Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 16, Issue 4, 2025 p: 187-203

OPEN ACCESS

Research Paper

A Comparison of Using Different Probiotics on the Performance, Rumination Behavior, Blood Parameters, and Liver Enzymes of Suckling Holstein Calves

Mostafa Hosseinabadi[1], Kamel Amozadeh Araee [2], Taghi Ghoorchi [3], Ghasem Khadem[4], Ehsan Mirzadeh[5], and Hamidreza Doosti[5]

1- Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran,
(Corresponding author: Mostafa_hosseinabadi@yahoo.com)
2- Ph.D. students, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran
3- Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran
4- M.Sc. students, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran
5- Vivan co., mashhad, Iran

Received: 26 March, 2025 Revised: 07 July, 2025 Accepted: 19 August, 2025

Extended Abstract

Background: Improved management and nutrition can lead to optimal growth and better feed efficiency and health in suckling calves. On the other hand, low growth rates can lead to low weaning weights and poor post-weaning growth, which cannot be compensated for by future feeding. The costs of rearing replacement heifers and the age at the first calving should be lower for a sustainable and profitable livestock operation. Feed additives are commonly used on the farm to improve the performance of young animals. Hence, the use of antibiotics has provided some of these benefits in calves for many years. However, the use of antibiotics in livestock production has become a sensitive issue due to reports of antibiotic resistance in human pathogens. Very limited studies have investigated the effects of yeast and bacteria in livestock. Therefore, this study was conducted to compare the use of different probiotics on the performance, rumination behavior, blood parameters, and liver enzymes of suckling Holstein calves.

Methods: In this study, 36 Holstein female suckling calves, aged approximately 7±3 days and with an initial body weight of 44.7±2 kg, were used in six treatments and six replications in a completely randomized design for 45 days. The experimental treatments included. 1- a basal diet without additives (control), 2- a basal diet containing the *Saccharomyces boulardii* yeast, 3- a basal diet containing *Bacillus subtilis*, 4- a basal diet containing *Lactobacillus*, 5- a basal diet containing the *S. boulardii* yeast + *Lactobacillus*, and 6- an experimental diet containing the *S. boulardii* yeast + *Lactobacillus* + *B. subtilis*. Probiotics were mixed with milk consumption in the morning meal at a rate of 5 g per head and provided to the calves. During lactation, the calves were fed with two daily meals of milk (7 in the morning and 4 in the afternoon) at a rate of 15% of their body weight. The feed given and the remaining feed for each animal were weighed and recorded on each day. The calves were weighed on days 0, 21, and 42 of the study in a fasting state after 16 hours of starvation using a digital scale. The daily weight gain was calculated by dividing the difference in weight in a time period by the number of days in the same time period. The amount of dry matter intake, daily weight gain, weight at the end of the period, and feed conversion ratio (FCR) were the other measured parameters. The FCR was also calculated by dividing the average amount of dry matter intake by each calf at the end of the period by the daily weight gain of the same animal in the entire period. On days 43 and 44 of the experimental period, feed consumption behavior was calculated by recording activity for 24 h. To measure blood parameters, blood was sampled (10 cc) from the jugular vein without using any anticoagulant on a fasting state on the last day of the experiment and quickly sent to the laboratory in a flask containing ice.

Results: Adding probiotics to calf milk improved the weight at 21 days of age and weight gain from 1 to 21 days of age ($P < 0.05$). Probiotic consumption caused a significant difference in final body weight and daily weight gain at the entire period ($P < 0.05$). Weight changes, dry matter

Copyright ©2025. Hosseinabadi et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 Unported License, which allows users to read, copy, distribute, and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

intake of the entire period, FCR, and daily dry matter intake were improved by adding probiotics to calf milk ($P < 0.05$). At 21 days of age, there were no significant differences in body weight and daily weight gain among the groups receiving different probiotics, but the best performance in this parameter belonged to calves receiving *B. subtilis*. On the other hand, the final weight of the control group was lower than that of the other experimental groups ($P < 0.05$). However, calves receiving the *S. boulardii* yeast with *Lactobacillus*, *S. boulardii* + *B. subtilis*, and *S. boulardii* + *Lactobacillus* + *B. subtilis* did not differ significantly from each other. Nonetheless, the final weight of calves receiving *B. subtilis* was higher than that of the other groups ($P < 0.05$). Among the experimental groups, calves receiving *B. subtilis* and the control group showed the lowest (1.24) and the highest (1.35) FCR values, respectively ($P < 0.05$). Additionally, calves receiving *B. subtilis* spent more time for eating and ruminating ($P < 0.05$). Adding different probiotics to the milk of suckling calves did not significantly affect the concentrations of cholesterol, triglycerides, glucose, urea nitrogen, total protein, albumin, globulin, and the ratio of these two. Moreover, adding probiotics to the milk of suckling calves did not significantly affect their very low-density lipoprotein (VLDL) concentrations. Calf milk supplementation with probiotics did not affect the concentrations of the enzymes aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, and alanine aminotransferase. Numerically, the activity of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase was higher in the control group calves than in the other experimental groups, while the concentration of alkaline phosphatase was lower than in the other groups.

Conclusion: According to the results obtained in this study, the use of various probiotics improved the weight gain, dry matter intake, FCR, and overall performance of calves with no negative effects on the measured blood indices.

Keywords: Liver Enzymes, Performance, Probiotics, Rumination Behavior, Suckling Calves

How to Cite This Article: Hosseinabadi, M., Amozadeh Araee, K., Ghoorchi, T., Khadem, Gh., Mirzadeh, E & Doosti, H. (2025). A Comparison of Using Different Probiotics on the Performance, Rumination Behavior, Blood Parameters, and Liver Enzymes of Suckling Holstein Calves. *Res Anim Prod,* 16(4), 187-203. DOI: 10.61882/rap.2025.1529

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

مقایسه استفاده از پروبیوتیک‌های مختلف بر عملکرد، رفتار نشخوار، فراسنجه‌های خونی و آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

مصطفی حسین‌آبادی[۱]، کامل عموزاده آرائی[۲]، تقی قورچی[۳]، قاسم خادم[۴]، احسان میرزاده[۵] و حمیدرضا دوستی[۵]

۱- استادیار، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
(نویسنده مسوول: Mostafa_hosseinabadi@yahoo.com)
۲- دانشجوی دکتری، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳- استاد، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۵- شرکت ویوان تک اکسیر ایرانیان، مشهد مقدس، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۰۶ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۴/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۸
صفحه ۱۸۷ تا ۲۰۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: بهبود مدیریت و تغذیه می‌تواند سبب رشد بهینه، بهره‌وری بهتر خوراک و سلامت در گوساله‌های شیرخوار شود. از سوی دیگر، نرخ رشد پایین می‌تواند منجر به کمبود وزن در هنگام از شیرگرفتن و رشد کمتر پس از شیرگیری شود که از طریق تغذیه در آینده قابل جبران نیست. همچنین، برای یک دامداری پایدار و سودآور، هزینه‌های پرورش تلیسه‌های جایگزین و سن در اولین زایش باید کمتر باشند. مواد افزودنی خوراک معمولاً در مزرعه جهت بهبود عملکرد دام‌های جوان استفاده می‌شوند. از این‌رو، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برخی از این فواید را طی سالیان متمادی در گوساله‌ها ارائه کرده است. اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تولید دام به‌دلیل موارد گزارش‌شده مقاومت آنتی‌بیوتیکی به پاتوژن‌ها در انسان به یک موضوع حساس تبدیل شده است. تاکنون مطالعات بسیار محدودی اثرات مخمر و باکتری‌ها را در دام بررسی کرده‌اند. بر این اساس، این پژوهش به‌منظور مقایسه استفاده از پروبیوتیک‌های مختلف بر عملکرد، رفتار نشخوار، فراسنجه‌های خونی و آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، از ۳۶ رأس گوساله ماده شیرخوار نژاد هلشتاین با سن حدود ۳±۷ روزگی و وزن بدن اولیه ۴۴/۷±۲ کیلوگرم با شش تیمار و شش تکرار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به‌طول ۴۵ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، ۲- جیره پایه حاوی مخمر *ساکرومایسس بولاردی*، ۳- جیره پایه حاوی *باسیلوس سوبتیلیس*، ۴- جیره پایه حاوی *لاکتوباسیلوس*، ۵- جیره پایه حاوی مخمر *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و ۶- جیره آزمایشی حاوی مخمر *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس* بودند. پروبیوتیک‌ها در وعده صبح ۵ گرم به‌ازای هر رأس با شیر مصرفی مخلوط شد و در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. گوساله‌ها در طول زمان شیرخوارگی، روزانه با دو وعده شیر (هفت صبح و چهار بعدازظهر) به میزان ۱۵ درصد وزن بدن تغذیه شدند. خوراک داده شده و باقی‌مانده خوراک برای هر دام در هر روز توزین و ثبت شدند. وزن‌کشی گوساله‌ها در روزهای صفر، ۲۱ و ۴۲ پژوهش به‌صورت ناشتا، پس از ۱۶ ساعت گرسنگی با استفاده از باسکول دیجیتال صورت گرفت. افزایش وزن روزانه از تقسیم‌نمودن تفاوت وزن در یک بازه زمانی بر تعداد روزهای همان بازه زمانی محاسبه شد. مقادیر ماده خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه، وزن انتهای دوره و ضریب تبدیل خوراک نیز اندازه‌گیری شدند. ضریب تبدیل خوراک از تقسیم نمودن میانگین مقدار ماده‌خشک مصرفی هر گوساله در آخر دوره بر افزایش وزن روزانه همان دام در کل دوره محاسبه شد. در روزهای ۴۳ و ۴۴ دوره آزمایش، رفتار مصرف خوراک به‌صورت ثبت فعالیت برای طول مدت ۲۴ ساعت محاسبه شد. نمونه خون برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی به‌صورت ناشتا در روز آخر آزمایش به میزان ۱۰ سی‌سی از ورید گردن و بدون استفاده از ماده ضد انعقاد گرفته شد و در فلاسک حاوی یخ به‌سرعت به آزمایشگاه ارسال شد.

یافته‌ها: افزودن پروبیوتیک به شیر گوساله‌ها سبب بهبود وزن ۲۱ روزگی و افزایش وزن یک تا ۲۱ روزگی گوساله‌ها شد ($P < ۰/۰۵$). همچنین، مصرف پروبیوتیک سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار در وزن نهایی بدن و افزایش وزن روزانه کل دوره شد ($P < ۰/۰۵$). تغییرات وزنی، ماده‌خشک مصرفی کل دوره، ضریب‌تبدیل خوراک و ماده‌خشک مصرفی روزانه با افزودن پروبیوتیک به شیر گوساله‌ها بهبود یافتند ($P < ۰/۰۵$). در زمان ۲۱ روزگی گوساله‌ها، وزن بدن و افزایش وزن روزانه در بین گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما بهترین عملکرد در این پارامتر مربوط به گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس* بود. از طرف دیگر، وزن نهایی گروه شاهد کمتر از سایر گروه‌های آزمایشی بود ($P <۰/۰۵$)، ولی گوساله‌های دریافت‌کننده مخمر *بولاردی* با *لاکتوباسیلوس*، *بولاردی* + *باسیلوس سوبتیلیس* و *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس* با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. در حالی‌که وزن نهایی گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$). در بین گروه‌های آزمایشی، گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* کمترین (۱/۲۴) و گروه شاهد بیشترین (۱/۳۵) ضرایب تبدیل خوراک را داشتند ($P < ۰/۰۵$). گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* مدت زمان بیشتری را صرف خوراک خوردن، نشخوار کردند ($P < ۰/۰۵$). افزودن پروبیوتیک‌های مختلف به شیر گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری بر غلظت‌های کلسترول، تری‌گلیسرید، گلوکز، نیتروژن اوره‌ای، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و نسبت این دو ایجاد نکرد. همچنین، افزودن پروبیوتیک به شیر گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری بر غلظت لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم آن‌ها نداشت. افزودن پروبیوتیک به شیر گوساله تأثیری بر غلظت‌های آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالاین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز نداشت. از نظر عددی، مقادیر فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در گوساله‌های گروه شاهد بیشتر از سایر گروه‌های آزمایشی بودند، در حالی غلظت آلکالین فسفاتاز کمتر از سایر گروه‌ها بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر، استفاده از پروبیوتیک‌های مختلف سبب بهبود افزایش وزن، ماده‌خشک مصرفی، ضریب تبدیل و به‌طور کلی عملکرد گوساله‌ها بدون اثر منفی بر شاخص‌های خونی مورد اندازه‌گیری شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های کبدی، پروبیوتیک، رفتار نشخوار، عملکرد، گوساله شیرخوار

