



Original Research Paper

Histomorphometry and histopathology of small and large intestine of fattening lambs fed pomegranate peel treated with tannase producing bacteria

Zahra Jahanara ¹, Morteza Chaji ^{1*}, Omid Khorasani ², Farshad Baghban ³

¹ Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

² Kharazmi Industrial School of Dezful, Dezful, Iran

³ Department of Veterinary Medicine, Yasouj Branch, Islamic Azad University, Yasouj, Iran

Key Words

Feed efficiency
Inflammatory cells
Tannin
Tissue
Villi

Abstract

Introduction: High concentrations of polyphenolic compounds in plants cause tissue damage, Erosion of microvilli, and villi shortening. Therefore, the aim of this study was to evaluate the histomorphometry and histopathology of small and large intestinal tissue of fattening lambs fed pomegranate peel and pomegranate peel treated with *Klebsiella pneumonia* as a tannase-producing bacteria.

Materials & Methods: Fifteen Arabi male lambs with nine or ten months old and initial body weight of 39.75 ± 7.91 kg were used in a completely randomized design with three treatments and five replicates. Experimental treatments included 1- control diet (without pomegranate peel) 2- control diet + 20% untreated pomegranate peel, 3- control diet + 20% pomegranate peel treated with *Klebsiella pneumoniae*. After slaughtering the lambs, for histological studies, parts of the duodenum, jejunum, and ileum of the small intestine and large intestine were separated and placed separately in closed-sealed containers containing 10 Percentage formalin.

Result: The effect of experimental treatments on the feed consumption of the whole period was significant ($P < 0.05$). Villi height, crypt depth, villi width and villi area in duodenum in treatment containing untreated pomegranate peel were significantly lower than other treatments ($P < 0.05$). Thickness of tunica muscularis in the treatment containing untreated pomegranate peel was significantly higher than other treatments ($P < 0.05$). In the jejunum section, the villi height in the control treatment was higher than other treatments ($P < 0.05$). Thickness of tunica muscularis in the treatment containing pomegranate peel treated with bacteria was less than other treatments ($P < 0.05$). Villus height to crypt depth ratio in the control treatment was significantly higher than other treatments ($P < 0.05$) and in the treatment containing pomegranate peel treated with bacteria was more numerically than the treatment containing untreated pomegranate peel. In the ileum section, thickness of tunica muscularis in the treatment containing pomegranate peel treated with bacteria was significantly less than other treatments ($P < 0.05$). The severity of inflammation in different intestinal tissues was reduced in the treatment containing pomegranate peel treated with bacteria compared to the treatment containing untreated pomegranate peel.

Conclusion: Due to the positive effects of *Klebsiella pneumoniae* in increase villi height, villi height to crypt depth ratio in the treatment containing pomegranate peel treated with bacteria compared to the treatment containing untreated pomegranate peel; reducing inflammatory cells of eosinophils in the small intestine and reducing the severity of inflammation in the large intestine for treatment containing pomegranate peel treated with bacteria compared to the treatment containing untreated pomegranate peel, the use of this bacterium can be recommended to moderate tannins and other polyphenolic substances in feeds containing tannins.

* Corresponding Author's email: chaji@asnrukh.ac.ir, mortezachaji@yahoo.com

Received: 2 September 2021; Reviewed: 6 October 2021; Revised: 8 December 2021; Accepted: 8 January 2022

(DOI): [10.22034/AEJ.2022.319187.2701](https://doi.org/10.22034/AEJ.2022.319187.2701)

مقاله پژوهشی

هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی روده کوچک و بزرگ بره‌های پرواری تغذیه شده با پوست انار عمل آوری شده با باکتری تولیدکننده تاناز

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

^۱ گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

^۲ هنرستان خوارزمی دزفول، دزفول، ایران

^۳ گروه دامپزشکی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

بازده خوراک

بافت

پرز

تانن

سلول‌های التهابی

مقدمه: غلظت بالای ترکیبات پلی فنولی موجود در گیاهان باعث ایجاد ضایعات بافتی، فرسایش میکروویلی و کوتاه شدن پرزها می‌شود. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی هیستومورفومتری و هیستوپاتولوژی بافت روده کوچک و بزرگ بره‌های پرواری تغذیه شده با پوست انار خام و پوست انار عمل آوری شده با باکتری کلبسیلا پنومونیه به عنوان باکتری تولیدکننده تاناز بود.

مواد و روش‌ها: در آزمایش حاضر از ۱۵ رأس بره نر عربی ۹ تا ۱۰ ماهه با وزن $39/75 \pm 7/91$ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۵ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره شاهد (فاقد پوست انار خام)، ۲- جیره شاهد + ۲۰ درصد پوست انار خام، ۳- جیره شاهد + ۲۰ درصد پوست انار عمل آوری شده با باکتری کلبسیلا پنومونیه بودند. پس از کشتار دام‌ها، جهت مطالعات بافت‌شناسی، از بخش‌های دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم روده کوچک و روده بزرگ قطعاتی جدا و به‌طور جداگانه در ظروف درب بسته حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند.

نتایج: اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین ماده خشک مصرفی کل دوره معنی‌دار بود ($P < 0/05$). ارتفاع پرز، عمق کریپت، عرض پرز و مساحت پرز در دئودنوم در تیمار حاوی پوست انار خام به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها کم‌تر بود ($P < 0/05$). ضخامت لایه عضلانی در تیمار حاوی پوست انار خام به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها بیش‌تر بود ($P < 0/05$). در بخش ژژنوم ارتفاع پرز در تیمار شاهد از سایر تیمارها بیش‌تر بود ($P < 0/05$). ضخامت لایه عضلانی در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری از سایر تیمارها کم‌تر بود ($P < 0/05$). نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود ($P < 0/05$) و در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری از تیمار حاوی پوست انار خام به‌صورت عددی بیش‌تر بود. در بخش ایلئوم، ضخامت لایه عضلانی در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها کم‌تر بود ($P < 0/05$). در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری، نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام از شدت التهاب در بافت‌های مختلف روده‌ها کاسته شد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به تاثیرات مثبت باکتری کلبسیلا پنومونیه در افزایش ارتفاع پرز، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام و کاهش سلول‌های التهابی ائوزینوفیل در روده کوچک و شدت التهاب در روده بزرگ در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام، می‌توان مصرف این باکتری را در جهت تعدیل تانن و سایر مواد پلی فنولی در مواد غذایی حاوی تانن توصیه کرد.

