15(3) 27-34, Autumn 2023

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The effect of yeast extract and autolyzed yeast on nutrient digestibility, ruminal fermentation parameters, IL-6 gene expression and antibody titers against foot-and-mouth disease in early lactating dairy cows

Sogol Adili [1], Ali Asghar Sadeghi [1*], Mohamad Chamani [1], Parvin Shawrang [2], Farhad Forodi [3]

[1] *Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[2] *Agriculture Nuclear Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran*
[3] *Department of Animal Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran*

Key Words
Acetate
Autolyzed yeast
Dairy cow
Interleukin-6
Propionate

Abstract

Introduction: This study was done to evaluate the effects of dietary addition of yeast extract and autolysed yeast on feed intake, ruminal fermentation parameters, IL-6 gene expression and antibody titers in early lactating dairy cows.

Materials & Methods: Twenty-five lactating cows were divided into five experimental groups and five replicates in a completely random design. Experimental diets include basal diet (control group), basal diet+20 g/d yeast extract, basal diet+40 g/d yeast extract, basal diet+20 g/d autolyzed yeast, and basal diet+40 g/d autolyzed yeast. At the end of the experiment period, ruminal content samples were taken and fermentation products were measured. In the fifth week of the experiment, the cows were injected with a vaccine of foot-and-mouth disease. On weeks 7, blood sampling was taken and chemical components, antibody titer against foot-and-mouth disease virus and interleukin-6 gene expression were analyzed.

Results: Cows receiving yeast extract and autolyzed yeast at both levels had more dry matter intake than the control group ($P<0.05$). Autolyzed yeast and yeast extract had no effect on the daily milk production ($P>0.05$). Cows receiving autolyzed yeast had higher antibody titer against foot-and mouth-virus than the control group ($P<0.05$), but cows receiving yeast extract had no significant difference in antibody titer with the control group ($P<0.05$). Autolyzed yeast had no effect on concentration of volatile fatty acids ($P>0.05$), but yeast extract increased concentration of volatile fatty acids. Yeast extract decreased the molar percentage of acetate and increased the molar percentage of propionate ($P<0.05$). The highest increase in the relative expression of the interleukin-6 gene was observed in cows receiving autolyzed yeast.

Conclusion: Based on the results of this study, autolyzed yeast at 40 g/d can improve the immune system, and yeast extract at 40 g/d can improve fermentation conditions in the rumen of dairy cows.

* Corresponding Author's email: aasdghi@gmail.com, a.sadeghi@srbiau.ac.ir
Received: 4 August 2022; Reviewed: 7 September 2022; Revised: 9 November 2022; Accepted: 10 December 2022
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.368313.2902

مقاله پژوهشی

اثر عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده بر قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، بیان ژن اینترلوکین-۶ و تیتر آنتی‌بادی بر علیه تب برفکی در گاوهای شیرده طی اوایل دوره شیردهی

سوگل عدیلی[۱]، علی‌اصغر صادقی[۱]، محمد چمنی[۱]، پروین شورنگ[۲]، فرهاد فرودی[۳]*

[۱] گروه علوم دامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۲] مرکز تحقیقات کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران

[۳] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

کلمات کلیدی

استات
مخمر اتولیز شده
عصاره مخمر
گاو شیری
اینترلوکین ۶
پروپیونات

چکیده

هدف: این آزمایش به‌منظور مطالعه اثرات افزودن دوزهای مختلف عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده به جیره گاو شیرده بر مقدار خوراک مصرفی، فرآورده‌های تخمیری شکمبه، فراسنجه‌های خونی-ایمنی، بیان ژن اینترلوکین-٦ و تیتر آنتی بادی بر علیه تب برفکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۵ رأس گاو شیرده در اوایل دوره شیردهی در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۵ گروه آزمایشی و ۵ تکرار تقسیم شدند. جیره‌های آزمایشی شامل ۱) جیره پایه (گروه شاهد)، ۲) جیره پایه +۲۰ گرم در روز عصاره مخمر، ۳) جیره پایه +٤٠ گرم در روز عصاره مخمر، ٤) جیره پایه +۲۰ گرم در روز مخمر اتولیز شده و ٥) جیره پایه +٤٠ گرم در روز مخمر اتولیز شده بود. از محتویات شکمبه گاو در انتهای دوره آزمایش نمونه‌گیری و فرآورده‌های‌تخمیری شکمبه اندازه‌گیری شد. در هفته پنجم آزمایش به‌منظور کنترل بیماری تب برفکی به گاوها واکسن تزریق شد. ۷ هفته بعد از شروع آزمایش نمونه‌گیری خون انجام شد و سنجش فراسنجه‌های خونی، مقدار تیتر آنتی‌بادی بر علیه ویروس تب برفکی و آنالیز بیان ژن اینترلوکین ٦ انجام شد.

نتایج: گاوهای دریافت‌کننده عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده در هر دو سطح نسبت به گروه شاهد مصرف روزانه ماده خشک بیش‌تری داشتند ($P<۰/۰۵$). مخمر اتولیز شده و عصاره مخمر تأثیری بر مقدار تولید شیر روزانه گاوها نداشت ($P>۰/۰۵$). گاوهای دریافت‌کننده مخمر اتولیز شده نسبت به گروه شاهد مقدار تیتر آنتی‌بادی بر علیه ویروس تب برفکی بیش‌تری داشتند ($P<۰/۰۵$)، ولی گاوهای دریافت کننده عصاره‌مخمر در مقدار تیتر آنتی‌بادی با گروه شاهد تفاوت‌معنی‌دار نداشتند ($P>۰/۰۵$). تیمارهای مخمر اتولیز شده بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه تاثیری نداشتند ($P>۰/۰۵$)، ولی عصاره مخمر سبب افزایش تولید کل اسیدهای چرب فرار، کاهش مقدار استات و افزایش تولید پروپیونات در شکمبه شد ($P<۰/۰۵$). بیش‌ترین افزایش بیان نسبی ژن اینترلوکین-٦ مربوط به گاوهای دریافت‌کننده مخمر اتولیز شده بود.