مقدمه

بهبود مدیریت و تغذیه می‌تواند سبب رشد بهینه، بهره‌وری بهتر خوراک و سلامت در گوساله‌های شیرخوار شود (Alugongo *et al*., 2017). از سوی دیگر، نرخ رشد پایین می‌تواند منجربه کمبود وزن در هنگام از شیر گرفتن و رشد کمتر پس از شیرگیری شود که از طریق تغذیه در آینده قابل جبران نیست (Ontsouka *et al*., 2016). همچنین، برای یک دامداری پایدار و سودآور، هزینه‌های پرورش تلیسه‌های جایگزین و سن در اولین زایش باید کمتر باشند (Drackley, 2008; Tahmasbi *et al*., 2014). مواد افزودنی خوراک معمولاً در مزرعه جهت بهبود عملکرد دام‌های جوان استفاده می‌شوند (Drackley, 2008). از این‌رو، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برخی از این فواید را طی سالیان متمادی در گوساله‌ها برآورده کرده است. اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تولید دام به‌دلیل موارد گزارش‌شده مقاومت آنتی‌بیوتیکی به پاتوژن‌ها در انسان به یک موضوع حساس تبدیل شده است (Abd El-Trwab *et al*., 2016; Thorsteinsson & Vestergaard, 2020). علاوه بر این، نگرانی فزاینده‌ای در مورد اثرات آن‌ها بر سلامت مصرف‌کنندگان وجود دارد (Hosseinabadi *et al.,* 2021*;* Amozadeh Araee *et al.,* 2023). در نتیجه، نیاز به جایگزینی این محصولات با محصولاتی همچون پروبیوتیک‌ها وجود دارد (He *et al*., 2017).

پروبیوتیک‌ها به‌عنوان میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زا تعریف شده‌اند که هدف استفاده از آن‌ها، بهبود عملکرد تولید و پیشگیری از بیماری از طریق حفظ یک محیط گوارشی سالم و بهبود عملکرد روده است (Chaucheyras-Durand *et al*., 2008). علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها با تغییر اکوسیستم میکروبی شکمبه (Musa *et al*., 2009)، قابلیت هضم موادمغذی (Abd El-Ghani, 2004)، جذب موادمغذی و ضریب‌تبدیل خوراک (Antunovic *et al*., 2006) منجربه بهبود عملکرد دام‌ها می‌شوند. همچنین، گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند یک اثر متضاد با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا برای مکان‌های چسبندگی و عوامل رشد تغذیه‌ای داشته باشند (Abd El-Trwab *et al*., 2016) که می‌توانند خطر ابتلا به عفونت‌های روده را کاهش دهند (Alugongo *et al*., 2017). پروبیوتیک‌های مختلفی در طی زمان‌های طولانی در جیره غذایی حیوانات اهلی گنجانده شده‌اند (Alugongo *et al*., 2017). گاوهای شیری، پرواری، خوک‌ها، اسب‌ها، گوسفندان و نتاج آن‌ها همگی عملکرد بهتری را در هنگام تغذیه با پروبیوتیک نسبت به آن‌هایی که تغذیه نشدند نشان دادند (Jouany *et al*., 2009; Kiarie *et al*., 2011). در نشخوارکنندگان بالغ (Desnoyers *et al*., 2009) هم مخمر زنده فعال و هم کشت مخمر، بهبود استفاده از موادمغذی، تغییر تخمیر شکمبه و افزایش پارامترهای تولید را گزارش شده است (Shetawy *et al*., 2022).

ساکرومایسس بولاردی یکی از زیر مجموعه‌های *ساکرومایسس سرویسیه* است و می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های روده‌ای را از طریق مسدود کردن جایگاه سمی تخریب گیرنده عوامل بیماری‌زا، جلوگیری از رشد برخی عوامل بیماری‌زا در فضای درون روده و تعدیل سیستم ایمنی کاهش دهد. باکتری‌هایی که در روده زودتر غالب می‌شوند می‌توانند بر رشد گوساله‌ها در آینده تأثیرگذار باشند (He *et al*., 2017). *باسیلوس سوبتیلیس* یک باکتری گرمادوست، تولیدکننده هاگ، گرم مثبت و متحرک با مورفولوژی میله‌ای شکل است (Mielich-Süss & Lopez, 2015). *باسیلوس سوبتیلیس* یک سویه پروبیوتیک است که معمولاً به‌عنوان مکمل غذایی برای حیوانات نشخوارکننده استفاده می‌شود. این می‌تواند تخمیر شکمبه را تقویت کند و مجموعه متنوعی از آنزیم‌ها را تولید کند که جذب و هضم روده را در صورت مصرف در دام تسهیل می‌کند. علاوه بر تسهیل هضم پروتئین‌های جیره و بازگشت اوره به شکمبه، *باسیلوس سوبتیلیس* سنتز پروتئین را تحریک می‌کند، جذب اسیدهای آمینه و پپتیدهای تولید شده در طی تجزیه را تسهیل می‌کند و تعداد پروتئین‌هایی را که به روده می‌رسد افزایش می‌دهد (Wang *et al*., 2016). *جنس باسیلوس سوبتیلیس* قادر به سنتز پلی‌پپتیدهایی است که ماهیت آنتاگونیستی نسبت به میکروارگانیسم‌های روده نشان می‌دهند و در نتیجه قابلیت هضم خوراک دام را به میزان قابل‌توجهی افزایش می‌دهد. این باکتری هوازی با مصرف اکسیژن و کمک به ایجاد یک محیط بی هوازی، تعادل اکولوژیکی روده‌ها را حفظ می‌کند. این به نوبه خود باعث تولید مثل باکتری‌های غالب در روده می‌شود. *لاکتوباسیل‌ها* جمعیت میکروبی غالب دستگاه گوارش دام‌های جوان تغذیه‌شده با شیر هستند که از طریق تعدیل سیستم ایمنی از میزبان دفاع می‌کنند (Fomenky *et al*., 2017). گزارش شده است که مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* منجر به استقرار باکتری‌های تجزیه‌کننده الیاف می‌شود که فعالیت باکتری‌های داخل شکمبه را افزایش می‌دهد و به‌طور بالقوه سبب انتقال گوساله از جیره مایع به جامد می‌شود (Hosseinabadi *et al., 2021*). وقتی که از پروبیوتیک به‌عنوان بخشی از جیره استفاده می‌شود، بهبود فعالیت میکروب‌های شکمبه ممکن است سبب رشد بهتر گوساله شود (Pinos-Rodríguez *et al*., 2008). از طرف دیگر، تاکنون مطالعات بسیار محدودی اثرات مخمر و باکتری‌ها را در دام بررسی کرده‌اند. بر این اساس، این پژوهش به‌منظور مقایسه استفاده از پروبیوتیک‌های مختلف بر عملکرد، رفتار نشخوار، و فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام شد.

مواد و روش‌ها

دام، شرایط آزمایشی و جیره‌های آزمایشی

تحقیق حاضر در بازه زمانی مرداد تا شهریور ۱۴۰۳ واقع در واحد پرورش گاو شیری مهرماندگار متعلق به جناب آقای احمد قلندری واقع در شهرستان گرگان انجام شد. در این پژوهش، از ۳۶ رأس گوساله ماده شیرخوار نژاد هلشتاین با سن حدود ۳±۷ روزگی و وزن بدن اولیه ۲±۴۴/۷ کیلوگرم با شش تیمار و شش تکرار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به‌طول ۴۵ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه بدون افزودنی (شاهد)، ۲- جیره پایه حاوی مخمر *ساکرومایسس بولاردی*، ۳-

جیره پایه حاوی *باسیلوس سوبتیلیس*، ۴- جیره پایه حاوی *لاکتوباسیلوس*، ۵- جیره پایه حاوی مخمر *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و ۶- جیره آزمایشی حاوی مخمر *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس* بودند. پروبیوتیک‌ها در وعده صبح ۵ گرم به‌ازای هر رأس با شیر مصرفی مخلوط شدند و در اختیار گوساله‌ها قرارگرفتند. گوساله‌ها در طول زمان شیرخوارگی، روزانه با دو وعده شیر (۷ صبح و ۴ بعدازظهر) به میزان ۱۰ درصد وزن بدن تغذیه شدند. در این پژوهش، گوساله‌ها در جایگاه انفرادی با کف بتنی و دارای بستری از کاه و کلش که قبلاً شعله‌افکنی و ضدعفونی شده بود، نگهداری شدند. تمام گوساله‌ها در شرایط یکسان مدیریتی و تغذیه‌ای قرار گرفتند، خوراک آغازین به اضافه یونجه (نسبت ۹۰ به ۱۰ کنسانتره به علوفه) در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت و میزان مصرف روزانه آن‌ها ثبت شد. همچنین، در طی آزمایش آب تمیز به‌صورت آزاد در اختیار گوساله‌ها قرار داشت. درصد مواد خوراکی و مقدار مواد مغذی جیره تیمارهای آزمایشی در جدول ۱ آمده‌اند.

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره گوساله‌های شیرخوار

Table 1. Constituent feed ingredients and the diet chemical composition of suckling calves

اجزای خوراک (درصد ماده خشک) Feed components (%DM)	درصد Percent	ترکیبات شیمیایی Chemical compounds	درصد Percent
یونجه Alfalfa	10.00	ماده خشک Dry Matter (%)	0.89
دانه جو Barley Seed	20.00	پروتئین خام Crude Protein (%)	21.75
دانه ذرت Corn Seed	44.00	چربی خام Crude Fat (%)	2.24
سبوس گندم Wheat Bran	5.00	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber (%)	7.48
کنجاله سویا Soybean Meal	18.51	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber (%)	21.35
مکمل ویتامینی-معدنی[1] Vitamin-mineral supplement 1	1.2	خاکستر Ash (%)	3.89
مکمل زیستا[2] Zita Supplement	0.09	انرژی قابل متابولیسم Metabolizable Energy (Mcal/kg)	2.86
توکسین بایندر Binder Toxin	0.20	کربوهیدرات غیرالیافی[3] Non-fiber carbohydrates (%)	50.77
جوش شیرین Sodium Bicarbonate	1.00		

[1] پیش‌مخلوط ویتامین و مواد معدنی ارائه‌شده به‌ازای هر کیلوگرم جیره غذایی: ویتامین A: IU ۱۰۰۰۰۰۰، ویتامین D3: IU ۲۵۰۰۰۰، ویتامین E: IU ۳۰۰۰، منیزیم ۳۲۰۰۰ میلی‌گرم. منگنز: ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ روی: ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ مس: ۳۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم ۱۰۰ میلی‌گرم؛ کلسیم: ۱۰۰ میلی‌گرم؛ آهن: ۳۰۰۰ میلی‌گرم؛ کبالت ۱۰۰ میلی‌گرم؛ فسفر ۳۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ مونانسین: ۱۵۰۰ میلی‌گرم؛ آنتی‌اکسیدان ۱۰۰ میلی‌گرم.

[2] حاوی مواد معدنی کم‌مصرف کبالت، ید، سلنیوم، روی، منگنز، آهن و مس.

[3] کربوهیدرات غیرالیافی = ۱۰۰ – (درصد پروتئین خام + درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی+ درصد چربی خام + درصد خاکستر).

[1]Vitamin and mineral premix provided per kilogram of ration: Vitamin: A IU 1000000, Vitamin IU: D3 250000, Vitamin IU: E 3000, Magnesium 32000 mg. Manganese: 10,000 mg; Zinc: 10,000 mg; Copper: 300 mg; Selenium 100 mg; Calcium: 100 mg; Iron: 3000 mg; Cobalt 100 mg; Phosphorus 30000 mg; Monensin: 1500 mg; Antioxidant 100 mg.

