

飼糧添加凝結芽孢桿菌對離乳仔豬生長性狀、 血液參數及下痢發生率的影響⁽¹⁾

劉芳爵⁽²⁾⁽⁴⁾ 林幼君⁽²⁾ 李秀蘭⁽³⁾

收件日期：112 年 1 月 9 日；接受日期：112 年 4 月 30 日

摘 要

本試驗以小型醱酵槽，經由醱酵培養、誘發產孢、菌液分離以及菌體冷凍乾燥等處理步驟產生凝結芽孢桿菌菌粉，經測定凝結芽孢桿菌菌粉活菌數可達 1×10^{11} cfu/kg。試驗動物採用 26 – 30 日齡離乳二品種 LD 雜交仔豬 48 頭，每欄飼養 4 頭，每處理 4 重複。飼糧處理分為空白組（保育期飼料為對照組）、市售凝結芽孢桿菌組，保育料添加菌株編號 BC1031 之市售凝結芽孢桿菌粉 (commercial *Bacillus coagulans*, CBC) 與凝結芽孢桿菌組，傳統保育料添加桿菌粉 (*Bacillus coagulans*, BC)，飼糧中添加菌數均為 1×10^8 cfu/kg，共進行 4 週生長試驗。結果顯示，在生長性狀方面，餵飼添加 BC 組對離乳仔豬第 3 和 4 週的增重與第 3 週的飼料轉換率，顯著優於對照組與添加 CBC 組。在試驗開始日與結束日，餵飼對照組、添加 CBC 或 BC 飼糧對仔豬血液參數、白血球數量與白血球百分比，沒有顯著差異。另外在下痢發生率部分，餵飼添加 BC 比對照組與添加 CBC 飼糧，分別減少 19% 與 6.2%。綜上所述顯示，餵飼添加 BC 飼糧在改善離乳仔豬增重與降低下痢發生率的效果，比對照組或添加 CBC 飼糧為佳。

關鍵詞：凝結芽孢桿菌、下痢發生率、飼料添加物、離乳仔豬、生長性狀。

緒 言

近十幾年來，用於促進動物生長作用的含藥添加物，由於會導致畜禽腸道微生物產生抗藥性或屠體藥物殘留量等問題 (Falkow and Kennedy, 2001)，直接影響消費者對畜禽產品的衛生安全與信心。依據食品藥物管理署中區管理中心於 107 年禽畜水產品中動物用藥殘留監測報告指出。當年度合格率为 97.7%，顯示仍有部分畜禽產品不符合規定 (傅等, 2019)。歐盟亦於 2006 年起全面禁用預防性藥物飼料添加物，美國也於 2017 年起逐漸降低使用抗生素品項與數量 (余及李, 2015)。顯見世界各國逐漸減少抗生素做為動物的生長促進劑，國內亦然，逐年縮減可添加於畜禽飼料中的抗生素種類。

豬隻後腸 (特別是盲腸與結腸) 的發酵作用，產生揮發性短鏈脂肪酸，可提供豬隻生長所需能量的 5 – 28% (Kass *et al.*, 1980)。同時後腸之微生物菌相，亦對豬隻健康與免疫調節扮演非常重要角色，主要是由於經由大腸微生物發酵作用產生的代謝物 (如乳酸或抗菌肽)，具有保護結腸與直腸的作用，降低有害微生物的影響 (Hillman *et al.*, 1994; Blottiere *et al.*, 2003; Biagi *et al.*, 2006)。由於飼料中的纖維素在後腸中可以成為後腸微生物之營養素來源 (Schnabel *et al.*, 1983)，有助於增加大腸內多種的微生物數量，包括好氧性與厭氧性菌種 (William *et al.*, 1991)。

由於植物細胞壁的生化組成，既複雜又多變，且代謝物產生的影響亦不同。就飼料而言，「粗纖維」為木質素及非澱粉類多醣體 (non-starch polysaccharides, NSP) 的總稱 (Cummings, 1981)。豬隻腸道微生物發酵粗纖維產生乳酸的過程中，通常無法有效將粗纖維分解。此乃因豬隻腸道微生物，無法有效分解五碳糖如木糖 (xylose) 的組成成分 (Mussatto and Teixeira, 2010)。微生物產生纖維分解酵素，通過磷酸乙酮醇酶代謝路徑 (phosphoketolase pathway) 時，可以產生等當量之醋酸與左旋乳酸，產生效率大約 60%。當是纖維分解酵素通過磷酸戊糖代謝路徑 (pentose phosphate) 時，可以代謝木糖產生之醋酸與左旋乳酸，其效率高於 90%。文獻中亦發現凝結芽孢桿菌 (*Bacillus coagulans*) 可以通過 pentose phosphate 代謝路徑，有效進行粗纖維的發酵作用，產生揮發性短鏈脂肪酸效率高 (Patel