بحث و نتیجه‌گیری: استفاده از ٤٠ گرم در روز مخمر اتولیز شده می‌تواند سبب بهبود سیستم ایمنی و ٤٠ گرم در روز عصاره مخمر می‌تواند سبب بهبود شرایط تخمیر و تولید فراسنجه های تخمیری شکمبه گاوهای شیرده شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: aasdghi@gmail.com, a.sadeghi@srbiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳ مرداد ۱٤۰۱؛ تاریخ داوری: ١٦ شهریور ۱٤۰۱؛ تاریخ اصلاح: ۱۸ آبان ۱٤۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۹ آذر ۱٤۰۱
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.368313.2902

مقدمه

تغذیه گاوهای شیرده پرتولید به‌ویژه در اوایل دوره شیردهی اهمیت زیادی دارد؛ زیرا در این دوره به‌دلیل شروع فرآیند شیردهی، نوع جیره (زیاد بودن نسبت کنسانتره به علوفه) و بار متابولیکی زیاد، بدن گاو در معرض تنش زیادی قرار دارد (۱). در اوایل این دوره مقدار ماده خشک مصرفی گاو محدود است و از طرفی با توجه به پتانسیل ژنتیکی گاوهای اصلاح نژاد شده، نیاز بدن به مواد مغذی برای تولید شیر زیاداست (۲). در این دوره معمولاً نیاز گاو به انرژی و مواد مغذی برآورده نمی‌شود و گاوهای پرتولید با مشکلاتی در سلامتی، تولید و تولیدمثل مواجه می‌شوند (۳). در این شرایط فراسنجه‌های خونی و نظام هورمونی در جهت رفع آثار تنش تغییر می‌کنند، ازجمله غلظت هورمون کورتیزول در خون گاو افزایش می‌یابد و با تجزیه پروتئین‌های بدن و تبدیل به آمینواسیدها، سبب افزایش غلظت گلوکز خون می‌شود (۵، ۴). هورمون کورتیزول از ساخت پروتئین ممانعت می‌کند و به همین دلیل تولید آنتی‌بادی‌ها و سایر ترکیبات پپتیدی دفاعی کاهش می‌یابد. بسیاری از دامداران برای رفع مشکل کاهش مصرف ماده خشک، جیره حاوی کنسانتره زیاد تغذیه می‌کنند. الیاف کم و جیره حاوی نشاسته زیاد سبب وقوع اسیدوز تحت بالینی شکمبه‌ای می‌شود که در نهایت سبب کاهش اشتها و کاهش مصرف خوراک، کاهش تولید شیر، کاهش نرخ باروری و تضعیف پاسخ‌های ایمنی به عوامل بیماری‌زا می‌شود. مجموع این وقایع در نهایت سبب افزایش بیماری عفونی یا ناهنجاری متابولیکی در گاوها می‌شود (۶). برای غلبه بر این مشکل گزینه‌های متعدد تغذیه‌ای و مدیریتی وجود دارد. یکی از گزینه‌های تغذیه‌ای قابل اجرا با کم‌ترین هزینه افزودنی‌های پری بیوتیکی مانند مخمر اتولیز شده و عصاره مخمر است. مخمر اتولیز شده شامل کل ساختار مخمر است که به‌وسیله آنزیم‌های درون سلولی مخمر هیدرولیز شده است و حاوی مواد محرک رشد و مواد محرک سیستم ایمنی است (۷، ۵). در مخمر اتولیز شده آلفا-گلوکان و بتا-گلوکان وجود دارد (۸) و دلیل تحریک سیستم ایمنی، وجود بتا-گلوکان‌ها و نوکلئوتیدها است. بنابر تحقیقات انجام شده بتا-گلوکان موجود در مخمر اتولیز شده سبب تحریک ایمنی بافت پوششی دستگاه گوارش و سیستم ایمنی خونی و کاهش التهابات بافت پوششی پستان شده است (۸). با افزودن مخمر اتولیز شده به جیره تلیسه‌ها و گاوهای شیرده سطح کورتیزول خون کاهش و سطح اینترلوکین‌ها افزایش یافته است (۹، ۱). افزودن مخمر به جیره گاوهای آبستن سبب افزایش غلظت آنتی‌بادی‌های آغوز و در نهایت افزایش غلظت ایمونوگلوبولین خون گوساله‌های تغذیه شده با آغوز آن‌ها شده است (۱۰). از مخمر اتولیز شده عمدتاً به‌عنوان ماده تقویت‌کننده اشتها و تعدیل‌کننده پاسخ‌های ایمنی در حیوانات غیرنشخوارکننده استفاده می‌شود (۱۲، ۱۱). دو ترکیب مهم در مخمر اتولیز شده، مانا-الیگو ساکارید و بتا-گلوکان، می‌توانند بر پاسخ‌های سامانه ایمنی اثر گذاشته و هم‌چنین سبب کاهش التهاب در بافت‌ها شوند (۱۳، ۱۲). از مخمر اتولیز شده در جیره گاوهای شیرده جهت بهبود شرایط تخمیری در شکمبه و به‌عنوان ماده جاذب آفلاتوکسین استفاده می‌شود (۹). عصاره مخمر کلیه محتویات سلولی مخمر را به‌جز دیواره سلولی دارد و از نظر ویتامین و مواد معدنی و ترکیبات لازم برای رشد میکروب‌ها غنی است (۱۴). اثرات عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده بر فرآورده‌های تخمیر شکمبه، تیتر آنتی‌بادی و بیان ژن‌های مرتبط با التهاب در بدن به‌ویژه بیان ژن‌های اینترلوکین‌های (Interleukins) موثر بر کاهش التهاب مانند اینترلوکین-۶ در گاو طی دوره شیردهی تاکنون مطالعه نشده است. بنابر مطالعات انجام شده، استفاده از عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده می‌تواند در کاهش اثرات منفی جیره‌های حاوی کنسانتره زیاد در شکمبه مؤثر باشد (۱۴، ۱۵، ۱۶، ۹)، اما سازوکار اثر و احتمالاً اثربخشی این دو ماده افزودنی با هم متفاوت است. در مطالعات مختلف، نتایج ضد و نقیضی درباره اثربخشی این مواد افزودنی منتشر شده است و از طرفی اطلاعات محدودی در مورد مقایسه اثرات عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده بر قابلیت هضم مواد مغذی، عملکرد و پاسخ‌های ایمنی نشخوارکنندگان، به‌ویژه در گاوهای شیری وجود دارد. فرضیه این تحقیق بر این است که عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده دارای اثرات مشابهی بر فراسنجه‌های شکمبه‌ای، قابلیت هضم، فراسنجه‌های خونی و عملکرد تولیدی گاوهای شیرده دارد. هدف اصلی از انجام این مطالعه ارزیابی مقایسه‌ای بین اثرات عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده بر تخمیر شکمبه، فراسنجه‌های خونی-ایمنی و بیان ژن اینترلوکین-۶ در گاوهای شیرده طی اوایل دوره شیردهی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در یک گاوداری واقع در منطقه ساوجبلاغ کرج به مدت ۵۰ روز انجام شد. مخمر اتولیز شده و عصاره مخمر از شرکت بهان کیمیا آنزیم واقع در تهران تهیه شد. ۲۵ راس گاو شیرده هلشتاین (۴ ساله، وزن بدن ۱۶±۶۳۰ و ۲/۷±۳۶ کیلوگرم تولید شیر و میانگین ۷±۲۱ روز شیردهی) انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۳ گروه آزمایشی و ۵ تکرار تقسیم شدند. گروه‌های آزمایشی شامل گروه اول که گروه شاهد بود و جیره پایه را بدون افزودنی دریافت کردند؛ گروه دوم جیره پایه با ۲۰ گرم مخمر اتولیز شده در روز برای هر گاو دریافت کردند؛ گروه سوم جیره پایه با ۴۰ گرم