[2]Contains trace minerals cobalt, iodine, selenium, zinc, manganese, iron, and copper.

[3] Non-fiber carbohydrates = 100 – (Crude Protein - Neutral detergent fiber - Crude Fat - Ash).

تهیه پروبیوتیک‌ها

میکروارگانیسم‌های زنده مورد استفاده در این پژوهش از شرکت ویوان (مشهد، ایران) تهیه، سپس به انبار خوراک منتقل و پس از ترکیب با شیر به گوساله‌ها خورانده شدند. پروبیوتیک‌ها شامل مخمر *ساکرومایسس بولاردی* و *باسیلوس سوبتیلیس* و *لاکتوباسیلوس* بودند.

اندازه‌گیری عملکرد رشد

خوراک داده‌شده و باقی‌مانده خوراک برای هر دام در هر روز توزین و ثبت شدند. خوراک مصرفی روزانه از میانگین اختلاف خوراک داده‌شده برای هر دام و باقی‌مانده آخور روز بعد همان دام محاسبه شد. میانگین هر گروه نیز از میانگین خوراک مصرفی هر دام در طول دوره محاسبه گردید. همچنین، افزایش مقدار خوراک داده شده به دام‌ها براساس پس‌آخور هر دام در روز بعد مشخص ی‌شد، به‌طوری که اگر دام در سه روز متوالی پس‌آخور کمتر از ۲۰۰ گرم از خود باقی می‌گذاشت، خوراک دام افزایش می‌یافت. همین روال تا انتهای دوره‌ی آزمایش انجام شد. وزن‌کشی گوساله‌ها در روزهای صفر، ۲۱ و ۴۲ پژوهش به‌صورت ناشتا، پس از ۱۶ ساعت گرسنگی با استفاده از ترازوی دیجیتال صورت گرفت. افزایش وزن روزانه از تقسیم نمودن تفاوت وزن در یک بازه زمانی بر تعداد روزهای همان بازه زمانی محاسبه شد. میزان ماده‌خشک مصرفی، افزایش وزن روزانه، وزن انتهای دوره و ضریب تبدیل خوراک نیز اندازه‌گیری شدند. ضریب تبدیل خوراک از تقسیم نمودن میانگین مقدار ماده‌خشک مصرفی هر گوساله در آخر دوره بر افزایش وزن روزانه همان دام در کل دوره محاسبه شد.

اندازه‌گیری رفتار نشخوار

در روزهای ۴۳ و ۴۴ دوره آزمایش، رفتار مصرف خوراک به‌صورت ثبت فعالیت برای طول مدت ۲۴ ساعت محاسبه شد. زمان صرف‌شده برای فعالیت‌های خوردن، نشخوار، جویدن (خوردن+نشخوار) و استراحتکردن به فاصله هر ۵ دقیقه به‌صورت بصری و با فرض این که آن فعالیت در ۵ دقیقه گذشته نیز ادامه داشت، برای تمام دام‌ها در طی ساعات شبانه‌روز ثبت گردید (Araujo *et al*., 2008). برای ثبت این فعالیت‌ها از چهار نفر در دو گروه دونفره به‌صورت چرخشی (پایش هم‌زمان گوساله‌ها با دو نفر) استفاده شد. تعداد دفعات خوردن یا نشخوارکردن از شمارش وعده‌های خوردن یا نشخوارکردن در طول ۲۴ ساعت به‌دست آمد (Kargar *et al*., 2021).

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی و آنزیم‌های کبدی

نمونه خون جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی به‌صورت ناشتا در روز آخر آزمایش به میزان ۱۰ سی‌سی از ورید گردن و بدون استفاده از ماده ضد انعقاد گرفته شد و در فلاسک حاوی یخ به‌سرعت به آزمایشگاه ارسال شد. لوله‌ها در دور ۳۰۰۰ × g به‌مدت ۱۰ دقیقه برای جداسازی سرم سانتریفیوژ شدند. غلظت‌های کلسترول، تری‌گلیسیرید، گلوکز، اوره، پروتئین، آلبومین و گلوبین با استفاده از کیت دلتادرمان پارت اندازه‌گیری شدند. همچنین، مقادیر آنزیم‌های کبدی (آسپارتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز) و لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم خون توسط کیت‌های تجاری دلتادرمان پارت با استفاده از اتوآنالایزر (مدل ۱۵۰۰ BT) ساخت کشور ایتالیا اندازه‌گیری شدند.

مدل آماری

داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و شش تکرار با استفاده از نرم‌افزار SAS (2004) (۹/۱) تجزیه آماری شدند. داده‌های مربوط به عملکرد رشد دام‌ها، رفتار نشخوار و فراسنجه‌های خونی (با استفاده از رویه GLM) تجزیه‌وتحلیل شدند. همچنین، میانگین‌های تیمارها از طریق آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شدند. مدل استفاده شده برای این طرح به‌شرح زیر است:

$$yij = \mu + Ti + \varepsilon ij$$

Yij= مقدار مشاهده، i ام در تکرار j ام، μ= اثر میانگین، Ti= اثر تیمار i ام، و εij= اثر خطای آزمایشی مربوط به تیمار i ام در تکرار j ام هستند.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به عملکرد گوساله‌های شیرخوار دریافت‌کننده پروبیوتیک‌های مختلف در جدول ۲ آمده‌اند. افزودن پروبیوتیک به شیر گوساله‌ها سبب بهبود وزن ۲۱ روزگی و افزایش وزن یک تا ۲۱ روزگی گوساله‌ها شد ($P < ۰/۰۵$). همچنین، مصرف پروبیوتیک سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار در وزن نهایی بدن و افزایش وزن روزانه کل دوره شد ($P < ۰/۰۵$). تغییرات وزنی، ماده‌خشک مصرفی کل دوره، ضریب‌تبدیل خوراک و ماده خشک مصرفی روزانه با افزودن پروبیوتیک به شیر گوساله‌ها بهبود یافتند ($P < ۰/۰۵$). در زمان ۲۱ روزگی گوساله‌ها، وزن بدن و افزایش وزن روزانه در بین گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما بهترین عملکرد در این پارامتر مربوط به گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* بود. از طرف دیگر، وزن نهایی گروه شاهد کمتر از سایر گروه‌های آزمایشی بود ($P <۰/۰۵$)، ولی گوساله‌های دریافت‌کننده مخمر *بولاردی* با *لاکتوباسیلوس*، *بولاردی* + *باسیلوس* و *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس* با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند، در حالی‌که وزن نهایی گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$). به‌علاوه، تغییرات وزنی بیشتر با مصرف پروبیوتیک در گوساله‌ها مشاهده شدند (P ۰/۰۵ >) که بیشترین و کمترین تغییرات وزنی به گروه دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* (۳۲/۲۳) و گروه شاهد (۲۷/۲۴) تعلق داشتند. بین گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* با *لاکتوباسیلوس*، *بولاردی* + *باسیلوس سوبتیلیس* و *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس* از نظر افزایش وزن کل دوره تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده نشدند، هر چند با گروه شاهد و *بولاردی* اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P <۰/۰۵$). در بین گروه‌های آزمایشی، گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* کمترین (۱/۲۴) و گروه شاهد بیشترین (۱/۳۵) ضرایب تبدیل خوراک را داشتند (P < ۰/۰۵)، درحالی‌که ضریب‌تبدیل خوراک گوساله‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت. گروه‌های شاهد و *بولاردی* با یکدیگر در ماده‌خشک مصرفی اختلاف معنی‌داری نداشتند، در حالی‌که با سایر گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (P < ۰/۰۵). همچنین، افزودن *باسیلوس سوبتیلیس* و *لاکتوباسیلوس* سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار در افزایش وزن روزانه نشد.

در سطح جهانی، استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه دام به‌دلیل افزایش نگرانی‌ها در مورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی افزایش یافته‌است (Hume, 2011). انواع جنس‌های میکروبی مانند *باسیلوس*، *آنتروکوکوس* و *ساکرومایسس سرویسیه* (Simon *et al.*, 2001) در دام به‌عنوان محصولات پروبیوتیک استفاده شده‌اند. گزارش شد که استفاده از افزودنی‌های میکروبی منجر به افزایش ماده‌خشک مصرفی گردید (Antunović *et al.*, 2006; Desnoyers *et al*., 2009; Yousif *et al*., 2018; Hassan *et al*., 2020) و مشخص شده است که افزایش خوراک مصرفی بر عملکرد دام‌ها تأثیرگذار است. همسو با پژوهش حاضر، احمد و همکاران (Ahmed *et al*., 2022) گزارش کردند که افزودن *باسیلوس* به شیر گوساله‌های شیرخوار سبب بهبود وزن، افزایش وزن روانه، ماده‌خشک مصرفی و ضریب‌تبدیل خوراک یک ماهگی شد و همچنین بیان کردند که گوساله‌های دریافت‌کننده ۱۰ و ۲۰ گرم *باسیلوس* عملکرد بهتری در ۶۰ روزگی داشتند. نتایج این مطالعه با اسموک و همکاران (Smock *et al*., 2020) همخوانی دارد که بهبود در وزن نهایی و افزایش وزن روزانه را در گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس* گزارش کردند. علاوه بر این، گوساله‌های گاومیش (Mousa & Marwan, 2019)، بز (Khalifa *et al*., 2016) و گوساله‌های شیرخوار هلشتاین دریافت‌کننده *باسیلوس* (Kowalski *et* al., 2009) وزن بدن بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند. در تایید نتایج مطالعه حاضر، مهرداد و همکاران (Mehrdad *et al.,* 2017) گزارش کردند که اضافه کردن مخمر *ساکرومایسیس سرویسیه* به جیره گوساله‌های شیرخوار منجر به بهبود عملکرد رشد آن‌ها شد. استفاده از مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* و *بولاردی* سبب بهبود وزن نهایی گوساله‌های شیرخوار شد (Galvão *et al*., 2005). همچنین، پاینده و کفیل‌زاده (Payandeh & Kafilzadeh, 2007) بیان کردند که مکمل‌کردن جیره بره‌ها با پروبیوتیک، عملکرد رشد آن‌ها را افزایش داد، اما اثری بر ضریب‌تبدیل خوراک نداشت. در پژوهشی، حسین‌آبادی و همکاران (Hosseinabadi *et al.,* 2021) گزارش کردند که تغییرات وزن بدن، افزایش وزن روزانه و بازده خوراک بین گوساله‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک

تفاوت‌های معنی‌داری نداشتند، هر چند که میانگین ماده خشک مصرفی بین گروه شاهد و گروهی که پروبیوتیک مصرف کرده بودند معنی‌دار بود. مطالعه دیدارخواه و باشتانی (Didarkhah & Bashtani, 2018) نشان داد که مکمل‌کردن پروبیوتیک در جیره تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای عملکردی مانند میانگین ماده‌خشک مصرفی، ضریب‌تبدیل خوراک، وزن نهایی و افزایش وزن روزانه داشت. جیره گوساله‌هایی که با *ساکرومایسیس سرویسیه* مکمل شدند، افزایش وزن روزانه بالاتری را در طول ۱۵ تا ۲۱ روز نشان دادند (Harris *et al*., 2015). نتایج بیشتر محققین نشان‌دادند که مکمل‌کردن پروبیوتیک به جیره دام‌ها سبب بهبود مصرف خوراک (Williams *et al*., 1991)، افزایش وزن روزانه، تخمیر شکمبه‌ای و جمعیت میکروارگانیسم‌ها در شکمبه مخصوصاً باکتری‌های هضم‌کننده سلولز شد (Dawson *et al*., 1990) و همچنین در جذب مواد مغذی و متابولیسم آن‌ها نقش داشت (Williams *et al*., 1991). پژوهشی که بر روی ۴۲ رأس گوساله نر هلشتاین صورت گرفت نشان داد که مصرف مخمر *ساکرومایسس بولاردی*، میزان ماده خشک مصرفی آن‌ها را تحت تأثیر قرار نداد، ولی با افزایش سن ماده خشک مصرفی افزایش یافت (He *et al*., 2017). مطالعه فوکینک و همکاران (Fokkink *et al*., 2009) نشان داد که افزودن ۲ درصد ماده خشک پروبیوتیک به جیره گوساله هلشتاین سبب افزایش وزن روزانه گردید. افزودن *باسیلوس سوبتیلیس* به جیره گاو شیری (Smock *et al*., 2020) و گوساله‌های شیرخوار (Sun *et al*., 2010) سبب بهبود افزایش وزن روزانه و وزن نهایی شد. همچنین لیاآو و همکاران (Liao *et al*., 2010) و کووالسکی و همکاران (Kowalski *et al*., 2009) نشان دادند که مکمل پروبیوتیک‌های باکتریایی در مقایسه با گروه شاهد، مصرف ماده خشک و ضریب تبدیل خوراک را در دوره شیردهی و پس از زایمان گاوها بهبود بخشید. پژوهشی دیگر که بر روی ۱۲۰ رأس گوساله نر هلشتاین در دو گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده ۱/۵ گرم مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* انجام شد، نشان داد که افزایش وزن روزانه در سن ۳۵ روزگی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود و همچنین عملکرد آن‌ها در بعد از شیرگیری بهتر از گروه شاهد بود (Terré *et al*., 2015).

