تولیدات دامی
دوره ۲۳ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۴۰۰
صفحه‌های ۵۹-۴۷
DOI: 10.22059/jap.2021.307867.623553

مقاله پژوهشی

تأثیر بافر شیمیایی و باکتری *مگاسفرا السدنی*- مخمر بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی شکمبه و کبد بره‌های پرواری عربی تغذیه‌شده با جیره‌های پرکنسانتره

امید خراسانی[۱]، مرتضی چاجی[۲*]، فرشاد باغبان[۳]
۱. دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
۲. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
۳. استادیار، گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج، یاسوج، ایران.
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۵/۱۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۹/۰۴

چکیده
تأثیر افزودنی‌های تنظیم‌کننده pH شکمبه بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی بافت‌های شکمبه-نگاری و کبد با استفاده از ۲۴ رأس بره نر عربی سه تا چهار ماهه با وزن ۳/۱۵±۲۳/۹ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و هشت تکرار در یک دوره آزمایشی ۷۷ روزه بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره شاهد؛ جیره شاهد+ بافر بی‌کربنات سدیم؛ جیره شاهد+ باکتری مگاسفرا السدنی و مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* (باکتری-مخمر) بودند. در پایان آزمایش بره‌ها کشتار شدند و از کبد و دستگاه گوارش آن‌ها نمونه‌گیری شد. ضخامت کل دیواره شکمبه-نگاری در بره‌های دریافت‌کننده بافر بیش‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). ضخامت بافت پوششی شکمبه-نگاری در بره‌های دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر کم‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). ضخامت پرز شکمبه-نگاری در بره‌های شاهد از سایر تیمارها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). ضخامت لایه عضلانی نگاری در بره‌هایی که بافر دریافت کردند از سایر گروه‌ها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). هپاتیت پری‌پورتال به‌طور خفیف در کبد بره‌هایی که باکتری-مخمر دریافت کردند، دیده شد. براساس نتایج این آزمایش، مصرف عوامل تنظیم‌کننده pH به‌ویژه باکتری-مخمر، در بره‌های تغذیه‌شده با مقادیر زیاد مواد متراکم از نظر هیستوپاتولوژی، آسیب‌های بافتی در شکمبه-نگاری و کبد را کاهش و ساختار بافتی شکمبه-نگاری را بهبود می‌بخشد.

کلیدواژه‌ها: آسیب‌های بافتی، بافت پوششی، پرز شکمبه، لایه عضلانی، هپاتیت پری‌پورتال.

Effect of chemical buffer and Megasphaera elsdenii-yeast on histomorphometry and histopathology of rumen and liver of Arabian fattening lambs fed with concentrated diets

Omid Khorasani[1], Morteza Chaji[2*], Farshad Baghban[3]
1. Former Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Azad University of Yasoj, Yasoj, Iran.
Received: August 9, 2020 Accepted: November 24, 2020

Abstract
The aim of this study was to investigate the effect of ruminal pH-adjusting additives on histomorphometry and histopathology of rumen - reticulum and liver tissues. Twenty-four Arabi male lambs with three to four months old and initial body weight of 23.9±3.15 kg were used in a completely randomized design with three treatments and eight replicates in a period of 77 days. The experimental treatments consisted of a control diet, control diet + sodium bicarbonate buffer (buffer), and control diet + Megasphaera elsdenii and *Saccharomyces cerevisiae* (bacterial- yeast). At the end of the experiment, lambs were slaughtered and samples were taken from the liver and gastrointestinal tract for tissue studies. Rumen-reticulum wall thickness in the buffer receiving lambs was greater than that of control group (P<0.05). The thickness of the rumen-reticulum epithelium in the buffer and bacterial-yeast receiving lambs was less than the control group (P<0.05). Rumen-reticulum papillae thickness was higher in control than other treatments (P<0.05). The thickness of reticulum tunica muscularis in the buffer treatment was higher than other treatments (P<0.05). Periportal hepatitis was seen mildly in the liver of bacterial- yeast receiving lambs. In according to the results of the present experiment, the use of pH regulators, especially bacterial-yeast, in lambs fed with high concentrate levels, in terms of histopathology, reduce tissue damages in the rumen- reticulum and liver and improve tissue structure of rumen-reticulum.

Keywords: Epithelium tissue, Muscularis tunica, Periportal hepatitis, Rumen papillae, Tissue damages.

* نویسنده مسئول Email: chaji@asnrukh.ac.ir

۱. مقدمه

تغذیه دام‌ها با جیره‌های با کنسانتره بالا موجب بروز مشکلات متابولیکی نظیر اسیدوز می‌شود. اگرچه تحمل نشخوارکنندگان به اسیدوز تحت حاد، موجب عدم نمایش بالینی بیماری می‌شود، اما این وضعیت در طولانی‌مدت تأثیر منفی بر بافت شکمبه و نگاری می‌گذارد [۲]. مصرف نشاسته و تخمیر آن در شکمبه با تولید اسیدهای چرب فرّار، می‌تواند موجب رشد و تکامل ساختار بافت شکمبه و نگاری شود [۸]. اگرچه تولید بیش‌تر اسیدهای چرب فرّار، موجب افزایش جذب آن‌ها از پرزها و چین‌های شکمبه و نگاری می‌شود، اما تجمع ناگهانی اسیدهای چرب فرّار در شکمبه منجر به کاهش pH شکمبه و تغییرات بافتی آن می‌شود [٦ و ۳۰]. در کل، جذب از شکمبه و نگاری به ساختار مرفولوژیکی آن بستگی دارد و تغییر در مرفولوژی زمینه‌ساز اختلال در اعمال بافت‌های مذکور است [۳۰].

تشخیص اسیدوز شکمبه و در نتیجه درمان آن نیز دشوار است و در بیش‌تر موارد، درمان چندان مؤثر نیست. به‌طورکلی، اساس بر پیش‌گیری است و اقدامات پیش‌گیرانه باید مبتنی بر مدیریت تغذیه باشد. از جمله راه‌کارها برای پیش‌گیری، استفاده از پروبیوتیک‌ها مانند مخمر زنده و پروتئین‌های مشتق‌شده از دیواره سلول خارجی مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* است که به‌عنوان تعدیل‌کننده سیستم ایمنی نشخوارکننده شناخته شده‌اند [۱۰]. تأثیرات احتمالی این افزودنی‌های میکروبی بر دستگاه گوارش از طریق تنظیم pH شکمبه و ایمنی بدن می‌باشد که برای بهبود هضم، عملکرد و سلامتی حیوانات مفید است [٢٦]. مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* می‌تواند جمعیت *مگاسفرا السدنی* را توسعه و استفاده از لاکتات را افزایش دهد. به‌علاوه، مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* به رشد و فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز، باکتری‌های مصرف‌کننده لاکتات (*مگاسفرا السدنی* و *سلنوموناس رومینانتیوم*) و پروتوزآهای شکمبه کمک می‌کند [۱۹].

