

ผลของ *Bacillus toyonensis* ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและการเกิดท้องเสีย ของสุกรหย่านม

Effect of *Bacillus toyonensis* on growth performance and diarrhoea incidence
of weaning pigs

ศราราม ทองดี¹, วันดี ทาตระกูณ^{1*}, รังสรรค์ เจริญสุข¹, ทศพร อินเจริญ¹,
สนธยา นุ่มท้วม¹, นิทัศน์ วิชาสี¹ และ อติศักดิ์ คงแก้ว¹

Sonram Thongdee¹, Wandee Tartrakoon^{1*}, Rangsun Charoensook¹,
Tossaporn Incharoen¹, Sonthaya Numthum¹, Nithat Wichasit¹ and Adisak Kongkeaw¹

บทคัดย่อ: โปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพ และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของสุกรหย่านม ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของ *Bacillus toyonensis* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และการเกิดท้องเสีย โดยทดสอบในสุกรหย่านม ดุริโอก x (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) หย่านมที่ 21 วัน จำนวน 96 ตัว เลี้ยงสุกรแบบขังรวมคอกละ 8 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ สุกรทั้ง 3 กลุ่มได้รับอาหารทดลองดังต่อไปนี้ กลุ่มควบคุม ได้รับอาหารพื้นฐานที่ประกอบด้วยแหล่งวัตถุดิบอาหารหลัก คือ ปลายข้าว กากถั่วเหลือง และถั่วเหลืองไขมันเต็ม และกลุ่มที่ได้รับอาหารพื้นฐานเสริม *B. toyonensis* ระดับ 0.5×10^9 CFU/kg และ 1.0×10^9 CFU/kg ตามลำดับ บันทึกอัตราการเกิดท้องเสีย ปริมาณอาหารที่กิน และน้ำหนักตัวสุกรหย่านม โดยเลี้ยงสุกรเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ จากผลการศึกษพบว่า อัตราการเกิดท้องเสียของสุกรหย่านมในกลุ่ม *B. toyonensis* ระดับ 0.5×10^9 CFU/kg และ 1.0×10^9 CFU/kg มีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุมในช่วงสัปดาห์แรกหลังหย่านม และอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ของสุกรหย่านมในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 3 ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สรุปได้ว่า *B. toyonensis* มีศักยภาพช่วยลดการเกิดท้องเสียหลังหย่านม และปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตของสุกรในช่วง 3 สัปดาห์หลังหย่านม

คำสำคัญ: โปหม่อนหมัก, ไข่พื้นเมือง, ประดูหางดำ, สมรรถภาพการเจริญเติบโต

ABSTRACT: Probiotics are microorganisms that play an important role in health and increase the growth performance of weaning pigs. Therefore, the aims of this study were to evaluate the effects of *Bacillus toyonensis* on growth performance and diarrhoea incidence of weaning pigs. A total of 96 Duroc x (Large White x Landrace) pigs were weaned at 21 days of age and divided into 3 experimental groups, each group contained 4 replications (8 pigs/pen as replication) as follows: 1) control group fed basal diet contained the main feed ingredients such as broken rice meal, soybean meal and full fat soybean; 2) and 3) experimental groups fed basal diet supplemented with *B. toyonensis* at 0.5×10^9

¹ สาขาวิชาสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

Animal science and feed technology, Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture Natural Resource and Environment, Naresuan University

* Corresponding author: wandeeta@nu.ac.th

CFU/kg and 1.0×10^9 CFU/kg, respectively. Diarrhoea incidence, feed intake, and body weight of the pigs were recorded weekly for 6 weeks. The results showed that the pigs fed diet with *B. toyonensis* supplementation reduced incidence of diarrhoea ($P < 0.05$) during the first 3 weeks (1-21 days) of monitoring this parameter, and showed better average daily gain and feed efficiency ($P < 0.05$) during the first 3 weeks and better average daily gain during the whole trial period (1-6 weeks) ($P = 0.08$) compared with the control. In conclusion, *B. toyonensis* has the potential to reduce diarrhoea incidence and improve growth performance of piglets after weaning.