مقدمه

تغییر، تخریب و غیرفعال کردن تانن بر اثرات آن غلبه کرد؛ در این میان برخی از حیوانات از طریق وجود میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده تانن با تانن سازگار شده‌اند و این جدایه‌ها احتمالاً با تغییر pH و کاهش اثرات سمی تانن، فعالیت پکتیناز و سلولاز را افزایش می‌دهند؛ در واقع کاهش فنل‌ها و تانن‌ها باعث افزایش قابلیت هضم توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌شود؛ بنابراین، در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، عمل‌آوری برگ درختان غنی از تانن با تاناز در سیستم‌های تغذیه حیوانات بسیار مهم است (۱۴). در مجموع، از جمله پیامدهای مضر درصد بالای تانن در رژیم غذایی نشخوارکنندگان کاهش مصرف خوراک، تاثیر منفی بر فعالیت باکتری‌های شکمبه، کاهش کارایی آنزیم‌های گوارشی، کاهش دسترسی به مواد مغذی و در نهایت کاهش رشد و تولید حیوانات می‌باشد (۱۵). در آزمایش حاضر تاثیر یکی از تجزیه‌کنندگان تانن یعنی باکتری کلبسیلا پنومونیه (تولید کننده تاناز) مورد بررسی و توجه قرار گرفت. بنابراین، آزمایش حاضر با هدف بررسی تاثیر تغذیه پوست انار به عنوان یک منبع دارای تانن و برخی از ترکیبات پلی‌فنولی دیگر که با باکتری کلبسیلا پنومونیه عمل‌آوری شده بود؛ بر هیستومورفومتري و هیستوپاتولوژی روده کوچک و بزرگ بره‌های پرواری انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در مزرعه آموزشی-پژوهشی و آزمایشگاه‌های دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. در این آزمایش از ۱۵ راس بره نر عربی ۹±۱ ماهه با وزن اولیه ۳۹/۷۵±۱/۹۷ کیلوگرم استفاده شد. طول دوره آزمایش ۳۵ روز شامل ۱۴ روز دوره عادت‌پذیری و ۲۱ روز رکوردبرداری و آزمایش بود. قبل از آغاز پژوهش همه بره‌ها بر ضدانگل‌های بیرونی (یک میلی‌لیتر آزانتول ۱۰ درصد در ۷ لیتر آب به روش اسپری؛ شرکت بایر آلمان) و انگل‌های داخلی (تریکل بندازول با لوامیزل، ۱۲ میلی‌لیتر برای هر گوسفند؛ شرکت دارو پخش ایران) تیمار شدند و برای مقابله با انتروتوکسمی (۳ میلی‌لیتر برای هر بره، موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی-ایران) واکسینه شدند و دام‌ها در قفس‌های متابولیکی (متر ۱/۴×۱/۲) نگهداری شدند. بره‌ها به صورت تصادفی به یکی از سه تیمار شامل ۱- شاهد (جیره فاقد پوست انار)، ۲- جیره شاهد+۲۰ درصد پوست انار خام، ۳- جیره شاهد+۲۰ درصد پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده تاناز اختصاص یافتند. شرایط تغذیه و مدیریت پرورش بره‌های انتخاب شده قبل از آزمایش یکسان بود. جیره بره‌ها با استفاده از جدول احتیاجات مواد مغذی نشخوارکنندگان کوچک (۱۶) تنظیم شدند و به صورت کاملاً مخلوط در دو نوبت (ساعت هشت و شانزده) در حد اشتها به همراه دسترسی آزاد به آب در اختیار بره‌ها قرار گرفت (جدول ۱). پوست انارها از شهرستان باغملک- استان خوزستان تهیه و در هوای آزاد و سایه خشک و آسیاب شدند. جهت عمل‌آوری پوست انار پس از تبدیل آن‌ها به قطعات ۳-۴ سانتی‌متری، در ۱۰

در روده کوچک ارتفاع پرز، عمق کریپت، اندازه بافت پوششی و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت نقش قابل توجهی در مراحل نهایی هضم و جذب مواد غذایی از دستگاه گوارش دارند (۱، ۲). بنابراین، عملکرد روده در جذب مواد مغذی به مورفولوژی آن وابسته است و هر گونه تغییر در ساختمان پرزها و نیز تغییر در تمایز و نمو سلول‌های جاذب، می‌تواند ظرفیت هضم و جذب و در نتیجه عملکرد آن را تغییر دهد (۲). پوست انار یکی از محصولات فرعی کارخانه‌های آبمیوه‌گیری در ایران می‌باشد که میزان تولید سالانه آن در حدود ۱۲۰ هزار تن است (۳). این پسماند حاوی مقادیر زیادی متابولیت‌های ثانویه مانند تانن، ساپونین و ترکیبات پلی‌فنولی با خواص متنوعی از قبیل اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی هستند (۴). پوست انار حاوی ۲۲۸۳/۷۷ میلی‌گرم در صد گرم اگزالات، ۲۶/۹۶ میلی‌گرم در صد گرم سیانید هیدروژن، ۶/۵ در صد آلکالوئید و ۱/۳۳ میلی‌گرم در صد گرم فیتات می‌باشد (۵). تانن‌ها بسته به غلظت و ماهیت آن‌ها، گونه‌های حیوانی، وضعیت فیزیولوژیکی حیوان و ترکیب جیره دارای اثرات مفید و مضر می‌باشند (۶) و با افزایش تانن، قابلیت تجزیه پروتئین‌ها کاهش می‌یابد (۷). همچنین تانن‌ها می‌توانند باعث عدم فعالیت اندوگلوکوناز خارج سلولی در برخی باکتری‌های هضم‌کننده فیبر شوند (۸، ۹) و مانع اتصال میکروب‌ها به ذرات غذایی و کاهش قابلیت هضم آن‌ها و در نتیجه باعث ماندگاری بیش‌تر آن‌ها در شکمبه شوند (۱۰). فرض بر این است که افزایش محتوای تانن در رژیم غذایی ممکن است منجر به آسیب‌هایی به بافت اپیتلیال دستگاه گوارش و در نتیجه کاهش جذب مواد مغذی شود (۱۱). بر این اساس تلاش‌های گسترده‌ای برای شناسایی میکروارگانیسم‌هایی که ممکن است مجموعه تانن و یا پروتئین تانن را تخریب کنند، انجام شده است، اما در مورد اثر تانن و گیاهان دارای تانن بر بافت پوششی دستگاه گوارش اطلاعات کمی در دست است (۱۱). تاناز کاربردهای گسترده‌ای در صنایع غذایی، داروسازی و صنایع شیمیایی نظیر تولید اسیدگالیک دارد؛ به علاوه، تاناز در شفاف‌سازی آبمیوه‌ها و تولید خوراک دام استفاده می‌شود (۱۲). باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای قادر به تولید تاناز هستند. در این میان سرعت رشد باکتری‌ها بسیار زیاد است و می‌توان آن‌ها را به راحتی در سطح ژنتیکی دستکاری کرد. علاوه بر این، تاناز باکتریایی می‌تواند تانن‌های طبیعی و اسیدتانیک را به طور مؤثر تجزیه و هیدرولیز کند (۱۳). گزارشات زیادی در مورد گونه‌های باکتریایی از جمله کلبسیلا پنومونیه وجود دارد که به تولید تاناز معروف است و تاناز تولیدی آن در محدوده pH ۴/۵ تا ۵/۵ ثابت بالاتری دارد. بر این اساس، تاناز حاصل از باکتری کلبسیلا پنومونیه به دلیل طبیعت اسیدوفیلیک و پایداری حرارتی، برای کاربردهای مختلف صنعتی از ارزش بالایی برخوردار است (۱۳). پژوهشگران گزارش کردند که سویه‌های کلبسیلا پنومونیه قادر به تجزیه ترکیبات فنولی هستند؛ در واقع با استفاده از باکتری‌ها می‌توان با

الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش معمول (۱۹) بدون استفاده از آنزیم آلفا آمیلاز و سولفیت سدیم و با حذف خاکستر انجام شد.