بهبود عملکرد دام‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک می‌تواند ناشی از رشد بهتر شکمبه و بیشتر شدن طول و عرض پرزها باشد که جذب مواد مغذی به‌ویژه بوتیرات تولیدشده از باکتری‌های بوتیرویبریو از شکمبه نیز افزایش می‌یابد (Alugongo *et al*., 2017). همچنین، پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش سبب کاهش فعالیت باکتری‌های مضر می‌شوند که جذب مواد مغذی را بهتر می‌کنند، شرایط خروج مواد مغذی هضم‌نشده در شکمبه را کاهش می‌دهند و سبب افزایش وزن بیشتر می‌شوند (Hutjens, 1996). نتایج پژوهش‌های متعددی در مورد اثر مصرف مخمر به‌عنوان زیست‌یار در جیره خوراکی دام‌ها نشان می‌دهند که مخمر با مصرف اکسیژن موجود در شکمبه شرایط بی‌هوازی مطلوبی را برای فعالیت میکروب‌های بی‌هوازی فراهم می‌کند که سبب بهبود و رشد این گروه‌ها از میکروارگانیسم‌ها می‌شوند (Dann *et al*., 2000). علاوه بر این، تصور می‌شود که پروبیوتیک‌ها به‌طور غیرمستقیم روند رشد و تخمیر رتیکولورومن را تقویت می‌کنند. این ممکن است منجر به مصرف بیشتر خوراک شود که ممکن است جمعیت میکروبی را در شکمبه تغییر دهد که در گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس* بیشتر بود (Stefanska *et al*., 2021).

پژوهش حسین‌آبادی و همکاران (Hosseinabadi *et al.*, *2021*) نشان داد که غنی‌سازی شیر یا خوراک آغازین گوساله‌ها با پری‌بیوتیک باکتریایی تفاوت معنی‌داری بر وزن نهایی بدن و افزایش وزن روزانه نداشت. همچنین، گالوآو و همکاران (Galvão *et al*., 2005) نشان دادند که افزودن *ساکرومایسیس سرویسیه* به جیره آغازین باعث افزایش مصرف خوراک و افزایش وزن بدن گوساله‌ها شد، اما زمانی که مخمر به شیر افزوده شد هیچ اثر معنی‌داری مشاهده نشد. به علاوه، چونگ (Chong, 2009) گزارش کرد که استفاده از پروبیوتیک تأثیری روی افزایش وزن روزانه نداشت. هنگامی که یک گرم مخمر *بولاردی* به شیر اضافه شد، تأثیری بر ماده خشک مصرفی و عملکرد گوساله‌های جوان نداشت (Pinos-Rodríguez *et al*., 2008). مطالعه تی تی و همکاران (Titi *et al*., 2008) نشان داد که مصرف مکمل‌های حاوی مخمر تأثیری بر روی افزایش وزن روزانه بره‌ها و بزغاله‌ها نداشت. علاوه بر این، پژوهشگران متعددی گزارش کردند که بازده خوراک تحت تأثیر مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* قرار نگرفت (Lesmeister *et al*., 2004; Magalhães *et al*., 2008; Alugongo *et al*., 2017). به‌علت این‌که پروبیوتیک در این پژوهش‌ها نتوانست مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد، متعاقباً اثرات مثبتی بر بازده خوراک نداشت. همچنین، پاسخ‌های متفاوت به تغذیه محصولات پروبیوتیک در مصرف و افزایش وزن بدن با پژوهش حاضر ممکن است به نوع محصول پروبیوتیک (زنده در مقابل محیط‌کشت)، سویه پروبیوتیک، مقدار تغذیه‌شده به دام، روش مصرف پروبیوتیک (در شیر در مقابل در خوراک آغازین) مربوط باشند.

جدول ۲- اثر افزودن پروبیوتیک‌های مختلف بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 2. The effect of adding different probiotics on the performance of suckling Holstein calves

صفت	جیره‌های آزمایشی						خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4	تیمار ۵ Treatment 5	تیمار ۶ Treatment 6		
وزن ابتدای دوره Initial weight (kg)	43.95	43.94	44.03	44.08	44.01	43.98	0.440	0.999
وزن ۲۱ روزگی Day 21 weight (kg)	57.48^{b}	58.67^{ab}	60.28^{a}	58.90^{ab}	58.71^{ab}	58.52^{ab}	0.381	<0.0001
افزایش وزن روزانه ۱ تا ۲۱ روزگی Daily weight gain from 1 to 21 days of age (g)	0.643^{b}	0.696^{ab}	0.770^{a}	0.700^{ab}	0.693^{ab}	0.686^{ab}	0.019	0.009
وزن ۴۲ روزگی Day 42 weight (kg)	71.19^{c}	73.78^{b}	76.26^{a}	74.73^{b}	74.22^{b}	74.11^{b}	0.288	<0.0001
افزایش وزن کل دوره Total weight gain (kg/day)	0.643^{c}	0.706^{b}	0.761^{a}	0.725^{ab}	0.716^{ab}	0.713^{ab}	0.011	<0.0001
ماده‌خشک مصرفی کل Total dry matter intake (kg)	36.83^{d}	37.56^{c}	40.27^{a}	39.72^{a}	38.68^{b}	38.53^{b}	0.156	<0.0001
ماده‌خشک مصرفی روزانه Daily dry matter intake (g)	1616.8^{c}	1636.4^{c}	1704.9^{a}	1689.3^{a}	1662.4^{b}	1660.2^{b}	4.735	<0.0001
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	1.35^{a}	1.25^{b}	1.24^{b}	1.29^{ab}	1.28^{ab}	1.27^{ab}	0.020	0.014
تغییرات وزنی weight changes (kg)	27.24^{c}	29.84^{b}	32.23^{a}	30.65^{ab}	30.21^{ab}	30.13^{ab}	0.488	<0.0001

میانگین‌هایی که در هر ردیف با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده‌اند اختلافات معنی‌داری دارند ($P < ۰/۰۵$).

تیمارها: ۱- شاهد، ۲- *ساکرومایسس بولاردی*، ۳- *باسیلوس سوبتیلیس* ، ۴- *لاکتوباسیلوس*، ۵- *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و ۶- *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس*.

The averages shown with different Latin letters in each row indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).
Treatments are 1- control, 2- *Saccharomyces boulardii*, 3- *Bacillus subtilis*, 4- *Lactobacillus*, 5- *Saccharomyces boulardii* yeast + *Lactobacillus*, and 6- *Saccharomyces boulardii* yeast + *Lactobacillus* + *Bacillus subtilis*.

اطلاعات مربوط به رفتار مصرف گوساله‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* مدت زمان بیشتری را صرف خوراک خوردن و نشخوار کردند ($P < ۰/۰۵$). مطابق با جدول ۳، بین گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده *بولاردی* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی گوساله‌های دریافت‌کننده *بولاردی* از نظر عددی زمان بیشتری صرف خوراک خوردن کردند. اختلافات معنی‌داری بین گروه شاهد با گوساله‌های دریافت‌کننده *لاکتوباسیلوس*، *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس* مشاهده شدند که در این بین گروه *لاکتوباسیلوس* بیشترین (۴۶۲/۳۳) و شاهد کمترین (۴۱۹/۸۳) زمان را برای خوردن صرف کردند. از نظر مدت زمان نشخوار کردن گوساله‌ها اختلافات معنی‌داری بین گروه شاهد، دریافت‌کننده *بولاردی* و *بولاردی* +*لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس* مشاهده نشدند. همچنین، بین گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* با *لاکتوباسیلوس* و *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* تفاوت‌های معنی‌داری وجود نداشتند. مدت‌زمان صرف‌شده برای جویدن در گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < ۰/۰۵$)، در حالی که بیشتر از گروه‌های شاهد، *بولاردی*، *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و *بولاردی* +*لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس* بود هر چند که با گروه دریافت‌کننده *لاکتوباسیلوس* تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه‌به نتایج خوردن و نشخوار، بالطبع گوساله‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک‌های مختلف مدت‌زمان کمتری را صرف استراحت کردند ($P < ۰/۰۵$) که در این بین، گروه شاهد بیشترین (۷۵۹/۵۰) و *باسیلوس سوبتیلیس* کمترین (۶۸۲/۰۰) زمان را صرف استراحت کردند. گروه شاهد از نظر استراحت با گروه *بولاردی* تفاوت معنی‌داری نداشت و همچنین گوساله‌های دریافت‌کننده *لاکتوباسیلوس*، *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس* با یکدیگر تفاوت‌های معنی‌داری نداشتند. از طرف دیگر، بین گروه *باسیلوس سوبتیلیس* و *لاکتوباسیلوس* از نظر مدت‌زمان استراحت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

رفتار نشخوار رفتاری است که نشخوارکنندگان را از حیوانات تک‌معده‌ای متمایز می‌کند، و یک فرآیند فیزیولوژیکی است که باعث تجزیه بیشتر خوراک خورده‌شده و تحریک هضم مواد مغذی می‌شود. علاوه‌بر این، رفتار نشخوار می‌تواند تولید بزاق را برای حفظ یک محیط سالم شکمبه تحریک کند (Khan *et al*., 2016). به‌خوبی شناخته شده است که رشد و توسعه رفتارهای نشخوارکننده با معده پیشین نشخوارکننده ارتباط دارد. نشخوارکنندگان تازه متولدشده به‌علت عدم وجود نشخوار معمولاً تک‌معده در نظر گرفته می‌شوند. با این حال، آن‌ها چند هفته پس از تولد به‌علت توسعه شکمبه شروع به نشخوار می‌کنند (Porter *et al*., 2007) و مدت نشخوار در گوساله‌ها با افزایش سن افزایش می‌یابد. در پژوهشی، خان و همکاران (Khan *et al*., 2016) گزارش کردند که مدت نشخوار به‌ترتیب در ۲۳ و ۶۵ روزگی به ۱۸۵ و ۲۹۷ دقیقه در روز رسید و ارتباط زیادی بین مدت نشخوار و مصرف خوراک جامد وجود داشت. افزودنی‌های پروبیوتیکی با تنظیم جمعیت میکروبی شکمبه سبب افزایش فعالیت نشخوار گردیده، در نهایت سبب بهبود عملکرد شکمبه می‌گردند. خصوصیات فیزیکی جیره‌ها تحت تأثیر نسبت و نوع علوفه به کنسانتره، درصد منابع الیاف غیرعلوفه‌ای خردشده، اندازه ذرات و نوع فرآیند مواد خوراکی تشکیل‌دهنده جیره قرار می‌گیرند

(Mertens, 1997). در این پژوهش، نسبت علوفه به کنسانتره و اندازه ذرات علوفه در تمام گروه‌های آزمایشی یکسان در نظر گرفته شدند. ویژگی‌های فیزیکی مواد خوراکی می‌توانند رفتار تغذیه‌ای و عملکرد دام را تحت تأثیر قرار دهند (Mertens, 1997). اندازه ذرات علوفه مورد استفاده و مقدار الیاف مؤثر فیزیکی نامحلول در شوینده خنثی می‌توانند بر فعالیت جویدن مؤثر باشند. در نشخوارکنندگان، انرژی صرف‌شده برای نشخوارکردن به مراتب کمتر از انرژی مصرفی برای خوردن خوراک است. انرژی صرف‌شده برای خوردن متناسب با کمیت غذای خورده‌شده نیست، بلکه مدت‌زمان سپری‌شده برای خوردن به ماهیت، الیاف و شکل فیزیکی جیره‌ای که مصرف می‌شود، بستگی دارد (Retrani *et al*., 2009). به‌طور کلی، مدت‌زمان جویدن با کاهش اندازه ذرات و محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی کاهش می‌یابد (Grant *et al*., 1990). ممکن است محتوای کمتر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و ماهیت فیزیکی و شیمیایی آن سبب کاهش فعالیت نشخوار و جویدن شده باشند (Van Soest, 1994). احتمالاً تغییرات در زمان نشخوار ممکن است مرتبط با تفاوت در ماده‌خشک مصرفی و نیز قابلیت هضم مواد مغذی باشد و همچنین می‌توان فعالیت نشخوار را به‌عنوان فاکتوری برای تشخیص سلامت شکمبه به‌دلیل تحریک ترشح بزاق در نظر گرفت که مدت‌زمان صرف‌شده برای فعالیت جویدن معیار خوبی از سلامت شکمبه می‌تواند باشد.

