

DOI: 10.22034/AS.2022.41422.1580

اثرات استفاده از بافر و مگاسفرا/السدنی به عنوان تنظیم کننده‌های pH، بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی روده کوچک و بزرگ بره‌های پرواری عربی تغذیه شده با جیره‌های حاوی کنسانتره بالا

امید خراسانی^۱، مرتضی چاجی^{۲*} و فرشاد باغبان^۳

تاریخ دریافت: ۹۹/۶/۳

تاریخ پذیرش: ۹۹/۸/۱۸

^۱ دانش آموخته‌ی دکتری تغذیه دام گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

^۲ استاد گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

^۳ استادیار گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج

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

چکیده

زمینه مطالعاتی: در روده‌ی کوچک ارتفاع پرزها، عمق کریپت، اندازه ضخامت بافت پوششی و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، نقش قابل توجهی در مراحل نهایی هضم و جذب مواد مغذی از دستگاه گوارش دارند. هدف: پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر استفاده از بافر بی‌کربنات یا باکتری مگاسفرا/السدنی به عنوان تنظیم کننده‌های pH بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی روده‌ی کوچک و بزرگ بره‌های پرواری در حین تغذیه مقدار زیاد کنسانتره انجام شد. روش کار: در آزمایش حاضر از ۲۴ رأس بره نر عربی 1 ± 4 ماهه با وزن $15/3 \pm 9/23$ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۸ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره‌ی شاهد ۲- جیره‌ی شاهد + بافر بی‌کربنات سدیم ۳- جیره‌ی شاهد + باکتری مگاسفرا/السدنی و مخمر ساکرومایسیس سرویسیه (باکتری-مخمر) بودند. جهت بررسی بافت شناسی روده‌ها، از بخش میانی سه ناحیه‌ی دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم و بخش میانی روده‌ی بزرگ (کولون)، قطعاتی جدا شدند. **نتایج:** ارتفاع پرز، عمق کریپت و مساحت پرز دئودنوم در تیمار باکتری-مخمر از سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0/05$). ضخامت لایه عضلانی در تیمار بافر نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0/05$). عرض پرزهای دئودنومی در تیمارهای بافر و باکتری-مخمر از تیمار شاهد بیشتر بود و در تیمار باکتری-مخمر نسبت به تیمار شاهد معنی‌داری بود ($P < 0/05$). اختلاف معنی‌داری بین شاخص‌های بافتی ژژنوم در تیمارها مشاهده نشد. ارتفاع پرزهای ایلئومی در تیمارهای بافر و باکتری-مخمر از تیمار شاهد بیشتر بود و در تیمار باکتری-مخمر نسبت به تیمار شاهد معنی‌داری بود ($P < 0/05$). عمق کریپت و مساحت پرز ایلئوم در تیمار باکتری-مخمر نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0/05$). **نتیجه گیری نهایی:** در مقایسه با شاهد، مصرف عوامل تنظیم کننده‌ی pH از نظر هیستوپاتولوژی باعث کاهش آسیب‌های بافتی نظیر نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای، نکروز پرزها و هایپرپلازی پلاک‌های پی‌یر در روده‌ی کوچک و روده‌ی بزرگ و در نتیجه‌ی آن بهبود ساختار بافتی و کاهش آسیب‌های بافتی در روده‌های کوچک و بزرگ شد.

واژگان کلیدی: بافر، ساکرومایسیس سرویسیه، هیستوپاتولوژی، هیستومورفومتری، مگاسفرا/السدنی

مقدمه

وظیفه‌ی روده‌ی کوچک تکمیل عمل هضم، جذب مواد مغذی و ترشح هورمون‌های گوارشی است (متزلر و موسنتین ۲۰۰۸). در روده‌ی کوچک ارتفاع پرزها، عمق کریپت، اندازه ضخامت بافت پوششی و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، نقش قابل توجهی در مراحل نهایی هضم و جذب مواد مغذی از دستگاه گوارش دارند (ونگ و همکاران ۲۰۰۹، استرزیسکا و همکاران ۲۰۰۹).

شکل خاص پرزها و وجود میکروپرزه‌های روده‌ی کوچک موجب افزایش سطح جذب روده‌ای شده و بر کارایی و عملکرد آنها اثر مستقیم دارد (کراکامیر و همکاران ۱۹۹۰). حضور و جذب اسیدهای چرب فرار کلید اصلی توسعه ساختار بافتی لوله گوارش می‌باشد (انتکس و مسلین ۱۹۹۱، وی و همکاران ۲۰۰۴). تاثیر اسیدهای چرب فرار بر تحریک تکثیر سلولی و رشد بافت دستگاه گوارش به پیش معده (شکمبه و نگاری) محدود نشده و بر تحریک تکثیر سلولی و رشد پرزهای روده کوچک نیز موثر است (ونگ و همکاران ۲۰۰۹).

از جمله فرضیات مطرح شده این است که مصرف زیاد خوراک‌های با نشاسته بالا، موجب افزایش سرعت عبور مایع شکمبه به روده شده و در نتیجه مقادیر بیشتری از اسیدهای چرب کوتاه زنجیره به قسمت‌های بعدی دستگاه گوارش (روده‌ی کوچک و بزرگ) وارد می‌شود (مورین و همکاران ۱۹۸۰ و ونگ و همکاران ۲۰۰۹). از طرفی تغذیه‌ی دام‌ها با جیره‌های با کنسانتره بالا می‌تواند موجب بروز مشکلات متابولیکی از جمله اسیدوز شود (آشنباخ و همکاران ۲۰۰۲) که از جمله نتایج آن مرگ باکتری‌های گرم منفی و به دنبال آن انتشار اندوتوکسین‌ها (لیپوپلی ساکاریدها-LPS) به داخل خون از دیواره‌ی شکمبه آسیب دیده و فعال کردن واسطه‌های التهابی و تأثیرگذاری بر عملکرد تولیدی حیوانات می‌شود (گارسیا دیاز و همکاران ۲۰۱۸).

تشخیص اسیدوز شکمبه و در نتیجه درمان آن نیز دشوار است و در بیشتر موارد، درمان چندان مؤثری وجود ندارد

و به‌طور کلی اساس بر پیشگیری است که اقدامات پیش گیرانه باید مبتنی بر مدیریت تغذیه باشد. از جمله راهکارهای پیش‌گیرانه، استفاده از پروبیوتیک‌ها، مانند مخمر زنده و پروتئین‌های مشتق شده از دیواره‌ی خارجی سلول مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* است که به‌عنوان تعدیل کننده سیستم ایمنی نشخوارکنندگان شناخته شده‌اند (کلیس و همکاران ۲۰۰۲ و لی و همکاران ۲۰۱۱). 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 (دینگ و همکاران ۲۰۰۸ و سیلبربرگ و همکاران ۲۰۱۳). بعلاوه، مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* به رشد و فعالیت باکتری‌های تجزیه کننده‌ی سلولز، باکتری‌های مصرف کننده‌ی لاکتات (*Megasphaera elsdenii*) و *Selenomonas ruminantium* (و پروتوزوآهای شکمبه کمک می‌کند و استفاده توأم باکتری‌های مصرف کننده‌ی لاکتات با مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* نیز تأیید شده است (پینلوچه و همکاران، ۲۰۱۳ و خراسانی و همکاران ۲۰۲۰).