جدول ۲: ترکیبات شیمیایی پوست انار استفاده شده در آزمایش	
ترکیبات شیمیایی (درصد)	پوست انار
ماده خشک	۶۸/۵۰
ماده آلی	۸۳/۰۰
پروتئین خام	۲/۹۵
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۲۵/۷۴
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۱۹/۷۰
خاکستر	۶/۰۰
تانن کل	۱۲/۴۷

در پایان آزمایش از هر تیمار سه رأس بره که به میانگین وزن تیمارها نزدیک بود، انتخاب و کشتار شدند. سپس محوطه شکمی باز و دستگاه گوارش از ناحیه مری تا انتهای کولون جدا و خارج شد. جهت بررسی‌های بافت‌شناسی روده‌ها، از بخش میانی سه ناحیه دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم روده کوچک و بخش میانی روده بزرگ، قطعاتی به طول یک سانتی‌متر جدا شدند. هر یک از نمونه‌ها به‌طور جداگانه در ظروف درب بسته حاوی فرمالین ۱۰ درصد خنثی قرار داده شدند (۲۰). پس از ۲۴ ساعت فرمالین ظروف تعویض شد و نمونه‌ها جهت هیستومورفومتری و بررسی تغییرات بافتی به مرکز پاتولوژی دامپزشکی اصفهان منتقل شدند. در آزمایشگاه نمونه‌های بافتی با استفاده از قالب‌های لوک‌هارت به‌صورت عرضی در پارافین قالب‌گیری و با کمک میکروتوم چرخان Sakura (مدل SRM۲۰۰ CW ساخت چین) مقاطعی به ضخامت پنج میکرومتر تهیه و با استفاده از همتاکسیلین-آنزین رنگ‌آمیزی شدند (۲۰) و تغییرات بافتی با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری شاخص‌های مورد مطالعه در بزرگ‌نمایی‌های مختلف با استفاده از میکروسکوپ Nikon (مدل YS۱۰۰ ساخت ژاپن) با عدسی‌های مدرج و کالیبره شده انجام شد (در هر گروه سه نمونه و از هر نمونه ۵ برش بافتی و در هر برش بافتی حداقل چهار میدان میکروسکوپی شمارش و اندازه‌گیری شد). بخش‌های مختلف روده کوچک شامل طول، عمق، عرض پرز و ضخامت لایه عضلانی مورد بررسی هیستومورفومتری قرار گرفت. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۵ تکرار انجام شد. همه داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) با مدل خطی GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای اثرات معنی‌دار، مقایسه میانگین‌ها 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 باقی‌مانده یا خطای آزمون است.

نتایج

عملکرد رشد بره‌ها: اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین ماده خشک مصرفی کل دوره معنی‌دار بود ($P < 0.05$) (جدول ۳). از طرفی استفاده از پوست انار خام و عمل‌آوری شده با باکتری کلبسیلا

لیتر آب مقطر حاوی ۱ لیتر محلول نوترینت براث حاوی باکتری کلبسیلا پنومونیه (واحد تشکیل کلونی CFU: Colony-forming unit 10^6) قرار داده شدند و بلافاصله به کیسه‌های پلاستیکی ده کیلویی منتقل و جهت بی‌هوازی شدن محیط، درب آن‌ها بسته و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند که پس از خارج شدن از کیسه‌ها، خشک و آسیاب شدند و به‌صورت مخلوط با جیره به بره‌ها داده شدند (۱۷). مصرف خوراک بره‌ها به‌طور روزانه با توزین خوراک داده شده و مقدار باقی‌مانده، بعد از ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

جدول ۱: مواد تشکیل‌دهنده خوراک و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی تغذیه شده به بره‌ها

اقلام خوراکی (درصد)	شاهد	بدون عمل‌آوری	با عمل‌آوری
علوفه یونجه	۱۵/۰	۱۵/۰	۱۵/۰
کاه	۲۵	۲۵	۲۵
نمک طعام	۰/۵	۰/۵	۰/۵
پوست انار	۰	۲۰	۲۰
دانه جو	۲۰	۲۰	۲۰
دانه ذرت	۳/۵	۳/۵	۳/۵
سیوس	۳۰	۰	۰
کنجاله سویا	۵	۱۵	۱۵
مکمل ویتامینی-معدنی	۱	۱	۱
ترکیب شیمیایی (درصد)			
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۳۴/۳۹	۲۸/۲۶	۲۸/۱۸
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۲۷/۶۱	۲۷/۵۲	۲۶/۹۶
ماده آلی	۹۴	۹۳	۹۳
پروتئین خام	۱۳/۲۷۲۵	۱۲/۹۲۲۵	۱۲/۹۲۲۵
انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم)	۲/۴۴۲	۲/۴۳۹	۲/۴۳۹

مکمل ویتامین و مواد معدنی حاوی (در هر کیلوگرم): ۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در میلی‌گرم ویتامین A، ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در میلی‌گرم ویتامین D3، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E، ۱۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کلسم، ۶۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم فسفر، ۶۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سدیم، ۱۹۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منیزیم، ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن، ۱۹۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز، ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کبالت، ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ید و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آنتی‌اکسیدان. ۲ انرژی قابل متابولیسم محاسبه شده برای هر یک از اجزای جیره. ۳ کربوهیدرات‌های غیر فیبری = ۱۰۰۰ - (الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم در کیلوگرم) + ماده خشک (گرم در کیلوگرم) + پروتئین خام (گرم در کیلوگرم) + چربی خام (گرم در کیلوگرم) + خاکستر (گرم در کیلوگرم)).

وزن کشتی بره‌ها با اعمال ۱۲ ساعت گرسنگی انجام شد. با در نظر گرفتن مقدار خوراک مصرفی و تغییرات وزن، ضریب تبدیل، بازده خوراک و میانگین افزایش وزن روزانه محاسبه شد. جهت تعیین ترکیبات شیمیایی، نمونه‌های آزمایشی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس با آون (فن‌آزما تجهیز گستر ۲۴ لیتری، ایران) خشک و به‌وسیله آسیاب دارای الک دو میلی‌متری آسیاب شدند (۱۸). ترکیبات شیمیایی شامل پروتئین خام (روش کجلدال، کجلدال اتوماتیک، مدل V50 صنایع آزمایشگاهی بخشی تهران، ایران)، ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و تانن کل با روش‌های استاندارد مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (۱۸). سنجش

پنومونیه در مقایسه با شاهد تاثیر معنی داری بر فراسنجه های عملکرد رشد نظیر تغییرات وزن و ضریب تبدیل خوراک نداشت.

هیستومورفومتری روده باریک: تاثیر تیمارهای مورد آزمایش بر ساختار هیستومورفومتری بافت های روده کوچک در جدول ۴ آمده

جدول ۳: اثر جیره های آزمایشی بر فراسنجه های عملکردی بره ها

فراسنجه	شاهد	پوست انار خام	پوست انار عمل آوری شده	میانگین استاندارد خطای	سطح احتمال
مصرف خوراک (کیلوگرم)	۱۳۲۳/۵۰ ^b	۱۶۱۸/۷۴ ^a	۱۲۱۰/۲۲ ^b	۵۹/۵۹	۰/۰۰۷۲
میانگین افزایش وزن روزانه (کیلوگرم)	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۶	۰/۰۲۳	۰/۶۲۹
ضریب تبدیل	۶/۹۴	۹/۶۱	۷/۷۱	۱/۰۳۴	۰/۲۵۰
بازده خوراک	۰/۱۴۴	۰/۱۰۴	۰/۱۳۰	۰/۰۱۱	۰/۱۶۳

جدول ۴: اثر جیره های آزمایشی بر هیستومورفومتری بافت های روده کوچک (میکرومتر)

