Vol 28, No. 2, Summer 2026

University of Tehran Press

Journal of Animal Production

Online ISSN: 2382-994X

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

The effects of probiotic and biochar supplementation on performance, nutrient digestibility and blood parameters in Holstein suckling calves

Mahdi Nasrabadi[1] | **Khalil Zaboli**[2] ✉

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. E-mail: m.nasrabadi@agr.basu.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. E-mail: zaboli@basu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 5 November 2025
Received in revised form 28 April 2026
Accepted 6 May 2026
Published online 30 June 2026

Keywords:
Biochar
Digestibility
Performance
Probiotic
Suckling calf

ABSTRACT

Objective: The suckling calf is particularly susceptible to digestive and respiratory disease because of its immature immune system and increased mortality, making it one of the major challenges of the livestock industry. The nutritional strategy to enhance the performance of suckling calves by supplementing their diet with feed additives, such as probiotic and biochar, was evaluated in this study.

Method: Twenty-eight female newborn Holstein calves (41.2 ± 3.8 kg) were used in a 2×2 factorial arrangement within a completely randomized design over a 70-day experimental period. Experimental treatments were as follows:1- basal diet without additive (control), 2- basal diet with 2 g/day of probiotic, 3- basal diet with 1% biochar and 4- basal diet with 2 g/day of probiotic plus 1% biochar. The basal diet was formulated with a 10:90 forage-to-concentrate ratio to meet nutrient requirements. Water and starter feed were provided ad libitum throughout the experiment. Feed intake was recorded daily, body weight and skeletal growth changes were assessed every two weeks. Blood samples were collected on days 0 (birth time), 35 and 70, and fecal samples were collected to evaluate diet digestibility in the last week of the experiment from all calves. All calves were observed for three days at the end of the experiment to record their feeding behaviors (standing, lying, eating, and ruminating) and non-feeding behaviors (licking, sucking, and chewing on environmental objects).

Results: Results indicated that calves that were supplemented with dietary biochar had significantly higher starter feed intake and weaning body weight compared with the non-biochar groups ($P<0.05$). Wither height, hip height and abdominal circumference of the calves also increased with biochar supplementation ($P<0.05$). Concurrent supplementation with probiotic and biochar (treatment 4) further enhanced wither height and hip height ($P<0.05$). probiotic and biochar supplementation improved apparent digestibility of organic matter and crude protein ($P<0.05$), respectively, whereas the digestibility of other nutrients was unaffected by experimental treatments. Biochar supplementation also increased blood glucose concentration ($P<0.05$). Dietary treatments did not significantly affec any of the feeding behaviors. Interaction effects of probiotic and biochar were not significant on any of the parameters measured in this study.

Conclusions: Overall, dietary supplementation with biochar, either alone or in combination with probiotic, showed significant positiv effects on performance, skeletal growth indices, and digestibility of nutrients in suckling calves, suggesting that biochar may be used as a functional feed additive to support early-life health and productivity.

Cite this article: Nasrabadi, M., & Zaboli, Kh. (2026). The effects of probiotic and biochar supplementation on performance, nutrient digestibility and blood parameters in Holstein suckling calves. *Journal of Animal Production*, 28 (2), 181-196. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2026.405678.623878

© The Author(s).
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2026.405678.623878

دوره بیست و هشتم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۵

انتشارات دانشگاه تهران

تولیدات دامی

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۲-۹۹۴x

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

اثر پروبیوتیک و بیوچار بر عملکرد، گوارش‌پذیری مواد مغذی و فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

مهدی نصرآبادی[۱] | خلیل زابلی[۲]✉

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران. رایانامه: m.nasrabadi@agr.basu.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران. رایانامه: zaboli@basu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۱۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۱۶

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۴/۰۹

کلیدواژه‌ها:
بیوچار
پروبیوتیک
عملکرد
گوارش‌پذیری
گوساله شیرخوار

چکیده

هدف: سلامت و رشد مناسب گوساله‌های شیرخوار یکی از چالش‌های مهم صنعت دامپروری می‌باشد. زیرا گوساله‌ها به‌دلیل نقص سیستم ایمنی مستعد ابتلا به بیماری‌های گوارشی و تنفسی هستند که منجر به افزایش مرگ‌ومیر در آن‌ها می‌شود. یکی از راه‌کارهای تغذیه‌ای برای بهبود این وضعیت استفاده از افزودنی‌های خوراکی است. امروزه استفاده از پروبیوتیک و بیوچار در جیره به‌عنوان یک راه‌کار موردتوجه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف ارزیابی پتانسیل استفاده از بیوچار همراه با پروبیوتیک بر عملکرد، گوارش‌پذیری، فراسنجه‌های خونی و رفتارهای تغذیه‌ای گوساله‌های شیرخوار هلشتاین انجام گرفت.

روش پژوهش: در این پژوهش از ۲۸ راس گوساله ماده نژاد هلشتاین تازه متولدشده با میانگین وزنی ۴۱/۲±۳/۸ کیلوگرم به‌مدت ۷۰ روز به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودنی)، ۲- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز، ۳- جیره حاوی یک درصد بیوچار و ۴- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز به‌همراه یک درصد بیوچار بود. جیره پایه با نسبت علوفه به کنسانتره ۱۰ به ۹۰ درصد تنظیم و متعادل شد. گوساله‌ها در طول دوره آزمایش دسترسی آزاد به آب و خوراک آغازین داشتند. مصرف خوراک به‌صورت روزانه و تغییرات وزن بدن و رشد اسکلتی هر دو هفته یک‌بار اندازه‌گیری شد. نمونه خون در روزهای صفر (زمان تولد)، ۳۵ و ۷۰ و نمونه مدفوع در هفته پایانی آزمایش از تمامی گوساله‌ها گرفته شد. رفتارهای تغذیه‌ای گوساله‌ها مانند ایستادن، خوابیدن، خوردن، نشخوارکردن و رفتارهای غیرتغذیه‌ای مانند لیسیدن، مکیدن و جویدن اشیای محیطی در هفته پایانی آزمایش به‌مدت سه روز متوالی بررسی و ثبت شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در گروه‌های دریافت‌کننده بیوچار مقدار مصرف خوراک آغازین و وزن از شیرگیری گوساله‌ها بالاتر از سایر گروه‌ها بود (P<۰/۰۵). مصرف بیوچار سبب افزایش ارتفاع جدوگاه، ارتفاع هیپ و دور شکم گوساله‌ها شد (P<۰/۰۵). هم‌چنین مصرف هم‌زمان پروبیوتیک و بیوچار (تیمار چهار) سبب افزایش ارتفاع جدوگاه و ارتفاع هیپ شد (P<۰/۰۵). مصرف هم‌زمان پروبیوتیک و بیوچار به‌ترتیب سبب افزایش درصد گوارش‌پذیری ماده آلی و پروتئین خام شد (P<۰/۰۵). اما گوارش‌پذیری سایر مواد مغذی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. غلظت گلوکز خون نیز تحت تأثیر مصرف بیوچار افزایش یافت (P<۰/۰۵). هیچ‌کدام از رفتارهای تغذیه‌ای تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. اثر متقابل پروبیوتیک و بیوچار بر هیچ‌یک از فراسنجه‌های اندازه‌گیری‌شده در این پژوهش معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: مکمل‌سازی با بیوچار، به‌تنهایی یا در ترکیب با پروبیوتیک‌ها، تأثیر مثبتی بر عملکرد رشد، رشد اسکلتی، و گوارش‌پذیری مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار داشت و توانایی بالقوه آن را به‌عنوان یک افزودنی خوراکی کاربردی برای حمایت سلامت و بهره‌وری در اوایل زندگی برجسته کرد.

استناد: نصرآبادی، مهدی و زابلی، خلیل (۱۴۰۵). اثر پروبیوتیک و بیوچار بر عملکرد، گوارش‌پذیری مواد مغذی و فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۸ (۲)، ۱۸۱-۱۹۶. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2026.405678.623878

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

۱. مقدمه

پرورش موفقیت‌آمیز گوساله‌های شیرخوار مستلزم تلفیق مدیریت بهداشت و تغذیه صحیح است. دوره شیرخوارگی حساس‌ترین مرحله زندگی گوساله محسوب می‌شود، زیرا گوساله در این دوره تحت بیش‌ترین تغییرات متابولیکی است و احتمال بروز اختلالات گوارشی مانند اسهال و تلفات بیش‌تر است. بنابراین، مدیریت بهداشت و تغذیه مناسب در جهت حفظ سلامت و بهبود رشد و توسعه شکمبه از اهداف مهم محسوب می‌شود تا تلیسه‌های جایگزین مناسبی برای گاوهای حذفی گله فراهم شود (Diao *et al*., 2019). یکی از راه‌کارهای تغذیه‌ای برای دست‌یابی به این اهداف، استفاده از افزودنی‌های خوراکی است. با ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد به‌دلیل ایجاد مقاومت میکروبی و باقی‌ماندن اثر آن‌ها در محصولات دامی (Commission of the European Communities, 2003)، جست‌وجو برای یافتن جایگزین‌های مؤثری مانند پروبیوتیک‌ها و بیوچار اهمیت ویژه‌ای یافته است.