استفاده از بافر بی‌کربنات سدیم در جیره دام‌ها، از راه‌های مختلف آسیب‌های حاصل از بروز اسیدوز حاد و تحت حاد شکمبه‌ای را کاهش می‌دهد [۵]. کاهش pH شکمبه در اثر تجمع ناگهانی اسیدهای چرب فرّار ناشی از مصرف کنسانتره زیاد، باعث تغییر فلور میکروبی شکمبه از باکتری‌های غالباً گرم منفی به باکتری‌های غالباً گرم مثبت تولیدکننده اسید لاکتیک می‌شود. هم‌زمان با این تغییر در pH و فلور میکروبی شکمبه، اندوتوکسین‌هایی از دیواره خارج سلولی باکتری‌های گرم منفی (لیپوپلی‌ساکاریدها) در حال مرگ و در حال تجزیه در شکمبه آزاد می‌شود که دام را برای بروز مشکلات بعد از اسیدوز از قبیل لنگش و آبسه‌های کبدی مستعد می‌کند. این اندوتوکسن‌ها از دیواره شکمبه آسیب دیده به داخل خون راه می‌یابند [۲۸]. استفاده از مخمر و ترکیبات فعال زیستی دیگر نظیر باکتری‌های مصرف‌کننده اسید لاکتیک در مقایسه با بافرهای شیمیایی می‌تواند در کاهش التهاب ناشی از اسیدوز مؤثر باشد [۳].

اگر با استفاده از یک ماده قابل دسترس نظیر بافرهای شیمیایی (مثل بی‌کربنات سدیم) یا مواد بیولوژیکی (نظیر باکتری‌های مصرف‌کننده اسید و غیره) با حفظ سلامت شکمبه، محیطی مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها تأمین شود، هزینه‌های افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک بهبود می‌یابد و از سوی دیگر، از بروز مشکلات بعدی نظیر لنگش و یا مشکلاتی که ممکن است تا زمان کشتار مشخص نشود، مانند آبسه‌های کبدی، جلوگیری می‌شود [۳].

بررسی‌های انجام‌شده نشان داده است که تاکنون درباره تأثیر افزودنی‌های میکروبی از جمله *مگاسفرا السدنی* با مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* (باکتری-مخمر) در بره‌های پرواری تغذیه‌شده با جیره‌های پر

کنسانتره بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی بافت شکمبه، نگاری و کبد دام مطالعه‌ای انجام نشده است. بنابراین استفاده از جیره‌های پر کنسانتره، از یک طرف ممکن است باعث تقویت رشد پرزها و میکروپرزهای شکمبه-نگاری شوند و از طرف دیگر با کاهش pH و تأثیر بر جمعیت میکروبی و تخمیر در شکمبه، باعث تخریب آن‌ها شوند. لذا، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر مقایسه‌ای بافر بی‌کربنات سدیم با ترکیب باکتری- مخمر بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی بافت شکمبه، نگاری و کبد بره‌های پرواری تغذیه‌شده با مقدار زیاد کنسانتره بود.

۲. مواد و روش‌ها

در آزمایش حاضر از ۲٤ رأس بره نر عربی سه یا چهار ماهه با وزن اولیه ۳/۱۵±۲۳/۹ کیلوگرم استفاده شد. طول دوره آزمایش ۷۷ روز شامل ۱٤ روز دوره عادت‌پذیری و ٦۳ روز رکوردبرداری بود. قبل از آغاز پژوهش همه بره‌ها برای انگل‌های بیرونی (یک میلی‌لیتر آزانتول ۱۰ درصد در هفت لیتر آب به‌روش اسپری؛ شرکت بایر آلمان) و انگل‌های داخلی (تریکل البندازول با لوامیزل، ۱۲ میلی‌لیتر برای هر گوسفند؛ شرکت دارو پخش ایران) و برای مقابله با انتروتوکسمی (سه میلی‌لیتر برای هر بره، مؤسسه تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی؛ ایران) واکسینه شدند. بره‌ها در قفس‌های متابولیکی (۱/۲×۱/٤ متر) نگهداری شدند.

بره‌ها به‌صورت تصادفی به یکی از سه تیمار شامل شاهد (فاقد افزودنی)، جیره شاهد+ بافر (یک درصد جیره روزانه به‌صورت سرک در دو وعده غذایی؛ تهیه‌شده از شرکت کیمیا سپاهان اصفهان)، جیره شاهد+ مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* (دو گرم در روز به‌ازای هر دام؛ تهیه‌شده از شرکت خمیر مایه خوزستان-دزفول) به‌صورت محلول با باکتری مگاسفراالسدنی (سه میلی‌لیتر به‌ازای هر دام حاوی $٤/٥\times١٠^{٨}$ cfu/ml؛ جداسازی و تهیه‌شده از بز نجدی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان) در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر که هر روز صبح به هر دام خورانده شد [۲٤]. شرایط تغذیه و مدیریت پرورش بره‌های انتخاب‌شده قبل از آزمایش یکسان بود. جیره بره‌ها با استفاده از جدول احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک [۱۷] تنظیم شدند و به‌صورت کاملاً مخلوط به نسبت ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره در دو نوبت (ساعت هشت صبح و چهار عصر) در حد اشتها به‌همراه دسترسی آزاد به آب در اختیار بره‌ها قرار گرفت (جدول ۱).

مایع شکمبه در ساعات صفر (قبل از خوراک‌دادن)، سه و شش ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح، در هفته ششم دوره آزمایش جهت تعیین pH توسط لوله معدی از دام‌ها گرفته شد، و پس از حذف ۵۰ میلی‌لیتر اول، اندازه‌گیری pH با استفاده از pH متر دیجیتال (WTW مدل ۳۱۱۰، آلمان) انجام شد [۳]. سپس، مایع شکمبه به‌وسیله پارچه نخی چهارلایه صاف شد، جهت تجزیه اسیدهای چرب فرّار، پنج میلی‌لیتر مایع شکمبه با دو میلی‌لیتر متافسفریک اسید (w/v) ۲۵ درصد مخلوط و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان تجزیه نگهداری شد. غلظت اسیدهای چرب فرّار به‌روش گاز کروماتوگرافی (دستگاه GC، مدل YL6100، ساخت کره جنوبی) با استفاده از ستون مویین سلیکون (CP-Wax Chrompack Capillary Column; Varian, Palo Alto, CA, USA)، گاز هلیوم به‌عنوان حامل و با استفاده از استاندارد داخلی اسید کروتونیک، در آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد اندازه‌گیری شد [۱۲].