Keywords: probiotics, diarrhoea, weaning pigs

บทนำ

โปรไบโอติกเป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ทางเลือกอีกชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์ทางด้านสุขภาพและประสิทธิภาพการผลิตของสัตว์ เนื่องจากมีบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญในระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งยังเป็นทางเลือกทดแทนยาปฏิชีวนะซึ่งก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อสัตว์ และการตกค้างในผลิตภัณฑ์ของสัตว์ (Kantas et al., 2014) ด้วยกลไกการทำงานของโปรไบโอติกจะเข้าไปยึดเกาะกับผนังลำไส้แล้วปรับสภาวะสิ่งแวดล้อมภายในลำไส้ให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์หรือปรับโครงสร้างของเยื่อผิวลำไส้ให้มีความแข็งแรงป้องกันไม่ให้เชื้อก่อโรคผ่านได้ อีกทั้งยังกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสุกร สำหรับการใช้โปรไบโอติกในอาหารสุกรส่วนใหญ่จะให้โดยตรงเพราะง่ายต่อการใช้ แต่มีข้อควรพิจารณา คือจะต้องเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อต้นทุนการผลิต และสามารถทนต่อกระบวนการผลิตอีกด้วย (วันดี และคณะ, 2554) เช่น สายพันธุ์ของบาซิลลัสซึ่งมีการรายงานว่าสามารถควบคุมปริมาณประชากรของจุลินทรีย์ รวมไปถึงกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสุกรหย่านมได้ (Lee et al., 2014)

Bacillus toyonensis หรือที่มีชื่อเดิมว่า *B. cereus* var. *toyoi* เป็นโปรไบโอติกที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติไม่ก่อให้เกิดสารพิษ และไม่เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อโรค โดยสปอร์ของ *B. toyonensis* สามารถเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 8 ถึง 55°C แต่จะเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิ 28 ถึง 35°C (Williams et al., 2009) จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า การให้ *B. toyonensis* ในแม่สุกรสามารถลดการส่งผ่านเชื้อ *E. coli* ก่อโรคสุกสุกร และลดอัตราการท้องเสียในฝูงลูกสุกร (Scharek et al., 2007) อีกทั้งยัง

สามารถลดการยึดเกาะของ *E. coli* ในเซลล์เยื่อผิวในลำไส้ทำให้สุกรหย่านมมีสุขภาพที่ดีขึ้น (Ortiz et al., 2018) ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อประเมินผลของการเสริม *B. toyonensis* ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสุกรหลังหย่านม และการควบคุมท้องเสียของสุกรหลังหย่านม

วิธีการศึกษา

การศึกษาในสุกรนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่อการทดลองทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ NU-AG610505 โดยได้ดำเนินงาน ณ สถานีวิจัยปฐราชชนก คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

ศึกษาในสุกรลูกผสม 3 สายพันธุ์ (ดรีค x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) จำนวน 96 ตัว ประกอบด้วยเพศเมีย 48 ตัว และเพศผู้ 48 ตัว หย่านมที่อายุ 21 วัน น้ำหนักตัวเฉลี่ย 6.90 ± 0.38 กก. แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มทดลอง ได้แก่ กลุ่มควบคุมได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมโปรไบโอติกในอาหาร กลุ่มที่ได้รับ *B. toyonensis* ในระดับ 0.5×10^9 CFU/kg และกลุ่มที่ *B. toyonensis* ในระดับ 1.0×10^9 CFU/kg ตามลำดับ อาหารที่ใช้ทดสอบผ่านกระบวนการผลิตและอัดเม็ดตามมาตรฐานการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยไม่มีการเสริมยาปฏิชีวนะในอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร อาหารทดลองผลิตโดยบริษัทศูนย์วิจัยสัตว์กรุงเทพ จำกัด (Bangkok Animal Research Center Co., LTD.) โดยใช้แหล่งวัตถุดิบอาหารหลักคือ ปลายข้าว กากถั่วเหลือง และถั่วเหลืองไขมันเต็ม เป็นหลัก มีองค์ประกอบของโภชนาตามความต้องการโภชนาอย่างครบถ้วนอ้างอิงตาม NRC (2012) ผ่านการตรวจ

