challenge on acid-base balance and rumen tissue histology in lambs. *Journal of Animal Science*, 84(2), 447-455.
26. Pinloche, E., McEwan, N., Marden, J. P., Bayourthe, C., Auclair, E. & Newbold, C. J. (2013). The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. *PloS one*, 8(7), e67824.
27. Rose, B. D. (1989). Clinical physiology of acid-base and electrolyte disorders (3 rd ed.). *Mc Grow Hill Inc*. Singapore, 261-68, 478- 501.
28. Russell, K. E. & Roussel, A. J. (2007). Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(3), 403-426.
29. Sedighi, R. & Alipour, D. (2019). Assessment of probiotic effects of isolated *Megasphaera elsdenii* strains in Mehraban sheep and Holstein lactating cows. *Animal Feed Science and Technology*, 248, 126-131.
30. Shen, Z., Seyfert, H. M., Löhrke, B., Schneider, F., Zitnan, R., Chudy, A., Kuhla, S., Hammon, HM., Blum, JW., Martens, H. & Hagemeister, H. (2004). An energy-rich diet causes rumen papillae proliferation associated with more IGF type 1 receptors and increased plasma IGF-1 concentrations in young goats. *The Journal of Nutrition*, 134(1), 11-17.
31. Silberberg, M., Chaucheyras-Durand, F., Mialon, M. M., Monteils, V., Mosoni, P., Morgavi, D. P. & Martin, C. (2013). Repeated acidosis challenges and live yeast supplementation shape rumen microbiota and fermentations and modulate inflammatory status in sheep. *Animal, an International Journal of Animal Bioscience*, 7(12), 19-10.
32. Wang, Y. H., Xu, M., Wang, F. N., Yu, Z. P., Yao, J. H., Zan, L. S. & Yang, F. X. (2009). Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats. *Livestock Science*, 122(1), 48-52.
33. Zitnan, R., Kuhla, S., Nurnberg, K., Schonhusen, U., Ceresnakova, Z., Sommer, A., Baran, M., Greserova, G. & Voigt, J. (2003). Influence of the diet on the morphology of ruminal and intestinal mucosa and on intestinal carbohydراse levels in cattle. *Veterinarni Medicina-Praha*, 48(7), 177-182.