در پایان آزمایش از هر تیمار سه رأس بره که به میانگین وزن تیمارها نزدیک بود، انتخاب و کشتار شدند.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه

اقلام خوراکی	(درصد)
یونجه	۲۰/۱
کاه گندم	۹/۹
دانه جو	۳۰
دانه ذرت	۲۱
کنجاله سویا	۱۲/۳۵
سبوس گندم	۵/۵
کربنات کلسیم	۰/٤
نمک	۰/۲۵
مکمل ویتامین- مواد معدنی[1]	۰/۵
ترکیبات شیمیایی محاسبه‌شده	
ماده خشک (درصد)	۸۹/۱
ماده آلی (درصد)	۹٤/۸
خاکستر (درصد)	۵/۱۷
پروتئین خام (درصد)	۱٦/۱
عصاره اتری (درصد)	۲/۷
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)[2]	۲/٦۵
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۲۹
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)	۱٦/۵
کربوهیدارت های غیر الیافی[3] (درصد)	٤۷/۰۳

۱. هر کیلوگرم مکمل ویتامین- مواد معدنی حاوی ۵۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰هزار واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۱۸۰ گرم کلسیم، ٦۰ هزار میلی‌گرم، فسفر، ٦۰ هزار میلی‌گرم سدیم، ۱۹ هزار میلی‌گرم منیزیم، ۳ هزار میلی‌گرم روی، ۳ هزار میلی‌گرم آهن، ۱۹ هزار میلی گرم منگنز، ۳۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم کروم، ۱ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم ید، ٤۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدانت.

۲. محاسبه‌شده از اجزای تشکیل‌دهنده جیره براساس منبع موجود [۱۷]

3. NFC=100 – (%NDFom+%crude protein+%ether extract+%ash)

سپس، بلافاصله محوطه شکمی باز و دستگاه گوارش از ناحیه مری تا انتهای قولون جدا و خارج شد. پس از برطرف‌کردن مواد هضمی و شست‌وشوی شکمبه و نگاری با آب مقطر، یک سانتی‌مترمربع از ناحیه شکمی شکمبه و نگاری جدا و با محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH برابر ۷/٤ شست‌وشو و در محلول ۱۰ درصد فرمالین خنثی تثبیت شد. نمونه‌هایی به ابعاد یک سانتی‌متر مربع از کبد نیز جدا و هریک از نمونه‌ها به‌طور جداگانه در ظروف درب بسته حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند [٦].

پس از ۲٤ 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 به‌صورت عرضی در پارافین قالب‌گیری و با کمک میکروتوم چرخان، مقاطعی به ضخامت پنج میکرومتر تهیه و با استفاده از هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی شدند [۲۹] و تغییرات بافتی در بزرگ‌نمایی‌های مختلف با استفاده از میکروسکوپ Nikon (مدل NY100 ساخت ژاپن) با عدسی‌های مدرج و کالیبره‌شده، اندازه‌گیری 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 نظیر ضخامت بافت پوششی، لایه عضلانی و ضخامت کل دیواره شکمبه و نگاری روی نمونه‌ها انجام شد.

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/٤) رویه خطی عمومی (GLM) تجزیه (رابطه ۱) و مقایسه میانگین‌ها به‌کمک آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد مقایسه شدند:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در این رابطه، Y_{ij}، مقدار مشاهده شده؛ μ، میانگین جامعه؛ T_i، اثر تیمار iام و ε_{ij}، خطای آزمایش است.

۳. نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای آزمایشی شامل بافر سدیم بی‌کربنات و

باکتری–مخمر بر ساختار هیستومورفومتری شکمبه و نگاری در جدول (۲) آمده است. ضخامت کل دیواره و ضخامت لایه عضلانی نگاری در بره‌های دریافت‌کننده بافر بیش‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). ضخامت بافت پوششی و ضخامت پرز نگاری در بره‌هایی که بافر و باکتری–مخمر دریافت کردند کم‌تر بود (P<۰/۰۵). تفاوتی در سایر شاخص‌های نگاری بین تیمارها مشاهده نشد. ضخامت کل دیواره شکمبه در بره‌های دریافت‌کننده بافر سدیم بی‌کربنات و باکتری–مخمر بیش‌تر از گروه شاهد بود و در بره‌های دریافت‌کننده بافر نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). ضخامت بافت پوششی شکمبه در بره‌های دریافت‌کننده بافر و باکتری–مخمر کم‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). ضخامت پرز شکمبه در گروه شاهد از سایر تیمارها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). بین سایر شاخص‌های شکمبه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. ارتفاع پرز شکمبه و نگاری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما ارتفاع پرزهای شکمبه در گروه شاهد به‌صورت عددی بیش‌تر از بره‌های دریافت‌کننده بافر و باکتری–مخمر بود.

در آزمایش حاضر ضخامت بافت پوششی شکمبه–نگاری و ضخامت پرز در تیمار شاهد افزایش یافت. تولید بیش از حد اسیدهای چرب فرّار در جیره‌های با کنسانتره بالا منجر به رشد کنترل‌نشده سلول‌های لایه شاخی بافت پوششی و در نهایت ایجاد پاراکراتوزیس در سطح دیواره شکمبه می‌شود.

جدول ۲. تأثیر بافر و باکتری–مخمر بر هیستومورفومتری شکمبه و نگاری در بره‌های پرواری

اجزای بافت (میکرون)	تیمارها			SEM	P-value
	شاهد	بافر	باکتری–مخمر		
نگاری					
ضخامت کل دیواره	۲۶۴۵/۰^{b}	۳۰۲۰/۰^{a}	۲۹۴۵/۱^{ab}	۶۸/۳۲	۰/۰۵
ضخامت لایه عضلانی	۲۰۹۱/۷^{b}	۲۵۶۰/۰^{a}	۲۲۸۰/۱^{ab}	۶۸/۹۸	۰/۰۱
ضخامت بافت پوششی	۱۰۷/۸۵^{a}	۶۸/۸۵^{b}	۷۶/۷۱^{b}	۵/۰۱	۰/۰۰۰۶
عمق پرز	۶۹۱/۶۷	۵۹۸/۵۷	۷۲۵/۱۴	۳۹/۸۸	۰/۴۲
ضخامت پرز	۳۴۶/۴۳^{a}	۲۳۱/۶۷^{b}	۲۸۰/۱۴^{ab}	۱۸/۸۵	۰/۰۳
ارتفاع پرز	۹۰۵/۷	۹۷۵/۱	۹۷۸/۴	۴۰/۰۴	۰/۰۷
شکمبه					
ضخامت کل دیواره	۲۰۷۰/۸^{b}	۲۳۱۴/۰^{a}	۲۲۴۶/۹^{ab}	۴۸/۳۵	۰/۱۰
ضخامت لایه عضلانی	۱۶۲۹/۲	۱۸۰۴/۲	۱۵۴۰/۷	۶۲/۳۱	۰/۲۲
ضخامت بافت پوششی	۱۸۷/۱^{a}	۱۴۵/۰^{b}	۱۱۵/۷^{b}	۱۰/۱۴	۰/۰۰۷
عمق پرز	۱۷۳۸/۰	۲۱۵۰/۰	۱۸۵۵/۰	۱۱۰/۱۶	۰/۵
ضخامت پرز	۵۱۶/۸۶^{a}	۴۱۸/۶۷^{b}	۳۴۱/۶۷^{c}	۲۳/۰۷	۰/۰۰۰۸
ارتفاع پرز	۲۷۳۴/۳	۲۳۱۷/۸	۲۳۱۰/۰	۱۲۱/۵۹	۰/۲۴

a-c: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف متفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشد.