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده و غیر بیماری‌زا هستند که به‌عنوان جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد مطرح شده‌اند که با ایجاد تعادل در میکروب‌های همزیست دستگاه گوارش، به بهبود سلامت، عملکرد تولیدی و رشد دام کمک می‌کنند. پروبیوتیک‌ها عمدتا شامل گونه‌های باکتریایی از جمله بیفیدوباکتریوم، لاکتوباسیلوس و برخی مخمرها (مانند ساکارومایسس سرویسیه) هستند که با تحریک رشد باکتری‌های مفید و مهار عوامل بیماری‌زا، تعادل میکروبی در روده را بازسازی می‌نمایند (Hill *et al*., 2014). لاکتوباسیل‌ها با اتصال به دیواره روده به‌عنوان سد روده‌ای در برابر عوامل بیماری‌زا عمل می‌کنند. هم‌چنین، با فعال‌سازی سامانه آنزیمی تیوسیانات لاکتوپراکسیداز در روده از رشد و استقرار اشرشیاکلای جلوگیری کرده و میزان ابتلا به اسهال کاهش می‌یابد (Xu *et al*., 2017). در پژوهش‌های بسیاری نیز استفاده از پروبیوتیک از جمله لاکتوباسیل‌ها موجب بهبود مصرف خوراک، نرخ رشد و شاخص‌های سلامت گوساله‌های شیرخوار شد (Li *et al*., 2023; Branco-Lopes *et al*., 2025).

ترکیبات کربنی مانند بیوچار از دیگر افزودنی‌های خوراکی هستند که در سال‌های اخیر توجه زیادی به آن‌ها معطوف شده است. بیوچار یک ماده کربنی با ساختار متخلخل و ناحیه سطحی وسیع (دو تا ۴۰ مترمربع به‌ازای هر گرم) است (Day *et al*., 2005) که از طریق گرماکافت (Pyrolysis) بقایای محصولات زراعی–دامی مانند کاه، کود دامی، شاخه‌های هرس شده درختان و دیگر ضایعات آلی در دمای ۳۵۰ تا ۹۰۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی یا با اکسیژن محدود تولید می‌شود (Tamayao *et al*., 2022). ساختار متخلخل بیوچار با فراهم‌کردن نواحی سطحی وسیع، محیطی ایده‌آل برای اتصال و تکثیر میکروب‌های شکمبه با ایجاد ارتباط نزدیک‌تر، موجب بهبود انتقال مواد بین جمیت‌های میکروبی می‌شود. این امر، بهبود بازده تخمیر، گوارش‌پذیری، تولید پروتئین میکروبی، ابقای نیتروژن و بازده تبدیل خوراک را در پی دارد. علاوه بر این، جذب سموم موجود در خوراک و کاهش انتشار گاز متان از شکمبه با مصرف بیوچار مشاهده شده است (Cabeza *et al*., 2018). پژوهش‌های بسیاری اثرات مثبت مصرف بیوچار در گاو شیری (Qomariyah *et al*., 2023)، گاو گوشتی (Saroeun *et al*., 2018)، گوسفند (McAvoy *et al*., 2020) و بز (Silivong & Preston, 2015) را گزارش کرده‌اند.

با وجود این‌که پژوهش‌های متعددی آثار مثبت مصرف جداگانه پروبیوتیک و بیوچار را در دام‌های بالغ تأیید کرده‌اند، اما اطلاعات چندانی در خصوص کاربرد این افزودنی‌ها، به‌ویژه بیوچار، در جیره گوساله‌های شیرخوار در دسترس نیست. از سوی دیگر، با توجه به ساختار متخلخل بیوچار که می‌تواند به‌عنوان بستری مناسب برای استقرار و فعالیت پروبیوتیک‌ها عمل کند، هنوز ابهاماتی در مورد ماهیت اثرات هم‌افزایی ترکیب این دو افزودنی بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار باقی مانده است. بر این اساس فرض شد که مصرف بیوچار، به‌ویژه در ترکیب با پروبیوتیک،

می‌تواند عملکرد رشد، گوارش و سلامت گوساله‌های شیرخوار را بهبود دهد. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر پروبیوتیک و بیوچار بر عملکرد رشد، گوارش‌پذیری مواد مغذی و فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار انجام شد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲. ۱. حیوانات و جیره‌های آزمایشی

این پژوهش در سال ۱۴۰۲ در شرکت کشاورزی و دامپروری لبن، واقع در منطقه حسن‌آباد فشافویه استان تهران به‌مدت ۷۰ روز انجام گرفت. پروبیوتیک مصرفی از شرکت دانش‌بنیان زیست‌درمان ماهان خریداری شد. پروبیوتیک مخلوطی از سویه‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس کازئی، ساکارومایسس سرویسیه، بیفیدوباکتریوم بیفیدیوم، انتروکوکوس فاسیوم، پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی و باسیلوس سوبتیلیس، با ۲×۱۰^{۹} CFU/g بود. بیوچار مورد استفاده در این پژوهش نیز از معدن بیوچار واقع در شهرستان کوهبنان استان کرمان تهیه شد (جدول ۱).

تعداد ۲۸ رأس گوساله ماده نژاد هلشتاین تازه متولدشده با میانگین وزنی ۳/۸±۴۱/۲ کیلوگرم به یکی از چهار جیره آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودنی)، ۲- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز، ۳- جیره حاوی یک درصد بیوچار و ۴- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز و یک درصد بیوچار اختصاص یافتند. جیره پایه براساس توصیه‌های تغذیه‌ای گوساله‌های شیرخوار (NASEM, 2021) با نسبت علوفه به کنسانتره ۱۰ به ۹۰ درصد تنظیم شد (جدول ۲). در جیره حاوی بیوچار، یک درصد دانه ذرت جایگزین بیوچار شد. گوساله‌ها پس از تولد از مادر جدا شده و پس از وزن‌کشی در جایگاه‌های انفرادی که از قبل شست‌وشو و ضدعفونی شده بودند نگهداری شدند. سپس در یک ساعت ابتدایی پس از تولد دو کیلوگرم به‌ازای هر رأس و سپس دو بار در روز به‌مدت دو روز متوالی به گوساله‌ها آغوز پاستوریزه خورانده شد. پس از آن، تا ۱۴ روزگی به میزان چهار لیتر در روز، ۱۵ تا ۵۶ روزگی به میزان شش لیتر در روز و از ۵۷ تا ۷۰ روزگی به میزان سه لیتر در روز با شیر پاستوریزه تغذیه شدند.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی بیوچار معدنی کوهبنان

ترکیبات	مقدار
ماده آلی (درصد)	۱۹/۴
کربن آلی (درصد)	۱۱/۲
نیتروژن کل (درصد)	۰/۳۴
اسید آمینه (درصد)	۲/۳۷
فولیک‌اسید (درصد)	۰/۶۲
هیومیک‌اسید (درصد)	۱/۶
آرژنین (پی‌پی‌ام)	۱۳/۹۸
آسپارتیک‌اسید (پی‌پی‌ام)	۹۴۹۰
گلوتامیک‌اسید (پی‌پی‌ام)	۱۴۵۵
هیستیدین (پی‌پی‌ام)	۱۲۶
لوسین (پی‌پی‌ام)	۱۲۵۶۷
سرین (پی‌پی‌ام)	۷۰/۹
فسفر کل (درصد)	۰/۰۶

جدول ۲. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی (درصد) جیره پایه

مواد خوراکی	درصد ماده خشک
یونجه خشک	۱۰/۰
دانه ذرت	۴۳/۳
دانه جو	۶/۰
کنجاله سویا	۲۹/۰
فولفت سویا	۵/۰
سبوس گندم	۳/۰
نمک	۰/۵
بیکربنات سدیم	۰/۸
اکسید منیزیم	۰/۳
کربنات کلسیم	۰/۸
توکسین بایندر	۰/۳
مکمل ویتامینه–معدنی	۱/۰
ترکیب شیمیایی	
ماده خشک	۸۹/۴
پروتئین خام	۲۰/۱
فیبر نامحلول در شوینده خنثی	۱۸/۸
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی	۹/۳۰
خاکستر	۷/۳
کلسیم	۰/۶۱
فسفر	۰/۴۶
عصاره اتری	۴/۵۸
انرژی قابل سوخت‌وساز (مگاکالری/کیلوگرم ماده خشک)	۳/۲۱

۲. ۲. مصرف خوراک، تغییرات وزن بدنی و شاخص‌های رشد اسکلتی

خوراک تازه هر گوساله روزانه، توزین و پس از تغذیه شیر وعده صبح، به‌صورت کاملاً مخلوط در آخورها توزیع و پس‌آخور روز قبل جمع‌آوری و توزین می‌شد. به‌منظور بررسی تغییرات وزن بدنی، وزن گوساله‌ها در بدو تولد و به فواصل زمانی ۱۴ روز، پیش از تغذیه شیر در وعده صبح، اندازه‌گیری و ثبت گردید و افزایش وزن روزانه در کل دوره محاسبه شد. هم‌زمان با وزن‌کشی، شاخص‌های رشد اسکلتی مانند ارتفاع جدوگاه، ارتفاع هیپ، عرض هیپ، دور سینه، دور شکم و طول بدن با استفاده از کولیس و متر پارچه‌ای اندازه‌گیری و ثبت گردید (Khan *et al*., 2007).

