เมริษา ศิริโสภาพงษ์: การประเมินคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ได้จากท่อทางเดินอาหารของไก่เพื่อใช้เป็นโพรไบโอติกในอาหารไก่เนื้อ (EVALUATION OF THE EFFICACY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM CHICKEN GASTROINTESTINAL TRACT FOR USE AS PROBIOTIC IN BROILER DIETS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. สุทิศา เข็มผะกา, 106 หน้า.

คำสำคัญ: แบคทีเรียกรดแลคติก/โพรไบโอติก/สมรรถนะการผลิต/การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน/สัตว์ปีก

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากท่อทางเดินอาหารของไก่ และประเมินคุณสมบัติในการเป็นโพรไบโอติก โดยทำการทดสอบแบคทีเรียโพรไบโอติกที่คัดแยกได้ในไก่เนื้อทั้งภายใต้สภาวะการเลี้ยงดูปกติ และสภาวะที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วยไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์ (Lipopolysaccharide, LPS)

การทดลองที่ I การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์กรดแลคติกจากท่อทางเดินอาหารของไก่ และประเมินคุณสมบัติความเป็นโพรไบโอติก โดยทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ได้จากท่อทางเดินอาหารไก่ จากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ 16S rRNA ทดสอบความสามารถในการทนทานต่อกรดและน้ำดี ฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรค ความสามารถในการยึดเกาะลำไส้ และคุณลักษณะเพิ่มเติมในการกำจัดคอเลสเตอรอล พบว่าแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก มี 5 สปีชีส์ดังนี้ *Lactobacillus acidophilus, L. ingluviei, L. reuteri, L. salivarius* และ *L. saerimneri* จากนั้นทำการคัดเลือก *L. ingluviei* และ *L. salivarius* เพื่อทดสอบความคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกเพิ่มเติมในไก่เนื้อเนื่องจากยังมีข้อมูลการศึกษาน้อย พบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ช่วยปรับปรุงสุขภาพทางเดินอาหาร โดยเพิ่มจำนวนประชากร *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* อีกทั้งยังสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตกรดวาเลอริกในซีกัม โดย *L. ingluviei* มีคุณสมบัติที่ดีกว่า *L. salivarious* ในการลดปริมาณเชื้อก่อโรค

การทดลองที่ II ศึกษาผลของ *L. ingluviei* C37 (LIC37) ในการตอบสนองต่อการอักเสบและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความแข็งแรงของผนังลำไส้ ในไก่ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ซึ่งเป็นสารพิษที่ได้จาก *Escherichia coli* กลุ่มการทดลองมี 4 กลุ่มประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุม (ป้อนฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์, PBS) 2) ป้อนโพรไบโอติก LIC37 ปริมาณ 10^8 CFU /ตัว/วัน 3) ป้อนโพรไบโอติก LIC37 ปริมาณ 10^9 CFU /ตัว/วัน และ 4) กลุ่มควบคุมลบ (ป้อน PBS) เป็นระยะเวลา 14 วัน เมื่อไก่อายุ 14 วัน ทำการฉีด LPS (1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เข้าที่ช่องท้องของไก่กลุ่มการทดลองที่ 2 3 และ 4 ส่วนกลุ่มควบคุมฉีดด้วย PBS ผลการศึกษาพบว่าโพรไบโอติก LIC37 สามารถลดการอักเสบในตับ และเพิ่มความแข็งแรงของผนังลำไส้ โดยเพิ่มการแสดงออกของยีนในกลุ่มโปรตีนไทด์จังก์ชั่น

(JAM2, occludin, ZO1) และยีนที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งเยื่อเมือก (MUC2) เพิ่มการทำงานของไลโซไซม์ในซีรัมของไก่ที่อยู่ในสภาวะถูกกระตุ้นด้วย LPS

การทดลองที่ III ศึกษาผลของการเสริม LIC37 ในอาหารไก่เนื้อทั้งในรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์ตาย ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก คอเลสเตอรอลในเนื้อ ประชากรจุลินทรีย์ การสร้างภูมิคุ้มกัน ปริมาณการผลิตกรดไขมันสายสั้น และแอมโมเนียในซีกัม กลุ่มการทดลองมี 4 กลุ่ม ประกอบด้วย 1) อาหารพื้นฐาน (กลุ่มควบคุม) 2) อาหารพื้นฐานเสริม zinc bacitracin 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (กลุ่มควบคุมบวก) 3) อาหารพื้นฐานเสริม LIC37 ในรูปแบบเซลล์มีชีวิตระดับ 10^8 CFU/กิโลกรัมอาหาร และ 4) อาหารพื้นฐานเสริม LIC37 ในรูปแบบเซลล์ตายระดับ 10^8 CFU/กิโลกรัมอาหาร ผลการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติก LIC37 ทั้งสองรูปแบบ สามารถเพิ่มน้ำหนักตัว และปริมาณการกินได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) และเทียบเท่ากลุ่มควบคุมบวกที่เสริมยาปฏิชีวนะ ($P>0.05$) นอกจากนี้จุลินทรีย์โพรไบโอติก LIC37 ทั้งสองรูปแบบ สามารถเพิ่มประชากรจุลินทรีย์ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ลดจุลินทรีย์ก่อโรค *Enterobacteria* และ *E. coli* ลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อ เพิ่มการผลิตกรดไขมันสายสั้น และลดการผลิตแอมโมเนียได้

