



## 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 <sup>1</sup>, Ali Asghar Sadeghi <sup>1\*</sup>, Mohamad Chamani <sup>1</sup>, Parvin Shawrang <sup>2</sup>, Farhad Forodi <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran

<sup>3</sup> 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 autolyzed 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](mailto:aasdghi@gmail.com), [a.sadeghi@srbiau.ac.ir](mailto: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](https://doi.org/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 تیتراکتی‌بادی بر علیه تب برفکی در گاوهای شیرده طی اوایل دوره شیردهی

سوگل عدیلی<sup>۱</sup>، علی‌اصغر صادقی<sup>۱\*</sup>، محمد چمنی<sup>۱</sup>، پروین شورنگ<sup>۲</sup>، فرهاد فرودی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم دامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران

<sup>۳</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

## چکیده

## کلمات کلیدی

**هدف:** این آزمایش به منظور 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-۶ و تیتراکتی‌بادی 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 + ۴۰ گرم در روز عصاره مخمر، (۴) جیره پایه + ۲۰ گرم در روز مخمر اتولیز شده و (۵) جیره پایه + ۴۰ گرم در روز مخمر اتولیز شده بود. از محتویات شکمبه گاو در انتهای دوره آزمایش نمونه‌گیری و فرآورده‌های تخمیری شکمبه اندازه‌گیری شد. در هفته پنجم آزمایش به منظور کنترل بیماری تب برفکی به گاوها واکسن تزریق شد. ۷ هفته بعد از شروع آزمایش نمونه‌گیری خون انجام شد و سنجش فراسنجه‌های خونی، مقدار تیتراکتی‌بادی بر علیه ویروس تب برفکی و آنالیز بیان ژن اینترلوکین ۶ 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 ( $P < 0/05$ ). مخمر اتولیز شده و عصاره مخمر تأثیری بر مقدار تولید شیر روزانه گاوها نداشت ( $P > 0/05$ ). گاوهای دریافت‌کننده مخمر اتولیز شده نسبت به گروه شاهد مقدار تیتراکتی‌بادی بر علیه ویروس تب برفکی بیش‌تری داشتند ( $P < 0/05$ )، ولی گاوهای دریافت‌کننده عصاره مخمر در مقدار تیتراکتی‌بادی با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشتند ( $P > 0/05$ ). تیمارهای مخمر اتولیز شده بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه تأثیری نداشتند ( $P > 0/05$ )، ولی عصاره مخمر سبب افزایش تولید کل اسیدهای چرب فرار، کاهش مقدار استات و افزایش تولید پروپیونات در شکمبه شد ( $P < 0/05$ ). بیش‌ترین افزایش بیان نسبی ژن اینترلوکین-۶ مربوط به گاوهای دریافت‌کننده مخمر اتولیز شده بود.

**بحث و نتیجه‌گیری:** استفاده از ۴۰ گرم در روز مخمر اتولیز شده می‌تواند سبب بهبود سیستم ایمنی و ۴۰ گرم در روز عصاره مخمر می‌تواند سبب بهبود شرایط تخمیر و تولید فراسنجه‌های تخمیری شکمبه گاوهای شیرده شود.

## مقدمه

تعدیل کننده پاسخ های ایمنی در حیوانات غیرنشخوارکننده استفاده می شود (۱۲، ۱۱). دو ترکیب مهم در مخمر اتولیز شده، مانا-لیگو ساکارید و بتا-گلوکان، می توانند بر پاسخ های سامانه ایمنی اثر گذاشته و همچنین سبب کاهش التهاب در بافت ها شوند (۱۳، ۱۲). از مخمر اتولیز شده در جیره گاوهای شیرده جهت بهبود شرایط تخمیری در شکمبه و به عنوان ماده جاذب آفلاتوکسین استفاده می شود (۹). عصاره مخمر کلیه محتویات سلولی مخمر را به جز دیواره سلولی دارد و از نظر ویتامین و مواد معدنی و ترکیبات لازم برای رشد میکروب ها غنی است (۱۴). اثرات عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده بر فرآورده های تخمیر شکمبه، تیترا آنتی بادی و بیان ژن های مرتبط با التهاب در بدن به ویژه بیان ژن های اینترلوکین های (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 می تواند در کاهش اثرات منفی جیره های 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 پاسخ های ایمنی نشخوارکنندگان، به ویژه در گاوهای شیری وجود دارد. فرضیه این تحقیق بر این است که عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده دارای اثرات مشابهی بر فراسنجه های شکمبه ای، قابلیت هضم، فراسنجه های خونی و عملکرد تولیدی گاوهای شیرده دارد. هدف اصلی از انجام این مطالعه ارزیابی مقایسه ای بین اثرات عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده بر تخمیر شکمبه، فراسنجه های خونی-ایمنی و بیان ژن اینترلوکین-۶ در گاوهای شیرده طی اوایل دوره شیردهی بود.