۲. ۳. گوارش‌پذیری مواد مغذی جیره

در طول دوره آزمایش، هر هفته یک‌بار از خوراک ارائه شده به گوساله‌ها نمونه‌گیری شده و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس مخلوطی از آن به آزمایشگاه ارسال شد. در هفته پایانی آزمایش، به‌مدت پنج روز متوالی (سه ساعت پس از تغذیه شیر وعده صبح) از رکتوم گوساله‌ها نمونه مدفوع جمع‌آوری شد و در انتهای آزمایش، نمونه‌های مدفوع هر گوساله با یکدیگر مخلوط و به آزمایشگاه منتقل گردید. در پایان، درصد گوارش‌پذیری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید (AIA) با روش ارائه‌شده توسط van Keulen & Young (۱۹۷۷) طبق رابطه (۱) برآورد شدند:

$$\text{درصد هضم} = \frac{\text{درصد ماده معذی مدفوع}}{\text{درصد ماده مغذی خوراک}} \times \frac{\text{درصد نشانگر خوراک}}{\text{درصد نشانگر مدفوع}} \times ۱۰۰ - ۱۰۰ \qquad \text{رابطه ۱)}$$

نمونه‌های خوراک تغذیه‌شده و مدفوع گوساله‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت در آون خشک و سپس با استفاده از الک یک میلی‌متری آسیاب (Wiley mill, Swedesboro, USA) شدند. ترکیبات شیمیایی نمونه‌ها (شامل پروتئین خام، خاکستر خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی) با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی تعیین شد (AOAC, 2012).

۲. ۴. فراسنجه‌های خونی

خون‌گیری از همه گوساله‌ها در روزهای صفر (زمان تولد)، ۳۵ و ۷۰ روزگی، پیش از تغذیه شیر وعده صبح از طریق سیاهرگ گردن با استفاده از لوله‌های خلأ انجام شد. سرم خون با سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه جدا شد، در میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری ریخته و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. در آزمایشگاه، غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و نیتروژن اوره‌ای با کیت‌های تجاری و طبق روش ارائه‌شده توسط شرکت سازنده با استفاده از روش نورسنجی (Microplate reader, Epoch) اندازه‌گیری شد.

۲. ۵. تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به دست آمده با رویه MIXED به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی در نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این مدل آماری، اثر گوساله به‌عنوان اثر تصادفی و وزن بدن، فراسنجه‌های خونی و شاخص‌های رشد اسکلتی گوساله‌ها در ابتدای آزمایش به‌عنوان کوواریت (متغیر کمکی) در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن با سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد. پردازش داده‌های این آزمایش طبق مدل آماری زیر (رابطه ۱) انجام شد:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + C_k + \beta\,(BW - \bar{x}) + e_{ijkl}$$ رابطه ۱)

در معادله فوق، Y_{ijk}، مقدار مشاهده؛ μ، میانگین کل؛ A_i، اثر سطح پروبیوتیک (صفر و دو گرم)؛ B_j، اثر سطح بیوچار (صفر و یک درصد)؛ AB_{ij}، اثر متقابل بین سطح پروبیوتیک و بیوچار؛ C_k، اثر تصادفی گوساله؛ $\beta\,(BW - \bar{x})$، اثر کوواریت؛ e_{ijkl}، اثر خطای آزمایشی می‌باشد.

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

۳. ۱. مصرف خوراک و عملکرد رشد

نتایج مربوط به اثر استفاده از پروبیوتیک و بیوچار بر مصرف خوراک و عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار در جدول (۳) نشان داده شده است. افزودن مکمل پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک و عملکرد گوساله‌ها نداشت. درحالی‌که گوساله‌های دریافت‌کننده بیوچار بیش‌ترین مصرف خوراک آغازین و وزن از شیرگیری را داشتند ($P<۰/۰۵$). کل ماده خشک مصرفی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. با این‌حال، گروه پروبیوتیک-بیوچار به‌صورت عددی کل ماده خشک مصرفی بیش‌تری داشتند. اما بازده خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. اثر متقابل پروبیوتیک و بیوچار بر هیچ‌یک از فراسنجه‌های فوق معنی‌دار نبود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن بیوچار به جیره با بهبود شرایط تخمیر و هضم مواد مغذی در شکمبه، مصرف خوراک جامد را تحریک کرده و در نتیجه به رشد بهتر گوساله‌ها منجر شده است (Mirheidari *et al*., 2020). زیرا رابطه مثبتی بین گوارش‌پذیری و مصرف خوراک وجود دارد (McDonald *et al*., 2022). ساختار بسیار متخلخل و ناحیه سطحی بالا در بیوچار با فراهم‌آوردن بستری مناسب برای تکثیر میکروارگانیسم‌های مفید، دسترسی به مواد مغذی خوراک را افزایش می‌دهد. این امر نه‌تنها تراکم میکروبی، به‌ویژه باکتری‌های سلولولایتیک را افزایش می‌دهد، بلکه تنوع و پایداری جمعیت میکروبی شکمبه را نیز بهبود می‌بخشد (Qomariyah *et al*., 2023).

علاوه بر این، به‌نظر می‌رسد بیوچار به‌دلیل ظرفیت بالای جذب سموم و کاهش انتشار متان، محیط شکمبه را برای رشد میکروب‌های مفید پایدار کرده و موجب بهبود گوارش‌پذیری، تولید اسیدهای چرب فرّار و پروتئین میکروبی و در نهایت رشد

بهتر دام‌ها شود (Saroeun *et al*., 2018). نتایج پژوهش حاضر با نتایج Silivong & Preston (۲۰۱۵) همسو است که گزارش کردند افزودن یک درصد بیوچار حاصل از پوسته برنج در جیره بزغاله‌های در حال رشد منجر به افزایش ۹٫۱۶ درصدی ماده خشک مصرفی و ۱۹٫۷ درصدی نرخ رشد شد. نویسندگان این بهبود را به توانایی بیوچار در تعدیل فرایندهای تخمیر و کاهش اتلاف انرژی به شکل متان نسبت دادند. در مقابل، بیوچار حاصل از چوب درخت کاج نیز تأثیری بر عملکرد گاوهای گوشتی نداشت (Sperber *et al*., 2022). دلیل عدم تطابق نتایج در پژوهش‌های صورت‌گرفته را می‌توان در منبع و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بیوچار جستجو کرد که می‌تواند بر ظرفیت تبادل کاتیونی و توانایی جذب آن اثرگذار باشد.