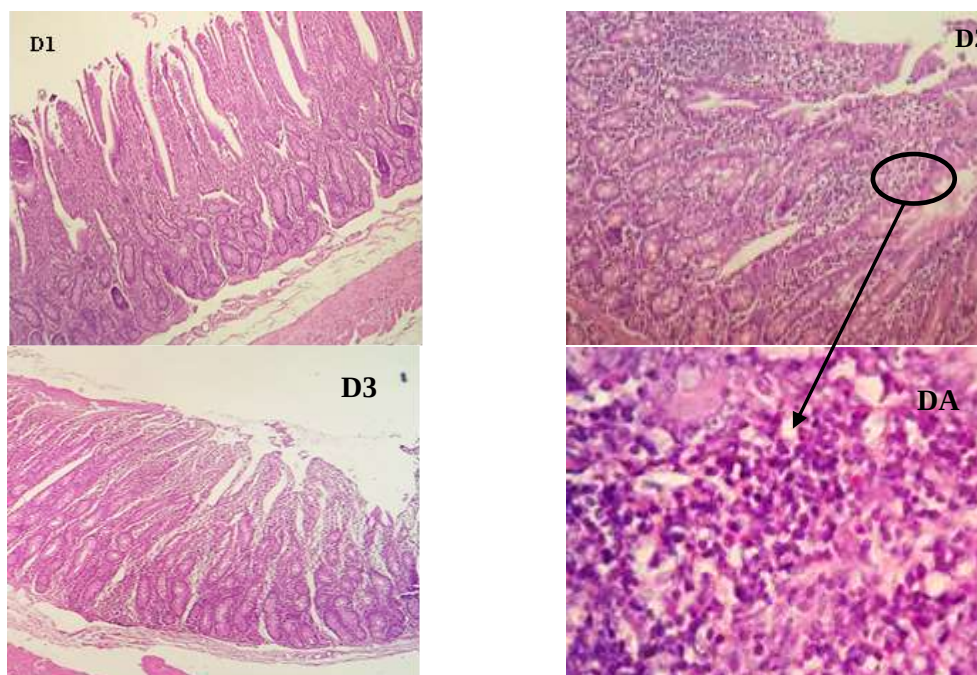
متغیرها	شاهد	پوست انار خام	پوست انار عمل آوری شده	خطای استاندارد	سطح احتمال
دوئودنوم					
ارتفاع پرز	۴۱۸/۳۳ ^a	۳۲۶/۶۷ ^c	۳۷۰/۸۳ ^b	۱۰/۲۱۸	۰/۰۰۰۳
عمق کریپت	۳۰۹/۱۷ ^a	۲۵۰/۰۰ ^b	۳۰۲/۵۰ ^a	۱۰/۶۶۵	۰/۰۴۱۱
عرض پرز	۹۸/۳۳۳ ^a	۸۲/۵۰۰ ^b	۱۰۱/۶۶۷ ^a	۳/۰۱۸	۰/۰۱۶۸
ضخامت لایه عضلانی	۲۳۰/۰۰ ^b	۳۸۷/۵۰ ^a	۲۱۸/۳۳ ^b	۱۶/۵۲۳	>۰/۰۰۰۱
نسبت ارتفاع به عمق کریپت	۱/۴۶۳۴	۱/۳۶۲۳	۱/۲۳۲۴	۰/۰۶۱	۰/۳۰۷۰
مساحت پرز (میلی متر مربع)	۱۲۸/۶۴ ^a	۸۵/۶۴ ^b	۱۱۸/۹۵ ^a	۵/۰۶۹	۰/۰۰۰۴
ژژنوم					
ارتفاع پرز	۵۴۰/۰۰ ^a	۳۹۰/۸۳ ^b	۴۲۳/۳۳ ^b	۱۸/۲۴۵	۰/۰۰۰۸
عمق کریپت	۳۲۰/۰۰	۳۲۴/۸۳	۳۳۰/۱۷	۱۶/۷۱۲	۰/۵۶۰۹
عرض پرز	۷۰/۹۱۷	۸۵/۸۳۳	۷۴/۱۶۷	۳/۰۸۲	۰/۱۱۳۹
ضخامت لایه عضلانی	۲۴۴/۱۷ ^a	۲۱۷/۵۰ ^{ab}	۱۹۴/۱۷ ^b	۹/۴۹۶	۰/۰۴۹۶
نسبت ارتفاع به عمق کریپت	۱/۹۵۳۴ ^a	۱/۲۳۳۰ ^b	۱/۳۴۰۰ ^b	۰/۱۰۳	۰/۰۰۱۸
مساحت پرز (میلی متر مربع)	۱۲۰/۶۴	۱۰۳/۲۳	۱۰۰/۸۵ ^a	۵/۶۱۹	۰/۲۹۹۶
ایلئوم					
ارتفاع پرز	۳۳۸/۳۳	۳۶۰/۰۰	۳۸۵/۸۳	۱۱/۳۰۵	۰/۲۳۳۹
عمق کریپت	۲۸۱/۶۷	۳۰۰/۰۰	۳۱۷/۵۰	۱۳/۱۶۹	۰/۵۵۳۰
عرض پرز	۸۵/۰۰۰	۹۰/۸۳۳	۹۲/۵۰۰	۲/۹۵۳	۰/۵۶۶۳
ضخامت لایه عضلانی	۲۵۷/۵۰ ^a	۲۵۲/۵۰ ^a	۱۹۱/۶۷ ^b	۸/۸۱۹	۰/۰۰۴۵
نسبت ارتفاع به عمق کریپت	۱/۳۶۲۹	۱/۲۲۱۰	۱/۲۵۳۰	۰/۰۶۳	۰/۶۴۵۳
مساحت پرز (میلی متر مربع)	۹۱/۷۷	۱۰۲/۲۹	۱۱۲/۴۴	۵/۰۳۱	۰/۲۵۰۸

میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشد ($P < 0.05$).

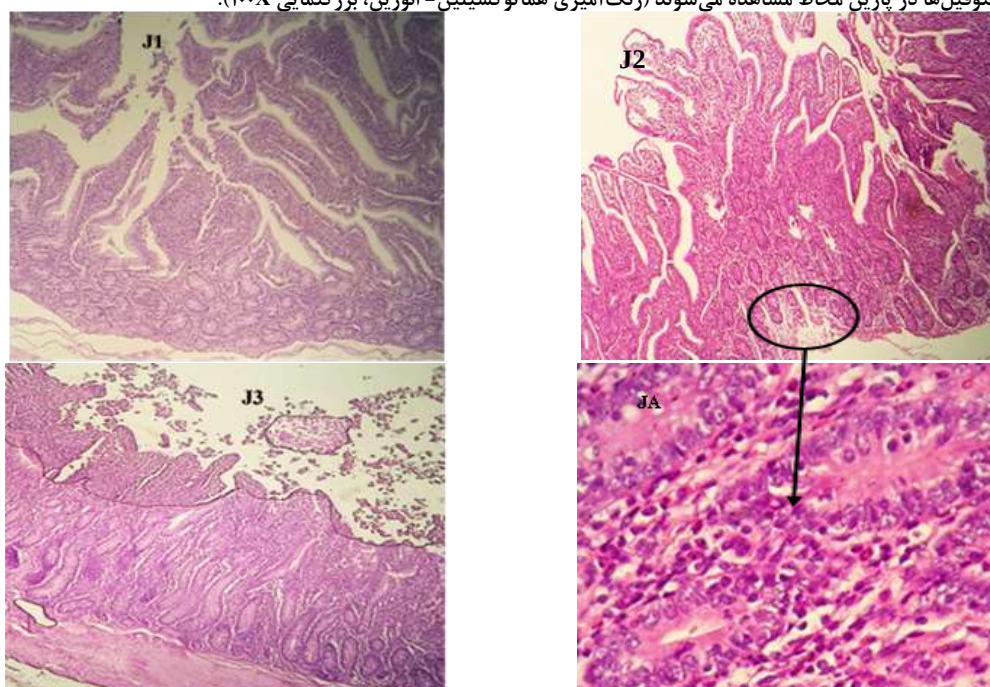
هیستوپاتولوژی روده کوچک و بزرگ: در سرتاسر روده باریک