مخمر اتولیز شده در روز برای هر گاو دریافت کردند؛ گروه چهارم جیره پایه با ۲۰ گرم عصاره مخمر در روز برای هر گاو دریافت کردند و گروه پنجم جیره پایه با ۴۰ گرم عصاره مخمر در روز برای هر گاو دریافت کردند. جیره پایه با نرم‌افزار CNCPS ارتقاء یافته توسط Van Amburgh و همکاران (۱۷) تنظیم‌شد (جدول ۱). جیره پایه شامل ۴۳ درصد یونجه و ذرت سیلو و ۵۷ درصد مخلوط کنسانتره بود. جیره پایه سه بار در ساعت‌های ۶، ۱۳ و ۲۱ به‌صورت جیره کاملاً مخلوط به گاوها داده شد. در هفته ششم آزمایش، نمونه‌های خوراک، بقایای خوراک و نمونه مدفوع هر گاو به‌مدت دو روز متوالی جمع‌آوری و به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در آون خشک شد (۱۸). نمونه مدفوع دو تا چهار ساعت پس از تغذیه صبح از رکتوم جمع‌آوری شد. روش ارائه شده توسط Van Keulen و Young (۱۹) برای اندازه‌گیری خاکستر نامحلول در اسید استفاده شد. نمونه‌های خوراک و مدفوع براساس روش Ferreira و همکاران (۲۰) جمع‌آوری شد. نیتروژن در خوراک، باقی‌مانده خوراک و مدفوع براساس روش کلدال AOAC تعیین شد (۱۸). محتوای عصاره اتری در خوراک و مدفوع با استخراج در اتر تعیین شد (۱۸). مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی براساس روش van Soest و همکاران و با استفاده از دستگاه فیبرتک خودکار (Fibertec System, Tecator, USA)، بدون سولفیت سدیم، بدون شستشو با استون، و بدون خاکستر باقی‌مانده تعیین شد (۲۱).

جدول ۱: ترکیب مواد خوراکی و مواد شیمیایی جیره پایه

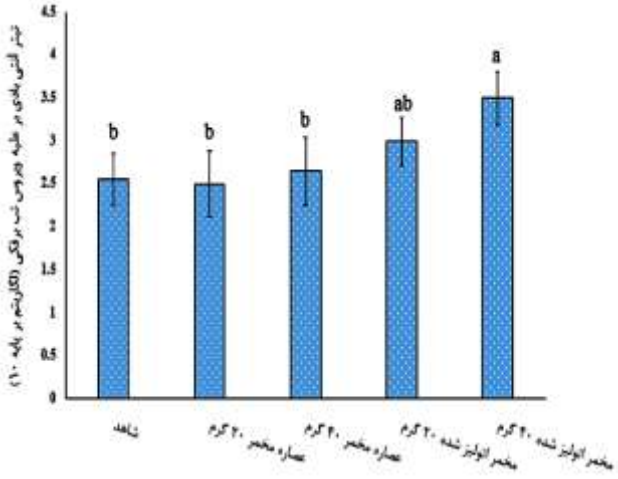
مواد خوراکی	درصد ماده خشک	ترکیبات شیمیایی	مقدار
یونجه خشک	۲۳/۶۵	انرژی خالص شیردهی (مگاکالری در ۹ کیلوگرم	۱/۶۷
ذرت سیلوشده	۱۷/۲۹	پروتئین خام (درصد)	۱۷/۱
سبوس گندم	۵/۵۹	پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه (درصدی از پروتئین خام)	۳۳/۶۶
دانه ذرت آسیاب شده	۶/۵۱	پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (درصدی از پروتئین خام)	۶۶/۳۴
دانه جو آسیاب شده	۲۸/۲۲	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)	۱۹/۵۶
کنجاله سویا ۴۴ درصد	۳/۴۲	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	۳۳/۵۸
کنجاله تخم پنبه	۶/۲۵	کلسیم، درصد	۰/۸۷
پوسته تخم پنبه	۶/۱۶	فسفر، درصد	۰/۴۴
نمک	۰/۴۲	منیزیم، درصد	۰/۳۲
کربنات کلسیم	۱/۰۷	سدیم، درصد	۰/۲۶۶
مخلوط مواد معدنی-ویتامینی	۰/۳۰	پتاسیم، درصد	۱/۱۴
زئولیت	۱/۱۲	تعادل اسید و باز، میلی‌اکی‌والان در ۱۰۰گرم ماده خشک	۱۹

در هفته ششم آزمایش ۴ ساعت پس از تغذیه صبح مایع شکمبه (۱۰۰ میلی‌لیتر) از طریق لوله مری و پمپ خلاء از هر گاو جمع‌آوری و در ظرف یخ قرار داده شد. نمونه‌ها از طریق پارچه پنبه‌ای چهارلایه فیلتر شدند و سپس در $g \times 800$ به‌مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا مایع رویی جدا شود. ۲۰ میلی‌لیتر مایع رویی در لوله‌های پلاستیکی حاوی ۲۵ درصد (w/v) اسید متافسفریک (با نسبت ۵ مایع به ۱ اسید) ریخته‌شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد شد تا اسیدهای چرب فرار (VFA) با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی (فیلیپس،pu4410، آمریکا) اندازه‌گیری شوند. در روز ۴۸ آزمایش (۱۲ روز پس از واکسیناسیون)، چهار ساعت پس از تغذیه نوبت صبح، نمونه خون با استفاده از سرنگ از ورید زیر دم گرفته شد و به سه قسمت تقسیم شد. یک قسمت (۳ میلی‌لیتر) به لوله شیشه‌ای استریل برای اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی بر علیه تب برفکی، یک قسمت (۳ میلی‌لیتر) به لوله استریل حاوی EDTA برای جداسازی پلاسما و یک قسمت به لوله حاوی هپارین منتقل و در ۷۰- درجه سلسیوس برای آنالیز بیان ژن نگه‌داری شد. پس از جداسازی پلاسما، نمونه‌ها تا زمان تجزیه در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند (۲۲). متابولیت‌ها شامل گلوکز، تری‌گلیسیرید، آلبومین، پروتئین تام، نیتروژن اوره خون، بتا هیدروکسی بوتیرات، اسیدهای چرب غیراستری شده، آنزیم‌های کبدی شامل آسپارتات آمینو ترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز با استفاده از کیت شرکت پارس آزما (شرکت پارس آزما، تهران، ایران) و دستگاه طیف‌سنج مدل (Jasco V-570 model, Tokyo, Japan) طبق دستورالعمل سازنده کیت اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های سرمی جمع‌آوری شده از گاوهای واکسینه شده برای تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس تب برفکی کیت Singh ELISA (دهلی، هند) و تکنیک توصیف شده توسط Voller و همکاران، مورد آزمایش قرار گرفتند (۲۳). برای بررسی بیان ژن اینترلوکین ۶ با روش رونوشت‌برداری معکوس (RT-PCR)، کل mRNA از نمونه خون بر