วิเคราะห์ปริมาณ *B. toyonensis* และปริมาณโภชนาตามที่กำหนดตามแผนการทดลอง โดยใช้แผนการทดลอง Completely randomize design (CRD) สุนัขทั้ง 96 ตัว จะถูกเลี้ยงในกรงทดลองซึ่งรวมจำนวน 12 คอกๆ ละ 8 ตัว ภายในคอกมีเพศผู้และเพศเมียอย่างละเท่าๆ กัน สุนัขทุกตัวจะได้รับอาหารอย่างเต็มที่ และมีน้ำสะอาดกินตลอดเวลา เก็บข้อมูล ได้แก่ น้ำหนักสุนัขหย่านม และปริมาณอาหารที่กิน เพื่อคำนวณอัตราการเจริญเติบโต อัตราการกินได้ต่อวัน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ตลอดจนการทดลองทำการประเมินคะแนนมูลเพื่อวิเคราะห์อัตราการท้องเสีย โดยมีคะแนนดังนี้ 1 = อุจจาระเป็นเนื้อก้อนแข็ง 2 = อุจจาระเป็นเนื้อก้อนดี 3 = อุจจาระเป็นเนื้อก้อนไม่คงรูป และ 4 = อุจจาระเหลวเป็นน้ำ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ท้องเสียโดยการกำหนดให้ลักษณะที่มีคะแนน 3 และ 4 เป็นการเกิดท้องเสีย 1 ครั้ง นำข้อมูลการเกิดท้องเสียมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดท้องเสียและการเกิดท้องเสียรายคอก ตามวิธีของ Kyriakis et al. (2003)

ข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี one way ANOVA โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V.20 วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test การประเมินผลการเกิดท้องเสียโดยการคำนวณ ค่าวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี applying Nonparametric test (e.g. Independent –Samples Kruskal-Wallis Test, significance level 0,05)

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาสุนัขหย่านมที่ได้รับ *B. toyonensis* ทั้งสองกลุ่ม พบว่าคะแนนท้องเสียรายคอก และเปอร์เซ็นต์การเกิดท้องเสีย ในสัปดาห์แรกของการทดลอง มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ส่วนในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ก็ยังพบว่ากลุ่มควบคุมมีอัตราการท้องเสียมากกว่ากลุ่มที่ได้รับ *B. toyonensis* แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (Table 1) ซึ่งผลอัตราการเกิดท้องเสียไปในแนวทางเดียวกับ Kantas et al. (2014) และรายงานของ Kyriakis et al. (1992) พบว่าความถี่ของอัตราการเกิดท้องเสีย