اعم از دوئودنوم، ژژنوم و ایلئوم در تمام تیمارها، نفوذ سلول های التهابی تک هسته ای، پر خونی و گاهی نکروز سطحی مخاط مشاهده شد. در بخش های انتهایی روده باریک از ژژنوم به ایلئوم در تیمارهای حاوی پوست انار خام و تیمار پوست انار عمل آوری شده با باکتری، انوزینوفیل ها در مجموعه سلول های التهابی افزایش یافت که میزان آن ها در تیمار حاوی پوست انار خام نسبت به تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری بیش تر بود. در سرتاسر کولون، در تمام تیمارها نفوذ سلول های التهابی تک هسته ای بویژه لنفوسیت ها در پارین مخاط و در بین غدد لیبرکوهن مشاهده شد. بیش ترین میزان نفوذ در تیمار پوست انار خام و کم ترین میزان در تیمار شاهد مشاهده شد، به طوری که در تیمار پوست انار خام التهاب شدید روده همراه با پر خونی و نکروز سطحی اپیتلیال و نکروز غدد لیبرکوهن مشاهده شد، اما در تیمار پوست انار عمل آوری شده با باکتری از شدت التهاب نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام کاسته شده است.

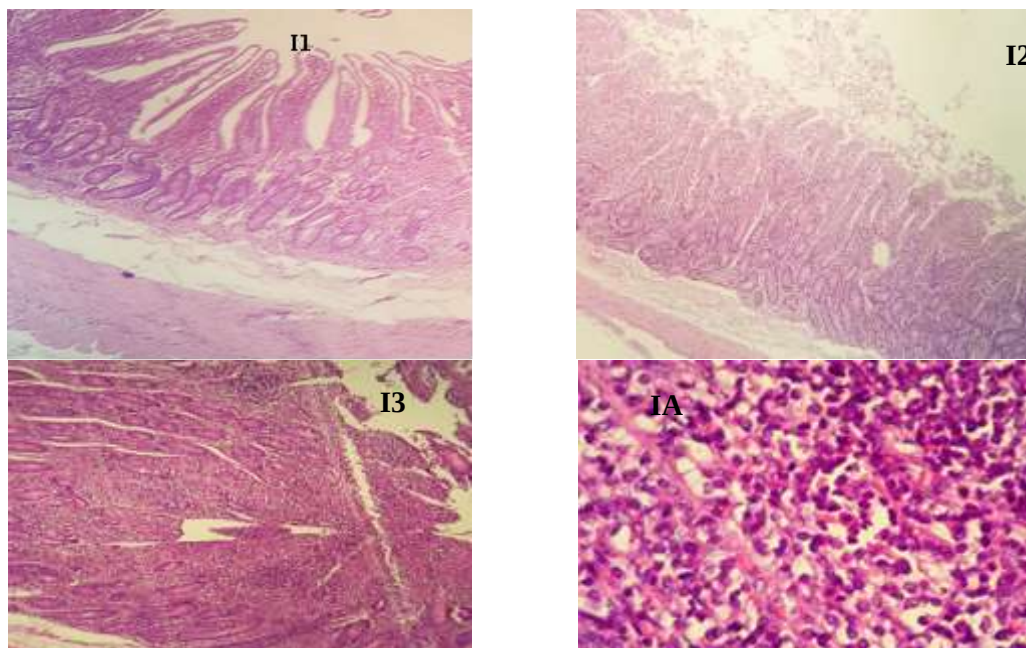
ضخامت لایه عضلانی در تیمار حاوی پوست انار خام به طور معنی داری از سایر تیمارها بیش تر بود ($P < 0.05$). ارتفاع پرز ژژنوم (جدول ۴) در تیمار شاهد از سایر تیمارها بیش تر بود ($P < 0.05$) و مقدار عددی ارتفاع پرز در تیمار حاوی پوست انار خام کم ترین مقدار بود. ضخامت لایه عضلانی در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری از سایر تیمارها کم تر بود ($P < 0.05$). نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در تیمار شاهد به طور معنی داری نسبت به سایر تیمارها بیش تر بود ($P < 0.05$). در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری از تیمار حاوی پوست انار خام به صورت عددی بیش تر بود. ضخامت لایه عضلانی در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری به طور معنی داری از سایر تیمارها کم تر بود ($P < 0.05$). برای سایر شاخص های بافتی مورد مطالعه در بخش ایلئوم اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد. اما نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده و تیمار شاهد از تیمار حاوی پوست انار خام به صورت عددی بیش تر بود.



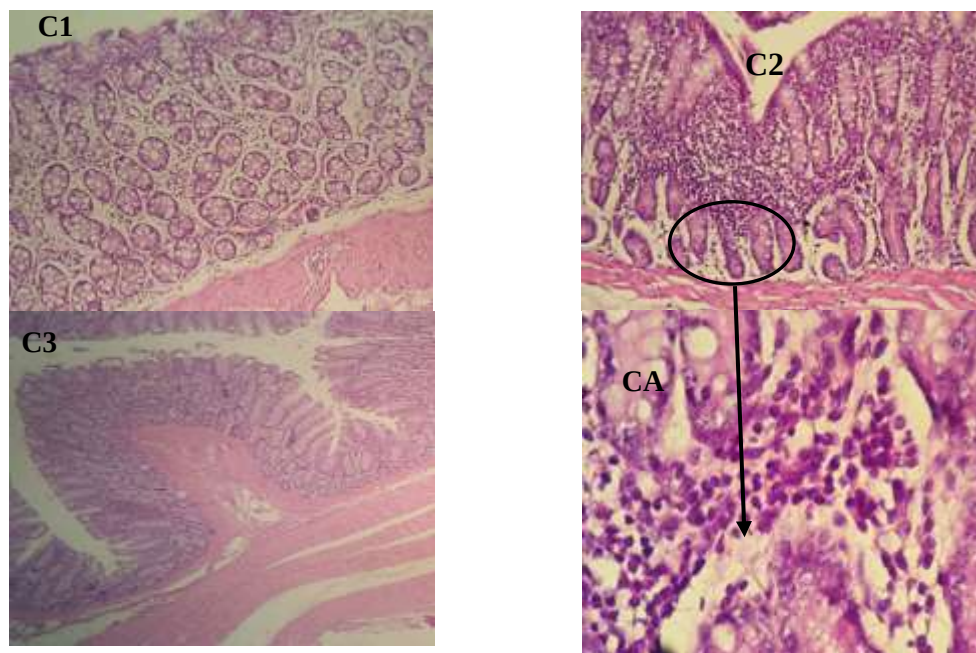
شکل ۱: دئودنوم D: در سرتاسر دئودنوم، در تمام تیمارها، نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای، پرخونی و گاهی نکروز سطحی مخاط، و به هم چسبیدن پرزها مشاهده شد. D1 تیمار شاهد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، D2 تیمار حاوی پوست انار خام، نفوذ سلول‌های التهابی در پارین مخاط مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، D3 تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری کلبسیلا پونومونیه، (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، DA سلول‌های التهابی به ویژه انوزینوفیل‌ها در پارین مخاط مشاهده می‌شوند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰X).