اساس کیت (Qiagen, Hilden, Germany) استخراج شد و مطابق با کیت شرکت BioNeer (سئول، کره جنوبی) cDNA ساخته شد. توالی ژن‌های اینترلوکین-۶ و گلیسرآلدئید ۳-فسفات دهیدروژناز (GADPH) با استفاده از پایگاه داده‌های ژنی NCBI تهیه شدند. ژن GADPH به‌عنوان یک کنترل داخلی یا ژن مرجع و خانه‌دار استفاده شد. پس از تهیه توالی ژن‌ها، پرایمرهای اختصاصی ژن توسط نرم‌افزار primer express طراحی و توسط شرکت BioNeer(سئول، کره جنوبی) سنتز شدند. تجزیه و تحلیل تولید و منحنی ذوب با استفاده از یک سیستم Real-Time PCR(Applied Bio systems, Foster City, CA, USA) انجام شد. شرایط چرخه حرارتی شامل فعال شدن آنزیم در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه، به‌دنبال آن ۴۰ چرخه دناتوره‌شدن در دمای ۹۵ درجه سلسیوس برای ۱۵ ثانیه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود (۲۴). برای تعیین کمیت خروجی Real-Time PCR از روش مقایسه‌ای $\Delta\Delta^{Ct}$ استفاده شد. نرم‌فزار GenEx Enterprise برای تجزیه و تحلیل آماری تغییرات به دست آمده استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از رویه Proc GLM با استفاده از نرم‌افزار SAS تحت ویندوز نسخه ۹/۱ انجام شد (۲۵). برای ارزیابی نرمال بودن داده‌ها قبل از تجزیه واریانس از آزمون Shaapiro-Wilk استفاده شد (۲۶). داده‌های نرمال براساس مدل آماری مورد استفاده بر پایه طرح کاملاً تصادفی جهت تعیین اثر گروه‌های آزمایشی بر فراسنجه‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی انجام شد. تفاوت‌های آماری در $P<0/05$ اعلام شد.

نتایج

قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش برای جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری بین جیره‌های آزمایشی برای قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی وجود داشت ($P<0/05$). قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در گاوهای دریافت‌کننده ۴۰ گرم عصاره مخمر در روز بیش‌تر از سایر گروه‌ها بود. قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی تحت تأثیر مخمر اتولیز شده قرار نگرفت و تفاوت معنی‌داری بین گاوهای دریافت‌کننده مخمر اتولیز شده و گروه شاهد مشاهده نشد. افزودن عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده اثری بر قابلیت هضم پروتئین خام نداشت ($P>0/05$). نتایج مقدار ماده خشک مصرفی و مقدار تولید شیر در جدول ۳ گزارش شده است. مقدار ماده خشک مصرفی و مقدار شیر تولیدی بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$). درصد اسیدهای چرب فرار در شکمبه در جدول ۴ گزارش شده است. افزودن عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده به جیره سبب افزایش مقدار تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه نسبت به گروه شاهد شد. گاوهایی که عصاره مخمر دریافت کردند مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی بیش‌تری نسبت به گاوهای دریافت‌کننده مخمر اتولیز شده داشتند. درصد مولار استات و پروپیونات تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت ($P<0/05$). عصاره مخمر سبب افزایش درصد مولار پروپیونات و کاهش درصد مولار استات نسبت به گروه شاهد شد. افزودن مخمر اتولیز شده اثر معنی‌داری بر درصد مولار استات و پروپیونات نسبت به گروه شاهد نداشت ($P>0/05$). اثرات جیره‌های آزمایشی بر غلظت گلوکز، تری‌گلیسیرید، نیتروژن آمونیاکی پلاسما و بیان نسبی ژن اینترلوکین-۶ در جدول ۵ نشان داده شده است. گاوهای دریافت‌کننده عصاره مخمر غلظت گلوکز خون بالاتری نسبت به گاوهای دریافت‌کننده مخمر اتولیز شده و گروه شاهد داشتند ($P<0/05$). تفاوت معنی‌داری بین غلظت پلاسمایی تری‌گلیسیرید و نیتروژن آمونیاکی گاوها در جیره‌های آزمایشی مختلف مشاهده نشد ($P>0/05$). گاوهای دریافت‌کننده مخمر اتولیز شده بیان نسبی ژن اینترلوکین بالاتری نسبت به گروه شاهد و گروهی که عصاره مخمر دریافت کردند، داشتند. گاوهای دریافت‌کننده عصاره مخمر در بیان نسبی ژن اینترلوکین-۶ با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نشان ندادند. در شکل ۱ اثر جیره‌های آزمایشی بر تیتر آنتی‌بادی بر علیه ویروس تب‌برفکی نشان داده شده است. گاوهای دریافت‌کننده ۴۰ گرم مخمر اتولیز شده در روز بیش‌ترین تیتر آنتی‌بادی را داشتند. تفاوت معنی‌داری بین گاوهای دریافت‌کننده عصاره مخمر و گروه شاهد مشاهده نشد.