مگاسفرا السدنی و سلنوموناس رومینانتیوم سویه‌های غالب مصرف کننده اسید لاکتیک در شکمبه هستند از بین این دو سویه مگاسفرا السدنی ۶۵ تا ۹۵ درصد لاکتات موجود در شکمبه را مصرف می‌کند. بنابراین مگاسفرا السدنی با مصرف اسید لاکتیک از کاهش شدید pH شکمبه در نتیجه تجمع اسید لاکتیک جلوگیری می‌کند (پربو و همکاران ۲۰۱۲). استفاده از بافر بی‌کربنات سدیم در جیره‌ی دام‌ها نیز از راه‌های مختلف، آسیب‌های حاصل از بروز اسیدوز حاد و تحت حاد شکمبه‌ای را برطرف کرده و یا کاهش می‌دهد (اردمن و همکاران ۱۹۸۰).

استفاده از مخمر و ترکیبات فعال زیستی دیگر نظیر باکتری‌های مصرف کننده اسید لاکتیک در مقایسه با بافرهای شیمیایی می‌تواند در کاهش التهاب ناشی از اسیدوز موثر باشد (خراسانی و همکاران ۲۰۲۰). مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* در جوجه‌های گوشتی طول

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۲۴ بره نر عربی ۳ تا ۴ ماهه با وزن اولیه‌ی $23/9 \pm 3/15$ kg (۱۱ هفته) شامل ۱۴ روز دوره‌ی عادت پذیری و ۶۳ (۹ هفته) روز رکورد برداری و آزمایش بود. قبل از آغاز پژوهش همه‌ی بره‌ها برای انگل‌های بیرونی (۱ میلی لیتر آزانتول ۱۰ درصد در ۷ لیتر آب به روش اسپری؛ شرکت بایر آلمان) و انگل‌های داخلی (تریکل ابدانول با لوامیزل، ۱۲ میلی لیتر برای هر گوسفند؛ شرکت دارو پخش ایران) و برای مقابله با انتروتوکسمی (۳ میلی لیتر برای هر بره، موسسه‌ی تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی -ایران) واکسینه شدند. بره‌ها در قفس‌های متابولیکی نگهداری شدند.

پرزهای روده را افزایش و آتروفی را کاهش داد (پلونی و همکاران ۲۰۲۰). در گاوهای تغذیه شده با کنسانتره، نسبت مساحت پاپیلا به مساحت جذب در تیمار دریافت کننده‌ی مگاسفر/السدنی نسبت به شاهد بیشتر بود (دکلرک و همکاران ۲۰۲۰).

بررسی منابع در دسترس نشان داد که تاکنون درباره تاثیر استفاده از جیره‌های پر کنسانتره بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی روده‌های کوچک و بزرگ بره‌های پرواری و نیز نقش افزودنی‌های تنظیم کننده pH بر این اثرات، مطالعه‌ای انجام نشده است یا بسیار محدود است. بنابراین، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثرات مقایسه‌ای بافر بی‌کربنات سدیم با ترکیب باکتری-مخمر بر هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی بافت روده‌ی کوچک و بزرگ بره‌های پرواری تغذیه شده با جیره‌های پر کنسانتره انجام شد.

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

Ingredients	Amounts (g/kg DM)
Alfalfa hay	201
Wheat straw	99
Barley grain	300
Corn grain	210
Soybeans meal	123.5
Wheat bran	55
Calcium carbonate	4
Salt	2.5
Vitamin and mineral supplements ^a	5
Chemical composition	
Dry matter	891
Organic matter	948
Ash	51.7
Crude protein	161
Ether extract	27
NDFom ^b	290
ADFom ^c	165
ME ^d (Mcal/kg DM)	2.65
Non-fiber carbohydrates ^e	470.3

^a Premix contained (per kg): Vitamin A, 500,000 IU/mg; vitamin D₃, 100,000 IU/mg; vitamin E, 100 mg/kg; Ca, 180 g/kg; P, 60,000 mg/kg; Na, 60,000 mg/kg; Mg, 19,000 mg/kg; Zn, 3,000 mg/kg; Fe, 3,000 mg/kg; Mn, 19,000 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 1,000 g.

^b NDFom, ash-free neutral detergent fibre.

^c ADFom, ash-free acid detergent fibre.

^d Calculated from each feed ingredients.

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

دانشگاه فردوسی مشهد اندازه‌گیری شد (خراسانی و همکاران ۲۰۲۰).

در پایان آزمایش از هر تیمار سه رأس بره که به میانگین وزن تیمارها نزدیک بود، انتخاب و کشتار شدند. پس از کشتار بره‌ها، بلافاصله محوطه‌ی شکمی باز و دستگاه گوارش از ناحیه‌ی مری تا انتهای قولون جدا و خارج شد. جهت بررسی‌های بافت شناسی روده‌ها، از بخش میانی سه ناحیه‌ی دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم و بخش میانی روده‌ی بزرگ، قطعاتی جدا شدند و دو سر هر قطعه پس از برش و تخلیه‌ی محتویات آن و شستشو با فرمالین، با نخ، لیگاتور زده شد و به داخل آنها فرمالین ۱۰ درصد خنثی تزریق شد. هر یک از نمونه‌ها به‌طور جداگانه در ظروف درب بسته حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. 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 Sakura (مدل SRM 200 CW ساخت چین) مقاطعی به ضخامت پنج میکرومتر تهیه و با استفاده از همتاکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند (خراسانی و همکاران ۲۰۲۱) و تغییرات بافتی با میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری شاخص‌های مورد مطالعه در بزرگ‌نمایی‌های مختلف با استفاده از میکروسکوپ Nikon (مدل YS100 ساخت ژاپن) با عدسی‌های مدرج و کالیبره شده انجام شد (در هر گروه ۳ نمونه و از هر نمونه پنج برش بافتی و در هر برش بافتی حداقل چهار میدان میکروسکوپی اندازه‌گیری شد). مطالعات میکرومتری در رابطه با بخش‌های مختلف روده‌ی کوچک طول، عمق، عرض پرز و ضخامت طبقه عضلانی مورد بررسی هیستومورفومتری قرار گرفت. مساحت هر ویلی با ضرب عدد ۳/۱۴ در میانگین عرض هر ویلی در ارتفاع آن تعیین شد.

بره‌ها بصورت تصادفی به یکی از سه تیمار شامل ۱- شاهد (فاقد افزودنی) ۲- جیره‌ی شاهد + بافر (۱ درصد جیره روزانه به صورت سرک در دو وعده غذایی) ۳- جیره‌ی شاهد + مخمر ساکرومایسیس سرویسیه (۲ گرم در روز به ازاء هر دام) به صورت محلول با باکتری *مگاسفرا السدنی* (۳ میلی لیتر به ازاء هر دام حاوی $10^8 \times 4/5$) در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر که هر روز صبح بصورت استفاده مستقیم از میکروب (DFM) به هر دام خوراندن شد (صدیقی و علیپور ۲۰۱۹ و خراسانی و همکاران ۲۰۲۰).