جدول ۳. اثر افزودن پروبیوتیک و بیوچار به خوراک آغازین بر مصرف خوراک و عملکرد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

	خوراک آغازین (گرم/روز)	ماده خشک شیر (گرم/روز)	کل ماده خشک مصرفی (گرم/روز)	وزن اولیه (کیلوگرم)	وزن از شیرگیری (کیلوگرم)	میانگین افزایش وزن روزانه (گرم/روز)	بازده خوراک[۲]
تیمارهای آزمایشی[۱]							
شاهد	۶۳۹	۶۲۲	۱۲۶۱	۴۱/۰	۸۳/۶	۶۰۸	۰/۴۸۲
پروبیوتیک	۶۶۰	۶۳۰	۱۲۸۹	۴۰/۴	۸۹/۳	۶۹۸	۰/۵۴۲
بیوچار	۶۸۴	۶۱۹	۱۳۰۳	۴۱/۴	۹۲/۲	۷۲۶	۰/۵۵۷
پروبیوتیک– بیوچار	۷۲۰	۶۳۱	۱۳۵۱	۴۲/۰	۹۴/۱	۷۴۴	۰/۵۵۱
خطای معیار میانگین‌ها	۲۵/۳	۱۱/۸	۳۰/۸	۰/۸۲	۲/۷۴	۴۱/۶	۰/۰۳۵
اثر پروبیوتیک							
صفر	۶۶۲	۶۲۱	۱۲۸۳	۴۱/۲	۸۷/۹	۶۶۷	۰/۵۲۰
دو گرم در روز	۶۹۰	۶۳۱	۱۳۲۲	۴۱/۲	۹۱/۷	۷۲۱	۰/۵۴۵
خطای معیار میانگین‌ها	۱۷/۹	۸/۳۱	۲۱/۸	۰/۵۸	۱/۹۴	۲۹/۴	۰/۰۲۵
اثر بیوچار							
صفر	۶۴۹[b]	۶۲۶	۱۲۷۵	۴۰/۷	۸۶/۴[b]	۶۵۳	۰/۵۱۲
یک درصد در جیره	۷۰۱[a]	۶۲۵	۱۳۲۷	۴۱/۷	۹۳/۲[a]	۷۳۵	۰/۵۵۴
خطای معیار میانگین‌ها	۱۷/۹	۸/۳۱	۲۱/۸	۰/۵۸	۱/۹۴	۲۹/۴	۰/۰۲۵
سطح معنی‌داری							
تیمار	۰/۱۶	۰/۸۵	۰/۲۳	۰/۵۹	۰/۰۶	۰/۱۲	۰/۳۳
پروبیوتیک	۰/۲۸	۰/۴۱	۰/۲۲	۰/۹۹	۰/۱۸	۰/۲۰	۰/۵۵
بیوچار	۰/۰۵	۰/۹۴	۰/۰۹	۰/۲۳	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۱۱
پروبیوتیک×بیوچار	۰/۷۶	۰/۸۳	۰/۷۱	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۰	۰/۵۹

۱. تیمارهای آزمایشی شامل ۱– جیره شاهد (بدون افزودنی)، ۲– جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز، ۳– جیره حاوی یک درصد بیوچار و ۴– جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز و یک درصد بیوچار.

۲. بازده خوراک: نسبت افزایش وزن روزانه (کیلوگرم) به کل ماده خشک مصرفی (کیلوگرم).

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

در مورد پروبیوتیک، هرچند اثر مستقل آن بر مصرف خوراک و رشد معنی‌دار نبود، اما ترکیب آن با بیوچار به‌صورت عددی بیش‌ترین افزایش وزن روزانه را نشان داد که می‌تواند به‌دلیل هم‌افزایی آن‌ها در تعادل میکروب‌های همزیست روده و شکمبه باشد. پروبیوتیک‌ها با افزایش جمعیت میکروب‌های مفید شکمبه و روده و پیشگیری از وقوع اسهال، تعادل میکروبی را بازسازی کرده و با بهبود هضم خوراک سبب افزایش مصرف ماده خشک و نرخ رشد می‌شوند (Branco-Lopes *et al*., 2025). این اثرات هم‌افزا در پژوهش‌های اخیر بر گوساله‌های هلشتاین نیز گزارش شده است، به‌طوربه‌طوری‌که ترکیب افزودنی‌های میکروبی با بیوچار، عملکرد رشد را تا ۱۴ درصد بهبود بخشید (سیرجانی و همکاران، ۱۴۰۱).

همانطورکه اشاره شد، به‌نظر می‌رسد که افزودن بیوچار به جیره گوساله‌های شیرخوار با بهبود شرایط محیطی شکمبه، مصرف خوراک و وزن نهایی را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، ترکیب هم‌زمان این دو افزودنی به‌دلیل اثرات هم‌افزایی احتمالی بر میکروب‌های همزیست روده، می‌تواند عملکرد رشد را تا حدودی بهبود بخشد. از سوی دیگر، احتمالاً

روزنه‌های فراوان و ناحیه سطحی بالای بیوچار موجب شده پروبیوتیک‌ها همانند میکروب‌های بومی شکمبه در این منافذ بهتر مستقر شوند و با تکثیر بیش‌تر، شرایط را برای بهبود هضم خوراک و عملکرد گوساله‌ها فراهم کنند.

۲. ۳. شاخص‌های رشد اسکلتی

نتایج مربوط به اثر استفاده از پروبیوتیک و بیوچار بر شاخص‌های رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار در جدول (۴) نشان داده شده است. عرض هیپ با مکمل‌سازی جیره با پروبیوتیک بهبود پیدا کرد (P<۰/۰۵). افزودن بیوچار به جیره نیز سبب افزایش ارتفاع جدوگاه، ارتفاع هیپ و دور شکم گوساله‌ها شد (P<۰/۰۵). دور سینه و طول بدن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. اثر متقابل پروبیوتیک و بیوچار نیز بر هیچ‌یک از شاخص‌های رشد اسکلتی معنی‌دار نبود.

براساس اطلاعات نویسندگان، تاکنون پژوهشی در رابطه با اثر بیوچار بر شاخص‌های رشد اسکلتی در گوساله‌ها انجام نگرفته است. اما به‌نظر می‌رسد بهبود این شاخص‌ها در هر سه گروه آزمایشی می‌تواند نتیجه مصرف بیش‌تر خوراک و بهبود نرخ رشد باشد (Khademi *et al.*, 2022). رشد و توسعه بدن از بافت استخوان آغاز می‌شود و سپس به‌ترتیب در بافت ماهیچه و بافت چربی ادامه می‌یابد و میزان خوراک مصرفی یکی از مهم‌ترین عوامل موثر بر نرخ رشد در حیوانات به‌شمار می‌آید، به گونه‌ای که هر عاملی که بر سطح خوراک مصرفی اثر بگذارد می‌تواند بر تغییرات وزن و درنتیجه بر نرخ رشد تأثیرگذار باشد. مشخص شده است که ارتفاع جدوگاه، ارتفاع هیپ و عرض هیپ با اندازه کلی بدن در ارتباط بوده و این صفات دارای همبستگی مثبتی با وزن بدن می‌باشند. به‌طور کلی، افزایش وزن می‌تواند با افزایش ابعاد مختلف بدن همراه باشد (Heinrichs *et al.*, 2007). هم‌چنین بهبود شاخص‌های رشد اسکلتی ممکن است نتیجه افزایش گوارش‌پذیری مواد مغذی و بهبود زیست‌فراهمی مواد معدنی از جمله کلسیم، فسفر و منیزیم باشد که به‌طور مستقیم بر رشد استخوانی و اسکلتی تأثیرگذار است (Chandra *et al.*, 2009). هرچند که زیست‌فراهمی این عناصر در پژوهش حاضر انجام نشد.

جدول ٤. اثر افزودن پروبیوتیک و بیوچار به خوراک آغازین بر شاخص‌های رشد اسکلتی (سانتی‌متر) گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

	ارتفاع جدوگاه	ارتفاع هیپ	عرض هیپ	دور سینه	دور شکم	طول بدن
تیمارهای آزمایشی[1]						
شاهد	۷۹/۵^{b}	۸۴/۳^{b}	۲۲/۵	۹۲/۹	۹۷/۷^{b}	۸۴/۴
پروبیوتیک	۷۹/۴^{b}	۸۴/۶^{ab}	۲۲/۹	۹۳/۸	۱۰۱/۵^{a}	۸۴/۸
بیوچار	۸۱/۲^{a}	۸۵/۷^{ab}	۲۲/۶	۹۳/۶	۱۰۱/۱^{a}	۸۵/۱
پروبیوتیک–بیوچار	۸۰/۹^{a}	۸۶/۱^{a}	۲۳/۱	۹۵/۳	۱۰۲/۸^{a}	۸۵/۵
خطای معیار میانگین‌ها	۰/۴۴	۰/۵۰	۰/۱۸	۰/۸۰	۱/۰۳	۰/۶۶
اثر پروبیوتیک						
صفر	۸۰/۳	۸۵/۰	۲۲/۵^{b}	۹۳/۳	۹۹/۴^{b}	۸۴/۷
دو گرم در روز	۸۰/۲	۸۵/۳	۲۳/۰^{a}	۹۴/۵	۱۰۲/۲^{a}	۸۵/۱
خطای معیار میانگین‌ها	۰/۳۱	۰/۳۶	۰/۱۳	۰/۵۷	۰/۷۳	۰/۲۲
اثر بیوچار						
صفر	۷۹/۵^{b}	۸۴/۵^{b}	۲۲/۷	۹۳/۳	۹۹/۶^{b}	۸۴/۶
یک درصد در جیره	۸۱/۱^{a}	۸۵/۹^{a}	۲۲/۸	۹۴/۴	۱۰۱/۹^{a}	۸۵/۳
خطای معیار میانگین‌ها	۰/۳۱	۰/۳۶	۰/۱۳	۰/۵۷	۰/۷۳	۰/۲۲
سطح معنی‌داری						
تیمار	۰/۰۱	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۲۳	۰/۰۱	۰/۶۹
پروبیوتیک	۰/۷۵	۰/۵۲	۰/۰۱	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۵۷
بیوچار	۰/۰۰۲	۰/۰۰۹	۰/۳۹	۰/۱۸	۰/۰۳	۰/۳۱
پروبیوتیک×بیوچار	۰/۸۵	۰/۹۳	۰/۹۴	۰/۶۶	۰/۳۲	۰/۹۸

۱. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودنی)، ۲- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز، ۳- جیره حاوی یک درصد بیوچار و ۴- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز و یک درصد بیوچار.