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2747 號。

(2) 農業部畜產試驗所動物營養組。

(3) 農業部畜產試驗所技術服務組。

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

et al., 2006)。

仔豬發生下痢的原因，主要因細菌感染造成消化道功能紊亂的綜合症狀，直接導致仔豬的生長明顯下降。細菌感染如沙門氏菌、大腸桿菌及梭菌等，這些細菌會導致仔豬發生黃、白及紅痢 (Ruiz *et al.*, 2016)。業者常用抗生素預防仔豬下痢，但腸道中的微生物容易因此而產生抗藥性 (Shahana *et al.*, 2021)。經常使用抗菌藥物，雖然容易實施，但是亦會增加 8 – 15% 的飼養成本 (Thomson and Friendship, 2019)。Payot *et al.* (1999) 指出，凝結芽孢桿菌具有產乳酸、形成孢子及運動等特性，對外界環境耐受力強，並且可以在腸道中發芽和增殖 (Hung *et al.*, 2012)，進而在腸道內產生發揮性短鏈脂肪酸與代謝物如抗菌肽乳孢菌素 (Lactosporin)，抑制腸道有害細菌包括如桿菌 (*Bacillus*)、李斯特菌 (*Listeria*)、葡萄球菌 (*Staphylococcus*)、鏈球菌 (*Streptococcus*)、腸球菌 (*Enterococcus*) 及梭菌 (*Clostridium*) 等 (Riazi *et al.*, 2009)，改善仔豬腸道健康與提升生長性能 (Riazi *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2018)，但是在降低離乳仔豬下痢發生率的相關研究甚少。因此，本試驗旨在探討添加凝結芽孢桿菌對提升離乳仔豬的生長性狀與降低下痢發生率的效果，供作為離乳仔豬保健用飼料添加物，以減少抗生素的使用。

材料與方法

本試驗於行政院農業委員會畜產試驗所營養組試驗豬舍進行，試驗動物之使用、飼養管理及試驗內容經畜產試驗所實驗動物管理小組以畜試動字 110-17 號申請核准在案。

I. 試驗動物及飼糧處理

凝結芽孢桿菌菌粉製作，採用劉與林 (2021) 篩選凝結芽孢桿菌接種於 5 公升小型醱酵槽。醱酵培養液為 MRS broth (No. 110660, Millipore in USA)，醱酵條件為 37°C 培養 24 小時後，再經 24 小時誘發產生凝結芽孢桿菌孢子，接續以 12,000 rpm 連續式離心機分離菌體與上清液，再將菌體加入玉米澱粉後冷凍乾燥，完成凝結芽孢桿菌菌粉製作。同時以 MRS 培養基分析與以玉米粉調整每 1 kg 菌粉，含有凝結芽孢桿菌菌數達 1×10^{11} cfu，並儲放於 -20°C 冰箱中備用。

試驗動物採用 26 – 30 日齡離乳二品種 LD 雜交仔豬 48 頭，每欄飼養 4 頭 (公母各半，飼養面積為 0.35 m²/頭)，每處理 4 重複，共進行 4 週。飼糧處理，空白組 (保育期飼料為對照組，control group)、市售凝結芽孢桿菌組 (保育料添加市售凝結芽孢桿菌粉，購自商用菌株編號 BC1031，CBC group) 與凝結芽孢桿菌組 (保育料添加凝結芽孢桿菌粉，BC group)，飼糧添加菌數均為 1×10^8 cfu/kg feed，如表 1 所示。試驗期間採任食，並充分供應清潔飲水，畜舍溫度保持在 26 – 30°C，裝設風扇定時進行畜舍通風換氣。菌粉於飼料混合時加入，混合好飼料含試驗期間儲存時間共 5 週，於 4 週實驗期間僅配製 1 批次飼料。

II. 測定項目

每週秤量與記錄仔豬體重和飼料採食量，計算試驗仔豬的生長性狀。分別在試驗開始日與結束日，分別採集 48 頭試驗仔豬血液樣品 5 mL (採樣前禁食 4 – 6 小時，使用含 EDTA 的 10 mL 採血管由頸部靜脈竇採集血液樣品) 供分析血液性狀、白血球數量與白血球種類等濃度。

- (i) 糞便評分指數與下痢發生率的估算方法，糞便評分指數主要依據 Hart and Dobb (1988) 與 Marquardt *et al.* (1999) 的評分方法。從試驗開始日至第 7 天，每日上午 09:00 至 11:00 記錄一次糞便評分指數。糞便評分標準為 4 級分，指數「0」表正常成型糞便 (水分含量 < 70%)、「1」表輕微軟便 (水分含量 70 – 75%)、「2」表中度軟便 (水分含量 75 – 80%) 與「3」表嚴重軟便 (水分含量 > 80%)，供評估仔豬下痢的嚴重程度。另外下痢發生率的計算方法，主要參考 Sun *et al.* (2022) 文獻所列之方法，計算公式如下：

$$\text{下痢發生率 (\%)} = \frac{\text{下痢仔豬頭數}}{\text{試驗仔豬總頭數} \times 7 (\text{觀察天數})} \times 100\%$$