شرایط تغذیه و مدیریت پرورش بره‌های انتخاب شده قبل از آزمایش یکسان بود. جیره‌ها با استفاده از جدول احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک (NRC 2007) تنظیم شدند (جدول ۱) و به صورت کاملاً مخلوط (TMR) با نسبت ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد کنسانتره دو نوبت در روز (ساعت ۸ و ۱۶) در حد اشتها به همراه دسترسی آزاد به آب در اختیار بره‌ها قرار گرفت. مایع شکمبه بره‌ها، در ساعات صفر (قبل از خوراک دادن)، ۳ و ۶ ساعت بعد از خوراک‌دهی صبح، در هفته‌ی ششم جهت تعیین pH توسط لوله‌ی معدی گرفته شد. بخش رویی آن برای اطمینان از حذف بزاق دور ریخته شد. pH با استفاده از pH متر دیجیتالی (WTW مدل ۳۱۱۰، آلمان) اندازه‌گیری شد. سپس برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار، در روز آخر آزمایش مایع شکمبه با پارچه نخی چهار لایه صاف شدند و ۵ میلی‌لیتر از مایع شکمبه با ۲ میلی‌لیتر از متافسفریک اسید (۲۵ W/V) درصد اسیدی شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان آنالیز نگهداری شد. غلظت اسیدهای چرب فرار به روش گاز کروماتوگرافی (دستگاه GC، مدل YL6100، ساخت کره جنوبی) با استفاده از ستون موئین سلیکون (CP-Wax Chrompack Capillary Column; Varian, Palo Alto, CA, USA) با گاز هلیوم به‌عنوان حامل و استفاده از استاندارد داخلی کروتونیک اسید، در گروه علوم دامی

آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۸ تکرار انجام شد. همه‌ی داده‌ها با نرم افزار آماری SAS (نسخه‌ی ۹/۴) با مدل خطی GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها برای تفاوت‌های معنی‌دار توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۰/۰۵ درصد انجام گرفت. از مدل آماری زیر استفاده شده است:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

که در این مدل، Y_{ij} مقدار مشاهده شده، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار i ام، ε_{ij} اثرات خطای آزمون است.

نتایج و بحث

هیستومورفومتری روده‌ی باریک

تاثیر تیمارهای بافر بی‌کربنات سدیم و باکتری-مخمر بر ساختار هیستومورفومتری بافت‌های روده‌ی کوچک در مقایسه با گروه شاهد در جدول ۲ آمده است.

الف: دئودنوم

ارتفاع پرز، عمق کریپت و مساحت پرز در بخش دئودنوم جدول ۲ در تیمار باکتری-مخمر از سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$). ضخامت لایه عضلانی در تیمار بافر نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$). عرض پرز در تیمارهای بافر و باکتری-مخمر از تیمار شاهد بیشتر بود، اما تنها در تیمار باکتری-مخمر نسبت به تیمار شاهد معنی‌داری بود ($P < 0.05$).

ب: ژژنوم

اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی برای شاخص‌های بافتی مورد مطالعه در بخش ژژنوم مشاهده نشد. هرچند از لحاظ عددی شاخص‌های عرض پرز، عمق کریپت، ضخامت لایه عضلانی و مساحت پرز در تیمار باکتری-مخمر از تیمار شاهد بیشتر بود و ارتفاع پرز و عمق کریپت در تیمار بافر از سایر تیمارها بیشتر بود (جدول ۲).

Table 2- The effect of experimental diets on histomorphometry of small intestinal tissues

Variables	treatment			SEM	P-value
	Control	Buffer	Me+Sc		
Duodenum (μm)					
Villus height	364.00 ^b	362.00 ^b	560.00 ^a	32.14	0.004
Crypt depth	290.00 ^b	278.00 ^b	474.00 ^a	29.86	0.002
Villus width	84.00 ^b	102.00 ^{ab}	114.00 ^a	4.68	0.016
Thickness of tunica muscularis	110.00 ^b	162.00 ^a	134.00 ^b	7.29	0.003
Villus height to crypt depth ratio	1.27	1.31	1.28	0.03	0.24
Villus surface (mm^2)	95.90 ^b	116.05 ^b	200.21 ^a	14.43	0.0007
Jejunum (μm)					
Villus height	453.40	508.00	476.00	19.33	0.54
Crypt depth	311.00	394.00	366.00	27.21	0.48
Villus width	120.00	104.00	130.00	7.49	0.38
Thickness of tunica muscularis	132.00	170.20	178.00	11.02	0.19
Villus height to crypt depth ratio	1.51	1.35	1.409	0.08	0.75
Villus surface (mm^2)	171.15	166.36	190.9	12.17	0.71
Ileum (μm)					
Villus height	354 ^b	402.00 ^{ab}	470.00 ^a	20.28	0.049
Crypt depth	312.00 ^b	290.00 ^b	384.00 ^a	14.47	0.008
Villus width	104.00	100.00	124.00	6.28	0.26
Thickness of tunica muscularis	238.00	268.00	228.00	17.37	0.65
Villus height to crypt depth ratio	1.14	1.47	1.23	0.09	0.37
Villus surface (mm^2)	116.05 ^b	124.34 ^b	182.94 ^a	11.91	0.029

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

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

ج: ایلئوم

ارتفاع پرز در بخش ایلئوم جدول ۲ در تیمارهای بافر و باکتری-مخمر از تیمار شاهد بیشتر بود و در تیمار باکتری-مخمر نسبت به تیمار شاهد معنی‌داری بود ($P < 0.05$). عمق کریپت و مساحت پرز در تیمار باکتری - مخمر نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$). در مورد سایر شاخص‌های اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مطالعات مشابهی مانند آزمایش حاضر که با در نظر گرفتن سطح ثابتی از علوفه در جیره‌ی با کنسانتره بالا اثر بافر و استفاده مستقیم از میکروب (DFM) را بر بافت روده در جیره‌های پر کنسانتره در حیوانات نشخوارکننده مورد مطالعه قرار داده باشد در دسترس نیست.

در روده‌ی کوچک به خصوص ارتفاع پرزها، عمق کریپت و اندازه بافت پوششی نقش قابل توجهی در مراحل نهایی هضم و جذب مواد مغذی از دستگاه گوارش دارند (ونگ و همکاران ۲۰۰۹، استریزینسکا و همکاران، ۲۰۰۹). در واقع هرچه ابعاد پرز بیشتر و پرز طول‌تر باشد به دلیل وجود سلول‌های جاذب، توانایی جذب در آنها افزایش می‌یابد (انتکس و مسلین ۱۹۹۱ و خراسانی و همکاران، ۲۰۲۱). گزارش شده است که جیره‌های حاوی الیاف بالا سبب افزایش ارتفاع پرزها، عمق کریپت در ژژنوم و ایلئوم روده خوک‌های در حال رشد می‌شوند (لونگنباچ و همکاران ۱۹۹۸). در آزمایشی با بره‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۹۰ درصد کنسانتره، تیمارهای حاوی ۸ و ۱۰ درصد تفال چغندر قند در مقایسه با دانه جو، پرزهای بلندتر و کریپت عمیق‌تری در روده‌ی خود داشتند که علت آن به تولید بیشتر استات در این تیمارها نسبت داده شد (اسداللهی و همکاران ۲۰۱۸). لذا، در آزمایش حاضر نیز افزایش ابعاد پرزهای روده‌ی کوچک در جیره‌های بافر و باکتری-مخمر، بدلیل تعدیل pH و افزایش فعالیت باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی الیاف (لیچارتر و پیروود ۲۰۱۱، ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۶) که تولید بیشتر استات را بدنبال دارند (جدول ۳) (لیچارتر و پیروود ۲۰۱۱، ملک خواهی و همکاران ۲۰۱۶)، تایید کننده‌ی این

موضوع است. به طور کلی، ارتفاع پرز شاخص و نشانه‌ی خوبی از عملکرد و فعال شدن پرزهای روده است (شاموتو و یاموچیا ۲۰۰۰).