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

در پژوهش Bayatkouhsar و همکاران (۲۰۱۳) استفاده از کشت میکروبی لاکتوباسیلوس‌ها در شیر گوساله‌ها سبب افزایش ارتفاع جدوگاه و ارتفاع هیپ شد که علت آن به افزایش ماده خشک مصرفی و افزایش وزن روزانه نسبت داده شد. هم‌چنین، مصرف کشت مخمر موجب بهبود عرض هیپ و دور شکم گوساله‌ها نسبت به گروه شاهد شد (Lesmeister *et al*., 2004). از سوی دیگر، Karamzadeh-Dehaghani و همکاران (۲۰۲۱) با افزودن پروبیوتیک حاوی هفت سویه باکتریایی به آغوز و شیر گوساله‌ها تأثیری بر شاخص‌های رشد اسکلتی مشاهده نکردند. بنابراین با توجه به نتایج حاضر، مکمل‌سازی جیره با پروبیوتیک و بیوچار می‌تواند با بهبود مصرف خوراک و جذب مواد مغذی، تأثیر مثبتی بر برخی شاخص‌های رشد اسکلتی گوساله‌ها داشته باشد. هرچند به‌دلیل تنوع فردی، انجام پژوهش‌های بیش‌تر با تعداد نمونه بالاتر برای تأیید قطعی این یافته‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد (Timmerman *et al*., 2005).

۳. ۳. گوارش‌پذیری مواد مغذی

نتایج مربوط به اثر استفاده از پروبیوتیک و بیوچار بر درصد گوارش‌پذیری مواد مغذی در جدول (۵) نشان داده شده است. براساس این جدول، افزودن پروبیوتیک به جیره، درصد گوارش‌پذیری ماده آلی را نسبت به سایرگروه‌ها بهبود بخشید (P<۰/۰۵). هم‌چنین، اثر بیوچار بر درصد گوارش‌پذیری پروتئین خام مثبت بود (P<۰/۰۵)، درحالی‌که مکمل‌های مذکور تأثیر معنی‌داری بر درصد گوارش‌پذیری ماده خشک و فیبر نامحلول در شوینده خنثی نداشتند. اثر متقابل پروبیوتیک و بیوچار بر هیچ‌یک از فراسنجه‌های فوق معنی‌دار نبود. گنجاندن بیوچار در جیره غذایی ممکن است به‌دلیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ویژگی‌های خاص ساختمانی، زیستگاهی مطلوب برای تشکیل بیوفیلم‌های میکروبی در شکمبه ایجاد و امکان ارتباط نزدیک انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها را فراهم کند، در نتیجه اتصال باکتری‌ها به ذرات خوراک را برای هضم مؤثر مواد مغذی افزایش دهد (Qomariyah *et al*., 2023). علاوه بر این، بیوچار با کاهش متانوژن‌ها و افزایش متانوتروف‌های (قادر به متابولیزه‌کردن متان به‌عنوان منبع انرژی خود) شکمبه باعث کاهش متان و تغییر تخمیر شکمبه به سمت تولید پروپیونات و بهبود بازده خوراک می‌شود (McAvoy *et al*., 2020).

در پژوهشی مشابه، پژوهش سعیدی گراغانی و همکاران (۱۴۰۱) نشان دادند که افزودن یک درصد بیوچار معدنی در جیره گوساله‌های قطع شیر هلشتاین، درصد گوارش‌پذیری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی را به‌ترتیب ۱۹٫۹، ۲۲٫۸، ۲۲٫۶ و ۲۱٫۶ درصد افزایش داد. در پژوهشی، Erickson *et al*. (۲۰۱۱) جیره‌ای حاوی ۶۰ درصد سیلاژ ذرت بی‌کیفیت و یا باکیفیت بالا را به گاوهای شیرده هلشتاین عرضه کردند که با بیوچار در سطوح صفر، ۲۰ و ۴۰ گرم به‌ازای هر رأس در روز مکمل‌سازی شده بود. گاوهایی که با بیوچار تغذیه شده بودند، درصد گوارش‌پذیری فیبر نامحلول در شوینده خنثی، همی‌سلولز و پروتئین خام بالاتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند. با این‌حال، این بهبود هضم‌پذیری در گاوهایی که با سیلاژ ذرت با کیفیت بالا تغذیه شده بودند، مشاهده نشد. در پژوهشی دیگر با افزودن سطوح مختلف (صفر، ۰٫۵، ۱٫۰، ۱٫۵ و ۲٫۰ درصد) بیوچار به جیره در شرایط برون‌تنی، درصد گوارش‌پذیری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی به‌صورت خطی افزایش پیدا کرد که این امر را به ساختار متخلخل بیوچار نسبت دادند که تکثیر میکروبی را تسهیل کرده و ازدست‌رفتن مواد مغذی از طریق اتصال به ترکیبات مهاری را کاهش می‌دهد (Saleem *et al*., 2018).

در همین راستا، افزودن یک درصد بیوچار پوسته برنج در جیره بزهای تغذیه‌شده با علوفه بوهینیا برگ‌سوزنی (*Bauhinia accuminata*) تغییری در گوارش‌پذیری ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام جیره ایجاد نکرد (Silivong & Preston, 2015). هم‌چنین، Hansen و همکاران (۲۰۱۲) بیوچار تولیدشده از چوب و کاه را به میزان نُه درصد ماده خشک جیره در شرایط برون‌تنی استفاده کرده و بیان داشتند که درصد گوارش‌پذیری ماده خشک و فیبر نامحلول در شوینده خنثی تحت تأثیر قرار

نگرفت. به‌نظر می‌رسد تفاوت در پاسخ بیوچار در مطالعات مختلف ممکن است به‌دلیل منابع مختلف زیست‌توده، اندازه ذرات و شرایط گرماکافت باشد که ممکن است تخمیر شکمبه را به درجات مختلف تغییر دهد. ماده اولیه بیوچار و هم‌چنین دمای گرماکافت ممکن است در پتانسیل جذب بیوچار نقش داشته باشند. هنگامی‌که بیوچار در معرض دمای پایین گرماکافت قرار گیرد، مشاهده شده است که سطح در واحد وزن کاهش می‌یابد و به‌طور بالقوه ظرفیت آن برای جذب مواد مغذی و فراهم‌کردن زیستگاهی مناسب برای تشکیل بیوفیلم‌ها کاهش می‌یابد (McFarlane *et al*., 2017).

جدول ۵. اثر افزودن پروبیوتیک و بیوچار به خوراک آغازین بر درصد گوارش‌پذیری مواد مغذی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

	ماده خشک	ماده آلی	پروتئین خام	فیبر نامحلول در شوینده خنثی
تیمارهای آزمایشی[1]				
شاهد	۷۲/۳	۷۲/۵	۶۹/۳	۵۴/۲
پروبیوتیک	۷۵/۰	۷۹/۰	۷۱/۱	۵۴/۰
بیوچار	۷۶/۱	۷۶/۲	۷۳/۷	۵۴/۷
پروبیوتیک-بیوچار	۷۶/۵	۷۶/۸	۷۵/۰	۵۵/۰
خطای معیار میانگین‌ها	۱/۳۷	۱/۷۱	۱/۶۹	۱/۶۹
اثر پروبیوتیک				
صفر	۷۴/۲	۷۴/۳[b]	۷۱/۵	۵۴/۴
دو گرم در روز	۷۵/۷	۷۷/۸[a]	۷۳/۰	۵۴/۵
خطای معیار میانگین‌ها	۰/۹۷	۱/۲۱	۱/۱۹	۱/۱۹
اثر بیوچار				
صفر	۷۳/۶	۷۵/۵	۷۰/۲[b]	۵۴/۱
یک درصد در جیره	۷۶/۳	۷۶/۵	۷۴/۴[a]	۵۴/۸
خطای معیار میانگین‌ها	۰/۹۷	۱/۲۱	۱/۱۹	۱/۱۹
سطح معنی‌داری				
تیمار	۰/۱۵	۰/۰۹	۰/۱۰	۰/۹۷
پروبیوتیک	۰/۲۷	۰/۰۵	۰/۳۹	۰/۹۷
بیوچار	۰/۰۶	۰/۶۷	۰/۰۲	۰/۶۸
پروبیوتیک× بیوچار	۰/۴۲	۰/۰۹	۰/۸۹	۰/۸۵

۱. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودنی)، ۲- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز، ۳- جیره حاوی یک درصد بیوچار و ۴- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز و یک درصد بیوچار.