شکل ۱: اثر جیره‌های آزمایشی بر تیتر آنتی‌بادی بر علیه ویروس تب‌برفکی

جدول ۲: قابلیت هضم موادمغذی جیره دریافتی (درصد ماده خشک)

تیمارها	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی	پروتئین خام
شاهد	۶۵/۲^{b}	۶۲/۸^{b}	۸۰/۱
۲۰ گرم عصاره مخمر	۶۶/۲^{b}	۶۳/۸^{b}	۸۱/۴
۴۰ گرم عصاره مخمر	۶۸/۱^{a}	۶۶/۴^{a}	۸۲/۳
۲۰ گرم مخمر اتولیز شده	۶۵/۵ ^{b}	۶۳/۰ ^{b}	۷۹/۸
۴۰ گرم مخمر اتولیز شده	۶۵/۳ ^{b}	۶۳/۶ ^{b}	۸۰/۹
اشتباه معیار	۱/۳۵	۱/۶۴	۱/۵۱
سطح احتمال	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۱۰

درج حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول ۳: مصرف ماده خشک روزانه و تولید شیر گاوها (کیلوگرم در روز)

تیمار	ماده خشک مصرفی	تولید شیر
شاهد	۲۳/۳	۳۶/۹
۲۰ گرم عصاره مخمر	۲۴/۶	۳۸/۷
۴۰ گرم عصاره مخمر	۲۴/۸	۳۸/۸
۲۰ گرم مخمر اتولیز شده	۲۴/۵	۳۸/۰
۴۰ گرم مخمر اتولیز شده	۲۴/۱	۳۸/۲
اشتباه معیار	۱/۷۳	۲/۱۶
سطح احتمال	۰/۸۷	۰/۴۳

عدم درج حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵).

جدول ۴: فرآورده‌های تخمیری شکمبه گاوهای دریافت‌کننده عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده در دوزهای مختلف

تیمار	کل اسیدهای چرب فرار تولیدی (میلی مول در لیتر)	نسبت مولی (مول اسید چرب فرار در ۱۰۰ مول کل اسیدهای چرب فرار تولیدی)		
		استات	پروپیونات	بوتیرات
شاهد	۱۸۶^{c}	۵۹/۰^{a}	۲۳/۶^{b}	۱۴/۴
۲۰ گرم عصاره مخمر	۲۱۱^{a}	۵۵/۲^{b}	۲۸/۴^{a}	۱۳/۴
۴۰ گرم عصاره مخمر	۲۱۸^{a}	۵۴/۶^{b}	۲۹/۴^{a}	۱۳/۱
۲۰ گرم مخمر اتولیز شده	۱۹۴^{b}	۵۸/۸^{a}	۲۴/۲^{b}	۱۳/۶
۴۰ گرم مخمر اتولیز شده	۲۰۴^{b}	۵۸/۱^{a}	۲۴/۵^{b}	۱۳/۱
اشتباه معیار	۱۲/۵	۱/۱۵	۱/۴۵	۰/۸۱
سطح احتمال	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۱۱۸

درج حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول ۵: اثر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های شیمیایی پلاسما و بیان نسبی ژن اینترلوکین-۶

تیمار	گلوکز میلی‌گرم در دسی‌لیتر	تری گلیسرید میلی‌گرم در دسی‌لیتر	نیتروژن آمونیاکی خون میلی‌گرم در دسی‌لیتر	بیان نسبی ژن اینترلوکین-۶
شاهد	۶۰/۵۴^{b}	۲۸/۸۲	۱۶/۱۲	۱/۰۰۰^{c}
۲۰ گرم عصاره مخمر	۶۴/۱۲^{a}	۲۸/۳۰	۱۶/۷۴	۱/۰۲۹^{c}
۴۰ گرم عصاره مخمر	۶۶/۶۸^{a}	۲۹/۶۳	۱۶/۳۳	۱/۰۶۷^{c}
۲۰ گرم مخمر اتولیز شده	۵۹/۱۷^{b}	۳۰/۰۲	۱۵/۹۳	۱/۸۴۸^{b}
۴۰ گرم مخمر اتولیز شده	۵۸/۰۸^{b}	۲۹/۷۰	۱۵/۱۹	۳/۱۶۸^{a}
اشتباه معیار	۸/۳۶۲	۵/۹۵۲	۲/۶۵۴	۰/۳۲
سطح احتمال	۰/۰۵	۰/۵۶	۰/۸۷	۰/۰۳

