

飼料添加芽孢桿菌對離乳仔豬生長表現的影響⁽¹⁾

吳鈴彩⁽²⁾ 林幼君⁽³⁾ 張俊達⁽⁴⁾ 王錦盟⁽⁴⁾⁽⁵⁾ 劉芳爵⁽⁴⁾

收件日期：108 年 4 月 8 日；接受日期：108 年 5 月 21 日

摘 要

添加於畜禽飼料中的抗生素種類逐年縮減為國際及國內未來之趨勢，因應此趨勢，開發芽孢桿菌作為經濟動物保健用飼料添加物，取代飼料中抗生素的添加為一項可行策略。本試驗以 30 頭 28 日齡離乳仔豬為試驗動物，隨機分為 3 組，分別為對照組、添加凝結芽孢桿菌 R6 組 (*Bacillus coagulans* R6) 及芽孢桿菌 S10 組 (*B. coagulans* S10)。試驗期間測定採食量、增重、飼料效率及糞便中大腸桿菌群與乳酸菌菌落。試驗結果，三組之仔豬採食量分別為 0.40 ± 0.05 、 0.47 ± 0.06 及 0.50 ± 0.03 kg/day/piglet。顯示補充芽孢桿菌 R6 與 S10 可提高仔豬採食量 ($P < 0.05$)。對照組、R6 與 S10 處理組仔豬的日增重，分別為 0.22 ± 0.01 、 0.23 ± 0.05 與 0.27 ± 0.04 kg/day/piglet，添加芽孢桿菌組的日增重均高於對照組的趨勢 ($P = 0.064$ / R6 組； $P = 0.067$ / S10 組)，在飼料效率方面則無顯著差異。另外，補充 R6 與 S10，並未顯著提高糞便中大腸桿菌或乳酸菌數。綜合所述，飼料中添加 R6 或 S10，均可增加離乳仔豬的採食量及日增重，但對飼料效率、糞便大腸桿菌群及乳酸菌數，則均無顯著影響。

關鍵詞：芽孢桿菌、飼料添加物、離乳仔豬。

緒 言

益生菌 (probiotics) 早在數百年前，歐洲人便以優酪乳或發酵乳的形式食用。但是當時並不了解它對健康的效益。一直到 1908 年，由俄國諾貝爾獎得主 Elie Metchnikoff 首次描述益生菌的效益，他指出發酵後的牛乳中所含的乳酸菌對人體的健康具有益處。一般而言，理想的益生菌需能抵抗胃酸與膽鹽的破壞、無病原、需能定殖於腸道上皮細胞且能進行繁殖及調節腸道之免疫反應 (黃及陳, 2009)。歐盟及美國分別於 2006 及 2017 年禁止飼料添加抗生素生長促進劑，我國目前政策也朝向此項國際的趨勢，逐年刪減有關具抗生素之含藥飼料添加物的品項。因此，開發新型式的「抗生素生長促進劑替代品」，其中益生菌的動物用飼料添加物可能扮演非常重要角色，強化畜禽的生長性能、免疫力及健康管理，以作為提升國內畜禽產品衛生安全的一項可行策略。

飼料添加物的芽孢桿菌產品為內生孢子形態，由於孢子較能耐酸鹼、高溫及高壓，在飼料加工和儲存過程中較不易失去活性。該類細菌為好氧性或兼氧性細菌，經由耗氧作用而幫助厭氧菌的生長，在維持腸道微生物平衡發揮重要的作用 (Hooge, 2003)。本試驗分別以劉等 (2015) 篩選自牛隻瘤胃液與豬隻糞便的 2 株芽孢桿菌，探討作為飼料添加物之益生菌菌種來源，進行仔豬飼料添加物飼養試驗，評估仔豬飼料中添加芽孢桿菌對仔豬生長性能的影響。

材料與方法

I. 芽孢桿菌來源

以篩選自牛隻瘤胃液與豬隻糞便得到的 4 株與 2 株芽孢桿菌，經菌種鑑定、耐酸 (pH2)、耐膽鹽 (2%)、耐高溫 (90°C) 及具產孢子的能力測試後，選取 *B. coagulans* R6 與 *B. coagulans* S10 芽孢桿菌，並進行發酵生產菌粉供試驗用。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2612 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所加工組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(5) 通訊作者，E-mail：cmwang@mail.tlri.gov.tw。