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

افزایش گوارش‌پذیری به‌واسطه افزودن پروبیوتیک‌ها (به‌ویژه مخلوط‌های لاکتوباسیل پلانتاروم، لاکتوباسیلوس رامنوس و انتروکوکوس فاسیوم) بیش‌تر به افزایش تنوع باکتریایی مفید و کاهش جمعیت عوامل بیماری‌زا در روده نسبت داده می‌شود. پروبیوتیک‌ها می‌توانند تولید و عملکرد آنزیم‌های گوارشی مانند سلولاز، آمیلاز، پروتئاز و سایر آنزیم‌ها را افزایش دهند، زیست‌بوم میکروبی مفید در دستگاه گوارش را متعادل و پایدار کنند و میکروفلور روده را بازیابی کنند (Cangiano *et al*., 2020). مکمل‌سازی لاکتوباسیلوس رامنوس در دوره پیش از شیرگیری می‌تواند تنوع میکروبی را افزایش داده و ترتیب باکتری‌های غالب و فراوانی نسبی خانواده‌های باکتریایی را در شکمبه گوساله تغییر دهد و در نتیجه گوارش‌پذیری مواد مغذی را افزایش دهد (Wang *et al*., 2023). در پژوهشی، مکمل کشت مخمر جمعیت باکتریایی پرووتلا را کاهش و بوتیری ویبریو را در مایع شکمبه افزایش داد که در نتیجه آن تولید بوتیرات، طول پاپیلا و وزن شکمبه بیش‌تر شد (Xiao *et al*., 2016). پروبیوتیک‌ها می‌توانند زیست‌فراهمی مواد معدنی، ظرفیت هضم و جذب مواد مغذی را نیز افزایش دهند (Timmerman *et al*., 2005).

عدم تأثیر مکمل‌های مذکور بر گوارش‌پذیری فیبر نامحلول در شوینده خنثی را می‌توان به نقص آنزیم‌های فیبرولیتیک در گوساله پیش از شیرگیری نسبت داد. زیرا در مرحله پیش از شیرگیری جمعیت میکروبی شکمبه هنوز نارس است و اولویت تخمیر بر کربوهیدرات‌های غیرفیبری (مانند نشاسته موجود در خوراک آغازین) قرار دارد که هضم فیبری را محدود می‌کند (Rui-huan *et al*., 2024). این امر با یافته‌های فراتحلیل اخیر همخوانی دارد، که نشان می‌دهد پروبیوتیک‌های باکتریایی (مانند مخلوط‌های *لاکتوباسیلوس* و انتروکوکوس) در گوساله‌های پیش از شیرگیری، گوارش‌پذیری فیبر نامحلول در شوینده خنثی را به‌طور متوسط تنها یک تا دو درصد افزایش می‌دهند، اما این اثر در جیره‌های با فیبر پایین (کم‌تر از ۲۰ درصد فیبر نامحلول در شوینده خنثی) اغلب غیرمعنی‌دار است، زیرا میکروب‌های فیبرولیتیک مانند رومینوکوکوس هنوز غالب نشده‌اند (Wang *et al*., 2023). عدم اثر معنی‌دار بیوچار نیز ممکن است به‌دلیل دوز پایین (یک درصد ماده خشک جیره) و محتوای فیبر محدود جیره باشد که فرصت کافی برای تعامل بیش‌تر بیوچار با ذرات فیبری را فراهم نمی‌کند. بنابراین با توجه به نتایج این بخش، افزودن پروبیوتیک و بیوچار به‌صورت جداگانه می‌تواند گوارش‌پذیری برخی از مواد مغذی را بهبود بخشد. با این‌حال، اثر متقابل پروبیوتیک و بیوچار بر گوارش‌پذیری مواد مغذی معنی‌دار نبود، اما ترکیب هم‌زمان مکمل‌های مذکور بهبود عددی گوارش‌پذیری را در پی داشت. به‌نظر می‌رسد بیوچار با ایجاد زیستگاه مطلوب برای پروبیوتیک‌ها، شرایط اتصال و رشد میکروبی را فراهم کرده و اثر تقویت کنندگی بین آن‌ها ایجاد شده است.

۳. ۴. فراسنجه‌های خونی

تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید و نیتروژن اوره‌ای نداشتند (جدول ۶). افزودن پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌ها نداشت. درحالی‌که غلظت گلوکز خون با افزودن بیوچار به جیره افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

جدول ٦. اثر افزودن پروبیوتیک و بیوچار به خوراک آغازین بر برخی فراسنجه‌های خونی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

	گلوکز	کلسترول	تری‌گلیسرید	نیتروژن اوره‌ای
تیمارهای آزمایشی[1]				
شاهد	۹۳/۹	۹۵/۷	۲۶/۶	۲۰/۴
پروبیوتیک	۹۹/۸	۹۹/۸	۲۶/۲	۲۰/۵
بیوچار	۱۰۵/۱	۱۰۰/۳	۲۸/۱	۱۹/۳
پروبیوتیک-بیوچار	۱۰۵/۸	۹۳/۰	۲۷/۵	۱۹/۸
خطای معیار میانگین‌ها	۴/۰۷	۵/۲۸	۲/۷۴	۱/۱۴
اثر پروبیوتیک				
صفر	۹۹/۱	۹۸/۰	۲۷/۴	۱۹/۹
دو گرم در روز	۱۰۲/۸	۹۶/۴	۲۶/۹	۲۰/۱
خطای معیار میانگین‌ها	۲/۸۷	۳/۷۳	۱/۹۴	۰/۸۱
اثر بیوچار				
صفر	۹۶/۸[b]	۹۷/۷	۲۶/۴	۲۰/۵
یک درصد در جیره	۱۰۵/۵[a]	۹۶/۶	۲۷/۸	۱۹/۵
خطای معیار میانگین‌ها	۲/۸۷	۳/۷۳	۱/۹۴	۰/۸۱
سطح معنی‌داری				
تیمار	۰/۱۶	۰/۷۲	۰/۹۶	۰/۸۵
پروبیوتیک	۰/۴۳	۰/۷۶	۰/۸۶	۰/۸۰
بیوچار	۰/۰۵	۰/۸۴	۰/۶۱	۰/۴۱
پروبیوتیک× بیوچار	۰/۵۳	۰/۲۹	۰/۹۵	۰/۸۷

۱. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودنی)، ۲- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز، ۳- جیره حاوی یک درصد بیوچار و ۴- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز و یک درصد بیوچار.

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ستون با حروف نامشابه معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

اثر متقابل پروبیوتیک و بیوچار بر هیچ‌یک از فراسنجه‌های فوق معنی‌دار نبود. افزایش غلظت گلوکز خون ممکن است نتیجه افزایش گوارش‌پذیری کربوهیدرات‌های غیر فیبری جیره و تغییر الگوی تخمیر شکمبه به سمت تولید پروپیونات باشد. پروپیونات پیش‌ساز اصلی گلوکز در مسیر گلوکونئوژنز است که پس از ورود به کبد به گلوکز تبدیل و وارد خون می‌شود (McDonald *et al*., 2022). علاوه بر این، افزایش غلظت گلوکز خون را می‌توان به تأثیر ویژگی‌های ساختاری بیوچار بر کاهش جمعیت پروتوزوایی شکمبه و انحراف نسبی در سوخت‌وساز هیدروژن از متانوژن‌ها به سمت پروپیونات نسبت داد. زیرا پروتوزوآی شکمبه به‌عنوان انتقال‌دهنده هیدروژن به آرکیای متانوژن عمل می‌کند و تشکیل پروپیونات یک مسیر رقابتی برای مصرف هیدروژن به‌جای تولید متان در شکمبه است که در نهایت افزایش غلظت گلوکز خون دام را به‌دنبال دارد (Ebeid *et al*., 2020). مشابه با نتایج پژوهش حاضر، افزودن یک درصد بیوچار حاصل از پوست گردو در جیره میش‌های آبستن تغییری در غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید و پروتئین کل خون ایجاد نکرد، درحالی‌که سبب افزایش غلظت گلوکز خون شد، که علت آن را به افزایش نشاسته عبوری به روده کوچک نسبت دادند (Mirheidari *et al*., 2019).