استفاده مستقیم از میکروب در جوجه‌های گوشتی، ساختار روده را بهبود داده و منجر به سطح جذب بیشتری شد (لی و همکاران ۲۰۱۵). در آزمایش آن‌ها، در مقایسه با جیره‌ی شاهد (فاقد DFM)، ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در قسمت‌های مختلف روده‌ی کوچک با استفاده مستقیم از میکروب بهبود نشان داد (لی و همکاران ۲۰۱۵).

گزارش شد که گنجاندن *Bacillus subtilis* در جیره‌ی غذایی جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت می‌شود (جیارمن و همکاران ۲۰۱۳). سرکوبی باکتری‌های بیماری‌زا توسط استفاده مستقیم از میکروب و تعدیل میکروبی روده نیز، ممکن است منجر به ایجاد افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شود (لی و همکاران ۲۰۱۵). در واقع نتایج آزمایش حاضر با نتایج آزمایشات فوق در افزایش ارتفاع پرز در تیمار باکتری-مخمر مطابقت دارد. توسعه مخاط روده می‌تواند به عنوان شاخصه‌ای برای سلامت روده مورد استفاده قرار گیرد (وانگ و همکاران ۲۰۰۹). پژوهشگران با به کار بردن مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* در جوجه‌های گوشتی مشاهده کردند که طول پرزهای روده بلندتر و آتروفی کمتری را نشان می‌دهد (پلونی و همکاران ۲۰۲۰). سایرین نیز با مصرف مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* در جوجه‌های گوشتی مشاهده کردند که پرزها طول‌تر و سالم‌تر از تیمار شاهد هستند (ژانگ و همکاران ۲۰۰۵)؛ که بررسی‌های فوق با نتایج آزمایش حاضر در به‌کار بردن بافر و باکتری-مخمر در افزایش شاخص‌های پرز مطابقت دارد. بنابراین افزایش شاخص‌های پرزهای روده در تیمارهای بافر و باکتری-مخمر در آزمایش حاضر را می‌توان از نتایج مثبت این آزمایش دانست که در تیمار باکتری-مخمر در کلیه‌ی بخش‌های روده وضعیت بهتر بود.

هیستوپاتولوژی روده‌ی کوچک

در بررسی هیستوپاتولوژیک دئودنوم (D) تقریباً در هر سه تیمار شاهد (D1)، بافر (D2) و باکتری-مخمر (D3) نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در پارین مخاط مشاهده شد (شکل ۱). مشاهده سلول‌های تک هسته‌ای لنفوسیت و پلاسماسل حاکی از روند التهابی مزمن در مخاط دئودنوم است. بعلاوه نکروز پرزها، نفوذ سلول‌های التهابی در لابلا‌ی پرزها نیز مشاهده شد. از نظر شدت ضایعات، بیشترین درگیری در مخاط تیمار شاهد و سپس در تیمار بافر بی‌کربنات سدیم بود و در تیمار باکتری-مخمر از دو تیمار دیگر کمتر بود ($D1 > D2 > D3$).

در بررسی هیستوپاتولوژیک ژژنوم (J) نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای اعم از لنفوسیت و پلاسماسل در پارین مخاط بین غدد لیبرکوهن و در داخل پرزها

تیمارهای شاهد (J1) و بافر (J2) مشاهده شد (شکل ۲). شکل پرزها تا حدود زیادی حفظ شده بود و در تیمار باکتری-مخمر (J3) نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای نسبت به تیمارهای شاهد و بافر به مراتب کمتر بود ($J1 > J2 > J3$).

در بررسی هیستوپاتولوژیک ایلئوم (E) نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در تیمار شاهد (E1) زیاد و همراه با هایپرپلازی پلاک‌های پی‌یر بود (شکل ۳). نکروز پرزها، نفوذ گسترده‌ی سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در پارین مخاط و در داخل پرزها مشاهده می‌شود. در تیمار بافر بی‌کربنات سدیم (E2) پلاک‌های پی‌یر با فراوانی بیشتری دیده می‌شوند، پرزها بلندتر از حد طبیعی و نفوذ سلول‌های التهابی در پارین مخاط مشاهده می‌شود.

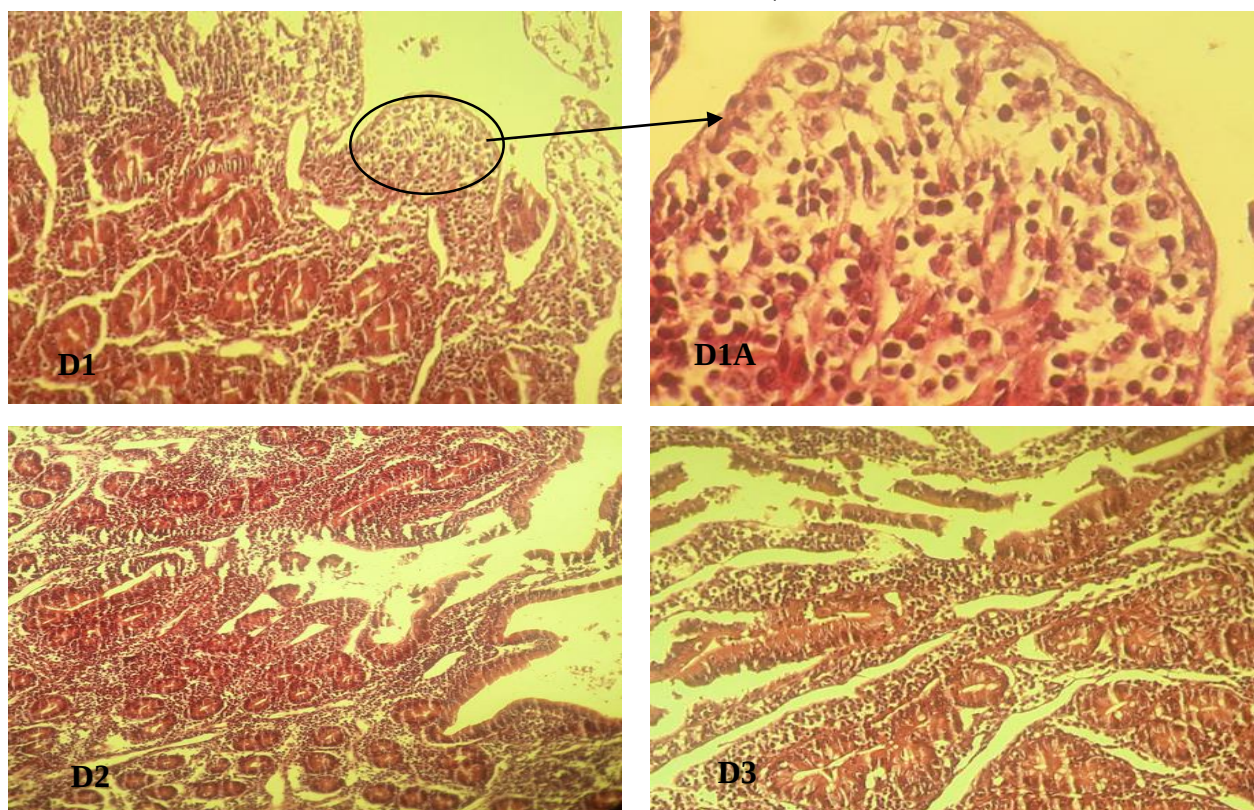


Figure 1- Duodenum: (D1) control group, X100; (D1A) Infiltration of mononuclear inflammatory cells, X400; (D2) Buffer treated group, X40; (D3) *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae* treated group, X40. Hematoxylin-Eosin staining.

