

تأثیر پودر دانه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) و جنسیت بر عملکرد، پاسخ ایمنی، جمعیت میکروبی و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی

مهديه محمدزاده^۱، محمد سالارمعینی^۲، محسن افشارمنش^۲ و محمد خواجه بمی^{۳*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳- نویسنده مسئول، دانشجوی دکترا، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

پست الکترونیک: mkhaje@agr.uk.ac.ir

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۰

چکیده

به منظور بررسی تأثیر جنس و پودر دانه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و جمعیت میکروبی و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی، پژوهشی با ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ (۱۲۰ قطعه نر و ۱۲۰ قطعه ماده) در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل شامل سه سطح پودر دانه شنبلیله (صفر (شاهد)، ۰/۵ و یک درصد) و دو جنس (نر و ماده) با ۴ تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که افزایش وزن بدن، مصرف خوراک، شاخص تولید اروپایی و جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل روده در جنس نر نسبت به جنس ماده بیشتر بود ($P < 0/05$). اثرات اصلی پودر شنبلیله و جنس نشان داد که طول و عرض پرزها و نسبت طول پرز به عمق کریپت در روده جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۱٪ شنبلیله در مقایسه با شاهد و در جنس نر نسبت به جنس ماده بیشتر بود ($P < 0/05$). اثرات متقابل نشان داد که طول و عرض پرزها و نسبت طول پرز به عمق کریپت در روده جوجه‌های نر تغذیه شده با جیره شاهد نسبت به سایر گروه‌ها کمتر بود ($P < 0/05$). تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفند در سرم جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۱٪ شنبلیله در مقایسه با گروه شاهد بیشتر بود ($P < 0/05$). به طور کلی نتایج نشان داد که افزودن ۱٪ پودر دانه شنبلیله به جیره جوجه‌های گوشتی اثرات مفیدی دارد و می‌تواند سبب بهبود مورفولوژی روده و پاسخ ایمنی شود.

واژه‌های کلیدی: تیترا آنتی‌بادی، جوجه گوشتی، شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.)، طول پرز، لاکتوباسیلوس.

مقدمه

طبیعی و ایمن در تغذیه طیور مورد توجه فراوان قرار گرفته است. گیاهان دارویی حاوی تعدادی از عوامل مؤثر زیستی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و گلوکوزیدها هستند که اثرهای مفیدی در بدن جانوران دارند (Sharifi et al.,

گیاهان دارویی به دلیل خواص ارزشمند دارویی از دیرباز مورد توجه ویژه بوده‌اند. در سال‌های اخیر نیز استفاده از گیاهان دارویی به عنوان افزودنی‌های محرک رشد

اثر دانه کامل شنبلیله در یک سطح (۳/۰٪) بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی (مخلوط دو جنس) بررسی شد. نتایج نشان داد که افزودن پودر دانه شنبلیله در این سطح باعث بهبود عملکرد رشد شد (Rabia, 2010). در آزمایش دیگر مشخص شد که استفاده از مخلوط چند گیاه دارویی که یکی از اجزاء آن دانه شنبلیله بود سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی شد (Raziq *et al.*, 2012).

منابع علمی موجود نشان‌دهنده آن است که با وجود فواید و کاربردهای زیاد این گیاه دارویی مفید، تاکنون تحقیقی به منظور بررسی اثرهای پودر دانه شنبلیله بر جمعیت میکروبی روده، مورفولوژی روده و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی در دو جنس نر و ماده انجام نشده است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر جنس و پودر دانه شنبلیله بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی، جمعیت میکروبی و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی پرورش طیور دانشگاه شهید باهنر کرمان و با استفاده از ۱۲۰ قطعه جوجه گوشتی نر و ۱۲۰ قطعه جوجه گوشتی ماده، سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با آزمایش فاکتوریل ۲×۳ شامل سه سطح پودر دانه شنبلیله (صفر، ۵/۰ و یک درصد) و دو جنس نر و ماده با چهار تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار اجرا شد. در این تحقیق از جیره بر پایه ذرت-کنجاله سویا استفاده شد. جیره‌ها در سه دوره آغازین (۱۰-۱)، رشد (۲۱-۱۱) و پایانی (۴۲-۲۲) تنظیم شدند. ترکیب جیره پایه در مراحل مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. جیره پایه براساس نیازهای توصیه شده سویه راس ۳۰۸ تهیه شد. ارزش غذایی شنبلیله شامل پروتئین خام، انرژی قابل متابولیسم، کلسیم و فسفر در جیره‌نویسی لحاظ شده است (Khorshidian *et al.*, 2016; Park & Kim, 2015). در روز ورود جوجه‌ها دمای محل پرورش ۳۲ درجه سلسیوس در نظر گرفته شد، سپس روزانه ۰/۵-۰/۴ درجه سلسیوس دمای سالن کاهش یافت تا اینکه دمای سالن در سن ۲۱ روزگی به ۲۲ درجه سلسیوس رسید و

(Motamedi & Mehdizade Taklimi, 2017; 2013). از جمله مزایای استفاده از گیاهان دارویی می‌توان به کاربرد ساده، بهبود عملکرد پرند و باقی نماندن بقایای مضر در فرآورده‌های تولیدی آنها اشاره نمود. بنابراین با توجه به جایگاه گیاهان دارویی به‌عنوان مواد افزودنی طبیعی در حوزه دامپزشکی بکارگیری آنها در تغذیه جوجه‌های گوشتی می‌تواند اثرهای مفید قابل توجهی داشته باشد (Motamedi & Mehdizade Taklimi, 2017; Sharifi *et al.*, 2013).

شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) متعلق به خانواده Fabaceae است و به‌عنوان یکی از قدیمی‌ترین و مهمترین گیاهان دارویی در جهان شناخته می‌شود (Rajabi Hashjin *et al.*, 2019). گل‌های سفید آن دارای غلافی هستند که تخم‌های کوچک و قهوه‌ای گیاه در آن قرار دارند. این گیاه بومی خاورمیانه است و به‌صورت گسترده در شبه‌قاره هند کاشت می‌شود. در بیشتر نواحی ایران از جمله آذربایجان، اصفهان، فارس، خراسان، سمنان، دامغان و نیز مناطق مرکزی می‌روید و همچنین به‌عنوان سبزی خوراکی کاشته شده و مصرف می‌گردد (Petroopoulos *et al.*, 2002). تحقیقات انجام شده بر بسیاری از کاربردهای سنتی صحه گذاشته و ارزش درمانی این گیاه و قابلیت‌های دارویی آن را به روشنی نشان داده است (Parvizi *et al.*, 2020; Rajabi Hashjin *et al.*, 2019). ترکیب‌های شاخص در دانه شنبلیله شامل ساپونین‌ها، آلکالوئیدها و فیبرهای موسیلاژی می‌باشند که بیشتر خواص درمانی شنبلیله به آنها اختصاص دارند. ساپونین مهم این گیاه دیوسژنین و آلکالوئید است و شاخص آن تریگونیلین می‌باشد (Tadayyon *et al.*, 2018). آزمایش‌ها نشان می‌دهند که این گیاه دارویی مهم اثرهای ضد باکتریایی (Rajabi Hashjin *et al.*, 2019; Parvizi *et al.*, 2020)، تقویت‌کنندگی سیستم ایمنی (Raziq *et al.*, 2012; Parvizi *et al.*, 2020) و آنتی‌اکسیدانی (Dixit *et al.*, 2005) دارد.

البته مطالعات زیادی در مورد اثرهای استفاده از پودر دانه شنبلیله بر عملکرد طیور وجود ندارد. در یک آزمایش

پایان هر دوره آزمایشی اندازه‌گیری شد. متوسط افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک روزانه براساس مرغ روز و با احتساب پرندگان تلف شده محاسبه شد. با استفاده از این داده‌ها، ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. درصد ماندگاری و شاخص تولید اروپایی به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه شدند.

بعد تا پایان دوره پرورش این دما به‌طور ثابت حفظ شد. مدت روشنایی در سه روز اول پرورش جوجه‌ها ۲۴ بود و پس از آن برنامه نوردهی ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. به‌منظور بررسی عملکرد رشد، وزن جوجه‌ها و خوراک مصرفی مربوط به هر واحد آزمایشی به صورت گروهی در

رابطه ۱) $100 \times (\text{تعداد قطعه جوجه در شروع دوره} / \text{تعداد قطعه مرغ زنده در پایان دوره}) = \text{درصد ماندگاری گله}$

رابطه ۲) $= \text{شاخص کارایی تولید اروپایی}$

$100 \times [(\text{تعداد روزهای دوره پرورش} \times \text{ضریب تبدیل خوراک}) / (\text{میانگین وزن به کیلوگرم} \times \text{درصد ماندگاری})]$

اسید لاکتیک از محیط کشت MRS آگار و برای شمارش باکتری‌های کلی‌فرم از محیط کشت Mac Conkey آگار استفاده شد. برای کشت باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک از رقت‌های ۴-، ۵- و ۶- و برای کشت باکتری‌های کلی‌فرم از رقت‌های ۱-، ۲- و ۳- استفاده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت برای کشت باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک و ۲۴ ساعت برای کشت باکتری‌های کلی‌فرم در محیط هوازی گرم‌خانه گذاری شدند.

برای مطالعه ساختار پرزهای روده در سن ۴۲ روزگی، حدود ۴ سانتی‌متر از بافت ایلئوم (ابتدای ایلئوم) برداشته و در داخل محلول تثبیت‌کننده (فرمالین ۱۰٪) قرار گرفت (Rasa Ezadi et al., 2019). پس از تهیه نمونه‌ها، از میکروسکوپ نوری متصل به رایانه (OLYMPUS آلمان، مدل BX51) استفاده شد و ارتفاع پرزها (از رأس پرز تا قاعده آن)، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و عرض پرز بر حسب میکرومتر (μm) اندازه‌گیری شد (Khajeh Bami et al., 2018).

در این آزمایش برای بررسی ایمنی همورال در روزهای ۲۱ و ۳۵ به دو قطعه پرندۀ از هر تکرار، یک میلی‌لیتر سوسپانسیون ۰/۵٪ گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) شسته شده در بافر فسفات استریل از طریق عضله سینه تزریق شد. در روزهای ۲۸ و ۴۲ (۷ روز پس از هر بار تزریق گلبول قرمز) از همان پرندۀها از طریق ورید بال خون گرفته شد. برای تعیین تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC از روش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده شد (Wegmann & Smithies, 1966؛ Khajeh Bami et al., 2018).