درج حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بحث

مطالعه حاضر به‌منظور تعیین اثر عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، قابلیت هضم مواد مغذی و تیتر آنتی‌بادی بر علیه ویروس تب برفکی نجام شد. فرض بر این بود که این دو ماده افزودنی هر دو سبب بهبود شرایط تخمیری و هضمی در دستگاه گوارش گاوهای شیرده می‌شوند و بر سیستم ایمنی اثر تحریکی دارند و تیتر آنتی‌بادی را پس از تزریق واکسن افزایش می‌دهند. قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در کل دستگاه گوارش تحت تأثیر عصاره مخمر قرار گرفت ولی مخمر اتولیز شده بر آن بی‌تاثیر بود. افزایش قابلیت هضم مشاهده شده با افزودن عصاره مخمر به جیره گاوها با یافته Dias و همکاران (۱۵) هم‌خوانی دارد. نتایج مطالعه حاضر در مورد بی‌تاثیر بودن مخمر اتولیز شده بر قابلیت هضم با نتایج دو مطالعه (۲۸، ۲۷) مغایرت دارد. این محققان گزارش کردند مخمر اتولیز شده سبب افزایش قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی می‌شود. در یک مطالعه، استفاده از مخمر اتولیز شده آنزیمی سبب بهبود هضم الیاف، مقدار خوراک‌مصرفی و افزایش‌وزن‌روزانه در گوساله‌های پرواری شد (۲۸). دلیل مشاهده نتایج ضد و نقیض بین مطالعات مختلف به متفاوت بودن مقدار و نوع عصاره مخمر یا مخمر اتولیز شده مربوط می‌باشد. در مطالعه حاضر، مقدار ماده خشک مصرفی تحت تأثیر افزودن عصاره مخمر یا مخمر اتولیز شده به جیره قرار نگرفت، که با گزارش برخی از محققان (۲۹) مغایرت دارد و با نتایج برخی از محققان (۳۱، ۳۰) که تغییری در مقدار ماده خشک مصرفی با افزودن عصاره مخمر یا مخمر اتولیز شده به جیره مشاهده نکردند، موافق است. افزودن ۴۰ گرم عصاره مخمر در روز سبب بهبود هضم‌پذیری الیاف و ماده خشک شد و انتظار بر این بود که اثر مثبتی بر مقدار ماده خشک‌مصرفی داشته باشد ولی اثر عصاره‌مخمر بر ماده‌خشک مصرفی معنی‌دار نبود هر چند افزایش عددی نسبت به گروه شاهد داشت. در مطالعه حاضر بین گروه‌های آزمایشی از نظر تولید روزانه شیر تفاوت مشاهده نشد. برخلاف یافته‌های مطالعه حاضر، در بعضی مطالعات افزایش معنی‌داری در مقدار تولید شیر پس از افزودن عصاره مخمر یا مخمر اتولیز شده به جیره گاوهای شیرده گزارش شده است (۳۲، ۲۸، ۱۴، ۱۵، ۹). یافته مطالعه حاضر با نتایج گزارش شده توسط Bagheri و همکاران (۳۰) و Sallam و همکاران (۳۱) هم‌خوانی دارد. این محققان گزارش کردند که استفاده از عصاره مخمر در جیره گاوهای شیرده اثر معنی‌داری بر تولید شیر ندارد. افزودن‌عصاره‌مخمر و مخمر اتولیز شده سبب افزایش تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه شد. اثر افزودن عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده به جیره بر غلظت اسیدهای چرب فرار در شکمبه بین مطالعات مختلف متفاوت است (۳۳، ۱۶). نتایج این مطالعه با یافته‌های Putnam و همکاران (۱۶) مغایرت داشت. این محققان تفاوتی در غلظت استات، پروپیونات، بوتیرات، نسبت استات: پروپیونات یا غلظت کل اسیدهای چرب‌فرار در شکمبه گاوهای شیرده دریافت‌کننده مخمر عصاره مخمر مشاهده نکردند. در توافق با نتایج مطالعه حاضر، Marden و همکاران (۳۳) گزارش کردند با افزودن عصاره مخمر به جیره نسبت استات به پروپیونات کاهش می‌یابد و علت آن‌را رشد باکتری‌های تبدیل‌کننده اسیدلاکتیک به اسیدپروپیونیک عنوان کرده‌اند. عصاره‌مخمر با تثبیت pH شکمبه می‌تواند هضم الیاف در شکمبه را با افزایش جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک بهبود بخشد (۳۴). هم‌چنین نشان‌داده شده است که عصاره مخمر با تامین مالات مورد نیاز باکتری‌های تولید کننده پروپیونات از تجمع لاکتات در شکمبه جلوگیری می‌کند و لاکتات را به پروپیونات تبدیل و از کاهش pH شکمبه جلوگیری و هضم بخش الیافی را افزایش می‌هد (۱۵، ۱۴). گزارش شده است عصاره مخمر می‌تواند سبب تغییر فرآیند تخمیر در شکمبه شود و از افت pH شکمبه جلوگیری و سبب بهبود بازده مورد استفاده قرار گرفتن مواد مغذی شود (۲۸، ۱۵). مصرف روزانه عصاره مخمر سبب بهبود بازده خوراک، افزایش مصرف ماده خشک و تولید شیر در گاوها شده است (۱۵). عصاره مخمر از طریق اثر تحریکی بر رشد و تکثیر باکتری‌های شکمبه با تأمین آمینواسیدها، ویتامین‌های B و اسیدهای آلی مانند اسیدمالیک بر عملکرد حیوان اثر مثبت دارد (۱۴) و سبب افزایش ابقا مواد معدنی و قابلیت هضم (۳۵) می‌شود. از غلظت ترکیبات بیوشیمیایی پلاسما برای ارزیابی وقوع ناهنجاری‌های متابولیکی یا وضعیت سلامت گله‌های شیری استفاده می‌شود (۳۶). Putnam و همکاران (۱۶) و Bagheri و همکاران (۳۰) دریافتند که نیتروژن اوره سرم و گلوکز پلاسما تحت تأثیر افزودن مخمر به جیره گاوهای شیرده قرار نگرفت که این گزارشات با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد. با افزایش عصاره‌مخمر در جیره‌بره‌های پرواری غلظت گلوکز و نیتروژن‌اوره‌ای سرم خون افزایش یافته است. افزودن عصاره مخمر سبب افزایش ساخت اسیدپروپیونیک در شکمبه و در نتیجه افزایش غلظت گلوکز سرم خون می‌شود (۱۵). دلیل افزایش غلظت نیتروژن اوره‌ای سرم خون بر اثر افزودن عصاره مخمر به جیره، افزایش تولید آمونیاک در شکمبه است. افزایش نیتروژن اوره‌ای خون اثر منفی بر باروری، میزان آبستنی و عملکرد سیستم ایمنی دارد (۳۷، ۳۰). مخمر اتولیز شده در مطالعه حاضر اثری بر فراسنجه‌های خونی مورد مطالعه نداشت. بنابر مطالعات انجام شده (۳۸)، استفاده از مخمر اتولیز شده در گاوهای شیرده بر وضعیت نیتروژن شکمبه و بهبود هضم الیاف علوفه جیره تأثیرگذار است و موجب کاهش آمونیاک