SEM: خطای معیار میانگین‌ها.

پاراکراتوزیس موجب ایجاد سد فیزیکی در برابر خطرات اسید، کاهش سطح جذب مؤثر، کاهش جریان خون اپیتلیال و کاهش حرکات شکمبه می‌شود، در واقع افزایش کراتینه‌سازی، همراه با pH پایین، فعالیت پاپیلای شکمبه برای جذب اسیدهای چرب فرّار را کاهش می‌دهد [۷]. بنابراین، در آزمایش حاضر افزایش ضخامت بافت پوششی شکمبه نگاری و افزایش ضخامت پرز در تیمار شاهد را می‌توان نتیجه افزایش اسیدهای چرب فرّار و کاهش pH (جدول ۳) و کراتینه شدن و شاخی‌شدن بافت پوششی شکمبه دانست که با نتایج آزمایش‌های سایر پژوهش‌گران در جیره‌های با کنسانتره بالا مطابقت دارد [۱ و ۲۸].

اما در تیمارهای دریافت‌کننده تنظیم‌کننده pH، به‌ویژه تیمار باکتری-مخمر، ضخامت پرز و ضخامت بافت پوششی در شکمبه-نگاری کاهش معنی‌دار یافت. از جمله دلایل آن، تولید بیش‌تر اسیدچرب استات (جدول ۳) در نتیجه فعالیت بیش‌تر باکتری‌های سلولایتیک [۱۳]، هم‌چنین کاهش محسوس اسیدچرب بوتیرات نسبت به گروه شاهد (جدول ۳) بود که نقش اساسی در رشد طولی پرزها در شرایط اسیدوز دارند [۱۶]. افزایش تولید بوتیرات و پروپیونات در اثر مصرف جیره با کنسانتره بالا باعث افزایش اندازه و تراکم پرزهای شکمبه می‌شود [۲۵]. پژوهش‌های نیز نشان داده‌اند که رژیم‌های غذایی با کنسانتره دانه‌ای بالا به‌طور قابل‌توجهی تعداد و اندازه پرزهای شکمبه را افزایش می‌دهد [۱ و ۱۶].

جدول ۳. تأثیر بافر و باکتری-مخمر بر غلظت اسیدهای چرب فرّار و pH مایع شکمبه و آنزیم‌های کبدی خون در بره‌های پرواری

متغیرها	تیمارها			SEM	P-value
	شاهد	بافر	باکتری-مخمر		
مجموع اسیدهای چرب فرّار (میلی‌مول در لیتر)	۱۰۶/۶۰^{b}	۱۰۷/۴۶^{b}	۱۴۱/۸۹^{a}	۶/۱۶	۰/۰۰۱
اسیدهای چرب فرّار (میلی‌مول در لیتر)					
استات	۵۰/۵۵^{b}	۵۹/۲۹^{b}	۷۰/۰۷^{a}	۳/۱۹	۰/۰۱
پروپیونات	۲۸/۵۵^{b}	۲۶/۶۵^{b}	۵۸/۱۸^{a}	۵/۲۷	۰/۰۰۰۲
ایزوبوتیرات	۱/۴۸^{a}	۰/۵۲^{b}	۰/۴۶^{b}	۰/۱۸	۰/۰۱
بوتیرات	۱۹/۳۸^{a}	۱۶/۲۷^{ab}	۹/۹۲^{b}	۱/۹	۰/۱
ایزووالرات	۱/۷۳^{a}	۰/۵۷^{b}	۰/۶۷^{b}	۰/۲۲	۰/۰۳۲
والرات	۳/۰^{a}	۱/۸۲^{b}	۱/۳۸^{b}	۰/۲۵	۰/۰۰۰۶
نسبت استات به پروپیونات	۱/۸۹^{ab}	۲/۳۳^{a}	۱/۲۰^{b}	۰/۲۱	۰/۰۸
pH (ساعت)					
صفر	۷/۰۴	۷/۰۰	۷/۰۷	۰/۰۴۹	۰/۸۶
۳	۶/۰۷	۶/۱۲	۶/۱۰	۰/۰۴۲	۰/۹۱
۶	۶/۴۴	۶/۴۵	۶/۳۲	۰/۰۴۴	۰/۴۱
آنزیم‌های کبدی (واحد بین‌المللی در لیتر)					
آسپارتات ترانس آمیناز	۷۸/۱۳	۸۰/۸۰	۶۹/۶۶	۲/۴۵	۰/۱۵
آلانین آمینو ترانسفراز	۱۷/۲۶	۱۶/۳۳	۱۶/۲۶	۰/۷۴	۰/۸۳

a-c: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف متفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشد.

SEM: خطای معیار میانگین‌ها.

با مصرف کنسانتره بالا در بره‌ها، افزایش ارتفاع و تراکم پرزهای شکمبه گزارش شده است [۱۸]. در واقع بوتیرات و پروپیونات هر دو فعالیت میتوزی در پرزها را افزایش می‌دهند، اما گسترش این فعالیت‌ها در بوتیرات قوی‌تر است [۱٦]. به‌طور کلی، اندازه، سطح و سایر خصوصیات پرزها به‌طور عمده تحت تأثیر اسیدهای چرب فرّار، به‌ویژه پروپیونات و بوتیرات و pH قرار دارند [۲۵].