เกิดขึ้นในกลุ่มที่ไม่ได้เสริม *B. Licheniformis* และ *B. toyoi* มากกว่ากลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกทั้งสอง โดยสังเกตจากคะแนนมูลของสุนัขที่มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม *B. Licheniformis* และ *B. toyoi* ซึ่งจากการศึกษาพบว่า คะแนนท้องเสียรายคอก และเปอร์เซ็นต์การเกิดท้องเสีย ในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากในการเลี้ยงเมื่อพบสุนัขเกิดอาการท้องเสียติดต่อกันมากกว่า 3 วัน ได้ทำการรักษาโดยการให้ยาปฏิชีวนะตามขั้นตอนหลักปฏิบัติจรรยาบรรณการใช้สัตว์ อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณรวมอัตราการเกิดท้องเสียตลอดทั้ง 3 สัปดาห์หลังหย่านม พบว่าการเกิดท้องเสียในกลุ่มที่เสริม *B. toyonensis* ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม *B. toyonensis* ($P < 0.05$) ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนว่าการเสริม *B. toyonensis* ช่วยลดการเกิดอาการท้องเสียหลังหย่านมได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งช่วยส่งผลดีด้านอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารที่แสดงใน Table 2 ที่พบว่าประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสุนัขหย่านมตลอดการทดลองในกลุ่มที่ได้รับ *B. toyonensis* ในระดับที่ 0.5×10^9 CFU/kg และ 1.0×10^9 CFU/kg พบความแตกต่างทางสถิติ ของสุนัขหย่านมในช่วง 3 สัปดาห์แรก ประสิทธิภาพการผลิตกลุ่มที่ได้รับ *B. toyonensis* ระดับ 0.5×10^9 CFU/kg และ 1.0×10^9 CFU/kg อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่ากลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) รวมทั้งส่งผลให้เมื่อประเมินอัตราการเจริญเติบโตหลังหย่านมเฉลี่ย 6 สัปดาห์ กลุ่มที่เสริม *B. toyonensis* ระดับ 0.5×10^9 CFU/kg ดีกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.1$) เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Kantas et al. (2014) ได้ทดสอบ *B. toyonensis* ในสุนัขหย่านมที่ระดับ 0.5×10^9 CFU/kg และ 1.0×10^9 CFU/kg feed ในระยะเวลา 42 วัน พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของสุนัขหย่านมอยู่ที่ 426 และ 441 ก./วัน และมีประสิทธิภาพการใช้อาหาร 0.64 และ 0.65 ตามลำดับ ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ดัชนีชี้วัดต่อประสิทธิภาพการผลิตมีความใกล้เคียงกับการทดลองก่อนหน้านี้ อีกทั้งยังมีรายงานว่า การใช้ *B. toyonensis* ในระดับ 2×10^9 กก./นน.ตัว/วัน รวมถึงเสริมในอาหารสุนัขหย่านมทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโตดีขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (Shimura et al., 1977)

Table 1 Diarrhoea parameters of weaning pigs

Parameter	control	<i>B. toyonensis</i> (CFU/kg)		SEM	P-value (Kruskal-Wallis Test)
		0.5x10 ⁹	1.0x10 ⁹		
Pen diarrhoea Score ¹					
Week1	0.71 ^a	0.18 ^b	0.14 ^b	0.097	0.021 [*]
Week2	0.36	0.00	0.00	0.107	0.113
Week3	0.29	0.18	0.07	0.061	0.339
1-21 Days (Total period)	0.43 ^a	0.10 ^b	0.09 ^b	0.066	0.029 [*]
%Diarrhoea ²					
Week1	31.25 ^a	9.38 ^b	9.38 ^b	0.042	0.036 [*]
Week2	9.38	0.00	0.00	0.023	0.113
Week3	18.75	9.38	3.13	0.038	0.260
1-21 Days (Total period)	31.25 ^a	12.50 ^b	9.38 ^b	0.039	0.030 [*]

^{a,b} Means or percentages within the same row with different superscript differ significantly,

^{*} Significantly different from the control value at P<0.05

¹ Pen diarrhoea score = [(Pig1×days of scouring) + ...+(Pig3×days of scouring)]/(21 days).,

² Diarrhoea percentage = (No. of pigs in each treatment group has a clinical sign of diarrhoea in the same day* 100) / Total number of pigs in treatment group.

Table 2 Effect of probiotic *Bacillus toyonensis* on growth performance of weaning pigs

Item	control	<i>B. toyonensis</i> (CFU/kg)		SEM	P-value
		0.5x10 ⁹	1.0x10 ⁹		
1 to 3 wk					
ADG ¹ (g/d)	185.81 ^b	229.89 ^a	216.70 ^a	6.825	0.007 [*]
ADFI ² (g/pig/d)	322.07	339.40	326.88	6.866	0.614
FE ³	0.58 ^b	0.68 ^a	0.67 ^a	0.019	0.040 [*]
4 to 6 wk					
ADG(g/d)	585.88	599.94	592.96	7.616	0.788
ADFI(g/pig/d)	969.49	954.67	945.22	16.328	0.856
FE	0.61	0.63	0.63	0.009	0.476
1 to 6 wk					
ADG(g/d)	385.84 ^b	414.91 ^a	404.83 ^{ab}	5.545	0.080 ^{**}
ADFI(g/pig/d)	645.79	647.03	636.05	10.607	0.915
FE	0.60	0.64	0.64	0.010	0.174

¹ ADG = Average Daily Gain

² ADFI = Average Daily Feed Intake

³ FE = Feed Efficiency

^{*} Significantly different from the control value at P<0.05

^{**} Significantly different from the control value at P<0.1.