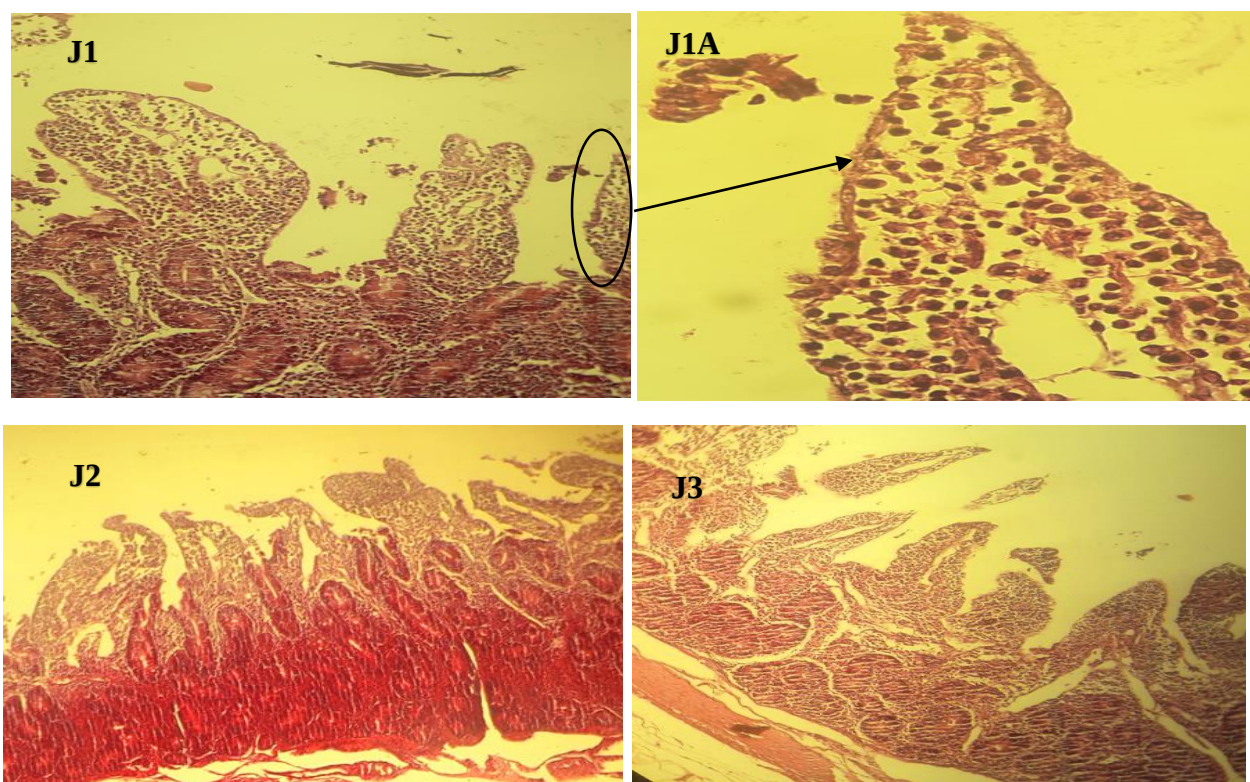


Figure 2- Jejunum: (J1) control group, X100; (J1A) Infiltration of mononuclear inflammatory cells, X400; (J2) Buffe treated group, X40; (J3) *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae* treated group, X40. Hematoxylin-Eosin staining.

تعداد پلاک‌های پی‌یر که در ایلئوم مشاهده شدند؛ در واقع تجمعات سلول‌های لنفاوی در بافت روده هستند که نقش مهمی در پاسخ دستگاه ایمنی نسبت به عوامل بیماری‌زا دارند و افزایش بیش از حد آن‌ها نیز مشکلاتی مانند توهم رفتگی روده را در پی خواهد داشت (ربودی و سیستر ۲۰۱۶)؛ که در تیمارهای حاوی تنظیم‌کننده‌ی pH به خصوص تیمار باکتری-مخمر کاهش آن‌ها نشان‌دهنده‌ی بهبود وضعیت بافت‌های روده در جیره‌های با کنسانتره‌ی بالا بوده و شرایط بهتری را برای هضم و جذب فراهم می‌کند.

در تیمار باکتری-مخمر (E3) از فراوانی تعداد پلاک‌های پی‌یر نسبت به سایر تیمارها کاسته شده است که نشان‌دهنده‌ی کاهش التهاب بافتی است، ساختار هیستولوژیک پرزها تا حدود زیادی حفظ شده است و پرزها بلندتر به نظر می‌رسند. بطور کلی ایلئوم در تیمار باکتری-مخمر نسبت به تیمار بافر و شاهد از وضعیت بهتری برخوردار است.

در منابع، پژوهش‌های مشابهی در خصوص هیستوپاتولوژی بخش‌های مختلف روده مشاهده نشد. به‌طور کلی تغییرات ایجاد شده در بافت‌های روده جهت مقابله با التهاب‌های ایجاد شده بوده است؛ مثلاً افزایش