II. 動物試驗

使用 4 週齡 LD 二品種離乳仔豬 30 頭依體重及性別隨機分成 3 組，每組 5 欄 / 重複，豬隻飼養於高床傳統豬舍。包括對照組 (給飼 CP 20.0% 及 ME 3,163 kcal/kg 保育料，表 1)、添加 R6 組及 S10 組，使保育料中芽孢桿菌數達 10^8 CFU/kg，試驗於自 2018 年 7 月 5 日開始為期 3 週。試驗期間採任食，並充分供應清潔飲水。每週量秤體重與記錄採食量一次。

表 1. 仔豬基礎飼糧配方組成

Table 1. The compositions of the basal diet for the piglets

Item	%
Ingredients	
Corn meal	62.00
Soybean meal	25.75
Fish meal	5.00
Dicalcium phosphate	1.60
Limestone, pulverized	0.80
Skimmed milk powder	2.00
Whey powder	2.00
Salt	0.50
Choline, chloride, 50%	0.10
Premix-Vit ^a	0.15
Premix-Min ^b	0.10
Total	100.00
Calculated values	
CP, %	19.90
ME, kcal/kg	3,163
Calcium, %	0.95
Available phosphate, %	0.59
Lysine, %	1.30

^a Supplied the following vitamins per kg of diet: Vitamin A, 6,000 IU; Vitamin D₃, 800 IU; Vitamin E, 20 mg; Vitamin K₃, 4 mg; Vitamin B₂, 4 mg; Vitamin B₆, 1 mg; Vitamin B₁₂, 0.02 mg; Niacin, 30 mg; Calcium pantothenate, 16 mg; Folic acid, 0.6 mg; Biotin, 0.01 mg; Choline chloride, 50 mg.

^b Supplied the following minerals per kg of diet: Fe, 140 mg; Cu, 7 mg; Mn, 20 mg; Zn, 120 mg; I, 0.45 mg.

III. 糞便微生物測定

離乳仔豬於試驗結束時 (7 週齡)，採集每頭仔豬的糞便，用 Chromagar (CHROMagar company, French) 建議的方法，使用 MRS 培養基檢測糞便中大腸桿菌與乳酸菌數量 (劉等，2017)。

IV. 統計分析

本試驗採完全隨機設計，試驗測定結果使用 SAS 統計套裝軟體 (Statistical Analysis System, SAS, 2002) 利用一般線性模式程序 (General Linear Model Procedure) 進行變方分析，並以 Tukey's Studentized Range Test 比較處理組間之差異顯著性。

結果與討論

I. 仔豬生長表現

(i) 仔豬飼料採食量

飼料添加凝結芽孢桿菌對仔豬採食量的影響，如表 2。雖然補充 R6 或 S10 於 5 及 6 週齡時之飼料採食

量，無顯著差異，但是於 7 週齡時之飼料採食量皆顯著高於對照組 ($P < 0.05$)。R6 組及 S10 組之全期平均飼料採食量皆顯著 ($P < 0.05$) 高於對照組，其三組之採食量分別為 0.40 ± 0.05 、 0.47 ± 0.06 及 0.50 ± 0.03 kg/day/piglet。顯示飼料中添加 R6 或 S10 均有提升仔豬採食量的效應。依據 Pu *et al.* (2018) 於飼料中添加苯甲酸與凝結芽孢桿菌，可增加仔豬的採食量 (405.59 vs. 486.36 g/day/piglet)，本試驗具類似結果。在大豬上則不具增加豬採食量的結果 (Chen *et al.*, 2006)，推測飼料中添加芽孢桿菌對提升仔豬飼料採食量的效應高於大豬。

表 2. 飼料添加凝結芽孢桿菌對仔豬採食量 (kg/day/piglet) 的影響

Table 2. The effects of addition of *Bacillus coagulans* on feed intake (kg/day/piglet) of the piglets

Group	Weeks of age			Whole period
	5	6	7	
Control	$0.24 \pm 0.05^{**}$	0.41 ± 0.08	0.55 ± 0.04^b	0.40 ± 0.05^b
R6*	0.24 ± 0.06	0.50 ± 0.06	0.67 ± 0.09^a	0.47 ± 0.06^a
S10*	0.28 ± 0.04	0.50 ± 0.03	0.73 ± 0.04^a	0.50 ± 0.03^a

^{a, b} Means in the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

* R6, the feed contains *Bacillus coagulans* R6 1×10^8 CFU/kg, S10, the feed contains *Bacillus coagulans* S10 1×10^8 CFU/kg.