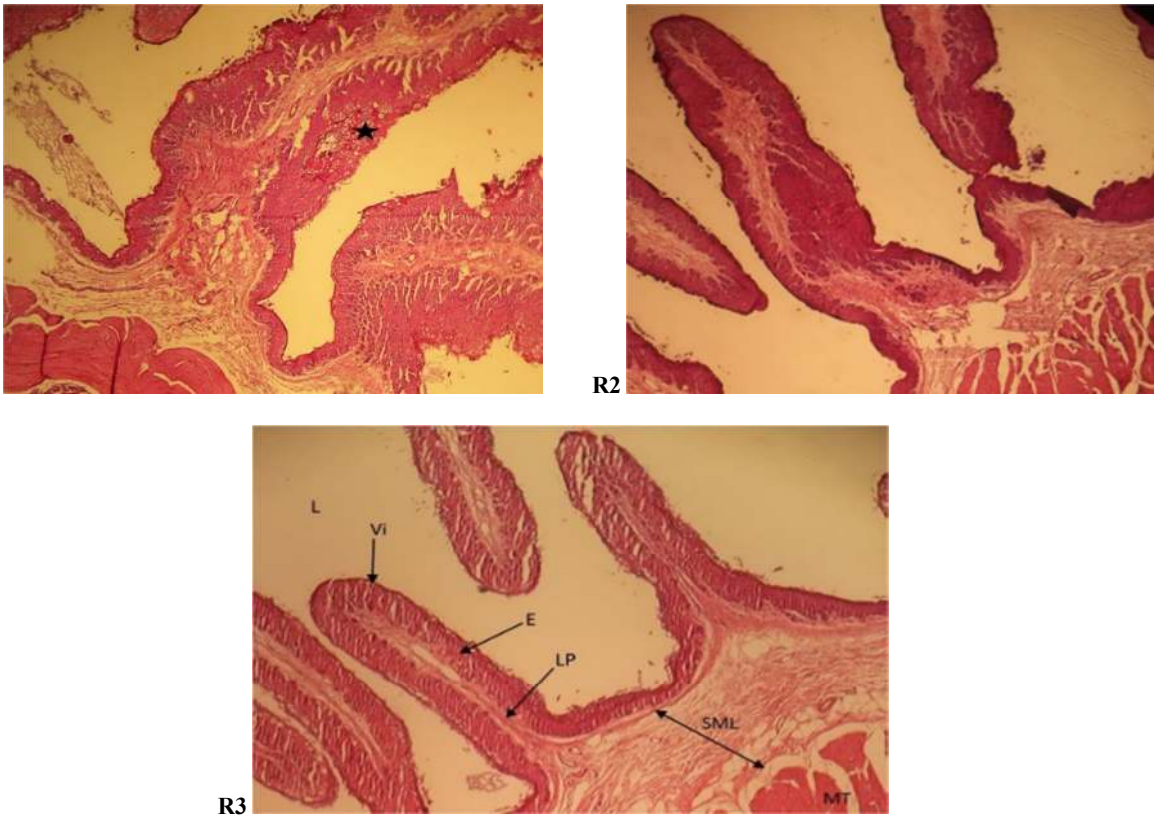
افزایش ارتفاع پرزها و سطح پرزها باعث افزایش ظرفیت جذب می‌شود و به‌نوبه خود حیوان را از تجمع اسیدهای چرب فرّار در شکمبه دام مصرف‌کننده مقدار زیادی از مواد متراکم محافظت می‌کند. بنابراین، در این شرایط، توانایی بافت پوششی شکمبه در جذب سریع‌تر اسیدهای چرب‌فرّار به ثبات pH شکمبه کمک می‌کند. هنگامی که این اسیدها بیش از ظرفیت جذب پرزهای شکمبه تولید شود، در شکمبه تجمع می‌یابد و در نتیجه pH شکمبه را کاهش داده و باعث اسیدوز شکمبه می‌شود [۸ و ۲۹]. بنابراین، با توجه به این‌که در شرایط اسیدوز، یکی از دلایل افزایش ارتفاع، ضخامت و یا سطح پرز، افزایش ظرفیت جذب اسیدهای چرب فرّار و کمک به پایداری pH شکمبه است [۱٤]، کاهش این شاخص‌ها در تیمارهای دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر، در نتیجه کاهش غلظت اسیدهای چرب فرّار به‌ویژه کاهش غلظت بوتیرات است (جدول ۳) که نقش اساسی در بروز اسیدوز دارد. در تیمارهای حاوی بافر یا باکتری-مخمر، به‌دلیل کنترل نسبی اسیدوز، نیاز به این مقدار از افزایش نبوده و کاهش میزان بوتیرات و افزایش ترشح استات (جدول ۳) به‌علت فعالیت بیش‌تر باکتری‌های سلولایتیک تأییدکننده این موضوع است [۱۳].

در بررسی هیستوپاتولوژیک شکمبه (شکل ۱)، تورم آبکی در پرزهای گروه شاهد به‌طور قابل‌توجهی نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر بیش‌تر بود (R۱) و به همین نسبت نفوذ سلول‌های التهابی در تیمارهای دریافت‌کننده بافر (R۲) و باکتری-مخمر (R۳) نسبت به تیمار شاهد کم‌تر شد. لذا التهاب مخاط (Ruminitis) به شکل بسیار خفیفی در تیمار دریافت‌کننده بافر مشاهده می‌شود که این میزان در تیمار دریافت‌کننده باکتری-مخمر به‌شدت کاهش یافته است. در برخی نواحی بافت پوششی در بره‌های شاهد، پاراکراتوزیس بافت مشاهده شد که این میزان در بره‌های دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر کاهش یافت. حضور میکروویزیکول‌ها که گاهی به هم پیوسته و وزیکول‌های بزرگ را ایجاد می‌کنند در بافت پوششی گروه شاهد به تعداد زیاد مشاهده شد که این تعداد به‌ترتیب در بره‌های دریافت‌کننده بافر و باکتری-مخمر روند کاهشی داشت و در بره‌های دریافت‌کننده باکتری-مخمر از سایر گروه‌ها کم‌تر بود (جدول ٤).

جدول ٤. تأثیر بافر و باکتری-مخمر بر تغییرات بافتی شکمبه در بره‌های پرواری

تغییرات بافتی	تیمارهای آزمایشی		
	شاهد	بافر	باکتری-مخمر
تورم آبکی	+++	++	+
نفوذ سلول‌های التهابی	+++	++	+
التهاب مخاط شکمبه	+++	++	+
پاراکراتوزیس	+++	++	+
میکروویزیکول	+++	++	+

- عدم مشاهده تغییرات بافتی (ساختار طبیعی)، + آسیب خفیف (Mild)، ++ آسیب ملایم (Moderate)، +++ آسیب شدید (Severe).



شکل ۱. شکمبه (R): R1 تیمار شاهد، R2 تیمار دریافت‌کننده بافر، R3 تیمار دریافت‌کننده باکتری- مخمر.