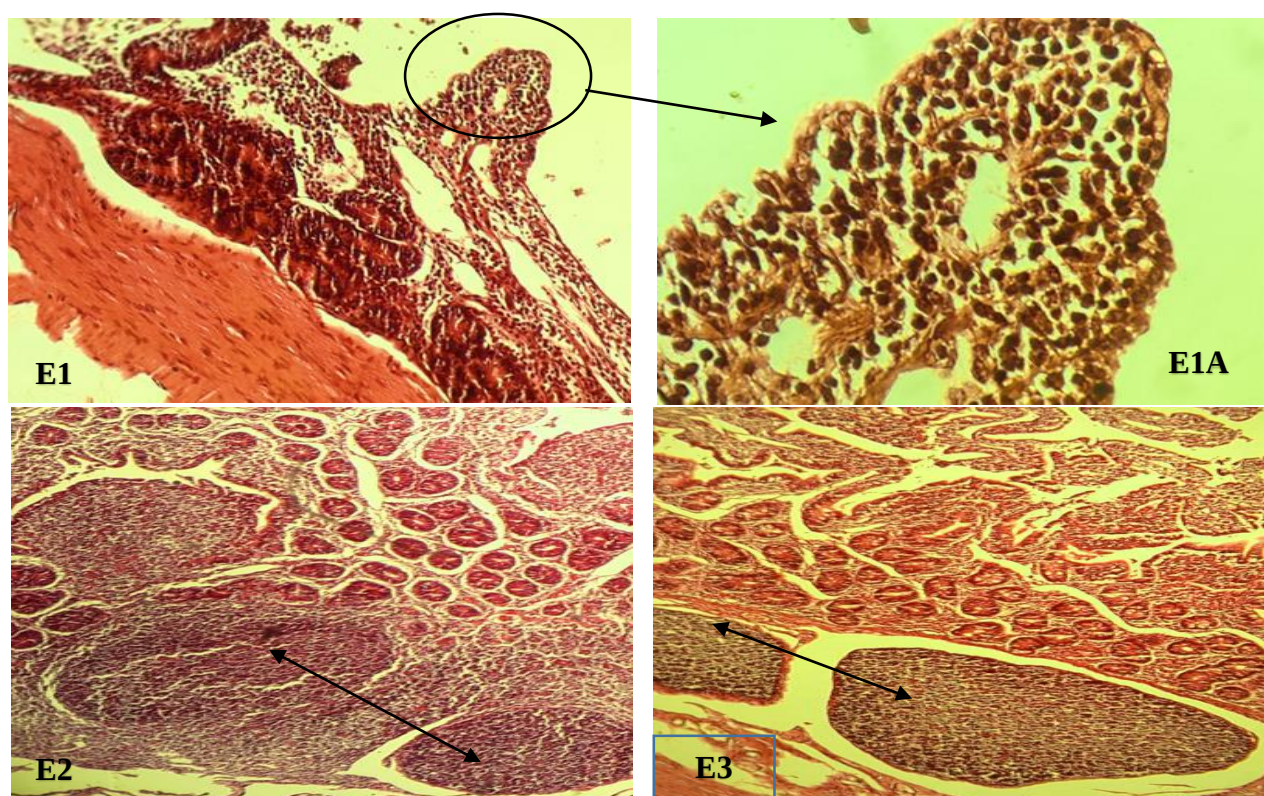


Figure 3- Ileum: (E1) control group, X100; (E1A) Infiltration of mononuclear inflammatory cells, X400; (E2) Buffer treated group, X40; (E3) *Megasphaera elsdenii*+ *Saccharomyces cerevisiae* treated group, X40. Arrow: Peyer's patches. Hematoxylin-Eosin staining.

هیستوپاتولوژی روده بزرگ

در بررسی هیستوپاتولوژیک روده بزرگ نفوذ سلول های التهابی در پارین و لابلائی غدد لیبرهون و نکروز مخاط در تیمار شاهد (C1) دیده شد (شکل ۴). سلول های التهابی غالباً سلول های تک هسته ای و از نوع لنفوسیت و پلاسماسل هستند. در این قسمت از روده، سلول های جامی به فراوانی قابل مشاهده هستند. نفوذ سلول های التهابی تک هسته ای در این بخش نسبت به روده کوچک به مراتب کمتر است. شدت ضایعات بافتی مانند نفوذ سلول های التهابی و نکروز مخاط در تیمار بافر

(C2) و باکتری-مخمر (C3) از تیمار شاهد کمتر بود؛ به ویژه در تیمار باکتری-مخمر از نفوذ سلول های التهابی به میزان زیادی کاسته شده است. اپیتلیوم روده بزرگ ساختار یک لایه دارد در حالی که شکمبه دارای ساختار چند لایه با اتصالات محکم در ۲ لایه میانی است (گراهام و سیمونز ۲۰۰۵). اپیتلیوم روده بزرگ نسبت به اپیتلیوم شکمبه در مقابل اسیدیته بالا و غلظت بالای LPS آسیب پذیرتر است. بنابراین سلامت دام در جیره های پر کنسانتره با افزایش LPS و سمیت آن در سکوم به خطر می افتد (لی و همکاران ۲۰۱۲).

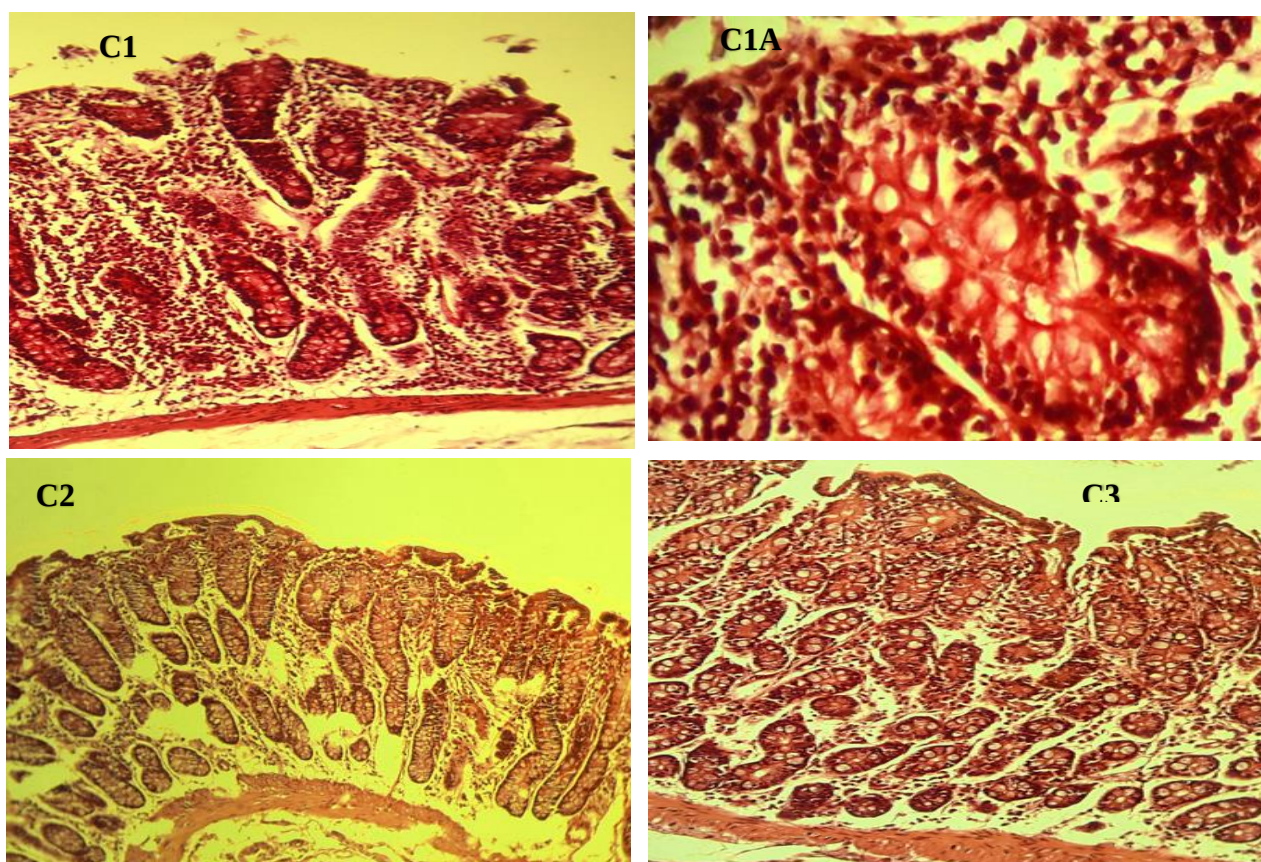


Figure 4- Colon: (C1) control group, X100; (C1A) Infiltration of mononuclear inflammatory cells, X400; (C2) Buffer treated group, X40; (C3) *Megasphaera elsdenii*+*Saccharomyces cerevisiae* treated group, X100. Hematoxylin-Eosin staining.

ساکرومایسیس سرویسیه در جیره‌ی با کنسانتره‌ی بالا کاهش عوامل ایجاد کننده‌ی التهاب (LPS) و پروتئین‌های فاز حاد در خون و روده‌ی بزرگ گزارش شد (لی و همکاران ۲۰۱۶) که می‌تواند تایید کننده‌ی کاهش سلول‌های التهابی در بافت روده‌ی بزرگ در تیمار باکتری-مخمر باشد. بنابراین کاهش نفوذ سلول‌های التهابی که نتیجه‌ی کاهش آسیب‌های بافتی است باعث ایجاد شرایط مطلوب‌تر برای دام و در نتیجه بهبود عملکرد دام خواهد شد.