** means \pm SD ($n = 5$).

(ii) 仔豬日增重

一般而言，益生菌可用作抗生素的可行替代品，這可能與腸道微生物群和免疫狀態的改善有關。部份益生菌可產生多種酵素幫助仔豬消化飼料，進而改善仔豬的增重、採食量與飼料效率 (曾等, 2017)。由 Guerra *et al.* (2006) 的結果指出，仔豬飼料中添加乳酸桿菌具有可提升仔豬的日增重的效果。而飼料中添加乳酸桿菌的代謝產物亦具有提升仔豬日增重的結果 (Thu *et al.*, 2011)。根據 Pu *et al.* (2018) 指出凝結芽孢桿菌可以通過改善腸粘膜屏障完整性來減緩大腸桿菌的攻擊，促進仔豬的生長表現和減輕腹瀉。在大豬方面，亦得到提高日增重 (11%) 的結果 (Chen *et al.*, 2006)。

本試驗三組全期之日增重分別為 0.22 ± 0.01 、 0.23 ± 0.05 及 0.27 ± 0.04 kg/day/piglet (表 3)。飼料中添加 R6 或 S10 之日增重有較對照組 (C) 高的趨勢 ($P = 0.064/A$ 組； $P = 0.067/B$ 組)。就全期而言，添加 R6 或 S10 的日增重依然有較高的趨勢 ($P < 0.1$)。顯示本試驗提升仔豬日增重的結果與上述文獻添加乳酸菌或芽孢桿菌提升豬隻日增重的研究結果相似。

表 3. 飼料添加凝結芽孢桿菌對仔豬增重 (kg/day/piglet) 的影響

Table 3. The effects of addition of *Bacillus coagulans* on body weight gain (kg/day/piglet) of the piglets

Group*	Weeks of age			Whole period
	5	6	7	
Control	$0.09 \pm 0.02^{***}$	0.25 ± 0.11	0.31 ± 0.05	0.22 ± 0.01
R6**	0.09 ± 0.04	0.32 ± 0.07	0.29 ± 0.04	0.23 ± 0.05
S10**	0.12 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.34 ± 0.07	0.27 ± 0.04

* The piglets' body weight at 4 weeks of age of control, R6 and S10 groups were 7.44 ± 0.42 , 7.44 ± 0.66 and 7.15 ± 0.31 kg/piglet, respectively.

** R6, S10, the same as in Table 2.

*** means \pm SD ($n = 5$).

(iii) 飼料利用效率

三組之全期飼料利用效率 (body weight gain/feed) 分別為 0.55 ± 0.06 、 0.49 ± 0.09 及 0.54 ± 0.08 ，各組間無顯著差異 (表 4)。一些相關文獻，如 Wu *et al.* (2018) 於仔豬飼糧中添加芽孢桿菌對離乳仔豬飼料效率無顯著影響、Guo *et al.* (2006) 於仔豬飼糧中分別添加枯草桿菌 MA139 對離乳仔豬增重與飼料效率無顯著差異、在乳酸桿菌方面，飼糧中分別添加乳酸桿菌對仔豬飼料效率各組間並無明顯差異 (Yu *et al.*, 2008) 以及飼糧

中添加液化澱粉芽孢桿菌 (*B. amyloliquefaciens*) 對離乳仔豬日採食量與飼料效率無顯著改善 (曾等, 2017)。本試驗亦具類似結果。

Pu *et al.* (2018) 之結果指出, 飼糧中添加苯甲酸與凝結芽孢桿菌對經大腸桿菌攻毒仔豬的飼料效率有改善的效果, 同時減少仔豬發生下痢的比例, 並指出芽孢桿菌可以通過改善腸粘膜屏障完整性來減緩大腸桿菌的攻擊, 促進仔豬的生長表現和減輕腹瀉。本試驗之仔豬於試驗期間未發生細菌性下痢, 因此推測飼料效率無明顯差異。

表 4. 飼料添加凝結芽孢桿菌對仔豬飼料利用效率 (feed intake/body weight gain) 的影響

Table 4. The effects of addition of *Bacillus coagulans* on feed conversion rate (feed intake/body weight gain) of the piglets

Group	Weeks of age			Whole period
	5	6	7	
Control	0.40 ± 0.09**	0.62 ± 0.30	0.57 ± 0.14	0.55 ± 0.06
R6*	0.39 ± 0.20	0.63 ± 0.13	0.43 ± 0.04	0.49 ± 0.09
S10*	0.42 ± 0.11	0.73 ± 0.04	0.46 ± 0.10	0.54 ± 0.08

* R6, S10, the same as in Table 2.