شکل ۲: ژژنوم J: در سرتاسر ژژنوم، در تمام تیمارها، نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای، پرخونی و گاهی نکروز سطحی مخاط، و به هم چسبیدن پرزها مشاهده شد. J1 تیمار شاهد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، J2 تیمار حاوی پوست انار نفوذ سلول‌های التهابی در پارین مخاط مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، J3 تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری کلبسیلا پونومونیه، (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، JA سلول‌های التهابی به ویژه انوزینوفیل‌ها در پارین مخاط مشاهده می‌شوند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰X).



شکل ۳-۱: ایلئوم: در سرتاسر ایلئوم، در تمام تیمارها، نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای، پرخونی و گاهی نکروز سطحی مخاط، و به هم چسبیدن پرزها مشاهده شد I1 تیمار شاهد، (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، I2 تیمار حاوی پوست انار خام نفوذ سلول‌های التهابی در پارین مخاط مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، I3 تیمار حاوی پوست انار عمل-آوری شده با باکتری کلبسیلا پونومونیه، (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، IA سلول‌های التهابی به‌ویژه آنوزینوفیل‌ها در پارین مخاط مشاهده می‌شوند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین، بزرگنمایی ۱۰۰X).



شکل ۴: کولون C: در تمام تیمارها نفوذ سلول‌های التهابی تک هسته‌ای به‌ویژه لنفوسیت‌ها و تعداد کمی آنوزینوفیل در پارین مخاط و در بین غدد لیبرکوهن مشاهده گردید. C1 تیمار شاهد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، C2 تیمار حاوی پوست انار خام، نفوذ سلول‌های التهابی در پارین مخاط مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، C3 تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری کلبسیلا پونومونیه، (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین، بزرگنمایی ۴۰X)، CA سلول‌های التهابی تک هسته‌ای به‌ویژه لنفوسیت‌ها و همچنین تعداد کمی آنوزینوفیل در پارین مخاط و در بین غدد لیبرکوهن مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-آنوزین، بزرگنمایی ۱۰۰X).

بحث

عملکرد رشد بره‌ها: استفاده از پوست انار خام در مقایسه با شاهد باعث افزایش عددی میانگین افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل (بدتر شدن) شد اما عمل آوری آن با باکتری کلبسیلا پنومونیه به عنوان یک باکتری تانن زدا باعث بهبود عددی این فراسنجه‌ها از جمله افزایش بازده خوراک نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام شد. در پژوهشی Shabtay و همکاران، تغذیه پوست انار به گوساله‌های گوشتی خوراک مصرفی را افزایش داد و وزن گوساله‌ها تمایل به افزایش داشت (۲۱). استفاده از تفاله دانه انار تاثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد بزغاله‌های مهابادی (۲۲) و ماده خشک مصرفی و افزایش وزن بزها (۲۳) نداشت.

هیستومورفومتری روده باریک: در روده 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 (۲). در مقایسه با یونجه، با مصرف کاساوا توسط گوسفند، کاهش ارتفاع پرز و عمق کریپت در روده کوچک گزارش شده است که عامل آن را حضور عوامل ضد تغذیه دانسته‌اند (۲۴). پوست انار حاوی مقادیر زیادی متابولیت‌های ثانویه مانند تانن، ساپونین و ترکیبات پلی فنولی است که دارای خواص متنوعی از قبیل اثرات ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و تحریک کنندگی سیستم ایمنی می‌باشند (۴). به علاوه، پوست انار حاوی اگزالات، سیانید هیدروژن، آلکالوئید و فیتات می‌باشد (۵). غلظت بالای ترکیبات پلی فنولی باعث فرسایش میکروویلی و کوتاه شدن ارتفاع پرزها در دئودنوم و ژژنوم می‌شود؛ این باعث کاهش ظرفیت جذب مواد مغذی می‌شود. ترکیبات پلی فنولی عمق کریپت و ضخامت دیواره روده را کاهش و ترشح مخاط در دستگاه گوارش را افزایش می‌دهند (۲۵، ۲۶). بنابراین، علت کاهش ارتفاع پرز در دئودنوم و ژژنوم، هم‌چنین کاهش عمق کریپت در دئودنوم در تیمار حاوی پوست انار خام را می‌توان به ترکیبات پلی فنولی موجود در پوست انار نسبت داد و منطبق با تحقیقات انجام شده دانست؛ به نظر می‌رسد مجموع این عوامل باعث کاهش بازده خوراک در تیمار حاوی پوست انار خام در آزمایش حاضر شده است (جدول ۳). از طرفی افزایش ارتفاع پرز در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری کلبسیلا پنومونیه در بخش‌های مختلف روده را می‌توان ناشی از اثر آنزیم تولید شده توسط این باکتری در کاهش تانن دانست. نشان داده شده که ژژنوم مکان اصلی هضم و جذب کلبیه مواد مغذی است (۲۷)، بنابراین، افزایش ارتفاع پرزها در این بخش از روده کوچک ممکن است نتیجه نیاز بیش‌تر به ظرفیت گوارشی باشد. بر این اساس، افزایش ارتفاع پرزهای ژژنوم ممکن است بر سلامت دام موثر باشد و جذب مواد مغذی را افزایش دهد و به‌طور مثبت در تولید دام منعکس شود. لذا، افزایش ارتفاع پرزها در ژژنوم و سایر بخش‌های روده در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام، نشان‌دهنده تاثیر مثبت و موثر باکتری کلبسیلا پنومونیه در این تیمار می‌باشد. با مصرف سطوح مختلف مغز میوه بلوط (حاوی متابولیت‌های ثانویه)

در بزغاله‌های مرخز، کاهش ارتفاع پرز در دئودنوم، ژژنوم (سطح ۱۷ درصد) و ایلئوم گزارش شده است (۲۸). کاهش عرض پرز در دئودنوم نیز در سطوح مختلف مصرف بلوط توسط این محققین گزارش شده است که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد و کلبیه این موارد گویای تاثیر ترکیبات پلی فنولی در تیمار پوست انار خام و کاهش این پارامترها در پوست انار عمل آوری شده در اثر مصرف باکتری می‌باشد. پژوهشگران کاهش عمق کریپت در بافت دوازدهه را در موش‌ها، جوجه‌ها و مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه شده با سورگوم (حاوی تانن بالا) گزارش کرده‌اند (۲۹) که با نتایج آزمایش حاضر در کاهش عمق کریپت در دئودنوم در تیمار حاوی پوست انار خام مطابقت دارد؛ افزایش عمق کریپت در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری کلبسیلا پنومونیه تاییدکننده تاثیر تاناز تولید شده در کاهش تانن پوست انار خام است. حضور متابولیت‌های ثانویه مختلف نظیر تانن و ترکیبات پلی فنلی دیگر باعث کاهش پرتوزاها، فعالیت باکتری‌های هاضم سلولز، همی سلولز و فعالیت آنزیم‌های فیبرولایติก می‌شود (۸، ۱۵)؛ که نتیجه آن را می‌توان کاهش قابلیت هضم الیاف و در نتیجه افزایش حرکات ماهیچه‌های دستگاه گوارش جهت انتقال ماده هضم شده به قسمت‌های بعدی دستگاه گوارش دانست، این فرآیند باعث افزایش ضخامت لایه عضلانی می‌شود (۳۰)؛ بنابراین، کاهش ضخامت لایه عضلانی در تیمار حاوی پوست انار عمل آوری شده با باکتری و نقش آن در کاهش تانن و افزایش فعالیت باکتری‌های فیبرولایติก در این تیمار را می‌توان عامل این کاهش دانست. مقدار الیاف قابل حل در شوینده خنثی (NDS) سبوس گندم ۳۵/۳۸ درصد ماده خشک گزارش شده است (۳۱)، مقدار زیادی پکتین که بخش مهمی از الیاف قابل حل در شوینده خنثی می‌باشد نیز در چغندر قند و سبوس گندم یافت می‌شود (۳۲). در پژوهشی با جایگزینی تفاله چغندر قند به جای نشاسته جو در بره‌های پرواری، جیره‌های حاوی تفاله چغندر قند که الیاف قابل حل در شوینده خنثی (NDS) بیش‌تری داشتند، موجب افزایش ارتفاع و ضخامت لایه عضلانی در بخش‌های مختلف روده کوچک شد (۳۳). بنابراین، افزایش ارتفاع و ضخامت لایه عضلانی در تیمار شاهد را می‌توان به میزان الیاف قابل حل در شوینده خنثی و پکتین بالای موجود در سبوس گندم (۳۳) نیز نسبت داد. گزارش شده است که جیره‌های حاوی الیاف بالا سبب افزایش ارتفاع پرزها و عمق کریپت در ژژنوم و ایلئوم خوک‌های در حال رشد می‌شوند (۳۴). در آزمایش حاضر با وجود NDF بیش‌تر جیره‌های حاوی پوست انار نسبت به تیمار شاهد، به دلیل وجود ترکیبات فنولی بیش‌تر در پوست انار، کاهش ارتفاع پرز به‌ویژه در بخش دئودنوم و ژژنوم نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد، این روند در بخش ایلئوم نیز بین تیمارهای حاوی پوست انار خام با پوست انار عمل آوری شده با باکتری قابل توجه است؛ در واقع به دلیل استفاده از باکتری تولیدکننده تاناز در جهت کاهش تانن و سایر ترکیبات پلی فنولی موجود در پوست انار، افزایش ارتفاع پرز در بخش‌های مختلف روده نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام مشاهده