جدول۳- اثر افزودن پروبیوتیک‌های مختلف بر رفتار تغذیه‌ای (دقیقه در روز) گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 3. The effect of adding different probiotics on the feeding behavior (min/day) of suckling Holstein calves

صفت	جیره‌های آزمایشی						خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4	تیمار ۵ Treatment 5	تیمار ۶ Treatment 6		
خوردن Eating	419.83^{e}	429.83^{de}	471.50^{a}	462.33^{ab}	455.33^{bc}	442.33^{dc}	3.048	<0.0001
نشخوار Rumination	260.66^{c}	264.00^{c}	286.50^{a}	280.66^{ab}	275.50^{ab}	270.16^{bc}	2.582	<0.0001
جویدن Chewing	680.50^{e}	693.83^{de}	758.00^{a}	743.00^{ab}	730.83^{bc}	712.50^{dc}	5.544	<0.0001
استراحت Resting	759.50^{a}	746.16^{ab}	682.00^{e}	697.00^{de}	709.16^{dc}	727.50^{bc}	5.544	<0.0001

میانگین‌هایی با حروف لاتین متفاوت در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < ۰/۰۵$).

تیمارها: ۱- شاهد، ۲- *ساکرومایسس بولاردی*، ۳- *باسیلوس سوبتیلیس* ، ۴- *لاکتوباسیلوس*، ۵- *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و ۶- *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس*.

The averages shown with different Latin letters in each row indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).
Treatments: 1- control, 2- *Saccharomyces boulardii*, 3- *Bacillus subtilis*, 4- *Lactobacillus*, 5- *Saccharomyces boulardii* yeast + *Lactobacillus*, and 6- *Saccharomyces boulardii* yeast + *Lactobacillus* + *Bacillus subtilis*.

نتایج اثر پروبیوتیک‌های مختلف بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۴ ارائه شده‌اند. افزودن پروبیوتیک‌های مختلف به شیر گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری بر غلظت‌های کلسترول، تری‌گلیسیرید، گلوکز، نیتروژن اوره‌ای، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و نسبت این دو ایجاد نکرد. از نظر غیر معنی‌داری، غلظت‌های گلوکز، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین و نسبت آلبومین به گلوبولین گوساله‌ها با افزودن به شیر افزایش یافتند، در حالی‌که غلظت‌های کلسترول، تری‌گلیسیرید و نیتروژن اوره‌ای یک روند کاهشی داشتند که از نظر آماری معنی‌دار نبود. با توجه به نتایج، بیشترین (۹۲/۵۰) و کم‌ترین (۸۵/۷۵) غلظت‌های گلوکز مربوط به گوساله‌های دریافت‌کننده *باسیلوس سوبتیلیس* و شاهد بودند. به علاوه، افزودن پروبیوتیک به شیر گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری بر غلظت لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم[1] (VLDL) آن‌ها نداشت. بیشترین (۷/۰۰) و کمترین مقدار (۶/۵۰) لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم به گروه شاهد و *بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس* تعلق داشتند.

فراسنجه‌های خونی به‌علت وجود سازوکارهای هومئوستاز و کنترل شدید به‌وسیله سیستم اعصاب و غدد، تغییر عوامل متابولیک خون به راحتی امکان‌پذیر نیست و تحت تأثیر شرایط خاصی مانند سوء تغذیه، بیماری‌های عفونی و انگلی، عدم کفایت مواد مغذی جیره نسبت به حداقل نیازها و شرایطی مانند آن قرار می‌گیرند. قبل از این که گوساله نشخوارکننده شود، گلوکز منبع اصلی انرژی به‌دلیل استفاده محدود از اسیدهای چرب فرار در اپیتلیوم توسعه‌نیافته شکمبه است (Baldwin *et al.,* 2004). افزایش مصرف انرژی منجر به افزایش جذب گلوکز می‌شود (Magalhães *et al.,* 2008) که این توسط پژوهش‌های پیشین (Galvão *et al.,* 2005; Izuddin *et al.,* 2019) تأیید می‌شود. پژوهشگران دریافتند که گوساله‌هایی که با مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* تغذیه شدند، سطوح گلوکز بالاتری، هم قبل و هم بعد از شیرگیری داشتند (Galvão *et al.,* 2005). با این حال، در این مطالعه، گوساله‌ها نیز مصرف خوراک بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند. به همین ترتیب، ایزادین و همکاران (Izuddin *et al.,* 2019)

[1] Very-low-density lipoprotein

دریافتند که بره‌های تازه از شیر گرفته‌شده که با *لاکتوباسیلوس* مکمل شد، سطوح گلوکز آن‌ها به‌طور قابل توجهی در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود. با افزودن مخمر به جیره گوساله‌ها غلظت گلوکز خون نیز افزایش یافت (Riddell *et al.,* 2010; Fouladgar *et al.,* 2016; Noori *et al.,* 2016; Seifzadeh *et al.,* 2017). این امر احتمالاً به‌دلیل کاهش سهم مولاری اسیداستیک و نسبت استات به پروپیونات و افزایش سهم مولاری اسید پروپیونیک ناشی از ظرفیت بهتر باکتری‌های اسید پروپیونیک برای استفاده از لاکتات در مایع شکمبه گاوهای هلشتاین مکمل‌شده با مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* است. اسید پروپیونیک به‌عنوان پیش‌ساز اصلی گلوکز در نشخوارکنندگان است و بنابراین، افزایش سهم اسید پروپیونیک در شکمبه منجر به تأمین پیش‌سازهای گلوکز و افزایش غلظت گلوکز می‌شود. احتمالاً عدم تفاوت در غلظت گلوکز خون گوساله‌ها به‌دلیل عدم تفاوت در سطح تخمیر در شکمبه باشد، هر چند از نظر عددی بالاتر از تیمار شاهد بودند. هنگامی که سطح تخمیر در شکمبه افزایش می‌یابد، نشاسته موجود در شکمبه توسط میکروارگانیسم‌های موجود در شکمبه تخمیر شده، تبدیل به اسید چرب می‌شود که از دیواره شکمبه جذب و مورد متابولیسم قرار می‌گیرد. ولی پایین بودن سطح تخمیر در شکمبه سبب عبور نشاسته از شکمبه به روده شده، در روده هضم شده و به‌صورت گلوکز جذب خون می‌گردد (Izuddin *et al., 2019*).

غلظت نیتروژن اوره‌ای خون شاخصی از تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه و جذب پروتئین پس از شکمبه است. طی پژوهشی، Doležal *et al.* (2011) گزارش کردند که افزودن مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* سبب کاهش معنی‌داری سطح نیتروژن اوره‌ای شد. همچنین نوروزیان و همکاران (Norouzian *et al.,* 2011) بیان کردند که مصرف مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* در بره‌های تغذیه شده با جیره‌هایی با ۷۰ درصد کنسانتره در ۲ ساعت بعد از خوراک‌دهی به‌طور معنی‌داری غلظت اوره خون را کاهش داد. کاهش نیتروژن اوره‌ای خون می‌تواند به‌علت همبستگی بالای نیتروژن اوره‌ای شکمبه و خون باشد (Offer, 1990). مشاهده شد که غلظت نیتروژن اوره‌ای و گلوکز پلاسما به‌وسیله تغذیه روزانه مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* در جیره گاوهای شیری تحت تأثیر قرار نگرفت (Milewski & Sobiech, 2009). از این رو، در آزمایش حاضر به‌دلیل شرایط تغذیه‌ای گوساله‌های مورد استفاده و نیز تأمین غلظت مناسبی از انرژی و پروتئین و مشابه بودن مواد مغذی، اختلاف معنی‌داری در غلظت اوره مشاهده نشد و این می‌تواند نشان دهد که مخمرهای استفاده‌شده تأثیر زیادی بر سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه گوساله نداشتند.

در مورد غلظت کلسترول، کاکیروگلو و همکاران (Cakiroglu *et al.,* 2010) گزارش کردند که افزودن محیط کشت مخمر زنده به جیره غلظت کلسترول را در گاوهای جرسی در اوایل شیردهی افزایش داد. مطابق با نتایج پژوهش، آنها بیان کردند که مکمل کردن ۶ گرم در روز مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* به جیره گاوهای شیرده هلشتاین، تأثیر معنی‌داری بر غلظت تری‌گلیسرید نداشت، هر چند که از نظر عددی غلظت آن در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت. در مطالعه‌ای، Ayad *et al.* (2013) گزارش کردند که افزودن مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* به‌طور معنی‌داری غلظت تری‌گلیسرید را کاهش داد. همسو با پژوهش ما، پژوهشگران متعددی گزارش کردند که افزودن مخمر یا محیط کشت مخمر تأثیر معنی‌داری بر غلظت تری‌گلیسرید خون نداشت (Milewski & Sobiech, 2009; Cakiroglu *et al.,* 2010; Dehghan-Banadaky *et al.,* 2013; Ayad *et al.,* 2013). غلظت پایین‌تر تری‌گلیسرید در دام‌های تغذیه‌شده با مخمر احتمالاً به‌علت همبستگی منفی آن با غلظت بالاتر گلوکز خون باشد که باعث کاهش میزان بسیج چربی‌ها از بافت‌های بدن می‌شود. استفاده از افزودنی‌های میکروبی نیز تأثیر مثبتی بر تعادل انرژی به‌وسیله بهبود وضعیت متابولیکی دارد که این عمل باعث کاهش غلظت چربی‌های سرم می‌شود (Baiomy, 2010). با این‌حال، غلظت‌های تری‌گلیسرید و کلسترول تحت تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار نگرفتند که بیان‌کننده تعادل وضعیت متابولیکی دام‌ها است. در راستای نتایج پژوهش حاضر، سلام و همکاران (Sallam *et al.,* 2020) نیز گزارش کردند که استفاده از مخمر تأثیری بر غلظت کلسترول نداشت. تناقض در نتایج به‌دست آمده به جیره پایه، سویه مخمر مورد استفاده، مقدار مصرف مخمر و شرایط فیزیولوژیکی حیوان تحت آزمایش می‌تواند مرتبط باشد (Williams *et al.,* 1991). غلظت‌های پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین نشان‌دهنده سطح سوخت و ساز پروتئین در حیوان است. در این پژوهش، غلظت‌های پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین تحت تأثیر افزودنی‌ها قرار نگرفتند، که با نتایج پیشین (Galip, 2006; Soren *et al.,* 2013) مطابقت دارد. عدم تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت پروتئین خون نشان‌دهنده وضعیت مناسب تغذیه‌ای گوساله‌های مورد آزمایش و عدم‌استفاده از اسیدهای آمینه و دآمیناسیون جهت تأمین انرژی است (Bruno *et al.,* 2009).