*當仔豬糞便外觀評分指數等於或大 2 時，定義為發生下痢。

- (ii) 血液性狀分析

分別於試驗第一天與結束日，採集血液樣品供分析血液之總蛋白質、總膽固醇、三酸甘油酯、血液尿素氮及肌酸酐等性狀含量。分析儀器為 Hitach 血清生化分析儀 (Hitach 7170, Japan) 並以血液生化值套組分析總蛋白值 (No. 993-52901)、總膽固醇 (No. 21.862.1175)、三酸甘油酯 (No. 21.862.1705) 以及肌酸酐 (No. 277-10501) 等含量 (Wako Chemical Com., Japan)。

表 1. 試驗飼糧的配方組成

Table 1. The composition of the experimental diet

Ingredients, kg	Trial diets		
	Control group	CBC group	BC group
Yellow corn, CP 7.5%	677.5	676.5	676.5
Soybean meal, CP 43.5%	190	190	190
Limestone (pulverized)	8	8	8
Dicalcium phosphate	16	16	16
Fish meal, CP 65%	50	50	50
Skim milk	20	20	20
Whey powder	20	20	20
Soybean oil	10	10	10
Choline-Cl, 50%	1	1	1
Salt (iodized)	5	5	5
Vitamin premix ^a	1	1	1
Mineral premix ^b	1.5	1.5	1.5
CBC	0	1	0
BC	0	0	1
Total	1,000	1,000	1,000
Calculated value			
Crude protein, %	18.2	18.1	18.1
Metabolism energy, kcal/kg	3,217	3,210	3,210
Lysine, %	1.14	1.14	1.14
Analyzed value			
Crude protein, %	18.1	18.3	18.4
Lysine, %	1.15	1.16	1.15
Calcium, %	1.16	1.17	1.17
Total phosphorus	0.75	0.75	0.75

^a Supplied per kg of diet: Vitamin A, 6,000 IU; Vitamin D₃, 800 IU; Vitamin E, 20 IU; Vitamin K₃, 4 mg; Vitamin B₁, 2 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.

^b Supplied the following minerals per kg of diet: Fe, 140 mg; Cu, 7 mg; Mn, 20 mg; Zn, 120 mg; Se, 0.15 mg; I, 0.45 mg.

(iii) 血液白血球數量與白血球種類百分比分析

血液樣品經血球分析儀 (Sysmex XN-1000, Japan) 測定白血球數量、嗜酸性白血球、嗜鹼性白血球、淋巴球、單核球及嗜中性白血球百分比。

III. 統計分析

試驗收集之各項資料，利用 SAS (2005) 的套裝統計軟體，依一般線性模式 (general linear model procedure, GLM) 進行變方分析，並以鄧肯氏多變域測定法 (Duncan's multiple range test) 進行處理組平均值間之差異顯著性分析，當 $P < 0.05$ 表差異顯著，而 $P < 0.01$ 表差異極顯著。

結果與討論

I. 飼料添加凝結芽孢桿菌飼糧對離乳仔豬生長性狀的影響

餵飼添加 CBC 或 BC 飼糧對離乳仔豬的體重與生長性狀之影響，如表 2 與 3 所示。仔豬在第 21 與 28 天的體重以及第 3 與 4 週的平均日增重，餵飼添加 BC 組仔豬體重與平均日增重高於添加 CBC 組與對照組，而對照組與添加 CBC 組，兩組間沒有差異。結果顯示，飼糧添加 BC 凝結芽孢桿菌可提升離乳仔豬第 3 與 4 週的增重，在 Sun *et al.* (1999) 文獻亦有類似結果。此現象可能因 BC 凝結芽孢桿菌具有產生孢子與左旋乳酸代謝物的作用，有助於改善離乳仔豬的增重 (Wu *et al.*, 2018; 劉及林, 2021)。

仔豬的飼料採食量，無論在第 1、2、3、4 週或全期，各組間均沒有顯著差異。此結果顯示，飼料中添加 CBC 或 BC 與對照組之間，均不影響離乳仔豬的飼料採食量。此現象可能因添加 CBC 或 BC 於飼料中，並不影響飼料的適口性 (Mavromichalis, 2010)。飼料轉換率的部分，在第 3 週時，餵飼添加 BC 組顯著優於餵飼添加 CBC 組與對照組，而對照組與添加 CBC 組，兩組間沒有顯著差異。此結果亦可能因 BC 組凝結芽孢桿菌菌株產生左旋乳酸代謝物的作用所致 (劉及林, 2021)，而 BC 凝結芽孢桿菌在調節與促進仔豬腸道健康與提升飼料消化率等作用較佳 (Riazi *et al.*, 2012; 2016; Sander *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2018)，具有類似於 *M. luteus* and *L. monocytogenes* 的促進腸道健康的作用 (Riazi *et al.*, 2009; 2012)。由前述結果顯示，餵飼添加 BC 組對提升離乳仔豬第 3 與 4 週的增重以及第 3 週飼料轉換率，比對照組或添加 CBC 組效果較佳。