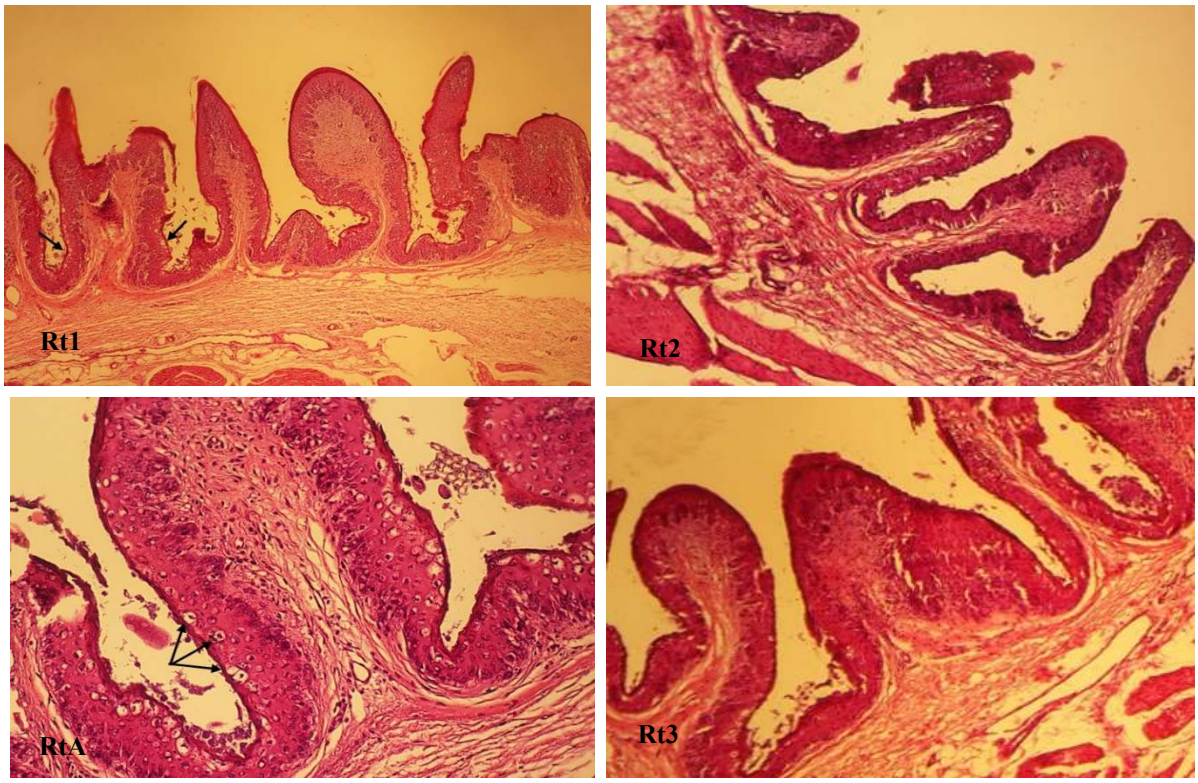
تورم آبکی (ستاره). ساختار بافت شناسی شکمبه (R3). L: لومن (Lumen)، Vi: پرز (Villi)، E: بافت پوششی (Epithelium)، LP: پارین مخاط (Lamina Propria)، SML: لایه زیر مخاطی (Submucosal Layer)، MT: لایه عضلانی (Muscular Tunica) (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگ‌نمایی ۱۰۰).

در بررسی آسیب و ضایعات هیستوپاتولوژیک نگاری (شکل ۲)، وجود ساختارهای واکوئل مانند که به‌صورت حفره‌حفره درآمده‌اند و نشان‌دهنده تورم واکوئلی (تورم آبکی) می‌باشد در بافت پوششی گروه شاهد (Rt۱ و RtA) نسبت به سایر تیمارها به‌طور قابل‌توجهی بیش‌تر بود و در بافت پوششی بره‌های دریافت‌کننده باکتری-مخمر (Rt۳) تورم واکوئلی دیده نشد. نفوذ سلول‌های التهابی در پارین مخاط در گروه شاهد و بره‌های دریافت‌کننده باکتری-مخمر از بره‌های دریافت‌کننده بافر (Rt۲) بیش‌تر بود. پاراکراتوزیس در بافت پوششی گروه شاهد نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود و در بره‌های دریافت‌کننده باکتری-مخمر تا حدود زیادی برطرف شده بود (جدول ۵).

جدول ۵. تأثیر بافر و مخمر-باکتری بر تغییرات بافتی نگاری در بره‌های پرواری

تغییرات بافتی	تیمارهای آزمایشی		
	شاهد	بافر	باکتری-مخمر
تورم آبکی یا واکوئلی	+++	+	-
نفوذ سلول‌های التهابی	++	+	++
پاراکراتوزیس	+++	++	+

- عدم مشاهده تغییرات بافتی (ساختار طبیعی)، + آسیب خفیف (Mild)، ++ آسیب ملایم (Moderate)، +++ آسیب شدید (Severe).



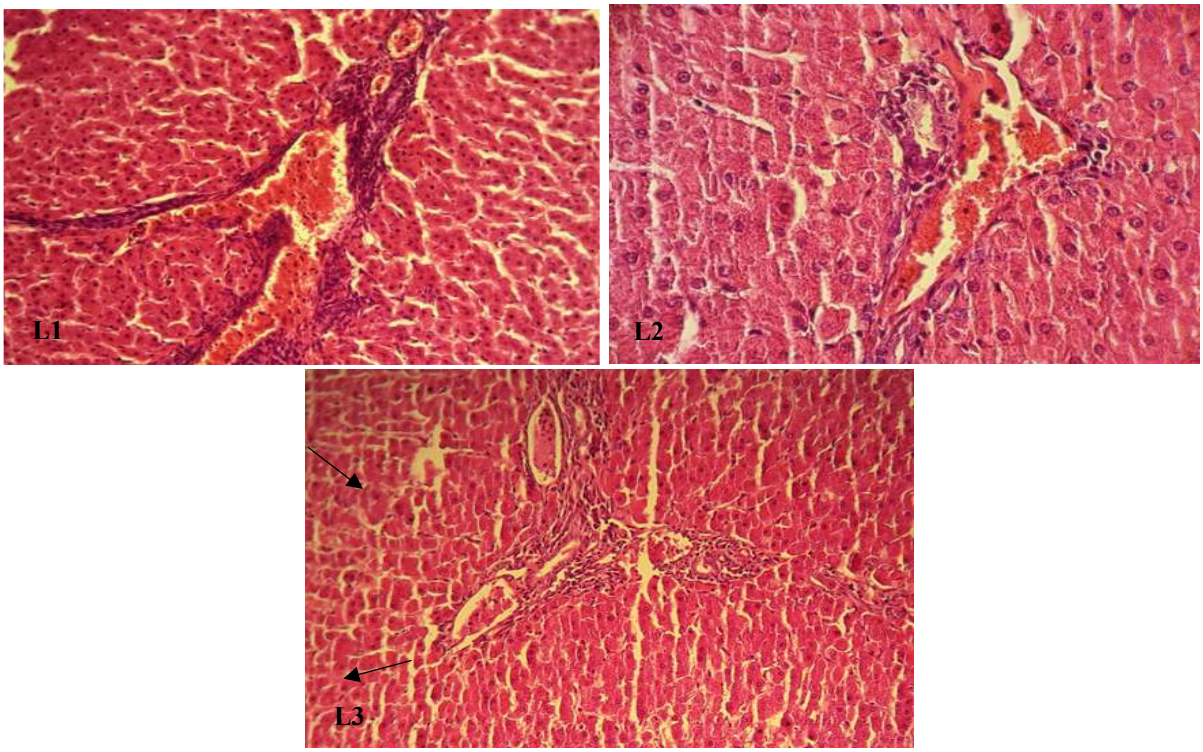
شکل ۲. نگاری (Rt). Rt1: گروه شاهد، Rt2: گروه دریافت‌کننده بافر، Rt3: گروه دریافت‌کننده باکتری-مخمر RtA: گروه شاهد با بزرگ‌نمایی ٤٠٠. تورم واکوئلی (فلش) (رنگ آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگ‌نمایی ١٠٠).