در شکمبه می‌شود و در نهایت سبب کاهش اوره خون می‌شود. بیان ژن اینترلوکین-۶ در مطالعه حاضر تحت تاثیر مخمر اتولیز شده افزایش یافت و عصاره مخمر بر آن بی‌تاثیر بود. Ganner و همکاران (۳۹) عنوان کردند که بتاگلوکان حاصل از اتولیز ساکارومایسیز سرویزیه سبب آزاد شدن عامل نکروزه‌کننده بافت و اینترلوکین ۲ و ۶ از ماکروفاژها می‌شود. بیش‌ترین افزایش بیان نسبی ژن اینترلوکین-۶ مربوط به تیمار ۴۰ گرم مخمر اتولیز شده بود. بتاگلوکان موجود در ساختار مخمر و فرآورده آن به‌عنوان تغییر دهنده پاسخ بیولوژیکی شناخته شده است و گزارش شده که سبب فعال شدن ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها می‌شود (۷). با افزودن ساکارومایسیز سرویزیه به جیره تلیسه‌ها مشخص شده است که اینترلوکین-۶ افزایش و کورتیزول کاهش می‌یابد (۵). در مطالعه دیگری مشخص شد که افزودن ساکارو مایسیز سرویزیه غلظت عامل نکروزه‌کننده بافت در چند بافت بدن خوک را افزایش می‌دهد (۴۰). بنابراین مخمر و فرآورده‌های آن به دلیل داشتن بتاگلوکان توانایی تغییر تولید انواع اینترلوکین‌ها را داشته و سبب تحریک سیستم ایمنی در حیوانات اهلی می‌شود. نتایج مطالعه حاضر موافق با یافته‌های محققان بود که عنوان کردند افزودن مخمر اتولیز شده سبب افزایش تولید آنتی‌بادی بر علیه ویروس یا عوامل آنتی‌ژنیک می‌شود. Nasiri و همکاران (۳۸) گزارش کردند بتاگلوکان موجود در ساختار دیواره سلولی مخمر اتولیز شده در بدن حیوانات سبب تحریک آزاد شدن اینترلوکین‌ها به‌ویژه عامل نکروزه‌کننده تومور-آلفا و تحریک سیستم ایمنی می‌شود. هم‌چنین گزارش شده که فرآورده‌های مخمر علاوه بر تحریک سیستم ایمنی سبب بهبود عملکرد و تغییر متابولیسم از طریق تغییر جمعیت میکروارگانیسم‌های شکمبه و دستگاه گوارش می‌شود و از این طریق نیز بر تقویت سیستم ایمنی اثر دارد و انرژی لازم برای تکثیر و فعالیت سلول‌های سفید خون تأمین می‌شود و سبب تقویت سیستم ایمنی می‌شود (۳۸، ۱۵، ۱۴). افزودن فرآورده‌های مخمر به جیره حیوانات سبب تغییر فعالیت سیستم ایمنی شده است. در مطالعه Molist و همکاران (۳۲) افزودن فرآورده‌های دیواره سلولی مخمر سبب افزایش غلظت آنتی‌بادی IgG و IgM بر علیه سلول قرمز خون گوسفند در بدن خوک شده است. در مطالعه‌ای تیتر ایمونوگلوبولین بر علیه روتاویروس (Rotavirus) در زمان زایمان در گاوی که عصاره مخمر در جیره دریافت کرد افزایش یافت و در گوساله غلظت پروتئین سرم از تولد تا ۲۴ ساعت بعد افزایش یافت (۱۰). نتایج مشابهی با بتاگلوکان موجود در دیواره سلولی مخمر گرفته شده است و این ترکیب نیز سبب افزایش فعالیت سیستم ایمنی شده است (۴۱). علاوه بر این بتاگلوکان ویژگی ضد التهابی دارد (۴۲). افزودن فرآورده‌های مخمر توانایی متصل شدن به باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش را دارند و از طرفی می‌توانند سبب تحریک سیستم ایمنی شوند در مطالعه‌ای بتاگلوکان سبب افزایش فعالیت فاگوسیتوزی بعد از ۲ تا ۴ هفته تجویز شد (۴۳). بتاگلوکان موجود در دیواره سلولی مخمر و فراورده‌های مخمر می‌تواند با گیرنده‌های تشخیص عوامل بیماریزا (پاتوژن) که بر روی سطح سلول‌های سیستم ایمنی غیراکتسابی در دستگاه گوارش وجود دارند متصل و سبب تحریک فعالیت این سلول‌ها شود (۴۳، ۳۸). نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده به جیره بر عملکرد گاوهای شیرده در اوایل دوره شیردهی تاثیری ندارد، ولیکن استفاده از ۴۰ گرم در روز مخمر اتولیز شده می‌تواند سبب بهبود سیستم ایمنی و شرایط تخمیر و تولید فراسنجه‌های تخمیری شکمبه گاوهای شیرده شود. پیشنهاد می‌شود اثرات این مواد افزودنی بر عملکرد گاوهای شیرده در دوره میانی شیردهی مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

1. **Burdick-Sanchez, N.C., Randel, R.D., Carroll, J.A. and Welsh, T.H., 2011.** Interactions between temperament, stress, and immune function in cattle. Int J Zool. 20(1): 19-25.
2. **Arslan, C. and Tufan, T., 2009.** Feeding the transition dairy cow I. Physiologic, hormonal, metabolic and immunogical changes and nutrient requirement of dairy cow during this period. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 16(1): 151-158.
3. **Redfern, E.A., Sinclair, L.A. and Robinson, P.A., 2021.** Dairy cow health and management in the transition period: The need to understand the human dimension. Res Vet Sci. 137: 94-101.
4. **Burdick-Sanchez, N.C., Young, T.R., Carroll, J.A., Corley, J.R., Rathmann, R.J. and Johnson, B.J., 2013.** Yeast cell wall supplementation alters aspects of the physiological and acute phase responses of crossbred heifers to an endotoxin challenge. Innate Immun. 19: 411-419.
5. **Burdick-Sanchez, N.C., Young, T.R., Carroll, J.A., Corley, J.R., Rathmann, R.J. and Johnson, B.J., 2014.** Yeast cell wall supplementation alters the metabolic responses of crossbred heifers to an endotoxin challenge. Innate Immun. 20: 104-112.
6. **Wankhade, P.R., Manimaran, A., Kumaresan, A., Jeyakumar, S., Ramesha, K.P., Sejian, V., Rajendran, D. and Varghese, M.R., 2017.** Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. Vet World. 10: 1367-1377.
7. **Williams, D.L., Mueller, A. and Browder, W., 1996.** Glucan-based macrophage stimulators. Clin Immunother. 5: 392-399.
8. **Xiao, Z., Trincado, C.A. and Murtaugh, M.P., 2014.** β-glucan enhancement of t cell IFNγ response in swine. Vet. Immunol. Immunopathol. 102: 315-320.
9. **Nasiri, K., Sadeghi, A.A., Nikkhah, A. and Chamani, M., 2018.** Effects of live and hydrolyzed yeast supplementation during transition period on blood IgG content and INF-γ gene expression in dairy cows. J Livestock Sci. 9: 65-69.
10. **Franklin, S.T., Newman, M.C., Newman, K.E. and Meek, K.I., 2015.** Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. J Dairy Sci. 88: 766-775.
11. **Yalçın, S.S., Aydın Şahin, H.M., Duyum, A.Ç. and Gümüş, H., 2015.** Effects of dietary inactive yeast and live yeast on performance, egg quality traits, some blood parameters and antibody production to SRBC of laying hens. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 21: 345-350.

12. **Adili, S., Sadeghi, A.A., Chamani, M., Shawrang, P. and Forodi, F., 2020.** Hydrolysed yeast and yeast extract effects on dry matter intake, blood cells count, IgG titer and gene expression of IL-2 in lactating dairy cows under heat stress. Acta Sci Anim Sci. 42: e48425.

13. **Aung, M., Ohtsuka, H. and Izumi, K., 2019.** Effect of yeast cell wall supplementation on production performances and blood biochemical indices of dairy cows in different lactation periods. Vet World. 12(6): 796-801.

14. **Callaway, E.S. and Martin, S.A., 1997.** Effects of a Saccharomyces cerevisiae culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. J Dairy Sci. 80: 2895-2903.

15. **Dias, A.L.G., Freitas, J.A., Micai, B., Azevedo, R.A., Greco, L.F. and Santos, J.E.P., 2018.** Effect of supplemental yeast culture and dietary starch content on rumen fermentation and digestion in dairy cows. J Dairy Sci. 101: 201-221.