表 2. 飼糧添加凝結芽孢桿菌對離乳仔豬體重的影響 (n = 48)

Table 2. Effects of supplemental *Bacillus coagulans* on body weight of weaning pigs

Items	Trial	Control group	CBC group	BC group
Initial day, kg		7.82 ± 0.87 ^a	7.66 ± 0.36	7.95 ± 1.08
Day 7, kg		8.51 ± 0.94	8.04 ± 0.54	8.39 ± 0.88
Day 14, kg		9.91 ± 0.95	9.53 ± 0.84	9.78 ± 0.70
Day 21, kg		11.80 ± 0.85 ^b	11.38 ± 0.87 ^b	12.32 ± 1.33 ^a
Day 28, kg		14.77 ± 0.85 ^b	14.32 ± 0.88 ^b	15.63 ± 1.52 ^a

* Mean ± SD. CBC group represented dietary supplementation of 1×10^8 cfu/kg commercial *Bacillus coagulans*. BC group represented dietary supplementation of 1×10^8 cfu/kg *Bacillus coagulans*.

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

II. 餵飼添加凝結芽孢桿菌飼糧對離乳仔豬血液參數的影響

餵飼添加 CBC 或 BC 飼糧對離乳仔豬血液參數之影響，如表 4。試驗結果在試驗開始日與結束日，在血液三酸甘油脂、總膽固醇、尿素氮、肌酸酐、總蛋白、白蛋白與球蛋白含量，各組間均沒有顯著差異。顯示飼料中添加 CBC 或 BC，並不影響仔豬血液參數。不過對比生醫產業用畜禽動物應用手冊 (2011) 之血液性狀含量，在試驗開始日之離乳仔豬尿素氮、總蛋白及球蛋白濃度有偏低現象，此可能受仔豬剛離乳，飼料採食量較低與血液中移行抗體濃度會隨仔豬日齡增加而下降所致 (Niekamp *et al.*, 2007; Estienne *et al.*, 2019)。而結束日之總蛋白與白蛋白濃度，三組均有稍微偏低現象。依據 Dvorak (1981) 文獻指出，豬隻血液總蛋白與白蛋白濃度與飼糧蛋白質含量呈正相關作用，此試驗餵飼仔豬飼糧之粗蛋白質含量均為 18%，符合保育期仔豬飼糧粗蛋白質之建議用量 (行政院農業委員會編輯委員會, 1990)。不過在白蛋白與球蛋白比值，對照組、CBC 與 BC 組比值，分別 1.4 vs. 1.2 vs. 1.4，介於白蛋白與球蛋白正常比值 1.1 – 2.5 之間 (Suh *et al.*, 2014)，高於生醫產業用畜禽動物應用手冊 (2011) 比值 0.5，且試驗仔豬健康情形十分良好。

III. 餵飼添加凝結芽孢桿菌飼糧對離乳仔豬白血球數量與白血球種類百分比之影響

餵飼添加 CBC 或 BC 飼糧對離乳仔豬血液白血球與分類計數的影響，如表 5 所示。試驗開始日與結束日之白血球數與各類型白血球百分比 (嗜鹼性球、嗜酸紅球、嗜中性球、淋巴球與單核球)，在各處理間沒有顯著差異。不過在白血球數以餵飼 CBC 飼糧，分別高於對照組 7.9% 與 BC 組 7.0%，但是白血球數仍介於 11,000 – 22,000/mL 之正常範圍內 (生醫產業用畜禽動物應用手冊, 2011)。另外嗜中性白血球與淋巴球比值 (N/L) 一般可作為仔豬中長期壓力或慢性發炎指標 (Quinonero *et al.*, 2009)，對照組、添加 CBC 組或 BC 組之 N/L 比值，分別為 0.8、0.92 及 0.75，顯示添加 BC 組仔豬的緊迫壓力或發炎指標，比對照組與添加 CBC 組低。此現象可能因 BC 凝結芽孢桿菌含有抗氧化物質 (Fu *et al.*, 2019)，有助於舒緩離乳仔豬緊迫與降低發炎的作用。

表 3. 飼糧添加凝結芽孢桿菌對離乳仔豬生長性狀的影響 (n = 48)

Table 3. Effects of supplemental *Bacillus coagulans* on growth performance of weaning pigs