برای تعیین جمعیت میکروبی، در سن ۴۲ روزگی یک گرم مواد دفعی از ناحیه انتهای ایلئوم پرندگان برداشته شد. برای شمارش تعداد باکتری‌های موجود در محتویات ایلئوم از روش شمارش قطره‌ای، در محلول استریل بافر فسفات سالین (phosphate-buffered saline) PBS استفاده شد. بدین ترتیب که یک گرم ماده دفعی به ۹ میلی‌لیتر بافر PBS اضافه گردید (رقت ۱-). یک میلی‌لیتر از رقت ۱- را برداشته و به ۹ میلی‌لیتر بافر PBS اضافه شد (رقت ۲-). بدین ترتیب سری رقت تا ۷- تهیه شد. برای شمارش باکتری‌های تولیدکننده

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در تیمارهای مورد آزمایش

۱٪ پودر شنبلیله			۵٪ پودر شنبلیله			شاهد			اجزای جیره (%)
پایانی	رشد	آغازین	پایانی	رشد	آغازین	پایانی	رشد	آغازین	
۵۷/۷۲	۵۱/۷۸	۴۷/۹۲	۵۷/۹۷	۵۲/۰۵	۴۸/۱۷	۵۸/۲۲	۵۲/۳۰	۴۸/۴۲	دانه ذرت
۳۱/۶۶	۳۷/۳۴	۴۱/۴۸	۳۱/۹۵	۳۷/۵۹	۴۱/۷۵	۳۲/۲۰	۳۷/۸۴	۴۲	کنجاله سویا (۴۴٪)
۱	۱	۱	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰	۰	۰	دانه شنبلیله
۵/۷	۵/۷	۵	۵/۷	۵/۷	۵	۵/۷	۵/۷	۵	روغن گیاهی سویا
۱	۱/۰۵	۱/۱۵	۱	۱/۰۵	۱/۱۵	۱	۱/۰۵	۱/۱۵	کربنات کلسیم
۱/۴	۱/۶	۱/۷۵	۱/۴	۱/۶	۱/۷۵	۱/۴	۱/۶	۱/۷۵	دی کلسیم فسفات
۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	نمک
۰/۳۱	۰/۳۲	۰/۴۰	۰/۳۰	۰/۳۲	۰/۴۰	۰/۳۰	۰/۳۲	۰/۴۰	دی ال متیونین
۰/۲۲	۰/۲۰	۰/۲۷	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۲۵	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۲۵	ال لایزین هیدروکلراید
۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۱۰	۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۱۰	۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۱۰	دی ال ترئونین
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینی*
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی*
ترکیب شیمیایی									
۳۲۰۰	۳۱۰۰	۳۰۰۰	۳۲۰۰	۳۱۰۰	۳۰۰۰	۳۲۰۰	۳۱۰۰	۳۰۰۰	انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم)
۱۹/۵	۲۱/۵	۲۳	۱۹/۵	۲۱/۵	۲۳	۱۹/۵	۲۱/۵	۲۳	پروتئین خام (%)
۱/۱۶	۱/۲۹	۱/۴۴	۱/۱۶	۱/۲۹	۱/۴۴	۱/۱۶	۱/۲۹	۱/۴۴	لایزین (%)
۰/۹۱	۰/۹۹	۱/۰۸	۰/۹۱	۰/۹۹	۱/۰۸	۰/۹۱	۰/۹۹	۱/۰۸	متیونین + سیستین (%)
۰/۵۹۹	۰/۶۴۳	۰/۷۴	۰/۵۹۹	۰/۶۴۳	۰/۷۴	۰/۵۹۹	۰/۶۴۳	۰/۷۴	متیونین (%)
۰/۷۹	۰/۸۷	۰/۹۶	۰/۷۹	۰/۸۷	۰/۹۶	۰/۷۹	۰/۸۷	۰/۹۶	کلسیم (%)
۰/۳۹۵	۰/۴۳۵	۰/۴۸	۰/۳۹۵	۰/۴۳۵	۰/۴۸	۰/۳۹۵	۰/۴۳۵	۰/۴۸	فسفر فراهم (%)
۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	سدیم (%)

*: هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل ۹ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۸ هزار واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین B1، ۶۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین B2، ۱۰ هزار میلی‌گرم ویتامین B3، ۳ هزار میلی‌گرم ویتامین B6، ۱۵ میلی‌گرم ویتامین B12، ۲ هزار میلی‌گرم ویتامین K3، ۳۰ هزار میلی‌گرم ویتامین B9، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین B5، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین H2، ۵۰۰ هزار میلی‌گرم کولین کلراید و هزار میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان بود. هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۴۸۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۶۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۶۴۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰ میلی‌گرم ید، ۱۲۰ میلی‌گرم سلنیوم و ۴۴۰۰۰ میلی‌گرم روی بود.

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ij}$$

Y_{ij} : صفت مورد مطالعه؛ μ : میانگین صفت مورد مطالعه؛
 A_i : اثر جنس؛ B_j : اثر شنبليله؛ AB_{ij} : اثر متقابل جنس و
 شنبليله؛ E_{ij} : اشتباه آزمایشی

داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab و رویه خطی عمومی (GLM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی با در نظر گرفتن سطح احتمال ۵٪ استفاده شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود.