** means ± SD (n = 5).

II. 離乳仔豬糞便大腸桿菌與乳酸菌

芽孢桿菌可能改變腸道內 pH 或引起敏感細胞離子流失而發揮其抗微生物的活性 (Riazi *et al.*, 2012)。依據 Lievin *et al.* (2000) 指出, 雙歧桿菌於宿主腸道中產生有機酸如醋酸及乳酸, 酸化腸道環境並有助於抑制腸道中病原菌生長。Choi *et al.* (2011) 指出益生菌可增加腸道中有益微生物, 並減少有害微生物菌落。

由 Pu *et al.* (2018) 之結果亦顯示, 飼糧中添加苯甲酸與凝結芽孢桿菌, 對大腸桿菌攻毒仔豬糞便中大腸桿菌數無顯著影響, 但在飼糧中添加苯甲酸、凝結芽孢桿菌及牛至油 (oregano oil), 則可顯著降低仔豬糞便中大腸桿菌數。本試驗結果與 Pu *et al.* (2018) 之結果相類似, 離乳仔豬給飼含芽孢桿菌飼糧 3 週後, 各組糞便中大腸桿菌與乳酸菌數無顯著差異 (表 5)。此現象推測單一益生菌的添加, 較不易得到降低糞便中大腸桿菌數的結果, 若再加上其它益生物質則可得到加成的效果。

表 5. 添加不同芽孢桿菌組之仔豬糞便中大腸桿菌群及乳酸菌菌落數

Table 5. The colonies of Coliform and Lactobacillus in the piglets feces between addition of *Bacillus coagulans*

Group	Coliform, log CFU/g	Lactobacillus, log CFU/g
Control	6.37 ± 1.05**	10.64 ± 0.26
R6*	7.86 ± 1.35	10.75 ± 0.23
S10*	7.40 ± 0.62	10.85 ± 0.09

* R6, S10, the same as in Table 2.

** means ± SD (n = 5).

結 論

飼料中添加 R6 或 S10 芽孢桿菌均可增加離乳仔豬的採食量及日增重, 但對飼料利用效率及糞便大腸桿菌群與乳酸菌菌落則無顯著影響。本試驗之結果可提供豬農於豬隻飼養管理之改善與豬隻營養補充之參考依據。