## مواد و روش ها

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 هلستاین (۴ ساله، وزن بدن  $630 \pm 16$  و  $36 \pm 27$  کیلوگرم تولید شیر و میانگین  $21 \pm 7$  روز شیردهی) انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۳ گروه آزمایشی و ۵ تکرار تقسیم شدند. گروه های 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

تغذیه گاوهای شیرده پرتولید به ویژه در اوایل دوره شیردهی اهمیت زیادی دارد؛ زیرا در این دوره به دلیل 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 زیاد است (۲). در این دوره معمولاً نیاز گاو به انرژی و مواد مغذی برآورده نمی شود و گاوهای پرتولید با مشکلاتی در سلامتی، تولید و تولیدمثل مواجه می شوند (۳). در این شرایط فراسنجه های خونی و نظام هورمونی در جهت رفع آثار تنش تغییر می کنند، از جمله غلظت هورمون کورتیزول در خون گاو افزایش می یابد و با تجزیه پروتئین های بدن و تبدیل به آمینواسیدها، سبب افزایش غلظت گلوکز خون می شود (۴، ۵). هورمون کورتیزول از ساخت پروتئین ممانعت می کند و به همین دلیل تولید آنتی بادی ها و سایر ترکیبات پیتیدی دفاعی کاهش می یابد. بسیاری از دامداران برای رفع مشکل کاهش مصرف ماده خشک، جیره حاوی کنسانتره زیاد تغذیه می کنند. الیاف کم و جیره حاوی نشاسته زیاد سبب وقوع اسیدوز تحت بالینی شکمبه ای می شود که در نهایت سبب کاهش اشتها و کاهش مصرف خوراک، کاهش تولید شیر، کاهش نرخ باروری و تضعیف پاسخ های ایمنی به عوامل بیماری زا می شود. مجموع این وقایع در نهایت سبب افزایش بیماری عفونی یا ناهنجاری متابولیکی در گاوها می شود (۶). برای غلبه بر این مشکل گزینه های متعدد تغذیه ای و مدیریتی وجود دارد. یکی از گزینه های تغذیه ای قابل اجرا با کمترین هزینه افزودنی های پری بیوتیکی مانند مخمر اتولیز شده و عصاره مخمر است. مخمر اتولیز شده شامل کل ساختار مخمر است که به وسیله آنزیم های 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-گلوکان ها 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 تلیسه ها و گاوهای شیرده سطح کورتیزول خون کاهش و سطح اینترلوکین ها افزایش یافته است (۹، ۱). افزودن مخمر به جیره گاوهای آبستن سبب افزایش غلظت آنتی بادی های آغوز و در نهایت افزایش غلظت ایمونوگلوبولین خون گوساله های تغذیه شده با آغوز آنها شده است (۱۰). از مخمر اتولیز شده عمدتاً به عنوان ماده تقویت کننده اشتها و

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) تنظیم شد (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 به صورت جیره کاملاً مخلوط به گاوها داده شد. در هفته ششم آزمایش، نمونه‌های خوراک، بقایای خوراک و نمونه مدفوع هر گاو به مدت دو روز متوالی جمع‌آوری و به مدت 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).

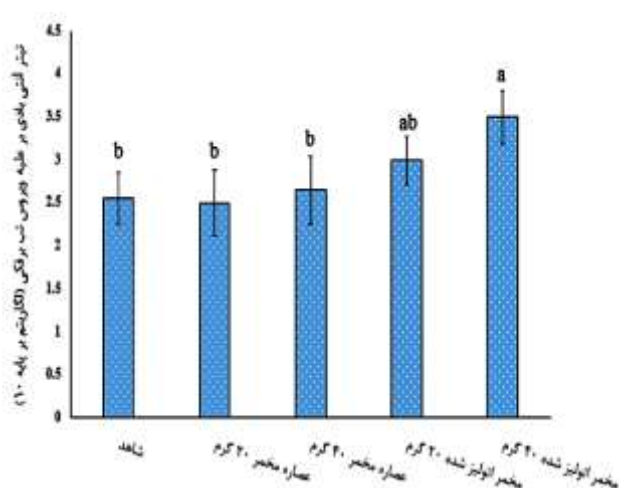
جدول ۱: ترکیب مواد خوراکی و مواد شیمیایی جیره پایه

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

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  $g \times 800$  به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا مایع رویی جدا شود. ۲۰ میلی‌لیتر مایع رویی در لوله‌های پلاستیکی حاوی ۲۵ درصد (w/v) اسید متافسفیک (با نسبت ۵ مایع به ۱ اسید) ریخته شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد شد تا اسیدهای چرب فرار (VFA) با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی (فیلپس، 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 تیترا 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 آسپارات 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 گاوه‌های واکسینه شده برای تیترا 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

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 تأثیر 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 تیترا آنتی‌بادی بر علیه ویروس تب‌برفکی نشان داده شده است. گاوهای دریافت‌کننده ۴۰ گرم مخمر اتولیز شده در روز بیش‌ترین تیترا آنتی‌بادی را داشتند. تفاوت معنی‌داری بین گاوهای دریافت‌کننده عصاره مخمر و گروه شاهد مشاهده نشد.