۳. ۵. رفتارهای تغذیه‌ای

تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر رفتارهای تغذیه‌ای گوساله‌های شیرخوار ایجاد نکردند (جدول ۷). عواملی مانند فیبر نامحلول در شوینده خنثی جیره، اندازه ذرات، ساختار فیزیکی و طبیعت شیمیایی خوراک و میزان ترکیبات ثانویه گیاهی می‌توانند بر رفتارهای تغذیه‌ای دام اثر بگذارند (Carulla *et al*., 2005) که تمامی عوامل مذکور در تیمارهای آزمایشی یکسان بود. در پژوهشی مشابه، Khademi *et al*. (۲۰۲۲) گزارش کردند که رفتارهای تغذیه‌ای گوساله‌های شیرخوار با افزودن پروبیوتیک به خوراک آغازین تحت تأثیر قرار نگرفت.

جدول ۷. اثر افزودن پروبیوتیک و بیوچار به خوراک آغازین بر رفتارهای تغذیه‌ای (دقیقه در روز) گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

	ایستادن	خوابیدن	خوردن	نشخوار کردن	رفتارهای غیرتغذیه‌ای
تیمارهای آزمایشی[1]					
شاهد	۲۸۵	۶۳۲	۱۳۶	۱۸۳	۲۰۴
پروبیوتیک	۳۰۳	۶۱۳	۱۳۹	۱۹۳	۱۹۲
بیوچار	۲۷۶	۵۹۶	۱۴۱	۲۰۴	۲۲۳
پروبیوتیک-بیوچار	۲۸۳	۶۰۴	۱۴۲	۲۰۲	۲۰۹
خطای معیار میانگین‌ها	۱۲/۲	۲۵/۷	۵/۷۳	۱۰/۱	۱۶/۴
اثر پروبیوتیک					
صفر	۲۸۱	۶۱۴	۱۳۹	۱۹۳	۲۱۴
دو گرم در روز	۲۹۳	۶۰۸	۱۴۱	۱۹۸	۲۰۱
خطای معیار میانگین‌ها	۸/۶۳	۱۸/۲	۴/۰۵	۷/۱۱	۱۱/۶
اثر بیوچار					
صفر	۲۹۴	۶۲۳	۱۳۸	۱۸۸	۱۹۸
یک درصد در جیره	۲۸۰	۶۰۰	۱۴۲	۲۰۳	۲۱۶
خطای معیار میانگین‌ها	۸/۶۳	۱۸/۲	۴/۰۵	۷/۱۱	۱۱/۶
سطح معنی‌داری					
تیمار	۰/۴۹	۰/۷۸	۰/۹۲	۰/۴۳	۰/۶۱
پروبیوتیک	۰/۳۳	۰/۸۳	۰/۷۶	۰/۶۶	۰/۴۴
بیوچار	۰/۲۶	۰/۳۸	۰/۵۵	۰/۱۴	۰/۲۸
پروبیوتیک×بیوچار	۰/۶۷	۰/۶۱	۰/۹۱	۰/۵۳	۰/۹۵

۱. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون افزودنی)، ۲- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز، ۳- جیره حاوی یک درصد بیوچار و ۴- جیره حاوی دو گرم پروبیوتیک در روز و یک درصد بیوچار.

رفتارهای غیرتغذیه‌ای مانند لیسیدن، مکیدن و جویدن اشیای محیطی می‌توانند به گسترش عفونت در بدن گوساله‌ها منجر شوند. این رفتارها به‌عنوان شاخص‌های کلیدی کمبود آسایش و رفاه در گوساله‌ها شناخته می‌شوند، زیرا ممکن است نشان‌دهنده تأمین ناکافی مواد مغذی باشند (Cantor *et al*., 2019). افزودن پروبیوتیک و بیوچار به جیره گوساله‌های شیرخوار تأثیری بر رفتارهای غیرتغذیه‌ای نداشت که می‌تواند حاکی از تأمین مناسب نیازهای غذایی گوساله‌ها در این پژوهش باشد.

۴. نتیجه‌گیری

براساس نتایج این پژوهش، افزودن بیوچار (یک درصد ماده خشک) به‌همراه پروبیوتیک (دو گرم در روز) در جیره غذایی گوساله‌های شیرخوار اثرات هم‌افزایی مثبتی بر عملکرد رشد، شاخص‌های اسکلتی و گوارش‌پذیری مواد مغذی نشان داد. این بهبود عملکرد، که به احتمال زیاد ناشی از نقش تسهیل‌کنندگی بیوچار در محیط شکمبه و هم‌چنین فراهم‌آوردن بستر مناسب برای فعالیت پروبیوتیک‌هاست، می‌تواند به‌عنوان یک راه‌کار تغذیه‌ای نوین برای بهبود وضعیت پرورش گوساله‌ها موردتوجه قرار گیرد.

۵. ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع موردتأیید همه آن‌هاست.

۶. مشارکت نویسندگان

مهدی نصرآبادی: تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، انجام محاسبات، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تحلیل و تفسیر اطلاعات و نتایج، تهیه پیش‌نویس مقاله؛

خلیل زابلی: استادراهنمای پایان‌نامه، طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل انجام پژوهش، بررسی و کنترل نتایج، اصلاح، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله.

۷. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۸. حامی مالی

مقاله حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد.

۹. تشکر و قدردانی

از مدیر عامل و کارکنان محترم شرکت کشاورزی و دامپروری لبن به‌منظور فراهم‌نمودن امکانات و حمایت‌های لازم جهت انجام این پژوهش، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

۱۰. منابع

سعیدی گراغانی، سارا؛ باشتنی، مسلم؛ شاکری، پیروز و نعیمی‌پور یونسی، حسین (۱۴۰۱). تأثیر تغذیه بیوچار معدنی بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و تخمیری گوساله‌های از شیر گرفته هلشتاین، *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۰(۴)، ۱۲۱-۱۳۶. https://doi.org/10.22069/ejrr.2022.20533.1861

سیرجانی، محمدحسین؛ رضائی، جواد؛ زاهدی‌فر، مجتبی و روزبهان، یوسف (۱۴۰۱). اثر افزودن بیوچار در جیره‌های حاوی پروبیوتیک بر متغیرهای تخمیر برون‌تنی، شاخص‌های سلامت، باکتری‌های رکتوم و آنزیم‌های خون گوساله‌های هلشتاین. *تحقیقات تولیدات دامی*، ۱۱(۴)، ۱-۱۹. https://doi.org/10.22124/AR.2023.23067.1727

References

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2012). *Official methods of analysis*, 19th ed. AOAC, Washington DC, USA.

Bayatkouhsar, J., Tahmasebi, A. M., Naserian, A. A., Mokarram, R. R., & Valizadeh, R. (2013). Effects of supplementation of lactic acid bacteria on growth performance, blood metabolites and fecal coliform and lactobacilli of young dairy calves. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 186, 1-11. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.04.015.

Branco-Lopes, R., Winder, C., Canozzi, M. E., Lopez, Y. S. A., Schmitz, B., & Silva-del-Río, N. (2025). Effects of probiotic supplementation on growth performance and feed intake of dairy calves: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 108, 9501-9515. https://doi.org/10.3168/jds.2025-26540.

Cabeza, I., Waterhouse, T., Sohi, S., & Rooke, J. A. (2018). Effect of biochar produced from different biomass sources and at different process temperatures on methane production and ammonia concentrations in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 237, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.01.003.

Cangiano, L., Yohe, T., Steele, M., & Renaud, D. (2020). Invited review: strategic use of microbial-based probiotics and prebiotics in dairycalf rearing. *Applied Animal Science*, 36, 630-51. https://doi.org/10.15232/aas.2020-02049.

Cantor, M. C., Stanton, A. L., Combs, D. K., & Costa, J. H. (2019). Effect of milk feeding strategy and lactic acid probiotics on growth and behavior of dairy calves fed using an automated feeding system. *Journal of animal science*, 97(3),1052-1065. https://doi.org/10.1093/jas/skz034.

Carulla, J. E., Kreuzer, M., Machmuller, A., & Hess, H. D. (2005). Supplementation of Acaciamearnisii tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56, 961-970.https://doi.org/10.1071/AR05022.

Chandra, R., Mehla, R. K., Sirohi, S. K., & Rahman, H. (2009). Effect of probiotic supplementation on growth of crossbred calves. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 79(12), 1254-1257.

Commission of the European Communities. (2003). Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union*, 268, 29-43.

Day, D., Evans, R. J., Lee, J., & Reicosky, D. (2005). Economical CO_2, SO_4 and NO_2 capture from combined renewable hydrogen production and large-scale carbon sequestration. *Journal of Energy*, 30, 2558-2579. https://doi.org/10.1016/j.energy.2004.07.016.

Diao, Q., Zhang, R., & Fu, T. (2019). Review of strategies to promote rumen development in calves. *Animals*, 9(8), 490. https://doi.org/10.3390/ani9080490.