16. **Putnam, D.E., Schwab, C.G., Socha, M.T., Whitehouse, N.L., Kierstead, N.A. and Garthwaite, B.D., 1997.** Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. J Dairy Sci. 80: 374-384.

17. **Van Amburgh, M., Chase, L., Overton, T., Ross, D., Recktenwald, E., Higgs, R. and Tylutki, T., 2010.** Updates to the Cornell Net Carbohydrate and Protein System v6. 1 and implications for ration formulation. Proc. Cornell Nutr. Conf., Dept. Anim. Sci., Cornell Univ., Ithaca, NY.

18. **Association of Official Analytical Chemisty (AOAC). 1995.** Official methods of analysis.' 16t^{h} edn. AOAC International: Arlington, VA, USA.

19. **Van Keulen, J. and Young, B.A., 1977.** Evaluation of Acid-Insoluble Ash as a Natural Marker in Ruminant Digestibility Studies. J Anim Sci. 44: 282-287.

20. **Ferreira, G., Richardson, E.S., Teets, C.L. and Akay, V., 2019.** Production performance and nutrient digestibility of lactating dairy cows fed low-forage diets with and without the addition of a live-yeast supplement. J Dairy Sci, 102: 6174-6179.

21. **van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A., 1991.** Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci. 74: 3583-3597.

22. **Fenner, H., 1965.** Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. J Dairy Sci. 48: 249-251.

23. **Voller, A., Bidwell, D. and Bartlett, A., 1976.** Microplate enzyme immunoassay for the immunodignosis of virus infection. Manual of clinical immunology. Am Soc Microbiol. 17: 506-512.

24. **Gonzalez, D.D., Rimondi, A., Perez Aguirreburualde, M.S., Mozgovoj, M., Bellido, D., Wigdorovitz, A. and Dus Santos, M.J., 2013.** Quantitation of cytokine gene expression by real time PCR in bovine milk and colostrum cells from cows immunized with a bovine rotavirus VP6 experimental vaccine. Res Vet Sci. 95(2): 703-708.

25. **SAS. 1999.** Statistical Analysis System user's guide (6th edition). SAS Institute Inc., Raleigh, North Carolina, USA.

26. **Steel, R.G.D. and Torrie, J.H., 1980.** Principles and procedures of statistics. A biometrical approach, 2nd Edition, McGraw-Hill Book Company, New York.

27. **Kröger, I., Humer, E., Neubauer, V., Reisinger, N. and Zebeli, Q., 2017.** Modulation of chewing behavior and reticular pH in nonlactating cows challenged with concentrate-rich diets supplemented with phytogenic compounds and autolyzed yeast. J Dairy Sci. 100: 9702-9714.

28. **Salinas-Chavira, J., Montano, M.F., Torrentera, N. and Zinn, R.A., 2018.** Influence of feeding enzymatically hydrolysed yeast cell wall + yeast culture on growth performance of calf-fed Holstein steers. J Appl Anim Res. 46: 327-330.

29. **Piva, G., Belladanna, S., Fusconi, G. and Sicbaldi, F., 1993.** Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components and milk manufacturing properties. J Dairy Sci. 76: 2717-2722.

30. **Bagheri, M., Ghorbani, G.R., Rahmani, H.R., Khorvash, M., Nili, N. and Südekum, K.H., 2009.** Effect of live yeast and mannan-oligosaccharides on performance of early-lactation Holstein dairy cows. Asian-Aust J Anim Sci. 22: 812-818.

31. **Sallam, S.M.A., Abdelmalek, M.L.R., Kholif, A.E., Zahran, S.M., Ahmed, M.H., Zeweil, H.S., Attia, M.F.A., Matloup, O.H. and Olafadehan, O.A., 2020.** The effect of Saccharomyces cerevisiae live cells and Aspergillus oryzae fermentation extract on the lactational performance of dairy cows. Anim Biotechnol. 31: 491-497.

32. **Molist, F., van Eerden, E., Parmentier, H.K. and Vuorenmaa, J., 2014.** Effects of inclusion ofhydrolyzed yeast on the immune response and performance of piglets after weaning. Anim Feed Sci Technol. 195: 136-141.

33. **Marden, J.P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R. and Bayourthe, C., 2008.** How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? J Dairy Sci. 91: 3528-3535.

34. **Chaucheyras-Durand, F., Ameilbonne, A., Bichat, A., Mosoni, P., Ossa, F. and Forano, E., 2016.** Live yeasts enhance fibre degradation in the cow rumen through an increase in plant substrate colonization by fibrolytic bacteria and fungi. J Appl Microbiol. 120: 560-570.

35. **Wohlt, J.E., Corcione, T.T. and Zajac, P.K., 1998.** Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. J Dairy Sci.; 81: 1345-52.

36. **Ametaj, B.N., Emmanuel, D.G.V., Zebeli, Q. and Dunn, S.M., 2009.** Feeding high proportions of barley grain in a total mixed ration perturbs diurnal patterns of plasma metabolites in lactating dairy cows. J Dairy Sci. 92: 1084-1091.

37. **Thrune, M., Bach, A., Ruiz-Moreno, M., Stern, M. and Linn, J., 2009.** Effects of saccharomyces cerevisiae culture on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows: Yeast supplementation on rumen fermentation. Livest Sci. 124: 261-265.

38. **Nasiri, K., Sadeghi, A.A., Nikkhah, A. and Chamani, M., 2022.** Effects of live and autolyzed yeast supplementation during transition period on ruminal fermentation, blood attributes, and immune response in dairy cows under heat stress condition. Anim Biotechnol. 27: 1-9.

39. **Ganner, A. and Schatzmayr, G., 2012.** Capability of yeast derivatives to adhere enteropathogenic bacteria and to modulate cells of the innate immune system. Appl Microbiol Biotechnol. 95 (2): 289-297.

40. **Eicher, S., McKee, C., Carroll, J. and Pajor, E., 2006.** Supplemental vitamin C and yeast cell wall ß-glucan as growth enhancers in newborn pigs and as immunomodulators after an endotoxin challenge after weaning. J Anim Sci. 84: 2352-2360.

41. **Marques, A., Dhont, J., Sorgeloos, P. and Bossier, P., 2006.** Immunostimulatory nature of ß- glucans and baker's yeast in gnotobiotic Artemia challenge tests. Fish Shellfish Immunol. 20 (5): 682-692.

42. **Jensen, G.S., Patterson, K.M. and Yoon, I., 2008.** Yeast culture has anti-inflammatory effects and specifically activates NK cells. Compar. Immun Micro Infect Dis. 31: 487-500.