Items	Trial	Control group	CBC group	BC group
Average daily gain, kg				
Week 1		0.10 ± 0.04 [*]	0.05 ± 0.03	0.06 ± 0.03
Week 2		0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.04	0.20 ± 0.05
Week 3		0.27 ± 0.05 ^b	0.26 ± 0.07 ^b	0.36 ± 0.11 ^a
Week 4		0.42 ± 0.06 ^b	0.42 ± 0.07 ^b	0.47 ± 0.12 ^a
Overall		0.25 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.28 ± 0.03
Average daily feed intake, kg				
Week 1		0.19 ± 0.01 [*]	0.11 ± 0.03	0.11 ± 0.04
Week 2		0.40 ± 0.07	0.35 ± 0.07	0.36 ± 0.06
Week 3		0.59 ± 0.08	0.55 ± 0.09	0.67 ± 0.16
Week 4		0.91 ± 0.09	0.86 ± 0.10	0.94 ± 0.13
Overall		0.52 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.52 ± 0.4
Feed conversion ratio (Feed/gain)				
Week 1		1.93 ± 0.12 [*]	2.03 ± 0.05	1.72 ± 0.12
Week 2		2.01 ± 0.13	2.08 ± 0.06	1.81 ± 0.13
Week 3		2.19 ± 0.18 ^a	2.12 ± 0.07 ^a	1.85 ± 0.08 ^b
Week 4		2.17 ± 0.19	2.05 ± 0.16	1.98 ± 0.10
Overall		2.08 ± 0.11	1.96 ± 0.07	1.89 ± 0.08

^{*} Mean ± SD. CBC group and BC group were the same as in Table 2.

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

表 4. 飼糧添加凝結芽孢桿菌對離乳仔豬血液參數的影響 (n = 48)

Table 4. Effects of supplemental *Bacillus coagulans* on blood biochemical parameter of weaning pigs

Items	Trial	Control group	CBC group	BC group
Day 1				
Triglyceride, mg/dL		108.8 ± 37.4 [*]	81.7 ± 32.4	77.7 ± 33.8
Total cholesterol, mg/dL		129.7 ± 28.1	136.3 ± 34.7	134.3 ± 47.1
Blood urea nitrogen, mg/dL		6.5 ± 2.6	4.7 ± 1.2	5.7 ± 2.4
Creatinine, mg/dL		1.0 ± 0.3	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.1
Total protein, g/dL		4.8 ± 0.4	4.4 ± 0.4	4.3 ± 0.1
Albumin, g/dL		3.8 ± 0.4	3.7 ± 0.2	3.7 ± 0.3
Globulin, g/dL		1.0 ± 0.4	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.2
Day 28				
Triglyceride, mg/dL		47.3 ± 33.7 [*]	36.8 ± 5.2	44.7 ± 6.4
Total cholesterol, mg/dL		78.5 ± 23.9	78.5 ± 11.5	85.2 ± 7.8
Blood urea nitrogen, mg/dL		10.8 ± 1.7	9.8 ± 1.7	10.2 ± 1.7
Creatinine, mg/dL		1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1
Total protein, g/dL		4.3 ± 0.9	4.4 ± 0.5	4.6 ± 0.4
Albumin, g/dL		2.5 ± 0.6	2.4 ± 0.1	2.6 ± 0.2
Globulin, g/dL		1.8 ± 0.4	2.0 ± 0.5	1.8 ± 0.3
Albumin/ Globulin		1.4	1.2	1.4

^{*} Mean ± SD. CBC group and BC group were the same as in Table 2.

According to the Livestock Application Manual for the Biomedical Industry (2011), the following blood characteristics of pigs less than 3 months of age were observed per mg/dL: Triglyceride, 85 ± 55 mg/dL; Total cholesterol, 119 ± 43 mg/dL; Blood urea nitrogen, 14.6 ± 3.8 mg/dL; Creatinine, 1.0 ± 0.4 mg/dL; Total protein, 6.4 ± 0.9 g/dL; Albumin, 4.4 ± 0.8 g/dL; Globulin, 2.02 ± 0.18 g/dL.

表 5. 飼糧添加凝結芽孢桿菌對離乳仔豬白血球數量與白血球種類百分比影響 (n = 48)

Table 5. Effects of supplemental *Bacillus coagulans* on peripheral leukocyte count and proportion of weaning pigs

Items	Trial	Control group	CBC group	BC group
Day 1				
Total white blood cell count, cells/uL		11,508 ± 3,010*	9,762 ± 3,600	10,820 ± 3,504
Basophils, %		0.9 ± 0.5	2.0 ± 1.3	1.3 ± 0.5
Eosinophils, %		0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Neutrophil, %		37.2 ± 11.3	38.4 ± 7.1	42.0 ± 9.3
Lymphocytes, %		58.5 ± 10.1	56.2 ± 6.7	53.1 ± 9.0
Monocytes, %		3.1 ± 1.3	3.1 ± 1.1	3.3 ± 0.9
Day 28				
White blood cell count, cells/uL		18,960 ± 6,168*	20,588 ± 2,675	19,155 ± 4,596
Basophils, %		0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2
Eosinophils, %		0.7 ± 0.1	1.1 ± 0.5	0.9 ± 0.5
Neutrophil (N), %		42.4 ± 8.9	45.0 ± 10.9	40.4 ± 9.1
Lymphocytes (L), %		52.7 ± 10.3	49.0 ± 11.2	53.6 ± 11.6
Monocytes, %		3.9 ± 1.9	4.6 ± 3.0	4.7 ± 2.6
N/L		0.80	0.92	0.75

* Mean ± SD. CBC group and BC group were the same as in Table 2.