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

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 به عنوان یک کنترل داخلی یا ژن مرجع و خانه دار 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 به مدت ۱۵ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ چرخه دناتوره شدن 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  $\Delta\Delta C_t$  استفاده شد. نرم‌افزار 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 ( $P > 0.05$ ).

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

| تیمارها                | ماده خشک          | الیاف نامحلول در شوینده خنثی | پروتئین خام |
|------------------------|-------------------|------------------------------|-------------|
| شاهد                   | ۶۵/۳ <sup>b</sup> | ۶۲/۸ <sup>b</sup>            | ۸۰/۱        |
| ۲۰ گرم عصاره مخمر      | ۶۶/۳ <sup>b</sup> | ۶۳/۸ <sup>b</sup>            | ۸۱/۴        |
| ۴۰ گرم عصاره مخمر      | ۶۸/۱ <sup>a</sup> | ۶۶/۴ <sup>a</sup>            | ۸۲/۳        |
| ۲۰ گرم مخمر اتولیز شده | ۶۵/۵ <sup>b</sup> | ۶۳/۰ <sup>b</sup>            | ۷۹/۸        |
| ۴۰ گرم مخمر اتولیز شده | ۶۵/۳ <sup>b</sup> | ۶۳/۶ <sup>b</sup>            | 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 ( $P < 0.05$ ).

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 ( $P > 0.05$ ).

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

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

درج حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

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

| تیمار                  | گلوکز<br>میلی گرم در دسی لیتر | تری گلیسرید<br>میلی گرم در دسی لیتر | نیترژن آمونیاکی خون<br>میلی گرم در دسی لیتر | بیان نسبی ژن<br>اینترلوکین-۶ |
|------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------|
| شاهد                   | ۶۰/۵۴ <sup>b</sup>            | ۲۸/۸۲                               | ۱۶/۱۲                                       | ۱/۰۰۰ <sup>c</sup>           |
| ۲۰ گرم عصاره مخمر      | ۶۴/۱۳ <sup>a</sup>            | ۲۸/۳۰                               | ۱۶/۷۴                                       | ۱/۰۲۹ <sup>c</sup>           |
| ۴۰ گرم عصاره مخمر      | ۶۶/۶۸ <sup>a</sup>            | ۲۹/۶۳                               | ۱۶/۳۳                                       | ۱/۰۶۷ <sup>c</sup>           |
| ۲۰ گرم مخمر اتولیز شده | ۵۹/۱۷ <sup>b</sup>            | ۳۰/۰۲                               | ۱۵/۹۳                                       | ۱/۸۴۸ <sup>b</sup>           |
| ۴۰ گرم مخمر اتولیز شده | ۵۸/۰۸ <sup>b</sup>            | ۲۹/۷۰                               | ۱۵/۱۹                                       | ۳/۱۶۸ <sup>a</sup>           |
| 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 ( $P < 0.05$ ).

## بحث

مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر عصاره مخمر و مخمر اتولیز شده بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه، قابلیت هضم مواد مغذی و تیترا آنتی‌بادی بر علیه ویروس تب برفکی انجام 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 تیترا 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 بی‌تأثیر 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 بی‌تأثیر بودن مخمر اتولیز شده بر قابلیت هضم با نتایج دو مطالعه (۲۷، ۲۸) 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 خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه در گوساله‌های پروری 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 (۳۰، ۳۱) 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 خشک مصرفی داشته باشد ولی اثر عصاره مخمر بر ماده خشک 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. افزودن عصاره مخمر 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 چرب فرار در شکمبه گاوهای شیرده دریافت‌کننده مخمر عصاره مخمر مشاهده نکردند. در توافقی با نتایج مطالعه حاضر، Marden و همکاران (۳۳) گزارش کردند با افزودن عصاره مخمر به جیره نسبت استات به پروپیونات کاهش می‌یابد و علت آن را رشد باکتری‌های تبدیل‌کننده اسیدلاکتیک به اسیدپروپیونیک عنوان کرده‌اند. عصاره مخمر با تثبیت pH شکمبه می‌تواند هضم الیاف در شکمبه را با افزایش جمعیت باکتری‌های سلولولیتیک بهبود بخشد (۳۴). هم‌چنین نشان داده شده است که عصاره مخمر با تأمین ملات مورد نیاز باکتری‌های تولیدکننده 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 می‌دهد (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 عصاره مخمر در جیره‌های پروری غلظت گلوکز و نیتروژن اوره‌ای 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