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف پودر دانه شنبليله و جنس بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی (۱ تا ۴۲ روزگی)

شاخص	ماندگاری (%)	ضریب تبدیل	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز)	افزایش وزن (گرم/پرنده)	تیمارهای آزمایشی
پودر دانه شنبليله (درصد جیره)					
۳۲۱/۰	۹۹/۷۵	۱/۵۱	۷۵/۰	۴۹/۶۰	صفر
۳۲۹/۹	۹۹/۸۸	۱/۵۴	۷۸/۵	۵۰/۹۰	۰/۵
۳۴۲/۶	۱۰۰	۱/۵۱	۷۶/۲	۵۰/۵۰	۱
۹۳/۴۵	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۸۵	۰/۶۹	SEM
۰/۲۸	۰/۳۹	۰/۴۷	۰/۰۸	۰/۴۲۱	سطح معنی داری
جنس					
۳۵۳/۶a	۹۹/۹۲	۱/۵۰	۷۹/۱a	۵۲/۷۰a	نر
۳۰۸/۸b	۹۹/۸۳	۱/۵۴	۷۴/۰b	۴۸/۰۰b	ماده
۷۶/۳۰	۰/۱۰	۰/۰۱	۱/۰۴	۰/۵۶	SEM
۰/۰۱	۰/۵۷	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۰۱	سطح معنی داری
شنبليله (درصد جیره)					
۳۳۶/۸	۹۹/۷۵	۱/۴۹	۷۷/۴	۷۷/۴	نر صفر
۳۵۶/۱	۱۰۰	۱/۵۴	۸۲/۸	۸۲/۸	نر ۰/۵
۳۶۷/۷	۱۰۰	۱/۴۶	۷۷/۳	۷۷/۳	نر ۱
۳۰۵/۲	۹۹/۷۵	۱/۵۲	۷۲/۶	۷۲/۶	ماده صفر
۳۰۳/۶	۹۹/۷۵	۱/۵۴	۷۴/۲	۷۴/۲	ماده ۰/۵
۳۱۷/۵	۱۰۰	۱/۵۵	۷۵/۲	۷۵/۲	ماده ۱
۱۳۲/۱۶	۰/۱۸	۰/۰۲	۱/۴۷	۰/۹۸	SEM
۰/۶۹	۰/۷۲	۰/۲۴	۰/۱۲	۰/۷۲	سطح معنی داری
تابعیت سطوح مختلف دانه شنبليله					
۰/۱۱	۰/۳۲	۰/۹۷	۰/۵۱	درجه اول (نر)
۰/۹۹	۰/۱۰	۰/۰۴	۰/۲۹	درجه دوم (نر)
۰/۷۴	۰/۴۵	۰/۱۱	۰/۵۴	درجه اول (ماده)
۰/۷۸	۰/۹۴	۰/۸۴	۰/۸۸	درجه دوم (ماده)

a, b, c: میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری با هم دارند ($P < 0.05$).

SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف پودر دانه شنبلیله و جنس بر تیترا آنتی‌بادی بر علیه گلبول قرمز خون (\log_2)

تیمارهای آزمایشی	۲۸ روزگی (اولیه)	۴۲ روزگی (ثانویه)
پودر دانه شنبلیله (درصد جیره)		
صفر	۴/۰۰b	۵/۱۲
۰/۵	۵/۰۰ab	۸/۱۲
۱	۷/۷۵a	۸/۳۷
SEM	۷۸۶	۱/۰۴
سطح معنی‌داری	۰/۰۱	۰/۰۷
جنس		
نر	۵/۳۳	۷/۵۰
ماده	۵/۸۳	۶/۹۱
SEM	۰/۶۴	۰/۸۵
سطح معنی‌داری	۰/۵۹	۰/۶۳
شنبلیله (درصد جیره)		
صفر	۴/۰۰	۵/۵۰
۰/۵	۴/۲۵	۸/۵۰
۱	۷/۷۵	۸/۵۰
صفر	۴/۰۰	۴/۷۵
۰/۵	۵/۷۵	۷/۷۵
۱	۷/۷۵	۸/۲۵
SEM	۱/۱۱	۱/۴۷
سطح معنی‌داری	۰/۷۴	۰/۹۸
تابعیت سطوح مختلف دانه شنبلیله		
درجه اول (نر)	۰/۰۶	۰/۲۴
درجه دوم (نر)	۰/۳۱	۰/۴۹
درجه اول (ماده)	۰/۰۲	۰/۰۷
درجه دوم (ماده)	۰/۹۱	۰/۴۱

a, b, c: میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P < 0.05$).

SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف پودر دانه شنبلیله و جنس بر جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی (Log CFU/g)

لاکتوباسیل	کلی فرم	تیمارهای آزمایشی	
		پودر دانه شنبلیله (درصد جیره)	
۴/۳۵	۲/۹۰	صفر	
۴/۰۸	۲/۷۷	۰/۵	
۴/۶۰	۲/۶۵	۱	
۰/۱۸	۰/۱۳	SEM	
۰/۱۴	۰/۳۷	سطح معنی داری	
		جنس	
۴/۶۶a	۲/۸۴	نر	
۴/۰۳b	۲/۷۱	ماده	
۰/۱۴	۰/۱۰	SEM	
۰/۰۱	۰/۳۷	سطح معنی داری	
		جنس	شنبلیله (درصد جیره)
۴/۸۹	۳/۰۳	نر	صفر
۴/۳۱	۲/۷۶	نر	۰/۵
۴/۷۸	۲/۷۳	نر	۱
۳/۸۱	۲/۷۸	ماده	صفر
۳/۸۵	۲/۷۸	ماده	۰/۵
۴/۴۲	۲/۵۶	ماده	۱
۰/۲۵	۰/۱۸	SEM	
۰/۳۱	۰/۷۵	سطح معنی داری	
		تابعیت سطوح مختلف دانه شنبلیله	
۰/۷۸	۰/۳۱	درجه اول (نر)	
۰/۱۴	۰/۶۴	درجه دوم (نر)	
۰/۰۹	۰/۳۷	درجه اول (ماده)	
۰/۳۸	۰/۵۹	درجه دوم (ماده)	

a, b, c: میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون اختلاف معنی داری با هم دارند ($P < 0.05$).

SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

نتایج

نتایج عملکرد جوجه‌های گوشتی در بازه زمانی ۱-۴۲ در جدول ۲ نشان شده است. در این آزمایش اثرهای اصلی پودر شنبلیله برای صفات افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک، درصد ماندگاری و شاخص تولید اروپایی معنی‌دار نبود. اثرهای اصلی جنس در کل دوره نشان داد که افزایش وزن روزانه بدن، مصرف خوراک و شاخص تولید اروپایی در جنس نر به طور معنی‌داری بیشتر از جنس ماده بود ($P < 0/05$). همچنین اثرهای متقابل در مورد صفات ذکر شده در هیچ یک از بازه‌های زمانی معنی‌دار نبود.

تأثیر گروه‌های آزمایشی بر میزان تیترا آنتی‌بادی علیه گلوبول قرمز گوسفند در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی در جدول ۳ نشان داده شده است. اثرهای اصلی شنبلیله در مورد تیترا آنتی‌بادی در سن ۲۸ روزگی معنی‌دار بود. به طوری که تیترا آنتی‌بادی در سرم جوجه‌های تغذیه شده با ۱٪ پودر شنبلیله، نسبت به گروه شاهد (سطح صفر پودر شنبلیله) به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$).

نتایج مربوط به جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی مختلف در جدول ۴ آورده شده است. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل تحت تأثیر جنس قرار گرفت، بدین صورت که جمعیت این باکتری‌ها در جنس نر نسبت به ماده افزایش یافت ($P < 0/05$). در حالی که اثر پودر دانه شنبلیله بر جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل معنی‌دار نبود. در این مطالعه جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

داده‌های حاصل از بررسی مورفولوژی پرزهای روده جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ آورده شده است. اثرهای اصلی پودر شنبلیله و جنس در مورد طول پرز، عرض پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت معنی‌دار بود. طول پرز، عرض پرز و نسبت

طول پرز به عمق کریپت در روده جوجه‌هایی که با جیره حاوی ۱٪ شنبلیله تغذیه شدند در مقایسه با گروه تغذیه شده با جیره بدون شنبلیله (سطح صفر) به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/05$). همچنین استفاده از جیره‌های حاوی ۱٪ و ۰/۵٪ پودر شنبلیله نیز سبب افزایش نسبت طول پرز به عمق شد ($P < 0/05$). طول پرز، عرض پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت در روده جوجه‌های ماده به طور معنی‌داری در مقایسه با جنس نر بیشتر بود ($P < 0/05$). اثرهای متقابل جنس و شنبلیله در رابطه با طول پرز، عرض پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت معنی‌دار بود. به طوری که طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت در روده جوجه‌های نر تغذیه شده با سطح صفر شنبلیله نسبت به جوجه‌های دیگر تیمارها کمتر بود ($P < 0/05$). همچنین سطح صفر شنبلیله در جنس نر کمترین عرض پرز را در مقایسه با دیگر تیمارها (بجز سطح ۰/۵٪ در جنس نر) داشت ($P < 0/05$). در جنس نر با افزایش سطح دانه شنبلیله عرض پرز به طور خطی افزایش یافت ($P < 0/05$). همچنین در مورد طول پرز در جنس نر، با افزایش سطح دانه شنبلیله روندی از نوع درجه ۲ مشاهده شد.

بحث

در این آزمایش استفاده از پودر شنبلیله در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه، مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک، درصد ماندگاری و شاخص تولید اروپایی نداشت. برخلاف نتایج این تحقیق، در آزمایشی استفاده از ۱٪ دانه شنبلیله با و بدون آنزیم در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش وزن بدن و مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد (Qureshi et al., 2015). گزارش شده است که مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با شنبلیله از طریق افزایش میزان هضم و جذب و از بین بردن میکروب‌های بیماری‌زا و غیر مفید در دستگاه گوارش باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌شود (Qureshi et al., 2015).