مطالعات بسیار اندکی در مورد تأثیر پروبیوتیک بر غلظت لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم وجود دارند. به‌طور کلی، سطوح بالای اسیدهای چرب پروپیونات، بوتیرات و والرات می‌توانند سنتز تری‌گلیسرول و کلسترول را در سلول‌های کبد کند کنند و ممکن است پروفایل لیپیدی خون را تغییر دهند. با توجه به پیسرا و اوپالکا پیسرا و اوپالکا (Pysera & Opalka, 2001)، پروفایل لیپیدی و لیپوپروتئین‌ها (HDL، LDL، و VLDL) در سرم خون گوساله‌ها براساس سن حیوانات، مقدار و نوع چربی یا مواد افزودنی خوراک اصلاح می‌شوند. هیچ اثری از پروبیوتیک‌های اضافه شده به شیر بر سطح سرمی لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم مشاهده نشد. این مطابق با مطالعات پژوهشگران است که هیچ تأثیری از افزودن پروبیوتیک به جیره بر سطح لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم در گاومیش (Campanile *et al*., 2008)؛ قوچ (Galip, 2006) و میش (Grochowska *et al*., 2012) گزارش نکردند. مطابق با نتایج Pysera and Opalka (2001)، استفاده از مکمل مخمر زنده ترکیب چربی بخش‌های VLDL و LDL را در مقایسه با گاوهای گروه شاهد تغییر داد. عدم تأثیر در مقدار لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم در گوساله می‌تواند به‌علت نوع دام، مدت‌زمان آزمایش، جیره پایه و پروبیوتیک مصرفی باشد.

جدول ۴- اثر افزودن پروبیوتیک‌های مختلف بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین
Table 4. The effect of adding different probiotics on the blood parameters of suckling Holstein calves

صفت	جیره‌های آزمایشی						خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4	تیمار ۵ Treatment 5	تیمار ۶ Treatment 6		
کلسترول Cholesterol (mg/dl)	93.75	93.25	92.25	91.75	92.00	92.75	0.961	0.822
تری‌گلیسرید Triglyceride (mg/dl)	35.00	32.75	34.00	34.50	32.75	32.50	3.718	0.997
گلوکز Glucose (mg/dl)	85.75	89.00	92.50	88.25	87.25	87.75	1.721	0.362
اوره Urea (mg/dl)	18.00	16.50	14.50	16.25	16.50	16.55	1.003	0.549
پروتئین کل Total protein (g/dl)	5.96	6.23	6.34	6.31	6.33	6.28	0.109	0.358
آلبومین Albumin (g/dl)	3.49	3.57	3.81	3.53	3.73	3.63	0.077	0.188
گلوبولین Globulin (g/dl)	2.12	2.16	2.17	2.14	2.15	2.17	0.042	0.975
آلبومین/گلوبولین Albumin/Globulin	1.64	1.65	1.75	1.64	1.73	1.67	0.053	0.738
لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم VLDL	7.00	6.55	6.80	6.90	6.56	6.50	0.743	0.997

تیمارها: ۱- شاهد، ۲- *ساکرومایسس بولاردی*، ۳- *باسیلوس سوبتیلیس* ، ۴- *لاکتوباسیلوس*، ۵- *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و ۶- *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس*.

Treatments: 1- control, 2- *Saccharomyces boulardii*, 3- *Bacillus subtilis*, 4- *Lactobacillus*, 5- *Saccharomyces boulardii* yeast + *Lactobacillus*, and 6- *Saccharomyces boulardii* yeast + *Lactobacillus* + *Bacillus subtilis*.

اطلاعات مربوط به میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی گوساله‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک‌های مختلف در جدول ۵ ارائه شده است. افزودن پروبیوتیک به شیر گوساله تأثیر بر غلظت‌های آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلکالاین فسفاتاز (ALP) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) نداشت. از نظر عددی، مقادیر فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در گوساله‌های گروه شاهد بیشتر از سایر گروه‌های آزمایشی بودند، در حالی که غلظت آلکالین فسفاتاز کمتر از سایر گروه‌ها بود.

تاکنون مطالعات بسیار اندکی در مورد تأثیر پروبیوتیک بر فعالیت آنزیم کبدی وجود دارد. همسو با پژوهش حاضر، افزودن مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* به جیره بر پایه ذرت و جو تأثیری بر فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز گوساله‌های شیرخوار نداشت (Mirzaei *et al.,* 2018). پژوهش‌های دویاتکین و همکاران (Devyatkin *et al*., 2021) و رودریگاس و همکاران (Rodrigues *et al*., 2021) نشان دادند که افزودن *باسیلوس* به جیره بره‌های پرواری و گاوها (Choonkham *et al*., 2021) سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های کبدی نشد. با این وجود، Doležal *et al*. (2005) گزارش کردند که افزودن مخمر *ساکرومایسس سرویسیه* سبب افزایش آسپارتات آمینوترانسفراز گاوهای شیری شد. سطح ALP در پلاسمای خون نشان‌دهنده چندین وضعیت پاتولوژیک مانند اضافه بار کبد است (de Paula Silva *et al*., 2020). ALP در هضم اسیدهای چرب در کبد شرکت می‌کند، منشأ کبدی دارد و هیدرولیز سوبستراهای فسفات را انجام می‌دهد (Rodrigues *et al*., 2021). AST یک آنزیم سیتوپلاسمی و میتوکندریایی است که در دام ممکن است مواردی از نکروز کبد یا آسیب عضلانی را نشان دهد. برای نشخوارکنندگان، شاخص اصلی آسیب کبدی و ناهنجاری‌های متابولیک است (Kaneko, 2008). در موارد بالا بودن سطح AST و سطوح پایین کلسترول و آلبومین، می‌توان گفت که اختلالاتی در عملکرد کبد وجود دارند (Rodrigues *et al*., 2021; Siqueira *et al*., 2022).

سطح AST کبدی در طی رویدادهای پاتولوژیک افزایش می‌یابد و منجربه آزاد شدن این آنزیم‌ها در جریان خون می‌شود (Ramaiah *et al*., 2007). به‌طور معمول، در حیوانات، تولید و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، تعادل پویا را در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی حفظ می‌کند، اما فراوانی بیش از حد رادیکال‌های آزاد می‌تواند منجربه استرس اکسیداتیو شود (Wang *et al*., 2016). به گفته وو و همکاران (Wu *et al*., 2021)، تجویز خوراکی پروبیوتیک باسیلوس در موش‌های Sprague-Dawley فعالیت آلانین ترانس آمیناز و آلکالین فسفاتاز را کاهش داد و اختلال عملکرد میتوکندری را سرکوب کرد. به‌طور کلی، مقادیر این آنزیم در محدوده طبیعی بود (Varanis *et al*., 2021)، که نشان‌دهنده عملکرد خوب کبد توسط دام‌ها است. از آن‌جایی که هیچ تغییری در مقادیر به‌دست‌آمده توسط این متغیرها وجود نداشت، می‌توان استنباط کرد که استفاده از پروبیوتیک عملکرد کبد را به‌خطر نمی‌اندازد و گوساله‌ها را مستعد آسیب کبدی یا متابولیکی نمی‌کند (Kaneko, 2008; Rodrigues *et al*., 2021; Siqueira *et al*., 2022).

جدول ۵- اثر افزودن پروبیوتیک‌های مختلف بر غلظت آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین (واحد در لیتر)

Table 5. The effect of adding different probiotics on the concentrations of liver enzymes (unit/l) in suckling Holstein calves

صفت	جیره‌های آزمایشی						خطای استاندارد میانگین SEM	احتمال معنی‌داری P-Value
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4	تیمار ۵ Treatment 5	تیمار ۶ Treatment 6		
آسپارتات آمینوترانسفراز AST	53.50	50.75	52.25	51.75	51.5	51.50	1.437	0.908
آلکالاین فسفاتاز ALP	8.75	9.00	9.25	9.75	10.00	9.00	0.806	0.938
آلانین آمینوترانسفراز ALT	513.00	502.25	512.00	512.50	511.25	511.75	8.22	0.972

تیمارها: ۱- شاهد، ۲- *ساکرومایسس بولاردی*، ۳- *باسیلوس سوبتیلیس*، ۴- *لاکتوباسیلوس*، ۵- *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* و ۶- *ساکرومایسس بولاردی* + *لاکتوباسیلوس* + *باسیلوس سوبتیلیس*.

Treatments: 1- control, 2- *Saccharomyces boulardii*, 3- *Bacillus subtilis*, 4- *Lactobacillus*, 5- *Saccharomyces boulardii* yeast + *Lactobacillus*, and 6- *Saccharomyces boulardii* yeast + *Lactobacillus* + *Bacillus subtilis*.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، استفاده از پروبیوتیک‌های مختلف سبب بهبود افزایش وزن، ماده‌خشک مصرفی، ضریب‌تبدیل و به‌طور کلی عملکرد گوساله‌ها بدون اثر منفی بر شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده از جمله آنزیم‌های کبدی شد. لذا، می‌توان از پروبیوتیک و *باسیلوس سوبتیلیس* در جیره‌های گوساله‌های شیرخوار جهت بهبود عملکرد استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

به این وسیله، نویسندگان از مدیرعامل و کارکنان محترم شرکت ویوان (مشهد، ایران) بابت تأمین پروبیوتیک‌ها مورد استفاده آزمایش، از گروه تغذیه دام و طیور دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان بابت انجام آزمایشات و همچنین از شرکت کشت و صنعت و دامپروری مهرماندگار گلستان به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

Abd El-Ghani, A. A. (2004). Influence of diet supplementation with yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) on performance of Zaraibi goats. *Small Ruminant Research*, *52*(3), 223-229. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.06.002

Abd El-Trwab, M. M., Youssef, I. I., Bakr, H. A., Fthenakis, G. C., & Giadinis, N. D. (2016). Role of probiotics in nutrition and health of small ruminants. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, *19*(4), 893–906. https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0114

Ahmed, E., Shetawy, S. M., Bassiony, U. M., El-Moniem, A., & Al-Marakby, K. M. (2022). Efficacy of using probiotics containing *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* spores on performance and health of holstein suckling calves. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 49(6), 865-878. https://doi.org/10.21608/zjar.2022.278249

Alugongo, G. M., Xiao, J. X., Chung, Y. H., Dong, S. Z., Li, S. L., Yoon, I., ... & Cao, Z. J. (2017). Effects of Saccharomyces cerevisiae fermentation products on dairy calves: Performance and health. *Journal of Dairy Science*, *100*(2), 1189-1199.https://doi.org/10.3168/jds.2016-11399

Alugongo, G. M., Xiao, J., Wu, Z., Li, S., Wang, Y., & Cao, Z. (2017). Utilization of yeast of Saccharomyces cerevisiae origin in artificially raised calves. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *8*, 1-12.https://doi.org/10.1186/s40104-017-0165-5

Amozadeh Araee, K., Ghoorchi, T., Toghdory, A., Asadi, M., & Mehrani, K. (2023). The effect of different levels of *Mentha pulegium* on performance, nutrient digestibility, rumination behavior, blood and rumen parameters of dalagh ewes. *Journal of Animal Production*, 25(1), 71-81. https://doi.org/10.22059/jap.2023.349997.623710. [In Persian]

Antanaitis, R., Džermeikaitė, K., Krištolaitytė, J., Armonavičiūtė, E., Arlauskaitė, S., Girdauskaitė, A., ... & Baumgartner, W. (2024). Effects of Bacillus subtilis on Growth Performance, Metabolic Profile, and Health Status in Dairy Calves. *Animals*, *14*(17), 2489. https://doi.org/10.3390/ani14172489

Antunović, Z., Šperanda, M., Amidžić, D., Šerić, V., Stainer, Z., Domačinović, M., & Boli, F. (2006). Probiotic application in lambs nutrition. *Krmiva: Časopis o Hranidbi Zivotinja, Proizvodnji i Tehnologiji Krme*, *48*(4), 175-180.