誌 謝

本研究承行政院農業委員會經費補助【107 農科 -22.1.1- 畜 -L1(6)】、畜產試驗所產業組全體同仁協助, 謹此誌謝。

參考文獻

- 曾國富、林志勳、余祺、方文德、龔琳舒。2017。液化澱粉芽孢桿菌對離乳仔豬生長性能、腸道菌相及血液免疫球蛋白之影響。中畜會誌 46(4)：311-319。
- 黃宗賢、陳麗芳。2009。益生菌之臨床應用。藥學雜誌電子報，第 99 期 (<http://jtp.taiwan-pharma.org.tw/099/096-102.html>)。
- 劉芳爵、林幼君、許晉賓。2015。耐熱型芽孢桿菌對麩皮與脫脂米糠固態發酵時左旋乳酸產量之影響。104 農科-2.3.1-畜-L1(7) 研究報告。
- 劉芳爵、鍾承訓、林幼君。2017。液態與凝膠化仔豬人工乳對哺乳仔豬之生長性狀、免疫球蛋白含量及糞便微生物數量之影響。畜產研究 50：244-249。
- Chen, Y. J., B. J. Min, J. H. Cho, O. S. Kwon, K. S. Son, H. J. Kim and I. H. Kim. 2006. Effects of dietary bacillus-based probiotic on growth performance, nutrients digestibility, blood characteristics and fecal noxious. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 19: 587-592.
- Choi, J. Y., P. L. Shinde, S. L. Ingale, J. S. Kim, Y. W. Kim, K. H. Kim, I. K. Kwon and B. J. Chae. 2011. Evaluation of multi-microbe probiotics prepared by submerged liquid or solid substrate fermentation and antibiotics in weaning pigs. Livest. Sci. 138: 144-151.
- Guerra, N. P., P. F. Bernardez, J. Mendez, P. Cachaldora and L. P. Castroa. 2006. Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets. Anim. Feed Sci. Technol. 134: 89-107.
- Guo, X. H., D. F. Li, W. Q. Lu, X. S. Piao and X. L. Chen. 2006. Screening of bacillus strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. Antonie van Leeuwenhoek 90: 139-146.
- Hooge, D. M. 2003. Bacillus spores may enhance broiler performance. Feedstuffs 75: 28-31.
- Lievin, V., I. Peiffer, S. Hudault, F. Rochat, D. Brassart, J. R. Neeser and A. L. Servin. 2000. Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal will microflora exert antimicrobial activity. Gut 47: 646-52.
- Pu, J., D. Chen, G. Tian, J. He, P. Zheng, X. B. Mao, J. Yu, Z. Q. Huang, L. Zhu, J. Q. Luo, Y. H. Luo and B. Yu. 2018. Protective effects of benzoic acid, *Bacillus coagulans*, and oregano oil on intestinal injury caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in weaned piglets. Biomed Res Int. Aug, 27: Article ID 1829632, 12 pages.
- Riazi, S., S. E. Dover and M. L. Chikindas. 2012. Mode of action and safety of lactosporin, a novel antimicrobial protein produced by *Bacillus coagulans* ATCC 7050. J. Appl. Microbiol. 113: 714-722.
- SAS Institute, 2002. Guide for Personal Computers. Version 8.0.1, SAS Inst., Inc., Cary, NC. USA.
- Thu, T. V., T. C. Loh, H. L. Foo, H. Yaakub and M. H. Bejo. 2011. Effects of liquid metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, faeces characteristics, intestinal morphology and diarrhoea incidence in postweaning piglets. Trop. Anim. Health Prod. 43: 69-75.
- Wu, T., Y. Zhang, Y. Lv, P. Li, D. Yi, L. Wang, D. Zhao, H. Chen, J. Gong and Y. Hou. 2018. Beneficial impact and molecular mechanism of *Bacillus coagulans* on piglets' intestine. Int J Mol Sci. 19: 2084.
- Yu, H. F., A. N. Wang, X. J. Li and S. Y. Qiao. 2008. Effect of viable *Lactobacillus fermentum* on the growth performance, nutrient digestibility and immunity of weaned pigs. J. Anim. Feed Sci. 17: 61-69.

The effect of applying *Bacillus coagulans* on the growth performance of weaned piglets ⁽¹⁾

Ling-Tsai Wu ⁽²⁾ Yu-Chun Lin ⁽³⁾ Chun-Ta Chang ⁽⁴⁾ Chin-Meng Wang ⁽⁴⁾⁽⁵⁾ and Fang-Chueh Liu ⁽⁴⁾

Received: Apr. 8, 2019; Accepted: May 21, 2019

Abstract

The variety of antibiotics that can be added to livestock feed have been reduced in the following years, which is a trend for the international and domestic future. In response to this new trend, *Bacillus* has been developed as a feed additive for economic animal health. In this study, total of 30 heads of 28-day-old piglets was used, which was divided into control, R6 and S10 groups, each group with 5 repeats. The piglets of control group were given the normal feed. The R6 and S10 groups were added *Bacillus coagulans* R6 and S10 (10^8 CFU/kg), respectively. The results showed that the feed intake of the piglets in groups control, R6 and S10 was 0.40 ± 0.05 , 0.47 ± 0.06 and 0.50 ± 0.03 kg/day/piglet, respectively. The feed intakes of the *Bacillus* added groups (R6 and S10) were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$). It was shown that the addition of *Bacillus coagulans* R6 or S10 in the feed could increase feed intake of the piglets. On body weight gain of the piglets in the control, R6 and S10 groups were 0.22 ± 0.01 , 0.23 ± 0.05 and 0.27 ± 0.04 kg/day/piglet, respectively. The daily weight gain of the *Bacillus* added groups (R6 and S10 groups) was higher than that of control group ($P = 0.064$ / R6 group; $P = 0.067$ / S10 group). But there was no significant effects on the feed efficiency. In addition, the addition of *Bacillus* (R6 and S10) in feed had no significant effects on the colonies of Coliform or Lactobacillus in the feces. We concluded that the piglets were fed with the *Bacillus coagulans* R6 or S10 feed, which had higher feed intake and body weight gain, but no significant effect on the feed efficiency, and also had no significant effects on the colonies of Coliform and Lactobacillus in the piglets feces.

Key words: *Bacillus coagulans*, Feed additives, weaned piglet.

(1) Contribution No. 2612 from Livestock Research Institute. Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Animal Products Processing Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Nutrition Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Animal Industry Division, COA-LRI, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(5) Corresponding author, E-mail: cmwang@mail.tlri.gov.tw.