جدول ۵- تأثیر سطوح مختلف پودر دانه شنبلیله و جنس بر مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی (میکرومتر)

تیمارهای آزمایشی	طول پرز	عرض پرز	عمق کریپت	طول پرز/عمق کریپت
پودر دانه شنبلیله (درصد جیره)				
صفر	۱۳۷۳c	۱۳۲/۵b	۱۵۵/۰	۸/۸۳b
۰/۵	۱۴۹۶b	۱۳۷/۵b	۱۵۲/۵	۹/۸۳a
۱	۱۶۰۱a	۱۵۰/۰a	۱۵۳/۸	۱۰/۴۳a
SEM	۵/۶۲	۳/۱۷	۳/۲۰	۰/۲۰
سطح معنی‌داری	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۸۶	۰/۰۱
جنس				
نر	۱۳۸۱b	۱۲۹/۲b	۱۵۰/۸	۹/۱۶b
ماده	۱۵۹۹a	۱۵۰/۸a	۱۵۶/۷	۱۰/۲۳a
SEM	۴/۵۹	۲/۵۹	۲/۶۱	۰/۱۷
سطح معنی‌داری	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۱۳	۰/۰۱
شنبلیله (درصد جیره)				
صفر	۱۱۴۵c	۱۱۰/۰c	۱۵۰/۰	۷/۶۴b
۰/۵	۱۳۹۸b	۱۲۷/۵bc	۱۵۰/۰	۹/۳۳a
۱	۱۶۰۰a	۱۵۰/۰a	۱۵۲/۵	۱۰/۵۲a
صفر	۱۶۰۰a	۱۵۵/۰a	۱۶۰/۰	۱۰/۰۲a
۰/۵	۱۵۹۵a	۱۴۷/۵ab	۱۵۵/۰	۱۰/۳۴a
۱	۱۶۰۲a	۱۵۰/۰a	۱۵۵/۰	۱۰/۳۴a
SEM	۷/۹۵	۴/۴۸	۴/۵۲	۰/۲۹
سطح معنی‌داری	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۷۰	۰/۰۱
تابعیت سطوح مختلف دانه شنبلیله				
درجه اول (نر)	۰/۱	۰/۰۱	۰/۶۹	۰/۱
درجه دوم (نر)	۰/۰۴	۰/۶۸	۰/۸۲	۰/۴۵
درجه اول (ماده)	۰/۸۱	۰/۴۰	۰/۴۷	۰/۴۷
درجه دوم (ماده)	۰/۴۸	۰/۳۳	۰/۶۸	۰/۶۹

a, b, c: میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم دارند ($P < 0.05$).

SEM: انحراف معیار میانگین‌ها

(مخلوط دو جنس) تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۳٪ پودر دانه شنبلیله تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد

در حالی‌که در توافق با نتایج این تحقیق، در آزمایشی مصرف خوراک و افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی

نداشت (Rabia, 2010). به‌طور کلی نتایج تحقیقات در مورد بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی در زمان استفاده از گیاهان دارویی در جیره جوجه‌های گوشتی متفاوت است که این تفاوت‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع جیره، سن، میزان آلودگی و سایر عوامل تنش‌زا باشد (Patel et al., 2017). در این آزمایش تیمر آنتی‌بادی در سرم جوجه‌های تغذیه شده با ۱٪ پودر شنبلیله نسبت به گروه شاهد (سطح صفر پودر شنبلیله) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان پاسخ آنتی‌بادی‌های علیه گلبول قرمز گوسفند نشان‌دهنده وضعیت سیستم ایمنی همورال است (Grasman, 2010). گلبول قرمز گوسفند به‌عنوان یک ماده خارجی نقش آنتی‌ژن را ایفاء نموده و سیستم ایمنی را تحریک می‌کند. این آنتی‌ژن ممکن است به‌طور مستقیم لئوسیت‌های B را تحریک نموده و یا اینکه موجب فعال شدن سلول‌های T و در نهایت تحریک سلول‌های B شود (Hoseinyan Bilandi et al., 2018). در توافق با نتایج این تحقیق استفاده از اسانس شنبلیله در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش تیتراژ آنتی‌بادی علیه واکنش آفلوآنزا شد (Parvizi et al., 2020). ترکیب‌های فنولی موجود در گیاهان دارویی علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی موجب تحریک سیستم ایمنی حیوانات می‌شوند (Lei et al., 2018؛ Raziq et al., 2012). در مطالعه‌ای دیگر اثر جنس بر پاسخ ایمنی همورال معنی‌دار نبود، اما ظاهراً طیور ماده در پاسخ به تزریق SRBC حساسیت بالاتری نسبت به نرها داشتند که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (Hashemi Attar et al., 2010). بر خلاف نتایج این تحقیق نتایج حاصل از پژوهشی نشان داد که استفاده از مخلوط شنبلیله با رازیانه یا اسید استیک (به‌صورت ترکیبی) در جیره جوجه‌های گوشتی، هیچ‌گونه اثر معنی‌داری بر میزان تیتراژ آنتی‌بادی علیه SRBC نداشت (Salary et al., 2014). در مطالعه‌ای دیگر استفاده از سطوح مختلف پودر شنبلیله اثر معنی‌داری بر پارامترهای ایمنی مرغ‌های تخمگذار نداشت (Motamedi & Mehdizade Taklimi, 2017).

جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی نداشت. البته تاکنون تحقیقات زیادی در مورد اثرهای پودر دانه شنبلیله بر جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی منتشر نشده است. در توافق با نتایج این تحقیق در آزمایشی استفاده از مخلوط شنبلیله با رازیانه یا اسید استیک (به‌صورت ترکیبی) اثر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم و کل باکتری‌ها نداشت (Salary et al., 2014). برخلاف این نتایج، برخی تحقیقات نشان داده‌اند که استفاده از ترکیب‌های فیتوژنیک در جیره جوجه‌های گوشتی سبب تسهیل رشد جمعیت لاکتوباسیل‌های روده می‌شود (Steiner & Syed, 2015). همچنین در آزمایشی استفاده از اسانس شنبلیله در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کاهش رشد جمعیت *E. Coli* در روده شد (Parvizi et al., 2020). در تحقیقی استفاده از دانه شنبلیله سبب کاهش رشد جمعیت *E. Coli* در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) شد و این اثر به ترکیب‌های فعالی مانند فنیل پروپانویدها، تری‌ترینوئیدها، ساپونین‌ها و بسیاری دیگر از اجزای موجود در آن نسبت داده شد (Qureshi et al., 2015).

اثرهای اصلی پودر شنبلیله و جنس نشان داد که طول پرز، عرض پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت در روده جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۱٪ شنبلیله در مقایسه با گروه شاهد (سطح صفر پودر شنبلیله) و در جنس نر نسبت به جنس ماده بیشتر بود ($P < 0.05$). البته تأثیر گیاهان دارویی بر خصوصیات مورفولوژیکی روده اخیراً مورد توجه قرار گرفته است. تاکنون تحقیقات زیادی در مورد اثرهای پودر دانه شنبلیله بر مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی منتشر نشده است. در توافق با این نتایج، در تحقیقی استفاده از شنبلیله به‌صورت ترکیبی با زردچوبه در جیره جوجه‌های گوشتی (مخلوط دو جنس) سبب افزایش طول پرزهای روده شد (Abdel-Rahman et al., 2014). بهبود در نسبت طول به عمق کریپت به‌عنوان شاخص خوبی برای سلامت روده در نظر گرفته شده و این اثرهای مثبت در بافت روده جوجه‌های گوشتی توسط دانه شنبلیله می‌تواند به خواص آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داده شود

- composition in growing-finishing pigs. Italian Journal of Animal Science, 17(4): 984-993.
- Loddi, M., Mreas, I.S.O., Nakaghi, F., Tucci, M. and Ariki, J., 2004. Mannan oligosaccharide and organic acids on performance and intestinal morphometric characteristics of broiler chickens. Proceedings of the 20th Annual Symposium, The Asian-Australasian Journal Animal Science, 1: 45.
 - Motamedi, S.M. and Mehdizade Taklimi, S.M., 2017. The effects of different levels of garlic and fenugreek powder on performance, egg quality and hematological parameters and antibody titer of commercial laying hens. Research on Animal Production, 8(15): 124-128.
 - Park, J.H. and Kim, I.H., 2015. Interactive effects of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed extract supplementation and dietary metabolisable energy levels on the growth performance, total tract digestibility, blood profiles, and excreta gas emission in broiler chickens. Animal Production Science, 56: 1677-1682.
 - Parvizi, O., Khani, R.T., Aboozari, M. and Fathizadeh, F., 2020. Performance, some immune parameters and intestinal microbial flora of Ross 308 broiler chicks fed by Fenugreek essential oil. Network Biology, 10: 77-83.
 - Patel, R.M., Garg, D.D., Patel, V.R., Vahora Raval, A.P. and Choubey, M., 2017. Effect of dietary supplementation of garlic (*Allium sativum*) and Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed powder on growth performance, carcass characteristics and economics of feeding in broilers. Journal of Animal Research, 7: 313-318.
 - Petropoulos, G.A., 2002. Fenugreek: the Genus *Trigonella*. CRC Press, 224p.
 - Qureshi, S., Banday, M.T., Adil, S., Shakeel, I. and Munshi, Z.H., 2015. Effect of dandelion leaves and fenugreek seeds with or without enzyme addition on performance and blood biochemistry of broiler chicken and evaluation of their in vitro antibacterial activity. Indian Journal of Animal Sciences, 85: 1248-1254.
 - Rabia, J.A., 2010. Effect of using fenugreek, parsley and sweet basil seeds as feed additives on the performance of broiler chickens. Journal of Poultry Science, 993: 278-282.
 - Rajabi Hashjin, M., Asghari, A., Zeinalabedini, M. and Ghaffari, M., 2019. Comparison of trigonelline content in some species of medicinal plant of fenugreek (*Trigonella* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 35: 721-730.
 - Rasa Ezadi, M., Salmoini, M., Afsharmanesh, M., Tavakoli, H. and Khajeh Bami, M., 2019. The effect of hydroalcoholic extract of *Allium hirtifolium* compare to flavophospholipol on growth
- از گیاهان دارویی باعث کاهش واکنش‌های التهابی در مخاط روده شده، در نتیجه باعث بهبود خصوصیات مورفولوژیکی روده می‌شود (Loddi et al., 2004).
- به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از سطح ۱٪ پودر دانه شنبلیله در جیره جوجه‌های گوشتی نر و ماده سبب بهبود مورفولوژی روده و پاسخ ایمنی می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Abdel-Rahman, H.A., Fathallah, S.I. and Helal, A.A., 2014. Effect of turmeric (*Curcuma longa*), fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) and/or bioflavonoid supplementation to the broiler chick's diet and drinking water on the growth performance and intestinal morphometric parameters. Global Veterinaria, 12(5): 627-635.
- Dixit, P., Ghaskadbi, S., Mohan, H. and Devasagayam, T.P., 2005. Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. Phytotherapy Research, 19(11): 977-983.
- Grasman, K.A., 2010. In vivo functional tests for assessing immunotoxicity in birds: 387-398. In: Dietert, R.R., (Ed.). Immunotoxicity Testing: Methods and Protocols. Humana Press, 430p.
- Hashemi Attar, M., Arshami, G., Esmail Zadeh, H. and Majid Zadeh Heravi, R., 2010. Effects of garlic on humeral immune system in broiler chicks. Iranian Journal of Animal Science Research, 2: 43-51.
- Hoseinyan Bilandi, S.H., Hosseini, S.M., Mojtahedi, M. and Bashtani, M., 2018. Effect of Thyme and Ziziphora essence on performance, microbial population and immune response of broiler chickens. Animal Production Research, 7: 53-65.
- Khajeh Bami, M., Afsharmanesh, M., Salmoini, M. and Tavakoli, H., 2018. Effect of zinc oxide nanoparticles and *Bacillus coagulans* as probiotic on growth, histomorphology of intestine, and immune parameters in broiler chickens. Comparative Clinical Pathology, 27: 399-406.
- Khorshidian, N., Yousefi Asli, M., Arab, M., Adeli Mirzaie, A. and Mortazavian, A.M., 2016. Fenugreek: potential applications as a functional food and nutraceutical. Nutrition and Food Sciences Research, 3: 5-16.
- Lei, X, J., Yun, H.M. and Kim, I.H., 2018. Effects of dietary supplementation of natural and fermented herbs on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters, meat quality and fatty acid