IV. 飼糧添加凝結芽孢桿菌飼糧對離乳仔豬下痢發生率的影響

飼糧添加 CBC 或 BC 飼糧對離乳後最初 7 天仔豬下痢比率之影響，如圖 1 所示。飼糧對照組、添加 CBC 或 BC 組仔豬下痢發生率，分別為 25.0、18.8 與 6.25%，顯示飼糧添加 BC 飼糧比對照組顯著減少下痢比率約 19%，同時也比飼糧 CBC 飼糧顯著減少下痢比率 6.2%。此現象可能因 BC 凝結芽孢桿菌較有助於維持仔豬腸道健康或是代謝物含抗菌肽，可降低仔豬下痢發生率 (Riazi *et al.*, 2009; 2012; Sander *et al.*, 2013)。不過試驗過程中，各組間育成率 100%，而且各組間下痢仔豬於離乳 1 週以後逐漸恢復正常，沒有發生持續下痢的現象。

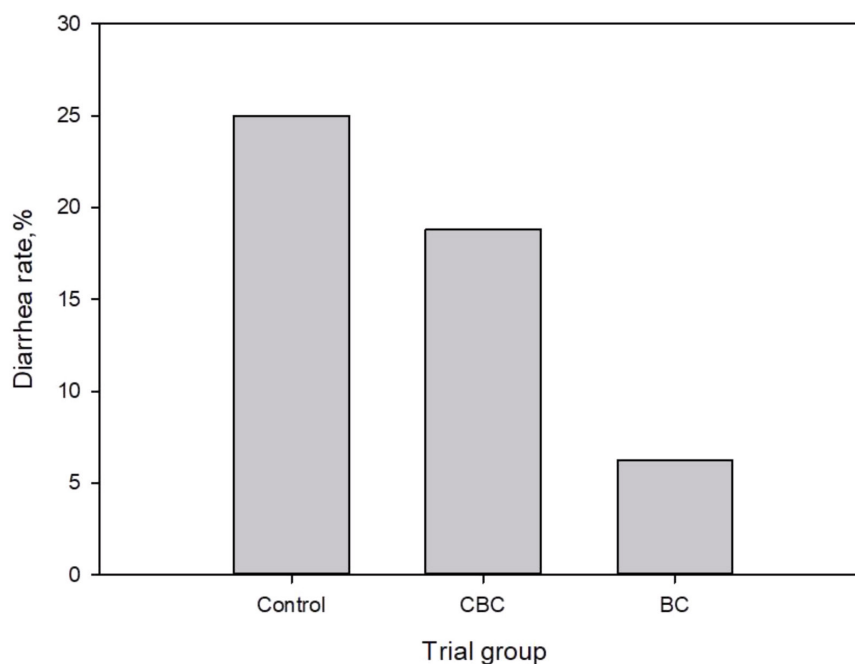


圖 1. 離乳後最初 7 天每日仔豬下痢比率 (糞便外觀 => 下痢指數 2 者)

Fig. 1. The diarrhea incidence of piglets during the first 7 days after weaning

Diarrhea incidence = (the number of diarrhea piglets/total number of piglets in the treatment) × 100%.

Diarrhea was defined as the piglet's feces present watery appearance (=> diarrhea index no.2).

CBC group and BC group were the same as in Table 2.

結 論

餵飼添加 BC 飼糧對離乳仔豬第 3 和 4 的增重與第 3 週的飼料轉換率，顯著比對照組或添加 CBC 飼糧佳。餵飼添加 CBC 或 BC 飼糧對離乳仔豬血液參數與白血球數量與白血球百分比，沒有顯著差異。另外添加 BC 組比對照組與添加 CBC 組，分別減少下痢比率約 19% 與 6.2%。因此由前述結果顯示，餵飼添加 BC 凝結芽孢桿菌具有提升離乳仔豬增重與降低下痢發生率的效果，比空白組（對照組）與添加 CBC 組較佳，可作為提升離乳仔豬生長性能與減少下痢發生率的一種可擇益生菌菌株。