Araujo, R. C., Pires, A. V., Susin, I., Mendes, C. Q., Rodrigues, G. H., Packer, I. U., & Eastridge, M. L. (2008). Milk yield, milk composition, eating behavior, and lamb performance of ewes fed diets containing soybean hulls replacing coastcross (Cynodon species) hay. *Journal of Animal Science*, *86*(12), 3511-3521.https://doi.org/10.2527/jas.2008-0940

Ayad, M. A., Benallou, B., Saim, M. S., Smadi, M. A., & Meziane, T. (2013). Impact of feeding yeast culture on milk yield, milk components, and blood components in Algerian dairy herds. *Journal of Veterinary Science and Technology*, 4(2), 135-140. http://dx.doi.org/10.4172/2157-7579.1000135

Baiomy, A. A. (2010). Influence of live yeast culture on milk production, composition and some blood metabolites of Ossimi ewes during the milking period. *Journal of Animal and Poultry Production*, *1*(10), 469-480. https://dx.doi.org/10.21608/jappmu.2010.86260

Baldwin, R. L. V., McLeod, K. R., Klotz, J. L., & Heitmann R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre- and postweaning ruminant. *Journal of Dairy Science*, 87, 55–65. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70061-2

Bruno, R. G., Rutigliano, H. M., Cerri, R. L., Robinson, P. H., & Santos, J. E. (2009). Effect of feeding *Saccharomyces cerevisiae* on performance of dairy cows during summer heat stress. *Animal Feed Science and Technology*, *150*(3-4), 175-186. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.09.001

Cakiroglu, D., Meral, Y., Pekmezci, D., & Akdag, F. (2010). Effects of live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on milk production and blood lipid levels of Jersey cows in early lactation. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(9), 1370-1374. http://dx.doi.org/10.3923/javaa.2010.1370.1374

Campanile, G., Zicarelli, F., Vecchio, D., Pacelli, C., Neglia, G., Balestrieri, A., ... & Infascelli, F. (2008). Effects of Saccharomyces cerevisiae on in vivo organic matter digestibility and milk yield in buffalo cows. *Livestock Science*, *114*(2-3), 358-361.https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.11.002

Chaucheyras-Durand, F., Walker, N. D., & Bach, A. (2008). Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Animal Feed Science and Technology*, *145*(1-4), 5-26. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.019

Chong, K. (2009). Evaluation of a probiotic (Levucell SB®) and a prebiotic (AgriMOS®) on performance, health and fecal microflora of veal calves.

Choonkham, W., Intanon, M., Chewonarin, T., Bernard, J. K., & Suriyasathaporn, W. (2021). Effects of supplemental Bacillus subtilis, injectable vitamin E plus selenium, or both on health parameters during the transition period in dairy cows in a tropical environment. *Tropical Animal Health and Production*, *53*, 1-9. https://doi.org/10.1007/s11250-021-02741-z

Dann, H. M., Drackley, J. K., McCoy, G. C., Hutjens, M. F., & Garrett, J. E. (2000). Effects of yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, *83*(1), 123-127. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74863-6

Dawson, K. A., Newman, K. E., & Boling, J. A. (1990). Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. *Journal of Animal Science*, *68*(10), 3392-3398. https://doi.org/10.2527/1990.68103392x

de Paula Silva, D. A., Varanis, L. F. M., Oliveira, K. A., Sousa, L. M., Siqueira, M. T. S., & Júnior, G. D. (2020). Parâmetros de metabólitos bioquímicos em ovinos criados no Brasil. *Caderno de Ciências Agrárias*, *12*, 1-5. https://doi.org/10.35699/2447-6218.2020.20404

Dehghan-Banadaky, M., Ebrahimi, M., Motameny, R., & Heidari, S. R. (2013). Effects of live yeast supplementation on mid-lactation dairy cows performances, milk composition, rumen digestion and plasma metabolites during hot season. *Journal of Applied Animal Research*, *41*(2), 137-142. https://doi.org/10.1080/09712119.2012.739085

Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., & Sauvant, D. (2009). Meta-analysis of the influence of Saccharomyces cerevisiae supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *Journal of Dairy Science*, *92*(4), 1620-1632. https://doi:10.3168/jds.2008-1414

Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Sauvant, D., Bertin, G., & Duvaux-Ponter, C. (2009). The influence of acidosis and live yeast (Saccharomyces cerevisiae) supplementation on time-budget and feeding behaviour of dairy goats receiving two diets of differing concentrate proportion. *Applied Animal Behaviour Science*, *121*(2), 108-119. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.09.001

Devyatkin, V., Mishurov, A., & Kolodina, E. (2021). Probiotic effect of Bacillus subtilis B-2998D, B-3057D, and Bacillus licheniformis B-2999D complex on sheep and lambs. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, *8*(1), 146. https://doi.org/10.5455/javar.2021.h497

Didarkhah, M., & Bashtani, M. (2018). Effects of probiotic and peribiotic supplementation in milk on performance and nutrition digestibility in Holstein calves. *Research on Animal Production,* 9(20), 70-78. (In Persian). http://dx.doi.org/10.29252/rap.9.20.70

Doležal, P., Doležal, J., & Třináctý, J. (2005). The effect of Saccharomyces cerevisiae on ruminal fermentation in dairy cows. *Czech Journal of Animal Science*, *50*(11), 503-510. https://doi.org/10.17221/4255-CJAS

Doležal, P., Doležal, J., & Třináctý, J. (2005). The effect of Saccharomyces cerevisiae on ruminal fermentation in dairy cows. *Czech Journal of Animal Science*, 50(11), 503-510. http://dx.doi.org/10.17221/4255-CJAS

Drackley, J. K. (2008). Calf nutrition from birth to breeding. *Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice*, *24*(1), 55-86. https://doi:10.1016/j.cvfa.2008.01.001.

Fokkink, W. B., Hill, T. M., Aldrich, J. M., Bateman, H. G., & Schlotterbeck, R. L. (2009). Effect of yeast culture, fatty acids, whey, and a peptide source on dairy calf performance. *The Professional Animal Scientist*, *25*(6), 794-800. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30791-9

Fomenky, B. E., Chiquette, J., Bissonnette, N., Talbot, G., Chouinard, P. Y., & Ibeagha-Awemu, E. M. (2017). Impact of Saccharomyces cerevisiae boulardii CNCMI-1079 and Lactobacillus acidophilus BT1386 on total lactobacilli population in the gastrointestinal tract and colon histomorphology of Holstein dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, *234*, 151-161. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.08.019

Fouladgar, S., Shahraki, A. F., Ghalamkari, G. R., Khani, M., Ahmadi, F., & Erickson, P. S. (2016). Performance of Holstein calves fed whole milk with or without kefir. *Journal of Dairy Science*, *99*(10), 8081-8089. https://doi.org/10.3168/jds.2016-10921

Galip, N. (2006). Effect of supplemental yeast culture and sodium bicarbonate on ruminal fermentation and blood variables in rams. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *90*(11-12), 446-452. https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2006.00625.x

Galvão, K. N., Santos, J. E., Coscioni, A., Villaseñor, M., Sischo, W. M., & Berge, A. C. B. (2005). Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal Escherichia coli. *Reproduction Nutrition Development*, *45*(4), 427-440. https://doi.org/10.1051/rnd:2005040

Grant, R. J., Colenbrander, V. F., & Mertens, D. R. (1990). Milk fat depression in dairy cows: role of particle size of alfalfa hay. *Journal of Dairy Science*, *73*(7), 1823-1833. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78862-5

Grochowska, S., Nowak, W., Mikuła, R., & Kasprowicz-Potocka, M. (2012). The effect of Saccharomyces cerevisiae on ruminal fermentation in sheep fed high-or low-NDF rations. *Journal of Animal and Feed Sciences,* 21, 276–284. http://dx.doi.org/10.22358/jafs/66075/2012

Harris, T. L., Liang, Y., Sellers, M. D., Nightingale, C. R., Sharon, K. P., Carroll, J. A., ... & Ballou, M. A. (2015). Influences of SmartCare in milk replacer and XPC in calf starter on the performance and health of pre-weaning Holstein calves challenged orally with an opportunistic infectionwith Citrobacter freundii. *Journal of Animal Science*, 93(1), 31-46. https://doi.org/10.3168/jds.2016-12509

Hassan, A., Gado, H., Anele, U. Y., Berasain, M. A., & Salem, A. Z. (2020). Influence of dietary probiotic inclusion on growth performance, nutrient utilization, ruminal fermentation activities and methane production in growing lambs. *Animal Biotechnology*, *31*(4), 365-372. https://doi.org/10.1080/10495398.2019.1604380

He, Z. X., Ferlisi, B., Eckert, E., Brown, H. E., Aguilar, A., & Steele, M. A. (2017). Supplementing a yeast probiotic to pre-weaning Holstein calves: Feed intake, growth and fecal biomarkers of gut health. *Animal Feed Science and Technology*, *226*, 81-87. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.02.010

Hosseinabadi, M., Dehghan-banadaky, M., & Zali, A. (2018). Comparison the effects of feeding yeast probiotic in milk or starter on growth performance, health, blood and rumen parameters of Holstein. *Journal of Animal Production,* 20(2), 283-292. https://doi.org/10.22059/jap.2018.227019.623165. [In Persian]

Hosseinabadi, M., Ghoorchi, T., & Toghdory, A. (2021). Effect of Saccharomyces cerevisiae on growth performance, nutrient digestibility, serum metabolites and feeding behavior of Simmental dairy calves. *Journal of Animal Production,* 24(1), 35-45. https://doi.org/10.22059/jap.2022.331033.623640. [In Persian]

Hume, M. E. (2011). Historic perspective: prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics. *Poultry Science*, *90*(11), 2663-2669. https://doi.org/10.3382/ps.2010-01030

Hutjens, M. F. (1996). Practical approaches to feeding the high producing cow. *Animal Feed Science and Technology*, *59*(1-3), 199-206. https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00900-0

Izuddin, W. I., Loh, T. C., Samsudin, A. A., Foo, H. L., Humam, A. M., & Shazali, N. (2019). Effects of postbiotic supplementation on growth performance, ruminal fermentation and microbial profile, blood metabolite and GHR, IGF-1 and MCT-1 gene expression in post-weaning lambs. *BMC Veterinary Research*, *15*, 1-10. https://doi.org/10.1186/s12917-019-2064-9

Jouany, J. P., Medina, B., Bertin, G., & Julliand, V. (2009). Effect of live yeast culture supplementation on hindgut microbial communities and their polysaccharidase and glycoside hydrolase activities in horses fed a high-fiber or high-starch diet. *Journal of Animal Science*, *87*(9), 2844-2852. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1602

Kaneko, J. J. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic press. 273.