- Sharifi, S.D., Hasani Khorsandi, S., Khadem, A.A. and Salehi, A., 2013. Effect of four medicinal plants with antibacterial property on immune system and ileal bacteria population of broilers. *Veterinary Arhiv*, 83: 69-80.
- Steiner, T. and Syed, B., 2015. Phytogenic feed additives in animal nutrition: 403-423. In: Mathe, A., (Ed.). *Medicinal and Aromatic Plants of the World*. Springer, Dordrecht, 460p.
- Tadayyon, A., Naeimi, M.M. and Pessarakli, M., 2018. Effects of vermicompost and vermiwash biofertilizers on fenugreek (*Trigonella foenum*) plant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 49(19): 2396-2405.
- Wegmann, T.G. and Smithies, O., 1966. A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. *Transfusion*, 6: 67-73.
- performance, some blood parameters, microbial population, and intestinal morphology in broiler chickens. *Veterinary Researches and Biological Products*, 128: 8-16.
- Raziq, F., Khan, S., Chand, N., Sultan, A., Mushtaq, M., Suhail, S. and Zeb, A., 2012. Effect of water based infusion of *Aloe barbedensis*, *Pimpinella anisum*, *Berberis lycium*, *Trigonella foenum-graecum* and *Allium sativum* on the performance of broiler chicks. *Pakistan Veterinary Journal*, 32: 539-596.
- Salary, J., Kalantar Neyestanaki, M. and Sahebi Ala, F., 2014. The effects of citric acid and two medicinal plants fennel and fenugreek on growth performance, Humoral immunity, serum protein and intestinal microbial population in broilers. *Iranian Veterinary Journal*, 10(3): 43-48.

Effects of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed powder and sex on performance, immune response, and intestinal microflora and morphology of broilers

M. Mohammadzadeh¹, M. Salarmoini², M. Afsharmanesh² and M. Khajeh Bami^{3*}

1- M.Sc. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3*- Corresponding author, Ph.D. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, E-mail: mkhaje@agr.uk.ac.ir

Received: May 2021

Revised: July 2021

Accepted: August 2021

Abstract

To investigate the effects of sex and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed powder on the growth performance, immune response, and intestinal microflora and morphology of broilers, a factorial experiment was conducted with 240 one-day-old broilers (strain Ross308, 120 males and 120 females) in a completely randomized design with three levels of fenugreek seed powder (zero, 0.5, and 1 %) and two sex (male and female) with four replications and 10 birds per replicate. The results showed that the body weight gain, feed intake, European efficiency factor, and intestinal *Lactobacillus* bacteria population were higher in the males than the females ($P<0.05$). The main effects of fenugreek seed powder and sex showed that the length and villi width and villus length to crypt depth ratio were higher in the intestine of chickens fed with the diet containing 1% fenugreek than the control and in the males than the females ($P<0.05$). The interactions showed that the length and villi width and villus length to crypt depth ratio were lower in the intestines of males fed with the control diet compared to the other groups ($P<0.05$). The antibody titer against the sheep red blood cells in the serum of chickens fed with the diet containing 1% fenugreek was higher than the control ($P<0.05$). In general, the results showed that adding 1% fenugreek seed powder to the broilers diet had beneficial effects and could improve the intestinal morphology and immune response.

Keywords: Antibody titer, broiler, fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.), villi length, *Lactobacillus*.