誌 謝

試驗期間感謝畜產試驗所產業組二股同仁與營養組嚴世俊先生和蕭合芬小姐，試驗進行過程中之協助與相關資料之收集與分析工作，讓試驗順利完成。

參考文獻

- 生醫產業用畜禽動物應用手冊編輯委員會。2011。無特定病原豬 (Specific pathogen free, SPF)。生醫產業用畜禽動物應用手冊，中華實驗動物學會編印，臺北，pp. 2-27。
- 行政院農業委員會編輯委員會。1990。臺灣地區飼養標準—豬。行政院農業委員會出版。
- 余祁暉、李盼。2015。動物保健產品之管理法規與發展趨勢。農業生技產業季刊 44：58-66。
- 傅曉萍、黃竹珈、林宜蓉、陳姿伶。2019。107 年度市售禽畜水產品中動物用藥殘留監測。食品藥物研究年報 10：50-57。
- 劉芳爵、林幼君。2021。凝結芽孢桿菌的篩選、鑑定與性狀分析。畜產研究 54(3)：148-154。
- Biagi, G., A. Piva, M. Moschini, V. E. Ezzali, and F. X. Roth. 2006. Effect of gluconic acid on piglet growth performance, intestinal microflora, and intestinal wall morphology. J. Anim. Sci. 84: 370-378.
- Blottiere, H. M., B. Buecher, J. P. Galmiche, and C. Cherbut. 2003. Molecular analysis of the effect of short-chain fatty acids on intestinal cell proliferation. Proc. Nutr. Soc. 62: 101-106.
- Cummings, J. H. 1981. Dietary fiber. British Med. Bullet. 37: 65-70.
- Estienne, M., S. Clark-Deener, and K. Williams. 2019. Growth performance and hematology characteristics in pigs treated with iron at birth and weaning and fed a nursery diet supplemented with a pharmacological level of zinc oxide. J. Swine Health Prod. 27: 64-75.
- Dvorak, M. 1981. Determination of serum albumin concentration in pigs using bromocresol green. Vet. Med. 26(8): 481-489.
- Falkow, S. and D. Kennedy. 2001. Antibiotics, animals, and people-again! Science 291(5503): 397.
- Fu, R., D. Chen, G. Tian, P. Zheng, X. Mao, J. Yu, J. He, Z. Huang, Y. Luo, and B. Yu. 2019. Effect of dietary supplementation of *Bacillus coagulans* or yeast hydrolysates on growth performance, antioxidant activity, cytokines and intestinal microflora of growing-finishing pigs. Anim. Nutr. 5: 366-372.
- Hart, G. K. and G. J. Dobb. 1988. Effect of a fecal bulking agent on diarrhea during enteral feeding in the critically ill. J. Parenter. Enteral. Nutr. 12: 465-468.
- Hillman, K., T. A. Murdoch, S. R. Jpencer, and C. S. Stewart. 1994. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* by the microflora of the porcine ileum, in an in vitro semicontinuous culture system. Appl. Bacteriol. 76: 294-300.
- Hung, A. T., S. Y. Lin, T. Y. Yang, C. K. Chou, H. C. Liu, J. J. Lu, B. Wang, S. Y. Chen, and T. F. Lien. 2012. Effects of *Bacillus coagulans* ATCC 7050 on growth performance, intestinal morphology, and microflora composition in broiler chickens. Anim. Prod. Sci. 52: 874-879.
- Kass, M. L., P. J. Van Soest, W. G. Pond, B. Lewis, and R. E. McDowell. 1980. Utilization of dietary fiber from alfalfa by growing swine. I. Apparent digestibility of diet components in specific segments of the gastrointestinal tract. J. Anim. Sci. 50: 175-191.
- Marquardt, R. R., L. Z. Jin, J. W. Kim, L. Fang, A. A. Frohlich, and S. K. Baidoo. 1999. Passive protective effect of egg-yolk antibodies against enterotoxigenic *Escherichia coli* K88⁺ infection in neonatal and early-weaned piglets. FEMS Immun.