Kargar, S., Nowroozinia, F., & Kanani, M. (2021). Feeding fennel (*Foeniculum vulgare*) seed as potential appetite stimulant to newborn Holstein dairy calves: Effects on meal pattern, ingestive behavior, oro-sensorial preference, and feed sorting. *Animal Feed Science and Technology*, *278*, 115009. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115009

Khalifa, E. I., Hassanien, H. A., Mohamed, A. H., Hussein, A. M., & Abd-Elaal, A. A. (2016). Influence of addition Spirulina platensis algae powder on reproductive and productive performance of dairy Zaraibi goats. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, *19*(2), 211-225. https://dx.doi.org/10.21608/ejnf.2016.74901

Khan, M. A., Bach, A., Weary, D. M., & Von Keyserlingk, M. A. G. (2016). Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, *99*(2), 885-902. https://doi.org/10.3168/jds.2015-9975

Kiarie, E., Bhandari, S., Scott, M., Krause, D. O., & Nyachoti, C. M. (2011). Growth performance and gastrointestinal microbial ecology responses of piglets receiving Saccharomyces cerevisiae fermentation products after an oral challenge with Escherichia coli (K88). *Journal of Animal Science*, *89*(4), 1062-1078. https://doi.org/10.2527/jas.2010-3424

Kowalski, Z. M., Górka, P., Schlagheck, A., Jagusiak, W., Micek, P., & Strzetelski, J. (2009). Performance of Holstein calves fed milk-replacer and starter mixture supplemented with probiotic feed additive. *Journal of Animal and Feed Sciences*,18, 399-411. http://dx.doi.org/10.22358/jafs/66409/2009

Lesmeister, K. E., Heinrichs, A. J., & Gabler, M. T. (2004). Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *87*(6), 1832-1839. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73340-8

Liao, Q., Hang, X., Liu, X., Pan, J., Zhang, H., & Yang, H. (2010). The influence of pH on heat stress response by probiotic Lactobacillus plantarum LP-Onlly. *Annals of Microbiology*, *60*, 341-348. https://doi.org/10.1007/s13213-010-0048-x

Magalhães, V. J. A., Susca, F., Lima, F. S., Branco, A. F., Yoon, I., & Santos, J. E. P. (2008). Effect of feeding yeast culture on performance, health, and immunocompetence of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *91*(4), 1497-1509. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0582

Mehrdad, N., Chashnidel, Y., Teimori Yansari, A., & Khorvash, M. (2017). Effects of two kinds of probiotics on performance, blood and ruminal parameters in Holstein male calves. *Journal of Ruminant Research*, 5(1), 23-42. (In Persian). https://doi.org/10.22069/ejrr.2017.12160.1497

Mertens, D. R. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *80*(7), 1463-1481. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76075-2

Mielich-Süss, B., & Lopez, D. (2015). Molecular mechanisms involved in B acillus subtilis biofilm formation. *Environmental Microbiology*, *17*(3), 555-565. https://doi.org/10.1111/1462-2920.12527

Milewski, S., & Sobiech, P. R. Z. (2009). Effect of dietary supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* dried yeast on milk yield, blood biochemical and haematological indices in ewes. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy,* 53, 753-758. https://doi.org/10.5555/20103045663

Mirzaei, M., Kazemi Benchnari, M., Khodayi Mutlaq, M., Moradi, M. H., & confidential Y. (2018). Comparison of the effect of barley grain with corn on yield, rumen fermentation and blood parameters of Holstein fattening male calves. *Animal Sciences*, 31(120), 135-146. https://doi.org/10.56759/as.2018.678997.789610 [In Persian]

Mousa, S. A., & Marwan, A. A. (2019). Growth performance, rumen fermentation and selected biochemical indices in buffalo calves fed on Basillis subtilus supplemented diet. *International Journal of Veterinary Science*, 8(3), 151-156. https://doi.org/10.33669/ejrr.2019.13450.1785

Musa, H. H., Wu, S. L., Zhu, C. H., Seri, H. I., & Zhu, G. Q. (2009). The potential benefits of probiotics in animal production and health. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(2), 313-321. https://doi.org/10.33909/jva.2009.26850.3345

Noori, M., Alikhani, M., & Jahanian, R. (2016). Effect of partial substitution of milk with probiotic yogurt of different pH on performance, body conformation and blood biochemical parameters of Holstein calves. *Journal of Applied Animal Research*, *44*(1), 221-229. https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1031772

Norouzian, M.A., Valizadeh, R., & Vahmani, P. (2011). Rumen development and growth of Balouchi lambs offered alfalfa hay pre- and post-weaning. *Trop. Animal Health Production,* 6, 1169-74. https://doi.org/10.1007/s11250-011-9819-z

Offer, N. W. (1990). Effect of yeast sac 1026 on initial of digestion in sheep Biotechnology in the feed industry. In *Proceedings of Altech's Six Annual Symposium* (pp. 522-523).

Ontsouka, E. C., Albrecht, C., & Bruckmaier, R. M. (2016). Invited review: Growth-promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters. *Journal of Dairy Science*, *99*(6), 4111-4123. https:// doi:10.3168/jds.2015-9741

Payandeh, S., & Kafilzadeh, F. (2007). The effect of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on nutrient intake, digestibility and finishing performance of lambs fed a diet based on dried molasses sugar beet-pulp. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *10*(24), 4426-4431. https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.4426.4431

Payandeh, S., & Kafilzadeh, F. (2007). The effect of yeast (Saccharomyces cerevisiae) on nutrient intake, digestibility and finishing performance of lambs fed a diet based on dried molasses sugar beet-pulp. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *10*(24), 4426-4431. https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.4426.4431

Pinos-Rodríguez, J. M., Robinson, P. H., Ortega, M. E., Berry, S. L., Mendoza, G., & Bárcena, R. (2008). Performance and rumen fermentation of dairy calves supplemented with Saccharomyces cerevisiae1077 or Saccharomyces boulardii1079. *Animal Feed Science and Technology*, *140*(3-4), 223-232. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.08.003

Porter, J. C., Warner, R. G., & Kertz, A. F. (2007). Effect of fiber level and physical form of starter on growth and development of dairy calves fed no forage. *The Professional Animal Scientist*, *23*(4), 395-400. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30994-3

Pysera, B., & Opalka, A. (2001). Lipids and lipoproteins in blood serum of calves receiving Yea-Sacc^ 1^ 0^ 2^ 6 dietary supplement. *Journal of Animal and Feed Sciences*, *10*, 77-82. https://doi.org/10.22358/jafs/70037/2001

Ramaiah, S. K. (2007). A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. *Food and Chemical Toxicology*, *45*(9), 1551-1557. https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.06.007

Retnani, Y., Widiarti, W., Amiroh, I., Herawati, L., & Satoto, K. B. (2009). Storage capacity and palatability of wafer complete ration based on sugar cane top and bagasse on calves. *Media Peternakan*, *32*(2), 130-136. http://dx.doi.org/10.5398/medpet.v32i2.1148

Riddell, J. B., Gallegos, A. J., Harmon, D. L., & McLeod, K. R. (2010). Addition of a Bacillus based probiotic to the diet of preruminant calves: Influence on growth, health, and blood parameters1, 2, 3. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine, 8*, 78-85.

Rodrigues, G. R. D., Schultz, E. B., Siqueira, M. T. S., Fonseca, A. L., de Oliveira, M. R., Silva, D. A. D. P., & Macedo Junior, G. D. L. (2021). Use of active and inactive yeasts in lamb diets: intake, digestibility, and metabolism. *Veterinária Notícias*, 27(2), 19-43. http://dx.doi.org/10.14393/VTN-v27n2-2021-58884

Sallam, S. M., Kholif, A. E., Amin, K. A., El-Din, A. N. N., Attia, M. F., Matloup, O. H., & Anele, U. Y. (2020). Effects of microbial feed additives on feed utilization and growth performance in growing Barki lambs fed diet based on peanut hay. *Animal Biotechnology*, *31*(5), 447-454. https://doi.org/10.1080/10495398.2019.1616554

SAS Institute. (2004). User's Guide. Version 9.1: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.

Seifzadeh, S., Mirzaei Aghjehgheshlagh, F., Abdibenemar, H., Seifdavati, J., & Navidshad, B. (2017). The effects of a medical plant mix and probiotic on performance and health status of suckling Holstein calves. *Italian Journal of Animal Science*, *16*(1), 44-51. https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1249421

Shetawy, A. E., Bassiony, S. M., El-Moniem, A., & Al-Marakby, K. M. (2022). Efficacy of using probiotics containing *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* spores on performance and health of holstein suckling calves. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 49(6), 865-878. https://doi.org/10.21608/ZJAR.2022.278249

Simon, O., Jadamus, A., & Vahjen, W. (2001). Probiotic feed additives-effectiveness and expected modes of action. *Journal of Animal and Feed Sciences*, *10*, 51-68. https://doi.org/10.22358/jafs/70012/2001

Siqueira, M. T. S., Souza, A. M. D., Schultz, E. B., Oliveira, K. A., Sousa, L. F., & Júnior, G. M. (2022). Nutritional and metabolic parameters of ewe lambs fed yeast in the diet containing fibrolytic enzyme. *Boletim de Indústria Animal*, *79*, 1-14. http://dx.doi.org/10.17523/bia.2022.v79.e1507

Smock, T. M., Samuelson, K. L., Hergenreder, J. E., Rounds, P. W., & Richeson, J. T. (2020). Effects of Bacillus subtilis PB6 and/or chromium propionate supplementation on clinical health, growth performance, and carcass traits of high-risk cattle during the feedlot receiving and finishing periods. *Translational Animal Science*, *4*(3), 163. https://doi.org/10.1093/tas/txaa163

Soren, N. M., Tripathi, M. K., Bhatt, R. S., & Karim, S. A. (2013). Effect of yeast supplementation on the growth performance of Malpura lambs. *Tropical Animal Health and Production*, *45*, 547-554. https://doi.org/10.1007/s11250-012-0257-3

Stefańska, B., Sroka, J., Katzer, F., Goliński, P., & Nowak, W. (2021). The effect of probiotics, phytobiotics and their combination as feed additives in the diet of dairy calves on performance, rumen fermentation and blood metabolites during the preweaning period. *Animal Feed Science and Technology*, *272*, 114738. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114738

Sun, P., Wang, J. Q., & Zhang, H. T. (2010). Effects of Bacillus subtilis natto on performance and immune function of preweaning calves. *Journal of Dairy Science*, *93*(12), 5851-5855. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3263

Tahmasbi, A. M., Abadi, S. H. J., & Naserian, A. A. (2014). The effect of 2 liquid feeds and 2 sources of protein in starter on performance and blood metabolites in Holstein neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, *97*(1), 363-371. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6356

Terré, M., Maynou, G., Bach, A., & Gauthier, M. (2015). Effect of Saccharomyces cerevisiae CNCM I-1077 supplementation on performance and rumen microbiota of dairy calves. *The Professional Animal Scientist*, *31*(2), 153-158. https://doi.org/10.15232/pas.2014-01384

Thorsteinsson, M. M., & Vestergaard, M. (2020). Performance and health of young rosé veal calves supplemented with yeast (Saccharomyces cerevisiae) and a postbiotic from Lactobacillus acidophilus. *Journal of Animal and Feed Sciences*, *29*(2), 115-124. https://doi.org/10.22358/jafs/124040/2020

Titi, H. H., Dmour, R. O., & Abdullah, A. Y. (2008). Growth performance and carcass characteristics of Awassi lambs and Shami goat kids fed yeast culture in their finishing diet. *Animal Feed Science and Technology*, *142*(1-2), 33-43. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.034

Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press.

Varanis, L. F. M., Schultz, E. B., Oliveira, K. A., Sousa, L. F., da Cruz, W. F. G., & Junior, G. D. L. M. (2021). Serum biochemical reference ranges for lambs from birth to 1 year of age in the tropics. *Semina: Ciências Agrárias*, *42*(3Supl1), 1725-1740. http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p1725

Wang, X. P., Luoreng, Z. M., Zan, L. S., Raza, S. H. A., Li, F., Li, N., & Liu, S. (2016). Expression patterns of miR-146a and miR-146b in mastitis infected dairy cattle. *Molecular and Cellular Probes*, *30*(5), 342-344. https://doi.org/10.1016/j.mcp.2016.08.004

Wang, Z., He, Z., Beauchemin, K. A., Tang, S., Zhou, C., Han, X., ... & Tan, Z. (2016). Comparison of two live B acillus species as feed additives for improving in vitro fermentation of cereal straws. *Animal Science Journal*, *87*(1), 27-36. https://doi.org/10.1111/asj.12346

Williams, P. E. V., Tait, C. A. G., Innes, G. M., & Newbold, C. J. (1991). Effects of the inclusion of yeast culture (Saccharomyces cerevisiae plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *Journal of Animal Science*, *69*(7), 3016-3026. https://doi.org/10.2527/1991.6973016x

Wu, Y., Wang, L., Luo, R., Chen, H., Nie, C., Niu, J., ... & Zhang, W. (2021). Effect of a multispecies probiotic mixture on the growth and incidence of diarrhea, immune function, and fecal microbiota of pre-weaning dairy calves. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 681014. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.681014

Xiao, J. X., Alugongo, G. M., Chung, R., Dong, S. Z., Li, S. L., Yoon, I., ... & Cao, Z. J. (2016). Effects of Saccharomyces cerevisiae fermentation products on dairy calves: Ruminal fermentation, gastrointestinal morphology, and microbial community. *Journal of Dairy Science*, *99*(7), 5401-5412. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10563

Yousif, M. H., Li, J. H., Li, Z. Q., Maswayi Alugongo, G., Ji, S. K., Li, Y. X., ... & Cao, Z. J. (2018). Low concentration of antibiotics modulates gut microbiota at different levels in pre-weaning dairy calves. *Microorganisms*, *6*(4), 118. https://doi.org/10.3390/microorganisms6040118