بر رشد پرزها نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام داشت. با توجه به تمام این نتایج مفید و نیز کاهش سلول‌های التهابی ائوزینوفیل‌ها در روده کوچک و کاهش شدت التهاب در روده بزرگ در تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام، می‌توان مصرف باکتری کلبسیلا پنومونیه را در جهت تعدیل تانن و سایر مواد پلی‌فنولی در مواد غذایی حاوی تانن توصیه کرد.

منابع

1. **Strusińska, D., Minakowski, D.G., 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. *Journal of Animal Science*. 54(12): 540-551.
2. **Wang, Y.H., Xu, M., Wang, F.N., Yu, Z.P., Yao, J.H., Zan, L.S. and Yang, F.X., 2009.** Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats. *Livestock Science*. 122: 48-52.
3. **Naraghi Rad, Z., Ghoreishi, S.M. and Kargar, Sh., 2021.** Chemical Composition and In Vitro Digestibility of Pomegranate Byproducts in Ruminant diet. *Journal of Animal Environment*. 13(2): 67-74. (In Persian)
4. **Adams, L.S., Seeram, N.P., Aggarwal, B.B., Takada, Y., Sand, D. and Heber, D., 2006.** Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 980-985.
5. **Romelle, F.D., Rani, A. and Manohar, R.S., 2016.** Chemical composition of some selected fruit peels. *European Journal of food science & technology*. 4(4): 12-21.
6. **Makkar, H.P.S., 2000.** Quantification of tannins in tree foliage: A laboratory manual for the FAO/IAEA co-ordinated research project on Use of Nuclear and Related Techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the Safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. *Animal Production & Health Sub-programme, FAO/IAEA Working Document*. IAEA, Vienna, Austria. 1-26.
7. **Dashtizadeh, M., Kabirifard, A.M., Khaj, H. and Kamali, A.A., 2019.** Nutritive value of two species of *Ziziphus* (*Ziziphus spina-christi* and *Ziziphus mauritiana*) tree branches in sheep nutrition. *Journal of Animal Environment*. 11(2): 69-76. (In Persian)
8. **Babadi, L., Chaji, M. and Mohammadabadi, T., 2018.** The effect of feeding whole branch of *Albizia lebbek* tree on digestibility, some fermentation characteristics and rumen protozoa population of Najdi goats. *Journal of Animal Science Research*. 28(1): 195-211. (In Persian)
9. **Waghorn, G. and Shelton, I., 1997.** Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. *The Journal of Agricultural Science*. 128: 365-372.
10. **McSweeney, C., Palmer, B., McNeill, D. and Krause, D., 2001.** Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 91: 83-93.
11. **Mbatha, K.R., Downs, C.T. and Nsahlai, I.V., 2002.** The effects of graded levels of dietary tannin on the epithelial tissue of the gastro-intestinal tract, liver & kidney masses of Boer goats. *Animal Science*. 74(3): 579-586.
12. **Chavez-Gonzalez, M., Rodriguez-Durán, L.V., Balagurusamy, N., PradoBarragán, A., Rodriguez, R., Conheras, J.C. and Aguilar, G.N., 2012.** Biotechnological advances and challenges of tannase: an overview. *Food Bioprocess Technol*. 5(2): 445-459.
13. **Kumar, M., Beniwal, V. and Salar, R.K., 2015.** Purification and characterization of a thermophilic tannase from *Klebsiella pneumoniae* KP715242. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 4(4): 745-751.

می‌شود که تاییدکننده نقش ترکیبات فنولی در کاهش فعالیت باکتری‌های هضم‌کننده فیبر (۱۰) و گویای نقش آنزیم‌های کاهنده تانن در افزایش فعالیت این باکتری‌ها و تاثیر آن‌ها بر رشد پرزها می‌باشد. هرچه نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت بزرگ‌تر باشد، به عنوان شاخص مطلوب شناخته می‌شود (۳۵). بر این اساس افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در بخش ژژنوم و ایلئوم در تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام را می‌توان از نتایج مثبت استفاده از باکتری در هنگام استفاده از پوست انار تلقی کرد. در واقع پرزهای بلندتر همراه با عمق کم‌تر کریپت و یا به عبارت دیگر، افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، موجب مهاجرت آهسته‌تر انتروسیت‌ها و کاهش جدا شدن آن‌ها از پرز است که این امر موجب مانع از عبور سریع‌تر مواد غذایی در طول روده و بهبود ظرفیت هضم و جذب روده می‌شود (۳۶).