مصرف جیره‌ی دارای دانه‌ی بالا باعث کاهش pH و افزایش غلظت پروتئین‌های فاز حاد در خون و LPS در روده‌ی بزرگ می‌شود. اسیدوز حاصل از مصرف جیره با کنسانتره بالا باعث افزایش تخمیر در روده‌ی بزرگ می‌شود. افزایش غلظت LPS در سکوم در شرایط چالش‌های اسیدوز تحت حاد (SARA) بر پایه دانه، به دلیل رشد باکتری‌های تولید کننده LPS، در روده‌ی بزرگ نیز قابل مشاهده می‌باشد (لی و همکاران ۲۰۱۲). در جیره‌ی با کنسانتره بالا با به کار بردن آکالوئیدهای گیاهی جهت کنترل اسیدوز در گاو (سانچز و همکاران ۲۰۲۰)، کاهش سلول‌های التهابی و پروتئین‌های فاز حاد را در روده‌ی بزرگ (سکوم و کولون) گزارش کردند که با نتایج آزمایش حاضر حین به کار بردن عوامل تنظیم کننده‌ی pH در کاهش سلول‌های التهابی در روده‌ی بزرگ مطابقت دارد. در گاوهای شیری با به کار بردن مخمر

Table 3- The rumen volatile fatty acids concentration and pH in fattening lambs fed with the experimental diets

Variables	Treatments			SEM	P-value
	Control	Buffer	Me+Sc		
Total VFA, mmol	106.60 ^b	107.46 ^b	141.89 ^a	6.16	0.001
Individual VFA, mmol					
Acetate(A)	50.55 ^b	59.29 ^b	70.07 ^a	3.19	0.01
Propionate(P)	28.55 ^b	26.65 ^b	58.18 ^a	5.27	0.0002
Isobutyrate	1.48 ^a	0.52 ^b	0.46 ^b	0.18	0.01
Butyrate(B)	19.38 ^a	16.27 ^{ab}	9.92 ^b	1.9	0.1
Isovalerate	1.73 ^a	0.57 ^b	0.67 ^b	0.22	0.032
Valerate	3.0 ^a	1.82 ^b	1.38 ^b	0.25	0.0006
A:P ratio	1.89 ^{ab}	2.33 ^a	1.20 ^b	0.21	0.08
pH					
Time, h					
0	7.04	7.00	7.07	0.049	0.86
3	6.07	6.12	6.10	0.042	0.91
6	6.44	6.45	6.32	0.044	0.41

SEM= standard error of means; VFA= Volatile fatty acid; Control= without any supplementation, Buffer = sodium bicarbonate supplementation, Me+Sc= *Megasphaera elsdenii* + *Saccharomyces cerevisiae*

^{a,b} Means with different superscripts in the same row differ significantly (P < 0.05).

نتیجه گیری

است. بنابراین، در درجه اول مصرف بافر یا انواع دیگری از تنظیم کننده های pH به همراه جیره های با کنسانتره بالا در بره های پرواری توصیه می شود، چیزی که معمولاً در بره های پرواری متداول نیست و بیشتر برای دام های داشتی نظیر گاوهای شیری استفاده می شود؛ بعلاوه، برای بهبود شاخص های روده و کاهش آسیب های وارده که نقش موثری در سلامت دام دارند، مصرف باکتری- مخمر را در مقایسه با بافر شیمیایی می توان پیشنهاد کرد.

در آزمایش حاضر با توجه به اینکه به کار بردن عوامل تنظیم کننده ی pH، بویژه ترکیب باکتری-مخمر باعث توسعه شاخص های مخاط روده مثل ارتفاع پرز، عمق کریپت شده اند و از اثر مخرب اسیدوز مانند نفوذ سلول های التهابی و نکروز که نتیجه ی افزایش مصرف کنسانتره بالا بر بافت های گوارشی است؛ کاسته شده

منابع مورد استفاده

- Asadollahi S, Ponnampalam EN, Sari M and Erfanimajd N, 2018. Effects of sugar beet pulp and roasted canola seed, on performance, rumen and small intestine digesta volatile fatty acid concentrations, and small intestine morphology of Arabian lambs. *Livestock Science* 216: 130-137.
- Aschenbach JR, Borau T and Gabel G, 2002. Glucose uptake via SGLT-1 is stimulated by $\beta 2$ adrenoreceptors in the ruminal epithelium of sheep. *The Journal of Nutrition* 132: 1254-1257.
- Attaix D and Meslin JC, 1991. Changes in small intestinal mucosa morphology and cell renewal in suckling, prolonged-suckling, and weaned lambs. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 261(4): R811-R818.
- DeClerck JC, Reeves NR, Miller MF, Johnson BJ, Ducharme GA and Rathmann RJ, 2020. The influence of *Megasphaera elsdenii* on rumen morphometrics of cull cows immediately stepped up to a high-energy finishing diet. *Translational Animal Science* 4(1): 194-205.
- Ding J, Zhou ZM, Ren LP and Meng QX, 2008. Effect of monensin and live yeast supplementation on growth performance, nutrient digestibility, carcass characteristics and ruminal fermentation parameters in lambs fed steam-flaked corn-based diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 21(4): 547-554.
- 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.

- 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 one* 13(2): e0193313.
- Graham C and Simmons NL, 2005. Functional organization of the bovine rumen epithelium. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 288(1): 173-181.
- Jayaraman S, Thangavel G, Kurian H, Mani R, Mukkalil R and Chirakkal H, 2013. *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Poultry Science* 92(2): 370-374.
- Khorasani O, Chaji M and 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.
- Khorasani O, Chaji M, and 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.
- Klis FM, Mol P, Hellingwerf K and Brul S, 2002. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS microbiology reviews* 26(3): 239-256.
- Kreikemeier KK, Harmon DL, Peters JP, Gross KL, Armendariz CK and Krehbiel CR, 1990. Influence of dietary forage and feed intake on carbohydrase activities and small intestinal morphology of calves. *Journal of Animal Science* 68(9): 2916-2929.
- Lechartier C and Peyraud JL, 2011. The effects of starch and rapidly degradable dry matter from concentrate on ruminal digestion in dairy cows fed corn silage-based diets with fixed forage proportion. *Journal of Dairy Science* 94(5): 2440-2454.
- Lei X, Piao X, Ru Y, Zhang H, Péron A and Zhang H, 2015. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based direct-fed microbial on performance, nutrient utilization, intestinal morphology and cecal microflora in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 28(2): 239
- 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. *Rev Méd Vét* 162: 192-197.
- Li S, Khafipour E, Krause DO, Kroeker A, Rodriguez-Leconte JC, Gozho GN, Plaizier JC, 2012. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95: 294-303.
- Li S, Yoon I, Scott M, Khafipour E and Plaizier JC, 2016. Impact of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product and subacute ruminal acidosis on production, inflammation, and fermentation in the rumen and hindgut of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 21: 50-60.
- Longenbach JJ and Heinrichs AJ, 1998. A review of the importance and physiological role of curd formation in the abomasum of young calves. *Animal Feed Science and Technology* 73(1-2): 85-97.
- 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.
- Metzler BU and Mosenthin R, 2008. A review of interactions between dietary fiber and the gastrointestinal microbiota and their consequences on intestinal phosphorus metabolism in growing pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 21(4): 603-615.
- Morin CL, Ling V and Bourassa D, 1980. Small intestinal and colonic changes induced by a chemically defined diet. *Digestive Diseases and Sciences* 25(2): 123-128.
- NRC, 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids*. National Academy Press, Washington DC.
- 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 one* 8(7): e67824.