สรุป

การเสริม *B. toyonensis* ที่ระดับ 0.5 x10⁹ CFU/kg และ 1.0 x10⁹ CFU/kg ในอาหารของสุกรช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต และช่วยลดอัตราการเกิดท้องเสียของสุกรหลังหย่านมได้

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมของศักยภาพการใช้ *B. toyonensis* ในฟาร์มเลี้ยงสุกรทางการค้า ที่มีการเลี้ยงสุกรอย่างหนาแน่นต่อไป เพื่อประเมินผลทางเศรษฐกิจต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัท Rubinum SA, Spain และ บริษัท ออคต้า เมมโมเรียล จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- วันดี ศิริโชคชวัล, ธงชัย เฉลิมชัยกิจ, และณัฐวีร์ ประภัสระกุล. 2554. บทบาทของโปรไบโอติกในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร. ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร 1-11.
- Kantas, D., V. G. Papatsiros, P. D. Tassis, I. Giavasis, P. Bouki and E. D. Tzika. 2014. A feed additive containing *Bacillus toyonensis* (Toyocerin) protects against enteric pathogens in postweaning piglets. *Applied Microbiology*. 118:727-738.
- Kyriakis, S. C., V.K. Tsiloyiannis, J. Vlemmas, K. Sarris, A.C. Tsinas, C. Alexopoulos and L. Jansegers. 1992. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. *Research in Veterinary Science* 1999. 67:223-228.
- Kyriakis, S. C., I. Georgoulakis, A. Spais, C. Alexopoulos, C. C. Miliotis and S. K. Kritas. 2003. Evaluation of toyocerin, a probiotic containing *Bacillus toyoi* spores, on health status and productivity of weaned, growing and finishing pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 16(9):1326-1331.
- Lee, S. H., S. L. Ingalea, J. S. Kima, K. H. Kima, Anushka Lokhandea, E. K. Kimb, I. K. Kwona, Y. H. Kimc and B.J. Chaea. 2014. Effects of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* LS1-2 fermentation biomass on growth performance, nutrient digestibility, cecal microbiota and intestinal morphology of weanling pig. *Animal Feed Science and Technology*. 188:102-110.
- NRC. 2012. Nutrient Requirements of Swine: Eleventh Revised Edition: NRC 2012 Models for Estimating Nutrient Requirements of Pigs Case studies. 11th Edition. National Research Council, U.S.
- Ortiz-Gonzalez, G., D. sola-Oriol, M. Cerda-Cuellar, A.Castelle, M. Castillo, and S. M. Martin-Orue. 2018. Study of the ability of *Bacillus toyonensis* to interfere with the quorum-sensing systems of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 in the pig gut. *American Society of Animal Science*. 70-74.
- Scharek, L., J. Guth, M. Filter and M. F. Schmidt. 2007. Impact of the probiotic bacteria *enterococcus faecium* NCIMB 10415 (SF68) and *Bacillus cereus* var. *toyoi* NCIMB 40112 on the development of serum IgG and faecal IgA of sows and their piglets. *Arch Anim Nutr*. 61:223-234.
- Shimura, T., Y. Hoshino, Y. Yamane, K. Hayano and M. Kozasa. 1977. Long-term oral

safety in swine of toyocerin (feed additive containing viable *Bacillus toyoi* spores): six month feeding trial. *Jpn. J. Vet. Med.* 677:738-740.

Williams, D. Lonnie, A. George, Burdock, Guillermo Jimenez and Marisol Castillo. 2009. Literature review on the safety of Toyocerin®, a non-toxigenic and non-pathogenic *Bacillus cereus* var. *toyoi* preparation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 55:236-246.