در آزمایشی روی گوسفندان لری تغذیه‌شده با کنسانتره بالا گزارش شد که در شرایط اسیدوز به‌دلیل این‌که مقدار زیادی از آب بدن از دیواره شکمبه عبور کرده و وارد شکمبه می‌شود، در سلول‌های دیواره شکمبه تورم آبکی ایجاد می‌شود [۲۰]، که ممکن است سلول‌های پوششی مبتلا به هم متصل شده و ایجاد وزیکول کنند و یا در اثر حرکات شکمبه وزیکول‌ها پاره‌شده و جای آن‌ها به‌صورت خراش مشاهده شود. در جیره با کنسانتره بالا در گاو با به‌کاربردن آلکالوئیدهای گیاهی جهت کنترل اسیدوز، کاهش تورم آبکی در شکمبه و کاهش سلول‌های التهابی در پارین مخاط در شکمبه و نگاری و کاهش تورم واکوئلی در نگاری گزارش شده است [۲۳] که با نتایج آزمایش حاضر هم‌خوانی دارد.

در بررسی هیستوپاتولوژی بافت شکمبه در گاومیش‌ها، التهاب بافت شکمبه، پوسته‌پوسته‌شدن اپیتلیوم بافت شکمبه و بزرگ‌شدن عروق خونی سطح موکوس هزارلا گزارش شد [۹]. در بیماری اسیدوز شکمبه به‌صورت تجربی با استفاده از تلقیح درون‌شکمبه‌ای دانه‌های خردشده برنج، نفوذ نوتروفیل‌ها و سلول‌های تک‌هسته‌ای به بافت شکمبه، نگاری، هزارلا و شیردان و پوسته‌پوسته‌شدن بافت پوششی دیواره شکمبه مشاهده شده است [۲۱]. در شرایط اسیدوز تغییرات بافتی مانند پاراکراتوزیس نشانگر ایجاد اختلال در بافت پوششی است. بافت پوششی برای باکتری‌ها و اندوتوکسین (لیپوپلی ساکاریدها-LPS) قابل‌نفوذ می‌باشد که پس از جابه‌جایی می‌تواند باعث آبسه‌های کبدی و لنگش شود

[۱۵]. در واقع اسیدیته شکمبه منجر به مرگ باکتری‌های گرم منفی و به دنبال آن انتشار اندوتوکسین‌ها (LPS) و فعال کردن واسطه‌های التهابی و تأثیرگذاری بر عملکرد تولیدی حیوانات می‌شود [٦]. در گاوهای تغذیه‌شده با کنسانتره بالا، استفاده از باکتری *مگاسفرا السدنی* ضایعات التهابی شکمبه را کاهش داد [٤] که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

در بررسی هیستوپاتولوژیک کبد (شکل ۳)، تجمع کانونی سلول‌های التهابی، به‌ویژه در اطراف وریدهای پورت (هپاتیت پری‌پورتال)، پرخونی، نکروز و تورم سلول‌های کبدی، پیکنوزه‌شدن هسته‌ها، آپوپتوز و واکوئله شدن سیتوپلاسم در گروه شاهد (شکل ۳، L۱) مشاهده شد. در مقایسه با گروه شاهد، در کبد بره‌های پرواری دریافت‌کننده بافر بی‌کربنات سدیم (شکل ۳، L۲)، از هپاتیت پری‌پورتال کاسته شد، اما نکروز و تورم سلول‌های کبدی هنوز قابل مشاهده بود. پیکنوزه‌شدن هسته‌ها، آپوپتوز و واکوئله‌شدن سیتوپلاسم در کبد بره‌های دریافت‌کننده بافر هنوز دیده می‌شود. در کبد بره‌های دریافت‌کننده باکتری-مخمر (شکل ۳، L۳) هپاتیت پری‌پورتال به‌طور خفیف دیده شد و نکروز و تورم سلول‌های کبدی، آپوپتوز و پیکنوزه‌شدن هسته‌ها نیز مشاهده شد. پژوهش‌های بسیار اندکی در خصوص هیستوپاتولوژی کبد در شرایط اسیدوز موجود است، اما به‌طورکلی در شرایط اسیدوز، میکروب‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدهای موجود در محیط شکمبه می‌توانند از اپیتلیوم آسیب‌دیده عبور کرده و در طول اسیدوز به گردش خون پورتال وارد شوند و منجر به آبسه‌های کبدی، لنگش و واکنش‌های التهابی شوند [۲۸].



شکل ۳. کبد (L). L: گروه شاهد، L2: گروه دریافت‌کننده بافر، L3: گروه دریافت‌کننده باکتری-مخمر هپاتیت پری‌پورتال (فلش) (رنگ‌آمیزی هماتوکسلین-ائوزین و بزرگ‌نمایی ۱۰۰)

در واقع اسیدوز شکمبه یکی از دلایل تحریک‌کننده ایجاد آبسه‌های کبدی در نشخوارکنندگان است و آنزیم‌های کبدی به‌عنوان شاخصی از سلامت کبد در نشخوارکنندگان مورد بررسی قرار می‌گیرند. این آنزیم‌ها دارای فعالیت بالایی در سیتوزل سلول‌های کبدی می‌باشند و با نکروزشدن و یا آسیب‌های حاد و مزمن سلول‌های کبدی، سطح سرمی این آنزیم‌ها در سرم به‌دلیل تراوش به خون افزایش می‌یابد [۲۲]. در آزمایش انجام‌شده بر روی گاوهای شیری با کنسانتره بالا، آنزیم‌های کبدی، بالاتر از دامنه گزارش شده برای گاوهای سالم بود که نشان‌دهنده حساسیت بیش‌تر آن‌ها نسبت به اسیدوز و آسیب‌های کبدی در مقایسه با گاوهای دریافت‌کننده علوفه بیش‌تر بود [۲۷]. در آزمایش حاضر، تفاوتی در آنزیم‌های کبدی بین تیمارها مشاهده نشد (جدول ۳) با این حال در بره‌هایی که بافر و یا باکتری-مخمر دریافت کردند غلظت انزیم‌های کبدی به‌طور غیرمعنی‌داری کم‌تر بود.

با به‌کاربردن بوتیرات سدیم به‌عنوان یک عامل افزایش‌دهنده pH در شرایط اسیدوز در بزها، سطح اندوتوکسین (لیپوپلی‌ساکاریدها) کاهش یافت [۱۱] و به‌تبع آن واکنش‌های التهابی در کبد نیز کم‌تر بود. بنابراین کاهش هپاتیت پری‌پورتال در تیمارهای حاوی بافر و یا باکتری-مخمر را می‌توان ناشی از کاهش واکنش‌های التهابی، در نتیجه کاهش لیپوپلی‌ساکاریدها دانست.

براساس نتایج حاصل از این آزمایش، استفاده از باکتری مصرف‌کننده اسیدلاکتیک نظیر *مگاسفرا السدنی* همانند بافرهای شیمیایی، راه مؤثری برای تعدیل شرایط تخمیری بره‌های پرواری تغذیه‌شده با جیره با کنسانتره بالا می‌باشد.