هیستوپاتولوژی روده کوچک و بزرگ: از بین سلول‌های التهابی تعداد ائوزینوفیل‌های ژژنوم و ایلئوم در تیمار حاوی پوست انار خام نسبت به تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری بیش‌تر بود. حضور این سلول‌ها می‌تواند منشاء انگلی و یا حساسیت نسبت به حضور آلرژن‌ها و برخی اجزاء مواد غذایی داشته باشد (۳۷). از آنجایی که در بررسی‌های انجام شده هیچ انگلی در مقاطع هیستوپاتولوژیک مشاهده نشد، بنابراین درستی فرضیه حضور اجزاء غذایی موجود در پوست انار مانند تانن افزایش یافت (۳۷) و کاهش ائوزینوفیل‌ها در تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام، می‌تواند تاییدکننده تاثیر تاناز تولید شده توسط باکتری کلبسیلا پنومونیه در کاهش ائوزینوفیل‌ها باشد. تعداد محدود سلول‌های ائوزینوفیل واکنش خاصی ایجاد نمی‌کند، اما تحریک سیستم ایمنی دستگاه گوارش توسط این سلول‌ها ممکن است باعث عوارض بالینی مانند اسهال و افزایش ضخامت لایه عضلانی شود (۳۷). غلظت بالای تانن ممکن است به بافت پوششی روده آسیب برساند، به‌طوری‌که محققین با به‌کار بردن سه سطح از عصاره تانن گیاه کبراجو در میش‌های مریнос، در تمام قسمت‌های روده گوسفندهایی که سطح بالای تانن (سه گرم بر کیلوگرم بر اساس وزن زنده) دریافت کرده بودند، نواحی التهابی، نکروز، نفوذ سلول‌های التهابی و آسیب بافتی را مشاهده کردند (۳۸). لذا کاهش شدت التهاب در تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری کلبسیلا پنومونیه قابل توجه است. در آزمایش حاضر، تاثیرات مثبت و موثر باکتری کلبسیلا پنومونیه در افزایش ارتفاع پرز، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و افزایش بازده خوراک در تیمار حاوی پوست انار عمل‌آوری شده با باکتری نسبت به تیمار حاوی پوست انار خام مشاهده شد که که ممکن است بر سلامت دام موثر باشد و جذب مواد مغذی را افزایش دهد و نیز به‌طور مستقیم در تولید دام منعکس شود. به علاوه، آنزیم‌های کاهنده تانن تولیدشده توسط باکتری کلبسیلا پنومونیه، نقش موثری در افزایش فعالیت باکتری‌های فیبرولایติก و تاثیر آن‌ها

- ostreatus (Jacq.) P. Kumm. substrate by supplementation with wheat bran. Quantitative parameters. Mycology. 7(2): 53-63.
32. **Naghavi, N.S., Naderi, S., Shahanipoor, K., Zia, M.A. and Rastegari Esfahani, A.A., 2012.** Optimization of exopectinase activity of the fungus *Monilia* isolated from tangerine in submerged fermentation. Biological Journal of Microorganism. 1(1): 23-30. (In Persian)
33. **Asadollahi, S., Sari, M., Erafanimajid, N., Chaji, M. and Mamouei, M., 2017.** Effect of partial replacement of barley seed with sugar beet pulp and addition of roasted canola seed on performance, the histomorphology and, fermentation parameters of the small intestine in fattening lambs. Journal of Animal Production. 19(1): 99-115. (In Persian)
34. **Longenbach, J.I. and Heinrichs, A.J., 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.
35. **Abedi, S., Hosseini-Vashan, S.J., Farhangfar, S.H. and Ghiasi, S.E., 2019.** Effect of pomegranate peel extract supplementation on performance traits, blood metabolites, small intestine morphology and meat stability in broiler chicks fed diet supplemented with canola oil. Animal Production Research. 8(3): 13-24.
36. **Pelicano, E.R.L., Souza, P.A., Souza, H.B.A., Figueiredo, D.F., Boiago, M.M., Carvalho, S.R. and Bordon, V.F., 2005.** Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. Brazilian Journal of Poultry Science. 7: 221-229.
37. **Talebipoor, B., Seyyed Majidi, M.R. and Feyzi, A., 2008.** Eosinophilic Gastroenteritis with Clinical Manifestations of Small Bowel Obstruction: A Case Report. Journal of Advances in Medical and Biomedical Research. 16(62): 97-102. (In Persian)
38. **Hervás, G., Pérez, V., Giraldez, F.J., Mantecón, A.R., Almar, M.M. and Frutos, P., 2003.** Intoxication of sheep with quebracho tannin extract. Journal of Comparative Pathology. 129(1): 44-54.
14. **Mohammadabadi, T., Jolazadeh, A. and Ghezi, Z., 2020.** Effect of treated *Conocarpus erectus* L. leaves with *Klebsiella pneumoniae* & *Acinetobacter* as tannin degrading bacteria on digestion activity of rumen microorganisms. Biotechnology in Animal Husbandry. 36(1): 1-16.
15. **Frutos, P., Hervás, G., Giraldez, F.J. and Mantecón, A.R., 2004.** Review. Tannins and ruminant nutrition. Spanish Journal of Agricultural Research. 2(2): 191-202.
16. **NRC. 2007.** Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. National Academy Press Washington DC.
17. **Mohammadabadi, T., Gheibipour, M., Motamedi, H., Chaji, M. and Abbas, B.A., 2021.** Isolation and identification of tannin-degrading bacteria from deer gut and potency for improving nutritional value of tannin rich plants. Iranian Veterinary Journal. 17(1): 65-75.
18. **Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2012.** Official Methods of Analysis, 12th edn. AOAC, Washington, DC. 129-136.
19. **Van Soest, P.J., Roberson, J.B. and Lewis, B.A., 1991.** Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 4(10): 3583-3597.
20. **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. Journal of Animal Production. 23(1): 47-59. (In Persian)
21. **Shabtay, A., Eitam, H., Tadmor, Y., Orlov, A., Meir, A., Weinberg, P., Weinberg, Z.G., Chen, Y., Brosh, A., Izhaki, I. and Kerem, Z., 2008.** Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial byproduct as a novel beef cattle feed. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 10063-10070.
22. **Akbari Afjani, A., Amanlou, H., Zali, A., Mirzaei Alamouti, H. and Ganjkanlou, M., 2017.** Use of pomegranate seed pulp and L-carnitine on performance and carcass traits of fattening kids. Journal of Animal Production. 19(2): 337-348. (In Persian)
23. **Modarresi, J., Fathi Nasri, M.H., Dayani, O. and Rashidi, L., 2010.** The Effect of Pomegranate Seed Pulp Feeding on DMI, Performance and Blood Metabolites of Southern Khorasan Crossbred Goats. Journal of Animal Science Research. 4(2): 42-54. (In Persian)
24. **Barboza, S.D.C.R., de Oliveira, J.S., de Carvalho Souza, M.T., de Lima Júnior, D.M., Lima, H.B. and Guerra, R.R., 2019.** Ovines submitted to diets containing cassava foliage hay & spineless cactus forage: histological changes in the digestive and renal systems. Tropical Animal Health and Production. 51(6): 1689-1697.
25. **Viveros, A., Chamorro, S., Pizarro, M., Arija, I., Centeno, C. and Brenes, A., 2011.** Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. Poultry Science. 90: 566-578.
26. **Miya, A., Sithole, A.N., Mthethwa, N., Khanyile, M. and Chimonyo, M., 2019.** Response in carcass yield, organ weights, and gut morphology of broiler chickens to incremental levels of *Vachellia tortilis* leaf meal. Canadian Journal of Animal Science. 100(2): 282-291.
27. **Svihus, B., 2014.** Function of the digestive system. Journal of Applied Poultry Research. 23(2): 306-314.
28. **Azizi, O., Salavati, A. and Vaziry, A., 2016.** The effects of different levels of Oak acorn on rumen and small intestine morphology and gastrointestinal pH of Markhoz goat kids. Journal of Animal Science Research. 26(3): 179-190. (In Persian)
29. **Sell, D.R., Reed, W.M., Chrisman, C.L. and Rogler, J.C., 1985.** Mucin excretion and morphology of the intestinal tract as influenced by sorghum tannins. Nutrition Reports International. 31: 1369-1374.
30. **Clauss, M., Stewart, M., Price, E., Pilon, A., Savage, T., Van Ekrisd, I. and Munn, A., 2016.** The effect of feed intake on digesta passage, digestive organ fill and mass, and digesta dry matter content in sheep (Ovisaries): flexibility in digestion but not in water reabsorption. Small Ruminant Research. 138: 12-19.
31. **Picornell Buendía, M.R., Pardo-Giménez, A. and de Juan-Valero, J.A., 2016.** Reuse of degraded Pleurotus