- & Medi. Microbiology 23: 283-288.
- Mavromichalis, I. 2010. Achieving a better piglet feed intake. Pig Progress 26(1): 19. <https://www.pigprogress.net/pigs/achieving-a-better-piglet-feed-intake/>.
- Mussatto, S. I. and J. A. Teixeira. 2010. Lignocellulose as raw material in fermentation processes. In: Mendez-Vilas, A. (Ed.), Current Research, Technology and Education, Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, vol. 2. pp. 897-907. Formatex Research Center, Badajoz.
- Niekamp, S. R., M. A. Sutherland, G. E. Dahl, and J. L. Salak- Johnson. 2007. Immune responses of piglets to weaning stress: impacts of photoperiod. J. Anim. Sci. 85: 93-100.
- Patel, M. A., M. S. Ou, R. Harbrucker, H. C. Aldrich, M. L. Buszko, L. O. Ingram, and K. T. Shanmugam. 2006. Isolation and characterization of acid-tolerant, thermophilic bacteria for effective fermentation of biomass-derived sugars to lactic acid. Appl. Environ. Microbiol. 72: 3228-3235.
- Payot, T., Z. Chemaly, and M. Fick. 1999. Lactic acid production by *Bacillus coagulans*-Kinetic studies and optimization of culture medium for batch and continuous fermentations. Enzyme Microb. Technol. 24: 191-199.
- Quinonero, J., C. Garcia-Santamaria, E. Maria-Dolores, and E. Armero. 2009. Physiological indicators of stress in gestating sows under different cooling systems. Pesq. agropec. Bras., Brasilia 44: 1549-1552.
- Riazi, S., R. E. Wirawan, V. Badmaev, and M. L. Chikindas. 2009. Characterization of lactosporin, a novel antimicrobial protein produced by *Bacillus coagulans* ATCC 7050. J. Appl. Microbiol. 106: 1370-1377.
- 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. Appl. Microbiol. 113(3): 714-722.
- Ruiz, L. A. V., G. J. Bersano, A. F. Carvalho, M. H. B. Catroxo, D. P. Chiebao, F. Gregori, S. Miyashiro, A. F. C. Nassar, T. M. F. S. Oliveira¹, R. A. Ogata, E. P. Scarcelli, and P. O. Tonietti. 2016. Case-control study of pathogens involved in piglet diarrhea. BMC. Res Notes DOI 10.1186/s13104-015-1751-2.
- SAS. 2005. User's guide: Statistics, version 9.1 edition. SAS Inc., Cary, NC. USA.
- Sanders, M. E., F. Guarner, R. Guerrant, P. R. Holt, M. M. Quigley, R. B. Sartor, P. M. Sherman, and E. A. Mayer. 2013. An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. Gut 62: 787-796.
- Schnabel, E., G. Bolduan, and A. Guldenpenning. 1983. Effect of a bran diet on the total passage rate and tract measurements in weanling swine. Arch. Tierernahr. 33: 371-377.
- Shahana, A., C. Hansen, A. L. Dahlkilde, A. Herrero-Fresno, K. S. Pedersen, J. P. Nielsen, and J. E. Olsen. 2021. The effect of colistin treatment on the selection of colistin-resistant *Escherichia coli* in weaner pigs. Antibiotics 10: 465.
- Suh, B., S. Park, D. W. Shin, J. M. Yun, B. Keam, H. K. Yang, E. Ahn, H. Lee, J. H. Park, and B. Cho. 2014. Low albumin-to-globulin ratio associated with cancer incidence and mortality in generally healthy adults. Ann. Oncology 125: 2260-2266.
- Sun, T., H. Miao, C. Zhang, Y. Wang, S. Liu, P. Jiao, W. Li, Y. Li, and Z. Huang. 2022. Effect of dietary *Bacillus coagulans* on the performance and intestinal microbiota of weaned piglets. Animal 16: 100561.
- Thomson, J. R. and R. M. Friendship. 2019. Digestive system. In Zimmerman, J. J., L. A. Karriker, K. J. Schwartz, G. W. Stevenson, and J. Zhang. Diseases of swine, 11th Edition Ames, Blackwell Publishing. Pp. 234-263.
- William, G. W., M. B. Susan, A. P. Dale, and J. L. David. 1991. 16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. J. Bacteriol. 697-703.
- 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: 19072084.

Effect of dietary supplementation of *Bacillus coagulans* on growth performance, blood biochemical parameters and diarrhea incidence of weaning pigs ⁽¹⁾

Fang-Chueh Liu ⁽²⁾⁽⁴⁾ Yu-Chun Lin ⁽²⁾ and Siou-Lan Li ⁽³⁾

Received: Jan. 9, 2023; Accepted: Apr. 30, 2023

Abstract

In this experiment, *Bacillus coagulans* powder was yielded in a small-scale fermentor with fermentation process including induction of sporulation, separation of BC pellet from the cultures and lyophilization. The viability of BC powder products could reach 1×10^{11} cfu/kg. A total of 48 head LD crossbred weaning piglets at age of 26-30 days were used in the study, with experimental design as 4 piglets per pen and 4 pen (repeats) per each treatment (group) including the blank group (basal diet as; as a control), commercial *Bacillus coagulans* group (with supplemental commercial *Bacillus coagulans*; CBC) and *Bacillus coagulans* group (with supplemental *Bacillus coagulans*; BC), *Bacillus* were supplemented at 1×10^8 cfu/kg feed for 4 weeks. The results showed that those with the BC diet had a better body weight gain at the 3rd and 4th week and improved feed conversion rate at the 3rd week than those with the control or CBC diet. There were no significant differences among the 3 groups control in blood biochemical parameters; leukocyte counts and proportion at the beginning and the end day. In the incidence of diarrhea, BC supplementation reduced the incidence by 19% and 6.2% when compared with the control and CBC group, respectively. In conclusion, the present results showed that dietary supplementation with BC effectively improved weight gain and relieved diarrhea in weaning pigs.

Key words: *Bacillus coagulans*, Diarrhea incidence, Feed additives, Weaning pigs, Growth performance.

(1) Contribution No. 2747 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).

(2) Animal Nutrition Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(3) Technical Service Division, MOA-TLRI, HsinHua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

(4) Corresponding author, E-mail: fcliu@mail.tlri.gov.tw.