- Poloni V, Magnoli A, Fochesato A, Cristofolini A, Caverzan M, Merkis C, Montenegro M and Cavaglieri L, 2020. A *Saccharomyces cerevisiae* RC016-based feed additive reduces liver toxicity, residual aflatoxin B1 levels and positively influences intestinal morphology in broiler chickens fed chronic aflatoxin B1-contaminated diets. *Animal Nutrition* 6(1): 31-38.
- Reboldi A and Cyster JG, 2016. Peyer's patches: organizing B-cell responses at the intestinal frontier. *Immunological reviews* 271(1): 230-245.
- 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.
- 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.
- Shamoto K and Yamauchi K, 2000. Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures. *Poultry Science* 79(5): 718-723
- 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: An International Journal of Animal Bioscience* 7(12): 1910.
- Strusińska D, Minakowski D, Bomba G, Otrocka-Domagala I, Wiśniewska M and Tywończuk J, 2009. Effect of whole cereal grains contained in the ration on calf performance and selected morphometric parameters of the rumen and small intestine. *Czech Journal of Animal Science* 54(12): 540-551.
- Vi RB, McLeod KR, Klotz JL and Heitmann RN, 2004. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal of Dairy Science* 87: E55-E65.
- 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.
- Zhang AW, Lee BD, Lee SK, Lee KW, An GH, Song KB and Lee CH, 2005. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. *Poultry Science* 84(7): 1015-1021.

Effects of buffer and *Megasphaera elsdenii* as pH regulators, on histomorphometry and histopathology of small and large intestine of Arabian fattening lambs fed with high concentrate diets

O Khorasani¹, M Chaji^{2*} and F Baghban³

Received: August 24, 2020

Accepted: November 8, 2020

¹ Former PhD 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 Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Azad University of Yasoj, Yasij, Iran

Corresponding author: E mail: chaji@asnrukh.ac.ir

	Journal of Animal Science/vol.31 No.3/ 2021/pp 73-87 https://animalscience.tabrizu.ac.ir	
© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/AS.2022.41422.1580		

Introduction: In the small intestine, villi height, crypt depth, epithelial tissue thickness, and the ratio of villi height to crypt depth play a significant role in the final stages of digestion and absorption of nutrients from the gastrointestinal tract (Strusińska et al., 2009, Wang et al. 2009). The special shape of the villi and the presence of small intestinal micropores increase the level of intestinal absorption and have a direct effect on their efficiency and function (Kreikemeier et al. 1991). The presence and absorption of volatile fatty acids are the keys to developing the tissue structure of the gastrointestinal tract (Attaix and Meslin 1991 and Vi et al. 2004). The effect of volatile fatty acids on stimulating cell proliferation and growth of gastrointestinal tissue is not limited to the reticulum and rumen, but also affects the small intestinal villi. (Wang et al. 2009). Feeding animals with high concentration diets could cause metabolic problems including acidosis (Aschenbach et al. 2002). Its results are included the death of gram-negative bacteria and the release of endotoxins (lipopolysaccharides) into the bloodstream from the damaged rumen wall, activating inflammatory mediators, and affecting the productive function of animals (Garcia Diaz et al. 2018). The possible effects of microbial additives on the gastrointestinal tract are through the regulation of ruminal pH and the immune system, which are useful for improving digestion, function, and animal health (Ding et al. 2008 and Silberberg et al. 2013). The use of yeast and other biologically active compounds such as lactic acid consuming bacteria compared to chemical buffers could be effective in reducing inflammation caused by acidosis. (Aschenbach et al. 2019).

Material and methods: Twenty-four Arabic male lambs with 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. The trial period consisted of 77 days (11 weeks) including 14 days of habituation period and 63 days (9 weeks) of the recording period. The lambs were randomly assigned to one of three treatments: 1-control (no additive) 2-control + Sodium bicarbonate (1% daily diet in two meals) 3-control + *Megasphaera elsdenii* and *Saccharomyces cerevisiae* (bacterium - yeast). The amount of *Megasphaera elsdenii* was 3 ml per animal (4.5×10^8 cfu / ml) plus 2 g of *Saccharomyces cerevisiae* (DFM) fed to the animals daily in the morning (Sedighi and Alipour 2019). The diets were adjusted using the Small Ruminants Nutrition Requirements (NRC 2007). The lambs were fed a fully mixed (TMR) ratio of 30% forage and 70% concentrate at two meals (8 and 16 hours) with free access

to water. For the histological trial of the intestines, fragments were separated from the middle part of the three regions of the duodenum, jejunum, and ileum, and the middle part of the large intestine and each part were emptied with formalin rinsing. Then the two ends of each piece were closed and neutral formalin 10 % was injected into them, and separately in containers with lid containing formalin 10 % were placed. Micrometric studies of different parts of the small intestine: Villus height, crypt depth, villus width, and thickness of tunica muscularis were examined histomorphometrically.

Results and discussion: villi height, crypt depth, and villi surface of the duodenum in bacterium - yeast treatment were higher than other treatments ($P<0.05$). The thickness of tunica muscularis in the buffer treatment was higher than other treatments ($P<0.05$). The width of duodenum villi in the buffer and bacterium-yeast treatments was higher than the control treatment and was significant in the bacterium - yeast treatment than the control treatment ($P<0.05$). No significant difference was observed between jejunum tissue indexes in the treatments. The height of ileum villi in buffer and bacterium - yeast treatments was higher than the control treatment and was significant in the bacterium - yeast treatment than the control treatment ($P<0.05$). Crypt depth and villi surface of ileum in bacterium - yeast treatment was higher than other treatments ($P<0.05$). In buffer and bacterium - yeast treatment due to pH adjustment and increased activity of fiber degrading bacteria which produce more acetate (Lechartier and Peyraud 2011 and Malekkhahi et al. 2016) The dimensions of the villi of the small intestine increased. In Histopathological investigation of the duodenum in all three treatments of control, buffer, and bacterium -yeast, infiltration of mononuclear inflammatory cells in the parenchymal mucosa was observed. In terms of lesion severity, the highest involvement was in the mucosa of the control treatment and then in the sodium bicarbonate buffer treatment and was less in the bacterium-yeast treatment than the other two treatments. In the bacterium-yeast treatment, the penetration of mononuclear inflammatory cells in the parenchyma of jejunal mucosa was much less than control and buffer treatments. In bacterium -yeast treatment, the frequency of Peyer's patches in the ileum is reduced compared to other treatments, which indicates a reduction in tissue inflammation. Histopathological investigation of the large intestine showed the infiltration of mononuclear inflammatory cells in the control treatment. The penetration of mononuclear inflammatory cells in this part was less than that of the small intestine. The severity of tissue lesions in the buffer and bacterium-yeast treatments was lower than the control treatment. In bacterium-yeast treatment, the penetration of mononuclear inflammatory cells was greatly reduced.

Conclusion: Compared to the control, the use of pH regulators in terms of histopathology reduce tissue damage in the small intestine and large intestine. The use of pH regulators, especially the bacterium-yeast composition, has led to the development of intestinal mucosal indices such as villi height and crypt depth. In addition, the destructive effect of acidosis, such as the penetration of inflammatory cells and necrosis, which was the result of increased consumption of high concentrates on digestive tissues; Has been reduced. Therefore, the use of pH regulators, especially bacterium - yeast, improve the tissue structure of the small intestine and they are reduced tissue damage in the small and large intestines.

Keywords: Buffer, Histomorphometry, Histopathology, *Megasphaera elsdenii*, *Saccharomyces cerevisiae*