โดยภาพรวมการศึกษาครั้งนี้สามารถคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก 5 สปีชีส์ คือ *L. acidophilus, L. ingluviei, L. reuteri, L. salivarius* และ *L. saerimneri* โดย LIC37 เป็นโพรไบโอติกชนิดใหม่ที่มีศักยภาพสำหรับใช้เป็นสารเสริมในอาหารไก่เนื้อทั้งในรูปแบบเซลล์มีชีวิต และเซลล์ตาย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์
ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนักศึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

MERISA SIRISOPAPONG: EVALUATION OF THE EFFICACY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM CHICKEN GASTROINTESTINAL TRACT FOR USE AS PROBIOTIC IN BROILER DIETS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. DR. SUTISA KHEMPAKA, Ph. D., 106 PP.

Keyword: Latic acid bacteria/Probiotic/Productive performance/Immune responses/ Poultry

This research aimed to isolate Lactic acid bacteria (LAB) from the gastrointestinal tract of chickens and to evaluate the efficacy of isolated LAB in broilers under normal conditions and the lipopolysaccharide (LPS) challenge.

Experiment I caracterized LAB chicken digestive tract strains and evaluate probiotic properties. LAB was isolated from the chicken gastrointestinal tract and identified by sequencing the 16S rDNA gene, followed by acid and bile tolerance, antimicrobial activity, adhesion to epithelial cells and additional characteristics on the removal of cholesterol. It revealed that five isolated strains can attain all probiotic property measurements, including *Lactobacillus acidophilus*, *L. ingluviei*, *L. reuteri*, *L. salivarius* and *L. saerimneri*. Two strains of *L. ingluviei* and *L. salivarious* were then selected for testing in chickens, since there is still a lack of information in previous studies. It was found that the two isolated strains can improve gut health by increasing the population of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* with an associated increase of valeric acid in the cecum. However, *L. ingluviei* exhibited greater properties than *L. salivarious* in reduction of pathogenic populations.

Experiment II studied the effects of *L. ingluviei C*37 (LIC37) on modulation of host inflammatory responses and expression of gut barrier gene in broilers induced with LPS endotoxin from *Escherichia coli* Chickens were randomly allocated into four treatment groups: 1) control (orally administered phosphate buffered saline, PBS) 2) orally administered probiotic LIC37 10^8 CFU/bird/day 3) orally administered probiotic LIC37 10^9 CFU/bird/day and 4) negative control (orally administered PBS) for 14 days. At 14 days of age. Treatments 2 3 and 4 chicken groups were injected intraperitoneally with LPS (1 mg/kg body weight), and control chickens were treated with a sterile PBS

injection. The results indicated that probiotic LIC37 has a beneficial protective effect on broiler chickens by modulating hepatic cytokine expression and strengthening the intestinal wall through improvement of the expression of intestinal tight junction protein (JAM2, occludin, ZO1) and mucin, and upregulation serum lysozyme during the LPS-mediated immunological challenge.

Experiment III studied the potential effects of live and heat killed LIC37 in broiler diets on growth performance, carcass quality, meat cholesterol, cecal microbial population, SCFAs and ammonia production. Broiler chickens were allocated into 4 groups in 6 replicate pens with 10 chicks each. Four treatments were as follows: 1) the basal diet, control; 2) basal diet supplemented with 50 mg/kg diet of zinc bacitracin, positive control (PC); 3) basal diet supplemented with 1×10^8 CFU/kg diet of live LIC37 and 4) basal diet supplemented with 1×10^8 CFU/kg diet of heat killed LIC37. The results showed that LIC37 in both live and heat killed cells can improve body weight gain and feed intake of broilers when compared to control ($P<0.05$) and similar as positive control that are supplemented with antibiotic ($P> 0.05$). In addition, *L. ingluviei* C37 in both forms can increase *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* and decrease *Enterobacter* and *E. coli* in cecal content, reduce meat cholesterol, improve cecal SCFAs concentration and reduce ammonia production.

Overall, this present study can isolate five strains of LAB with probiotic properties, including *L. acidophilus*, *L. ingluviei, L. reuteri*, *L. salivarius* and *L. saerimneri*. LIC37 is a novel probiotic with great potential as a feed additive in broiler diets, both live and heat killed cells.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Animal Technology and Innovation
Academic Year 2022

Student's Signature Merisa Srisopapong
Advisor's Signature Sutisa Khempaka
Co-advisor's Signature W. Molee
Co-advisor's Signature N. Amnama