Ebeid, H. M., Mengwei, L., Kholif, A. E., Hassan, F. U., Lijuan, P., Xin, L., & Chengjian, Y. (2020). Moringa oleifera oil modulates rumen microflora to mediate in vitro fermentation kinetics and methanogenesis in total mix rations. *Current Microbiology*, 77, 1271-1282. https://doi.org/10.1007/s00284-020-01935-2.

Erickson, P. S., Whitehouse, N. L., & Dunn, M. L. (2011). Activated carbon supplementation of dairy cow diets: effects on apparent total-tract nutrient digestibility and taste preference. *The Professional Animal Scientist*, 27(5), 428-434. https://doi:10.15232/S1080-7446(15)30515-5.

Hansen, H. H., Storm, I. D., & Sell, A. M. (2012). Effect of biochar on in vitro rumen methane production. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A–Animal Science*, 62(4),305-309. https://doi.org/10.1080/09064702.2013.789548.

Heinrichs, A. J., Erb, H. N., Rogers, G. W., Cooper, J. B., & Jones, C. M. (2007). Variability in Holstein heifer heart-girth measurements and comparison of prediction equations for live weight. *Preventive Veterinary Medicine*, 78, 333-338. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.11.002.

Hill, C., Guarner, F., & Reid, G. (2014). The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Journal of Natural Review*, 9, 506-514.

Karamzadeh-Dehaghani, A., Towhidi, A., Zhandi, M., Mojgani, N., & Fouladi-Nashta A. (2020). Combined effect of probiotics and specific immunoglobulin Y directed against Escherichia coli on growth performance, diarrhea incidence, and immune system in calves. *Animal*, 15(2), 100124. https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100124.

Khademi, A. R., Hashemzadeh, F., Khorvash, M., Mahdavi, A. H., Pazoki, A., & Ghaffari, M. H. (2022). Use of exogenous fibrolytic enzymes and probiotic in finely ground starters to improve calf performance. *Scientific Reports*, 12(1), 1-14. https://doi.org/10.1038/s41598-022-16070-0.

Khan, M. A., Lee, H. J., Lee, W. S., Kim, H. S., Kim, S. B., Ki, K. S., Park, S. J., Ha, J. K., & Choi, Y. J. (2007). Starch source evaluation in calf starter: I. feed consumption, body weight gain, structural growth, and blood metabolites in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 90, 5259-5268. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0338.

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.

Li, Y., Li, X., Nie, C., Wu, Y., Luo, R., Chen, C., Niu, J., & Zhang, W. (2023). Effects of two strains of Lactobacillus isolated from the feces of calves after fecal microbiota transplantation on growth performance, immune capacity, and intestinal barrier function of weaned calves. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1249628. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1249628.

McAvoy, D. J., Burritt, B., & Villalba, J. J. (2020). Use of biochar by sheep: impacts on diet selection, digestibility, and performance. *Journal of Animal Science*, 98(12), skaa380. https://doi.org/10.1093/jas/skaa380.

McDonald, P., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L., Edwards, R., & Wilkinson, R. (2022). Animal Nutrition, 8th ed. Pearson Education.

McFarlane, Z. D., Myer, P. R., Cope, E. R., Evans, N. D., Bone, T. C., Bliss, B. E., & Mulliniks, J. T. (2017). Effect of biochar type and size on in vitro rumen fermentation of orchard grass hay. *Agricultural Sciences*, 8, 316-325. https://doi.org/10.4236/as.2017.84023.

Mirheidari, A., Torbatinejad, N. M., Hassani, S., & Shakeri, P. (2019). Effects of pistachio by-product biochar on in vitro ruminal fermentation and performance of lactating ewes. *Journal of Animal Production*, 20(4), 553-564.

Mirheidari, A., Torbatinejad, N. M., Shakeri, P., & Mokhtarpour, A. (2020). Effects of biochar produced from different biomass sources on digestibility, ruminal fermentation, microbial protein synthesis and growth performance of male lambs. *Small Ruminant Research*, 183, 106042. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.106042.

NASEM. (2021). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8th edition. Washington DC: The National Academies Press. 2021.

Qomariyah, N., Ella, A., Ahmad, S. N., Yusriani, Y., Sholikin, M. M., Prihambodo, T. R., Retnani, Y., Jayanegara, A., Wina, E., & Permana, I. G. (2023). Dietary biochar as a feed additive for increasing livestock performance: A meta-analysis of in vitro and in vivo experiment. *Czech Journal of Animal Science*, 68(2), 72-86. https://doi.org/10.17221/124/2022-CJAS.

Rui-huan, G. A., Zhi-chao, W. A., Jiang, H. E., Bin, Y. A., Shu-hua, L. I., Fan-xin, L. I., Xin-wei, F. E., & Chang-qing, S. H. (2024). Meta-analysis of effects of probiotics on growth performance and serum indexes in cattle. *Feed Research*, 47(21), 144. https://doi.org/10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2024.21.026.

Saeidi Garaghani, S., Bashtani, M., Shakeri, P., & NaeimipourYounesi, H. (2022). Effect of mineral Biochar feeding on growth performance, nutrient digestibility, blood and fermentation parameters of weaned Holstein calves. *Journal of Ruminant Research*, 10(4), 121-136. https://doi.org/10.22069/ejrr.2022.20533.1861. (In Persian).

Saleem, A. M., Ribeiro Jr, G. O., Yang, W. Z., Ran, T., Beauchemin, K. A., McGeough, E. J., Ominski, K. H., Okine, E. K., & McAllister, T. A. (2018). Effect of engineered biocarbon on rumen fermentation, microbial protein synthesis, and methane production in an artificial rumen (RUSITEC) fed a high forage diet. *Journal of animal science*, 96(8), 3121-3130. https://doi.org/10.1093/jas/sky204.

Saroeun, K., Preston, T., & Leng, R. (2018). Rice distillers' byproduct and molasses-urea blocks containing biochar improved the growth performance of local Yellow cattle fed ensiled cassava roots, cassava foliage and rice straw. *Livestock Research for Rural Development*, 30(9), 162. http://www.lrrd.org/lrrd30/9/saroe30162.html.

Silivong, P., & Preston, T. R. (2015). Growth performance of goats was improved when a basal diet of foliage of Bauhinia acuminata was supplemented with water spinach and biochar. *Livestock Research for Rural Development*, 27(3), 58. http://www.lrrd.org/lrrd27/3/sili27058.html.

Sirjani, M. H., Rezaei, J., Zahedifar, M., & Rouzbehan, Y. (2022). Effect of adding biochar in diets containing probiotics on in vitro fermentation variables, health indicators, rectum bacteria, and blood enzymes of Holstein calves. *Animal Production Research*, 11(4), 1-19. https://doi.org/10.22124/APR.2023.23067.1727. (In Persian).

Sperber, J. L., Troyer, B. C., Erickson, G. E., & Watson, A. K. (2022). Evaluation of the effects of pine-sourced biochar on cattle performance and methane and carbon dioxide production from growing and finishing steers. *Translational Animal Science*, 6(4), 1-7. https://doi.org/10.1093/tas/txac152.

Tamayao, P., Ribeiro, G. O., McAllister, T. A., Ominski, K. H., Okine, E. K., & McGeough, E. J. (2022). Effects of biochar source, level of inclusion, and particle size on in vitro dry matter disappearance, total gas, and methane production and ruminal fermentation parameters in a barley silage-based diet. *Canadian Journal of Animal Science*, 102(1), 133-144. https://doi.org/10.1139/cjas-2021-0007.

Timmerman, H. M., Mulder, L., Everts, H., Van Espen, D., Van Der Wal, E., Klaassen, G. Rouwers, S. M. G., Hartemink, R., Rombouts, F. M., & Beynen, A. C. (2005). Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *Journal of Dairy Scienc*, 88(6), 2154-2165. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72891-5.

Van Keulen, J., & Young, B. A. (1977). Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science*, 44, 282-287. https://doi.org/10.2527/jas1977.442282x.

Wang, L., Sun, H., Gao, H., Xia, Y., Zan, L., & Zhao, C. (2023). A meta-analysis on the effects of probiotics on the performance of pre-weaning dairy calves. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1), 3. https://doi.org/10.1186/s40104-022-00806-z.

Xiao, J. X., Alugongo, G. M., Chung, R., Dong, S. Z., Li, S. L., Yoon, I., Wu, Z. H., & 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.

Xu, H., Huang, W., Hou, Q., Kwok, L.Y., Sun, Z., Ma, H., Zhao, F., Lee, Y. K., & Zhang, H. (2017). The effects of probiotics administration on the milk production, milk components and fecal bacteria microbiota of dairy cows. *Science Bulletin*, 62(11), 767-774. https://doi.org/10.1016/j.scib.2017.04.019.