٤. تشکر و قدر دانی

از مسئولین محترم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بابت همه پشتیبانی‌ها، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۵. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

٦. منابع مورداستفاده

1. Asadollahi S, Erfanimajed N, Sari M, Chaji M and Mamouei M (2015) Effect of replacing barley starch by beet pulp and addition of the roasted canola seed on reticulo-rumen histology tissue and fermentation parameters of lambs fed by high concentrate diets. Iranian Veterinary Journal, 11(2): 5-19.
2. Aschenbach JR, Borau T and Gäbel G (2002) Glucose uptake via SGLT-1 is stimulated by β2-adrenoceptors in the ruminal epithelium of sheep. The Journal of Nutrition,132(6):1254-1257.
3. Aschenbach JR, Zebeli Q, Patra AK, Greco G, Amasheh S and Penner GB (2019) Symposium review: The importance of the ruminal epithelial barrier for a healthy and productive cow. Journal of Dairy Science, 102(2): 1866-1882.
4. DeClerck JC, Wade ZE, Reeves NR, Miller MF, Johnson BJ, Ducharme GA and Rathmann RJ (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): txaa031.
5. Erdman RA, Botts RL, Hemken RW and Bull LS (1980) Effect of dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide on production and physiology in early lactation. Journal of Dairy Science, 63(6): 923-930.
6. Garcia Diaz T, Ferriani Branco A, Jacovaci FA, Cabreira Jobim C, Bolson DC and Pratti Daniel JL (2018) Inclusion of live yeast and mannan-oligosaccharides in high grain-based diets for sheep: Ruminal parameters, inflammatory response and rumen morphology. PloS PLOS one, 13(2): e0193313.
7. Khan MA, Bach A, Weary DM and Von Keyserlingk MAG (2016) Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. Journal of Dairy Science, 99(2): 885-902.
8. Krause KM and Oetzel GR (2006) Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. Animal Feed Science and Technology, 126(3-4): 215-236.
9. Kumar A and Joshi B (1991) Epidmiology and biophysical changes in spontaneous rumen acidosis in buffaloses. Indian Journal of Animal Sciences, 61(9): 961-962.

10. Li GH, Ling BM, Qu MR, You JM and Song XZ (2011) Effects of several oligosaccharides on ruminal fermentation in sheep: an in vitro experiment. Revue de Medecine VeterinaireRev Méd Vét, 162: 192-197.
11. Ma N, Abaker JA, Bilal MS, Dai H and Shen X (2018) Sodium butyrate improves antioxidant stability in sub-acute ruminal acidosis in dairy goats. BMC Veterinary Research, 14(1): 275.
12. Malekkhahi M, Tahmasbi AM, Naserian AA, Danesh Mesgaran M, Kleen JL and Parand AA (2015) Effects of essential oils, yeast culture and malate on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance and nutrient digestibility of Baluchi lambs fed high-concentrate diets. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 99(2): 221-229.
13. Malekkhahi M, Tahmasbi AM, Naserian AA, Danesh-Mesgaran M, Kleen JL, AlZahal O and Ghaffari MH (2016) Effects of supplementation of active dried yeast and malate during sub-acute ruminal acidosis on rumen fermentation, microbial population, selected blood metabolites and milk production in dairy cows. Animal Feed Science and Technology, 213: 29-43.
14. Mashayekhi MR, Erfani-majd N, Sari M and 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.
15. Meissner S, Hagen F, Deiner C, Günzel D, Greco G, Shen Z and Aschenbach JR (2017) Key role of short-chain fatty acids in epithelial barrier failure during ruminal acidosis. Journal of Dairy Science, 100(8): 6662-6675.
16. Niwińska B, Hanczakowska E, Arciszewski MB and Klebaniuk R (2017) Exogenous butyrate: implications for the functional development of ruminal epithelium and calf performance. Animal, 11(9): 1522-1530.
17. NRC (2007) *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids*. National Academy Press Washington DC.
18. Odongo NE, AlZahal O, Lindinger MI, Duffield TF, Valdes EV, Terrell SP and McBride BW (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.
19. Pinloche E, McEwan N, Marden JP, Bayourthe C, Auclair E and Newbold CJ (2013) The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. PloS PLOS One, 8(7): e67824.
20. Pourjafar M, Mohammadnia AR, Jafari dehkordi A and Fatahian dehkordi RA (2004) The effects of experimentally induced lactic acidosis on serum glucose, BUN, serum electrolyte (K, Na, P, Ca), haematocrit, rumen pH, rumen microflora and pathological changes of ruminal epithelium in lori sheep. Pajouhesh and Sazandegi 62: 27-36.
21. Rose BD (1989) Clinical physiology Physiology of acidAcid-base Base and electrolyte Electrolyte disordersDisorders; 3 rd ed.; Mc Grow Hill Inc. Singapore; PP: 261-68, 478-501.
22. Russell KE and Roussel AJ, 2007. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 23(3): 403-426.
23. Sanches AWD, Montiani-Ferreira F, Santin E, Neumann M, Reck AM, Bertagnon HG and Pachaly JR (2020) Isoquinolone alkaloids mitigate microscopic digestive tract lesions induced by sub-acute ruminal acidosis (SARA) in feedlot cattle. Semina: Ciências Agrárias, 41(5): 1567-1580.
24. Sedighi R and 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.
25. Shen Z, Seyfert HM, Löhrke B, Schneider F, Zitnan R, Chudy A, Kuhla S, Hammon HM, Blum JW, Martens H and 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.
26. Silberberg M, Chaucheyras-Durand F, Mialon MM, Monteils V, Mosoni P, Morgavi DP and Martin C (2013) Repeated acidosis challenges and live yeast supplementation shape rumen microbiota and fermentations and modulate inflammatory status in sheep. Animal, 7(12): 1910.
27. Stauder A, Humer E, Neubauer V, Reisinger N, Kaltenegger A and Zebeli Q (2020). Distinct responses in feed sorting, chewing behavior, and ruminal acidosis risk between primiparous and multiparous simmental cows fed diets differing in forage and starch levels. Journal of Dairy Science, 103(9): 8467-8481.
28. Steele MA, Croom J, Kahler M, AlZahal O, Hook

SE, Plaizier K and McBride BW (2011) Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 300(6): R1515-R1523.

29. Wang YH, Xu M, Wang FN, Yu ZP, Yao JH, Zan LS and Yang FX (2009) Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats. Livestock Science, 122(1): 48-52.
30. Zitnan R, Kuhla S, Nurnberg K, Schonhusen U, Ceresnakova Z, Sommer A, Baran M, Greserova G and Voigt J (2003) Influence of the diet on the morphology of ruminal and intestinal mucosa and on intestinal carbohydrase levels in cattle. Veterinarni Medicina-Praha, 48(7):177-182.