سبب تحریک سیستم ایمنی شوند در مطالعه ای بتاگلوکان سبب افزایش فعالیت فاگوسیتوزی بعد از ۲ تا ۴ هفته تجویز شد (۴۳). بتاگلوکان موجود در دیواره سلولی مخمر و فراورده های مخمر می تواند با گیرنده های تشخیص عوامل بیماریزا (پاتوژن) که بر روی سطح سلول های سیستم ایمنی غیراكتسابی در دستگاه گوارش وجود دارند متصل و سبب تحریک فعالیت این سلول ها 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 می تواند سبب بهبود سیستم ایمنی و شرایط تخمیر و تولید فراسنجه های تخمیری شکمبه گاوهای شیرده شود. پیشنهاد می شود 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 immunological 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.  $\beta$ -glucan enhancement of t cell IFN $\gamma$  response in swine. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102: 315-320.
9. Nasiri, K., Sadeghi, A.A., Nikkiah, A. and Chamani, M., 2018. Effects of live and hydrolyzed yeast supplementation during transition period on blood IgG content and INF- $\gamma$  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.

در شکمبه می شود و در نهایت سبب کاهش اوره خون می شود. بیان ژن اینترلوکین-۶ در مطالعه حاضر تحت تاثیر مخمر اتولیز شده افزایش یافت و عصاره مخمر بر آن بی تاثیر بود. Ganner و همکاران (۳۹) عنوان کردند که بتاگلوکان حاصل از اتولیز ساکارومایسیز سرویزیه سبب آزاد شدن عامل نکروزه کننده بافت و اینترلوکین ۲ و ۶ از ماکروفاژها می شود. بیشترین افزایش بیان نسبی ژن اینترلوکین-۶ مربوط به تیمار ۴۰ گرم مخمر اتولیز شده بود. بتاگلوکان موجود در ساختار مخمر و فرآورده آن به عنوان تغییر دهنده پاسخ بیولوژیکی شناخته شده است و گزارش شده که سبب فعال شدن ماکروفاژها و نوتروفیل ها می شود (۷). با افزودن ساکارومایسیز سرویزیه به جیره تلیسه ها مشخص شده است که اینترلوکین-۶ افزایش و کورتیزول کاهش می یابد (۵). در مطالعه دیگری مشخص شد که افزودن ساکارومایسیز سرویزیه غلظت عامل نکروزه کننده بافت در چند بافت بدن خوک را افزایش می دهد (۴۰). بنابراین مخمر و فرآورده های آن به دلیل داشتن بتاگلوکان توانایی تغییر تولید انواع اینترلوکین ها را داشته و سبب تحریک سیستم ایمنی در حیوانات اهلی می شود. نتایج مطالعه حاضر موافق با یافته های محققان بود که عنوان کردند افزودن مخمر اتولیز شده سبب افزایش تولید آنتی بادی بر علیه ویروس یا عوامل آنتی ژنیک می شود. Nasiri و همکاران (۳۸) گزارش کردند بتاگلوکان موجود در ساختار دیواره سلولی مخمر اتولیز شده در بدن حیوانات سبب تحریک آزاد شدن اینترلوکین ها به ویژه عامل نکروزه کننده تومور-آلفا و تحریک سیستم ایمنی می شود. هم چنین گزارش شده که فرآورده های مخمر علاوه بر تحریک سیستم ایمنی سبب بهبود عملکرد و تغییر متابولیسم از طریق تغییر جمعیت میکروارگانیسم های شکمبه و دستگاه گوارش می شود و از این طریق نیز بر تقویت سیستم ایمنی اثر دارد و انرژی لازم برای تکثیر و فعالیت سلول های سفید خون تأمین می شود و سبب تقویت سیستم ایمنی می شود (۳۸، ۱۵، ۱۴). افزودن فرآورده های مخمر به جیره حیوانات سبب تغییر فعالیت سیستم ایمنی شده است. در مطالعه Molist و همکاران (۳۲) افزودن فرآورده های دیواره سلولی مخمر سبب افزایش غلظت آنتی بادی IgG و IgM بر علیه سلول قرمز خون گوسفند در بدن خوک شده است. در مطالعه ای تیترا 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 فرآورده های مخمر توانایی متصل شدن به باکتری های بیماریزا در دستگاه گوارش را دارند و از طرفی می توانند

- 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., Zewell, 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 of hydrolyzed 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.* 31: 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. **Throne, 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., Nikkhal, 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  $\beta$ -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  $\beta$ -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.
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 Chemistry (AOAC). 1995.** Official methods of analysis. 16<sup>th</sup> 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 immunodiagnosis 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 Dos 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 phytochemical 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., Belladonna, S., Fusconi, G. and Sicbaldi, F., 1993.** Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal