กรุง วิลาชัย : การพัฒนาผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกยีสต์ เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการหมักในกระเพาะรูเมน และการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในโคนม (DEVELOPMENT OF PROBIOTIC YEAST PRODUCT TO IMPROVE RUMEN FERMENTATION AND ENHANCE PRODUCTIVITY IN DAIRY COWS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.ปราโมทย์ แพงคำ, 108 หน้า.

การศึกษามีทั้งหมด 3 การทดลอง ดังนี้ 1) การคัดแยก การคัดเลือก และการตรวจสอบอัตลักษณ์ของยีสต์ที่คัดแยกจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งประกอบด้วย แพะ กระบือ โคเนื้อ และโคนม เพื่อให้ได้โปรไบโอติกยีสต์ที่ดีที่สุด 2) การเสริมโปรไบโอติกยีสต์ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และ 3) การเสริมผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกยีสต์ต่อผลผลิตน้ำนม องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนม และค่าทางโลหิตวิทยา

การทดลองที่ 1 ศึกษาการคัดแยก การตรวจสอบอัตลักษณ์ และการคัดเลือกยีสต์ โดยคัดเลือกจากแพะ กระบือ โคเนื้อ และโคนม พิจารณาจากประสิทธิภาพของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ คัดแยกเชื้อยีสต์ได้ทั้งหมด จำนวน 91 ไอโซเลต ด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ที่เฉพาะเจาะจงทำให้เชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีสติกเพลท ทำทั้งหมดจำนวน 3 ครั้ง ตรวจสอบอัตลักษณ์ด้วยวิธีการทดสอบการย่อยสลายน้ำตาล ชุดทดสอบ API® 20C AUX แล้วเปรียบเทียบผลปฏิกิริยาแต่ละประเภทกับเชื้อในฐานข้อมูล และทำการยืนยันชนิดของยีสต์ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล เปรียบเทียบลำดับของเบสในฐานข้อมูล เอ็น ซี บี ไอ พบว่า เชื้อยีสต์ในจีนัส แคนดิดา คือ แคนดิดา กลาบราต้า (ความเหมือน 99 เปอร์เซ็นต์ของชนิดคู่เทียบ) แคนดิดา ทรอปิคอลลิส (99 เปอร์เซ็นต์) แคนดิดา โรกูซ่า (98 เปอร์เซ็นต์) และอิสซาชีเกีย ออรินทรอลิส (99 เปอร์เซ็นต์) นำยีสต์ทดสอบจำนวน 12 ไอโซเลต สายพันธุ์จีโอ 10 116 และ 19 (คัดแยกจากแพะ) บียู 3 4 และ 7 (คัดแยกจากกระบือ) บีอี 1 2 และ 7 (คัดแยกจากโคเนื้อ) และดีซี 4 14 และ 18 (คัดแยกจากโคนม) มาทดสอบเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีที่สุด พบว่า 1) ยีสต์ทุกสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตในสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 3.5-7.5 แต่สายพันธุ์บียู 3 และดีซี 18 จะมีประสิทธิภาพดีที่สุด ($P<0.01$) 2) ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ระดับ 6.5 ยีสต์สายพันธุ์บียู 3 และดีซี 18 มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด ($P<0.01$) อย่างไรก็ตามในสภาวะไร้ออกซิเจน สายพันธุ์ดีซี 18 จะมีอัตราการมีชีวิตรอดดีที่สุด ($P<0.05$) และ 3) ยีสต์ 3 สายพันธุ์ คือ บีอี 7 บียู 3 และดีซี 18 พบว่าสายพันธุ์ดีซี 18 ปริมาณการใช้ 20 เปอร์เซ็นต์ของของเหลวที่ใช้ในการหมัก สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพจลศาสตร์ในการผลิตแก๊ส ปริมาณแก๊สสะสม และเพิ่มกรดอะซิติก สัดส่วนกรดอะซิติกต่อโพรพิโอนิก

การทดลองที่ 2 ศึกษาระดับความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ยีสต์ที่มีชีวิตต่อกระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน และค่าโลหิตวิทยาในโคนม โดยใช้

โคนมเจาะกระเพาะจำนวน 4 ตัว วางแผนการทดลองแบบ 4 x 4 ลาตินสแควร์ ในแต่ละระยะการทดลองใช้จำนวน 28 วัน สัตว์ทดลองจะได้รับอาหารดังต่อไปนี้ คือ T1 กลุ่มควบคุม (ไม่เสริมผลิตภัณฑ์ยีสต์) และการเสริมผลิตภัณฑ์ยีสต์ 3 ระดับ คือ 50 100 และ 150 กรัมต่อตัวต่อวัน สำหรับ T2 T3 และ T4 ตามลำดับ พบว่า การเสริมผลิตภัณฑ์ยีสต์มีชีวิต ชนิด แคนดิดา กลาบราต้า ไม่มีผลกระทบทางลบต่อค่าโลหิตวิทยา แต่มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะรูเมนสูงกว่า ($P<0.05$) กลุ่มที่ไม่เสริมและไม่มีผลต่อค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ทั้งในกระเพาะรูเมน และในกระแสเลือด ($P>0.05$) ความเข้มข้นของกรดไขมันที่ระเหยได้ และประชากรของจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมนไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่การเสริมผลิตภัณฑ์ยีสต์มีผลทำให้จำนวนโปรโตซัวลดลง ($P<0.05$)

การทดลองที่ 3 ศึกษาการเสริมผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกยีสต์ต่อการให้ผลผลิตน้ำนม องค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม ปริมาณ โซมาติกเซลล์ และค่าโลหิตวิทยา ใช้โคนมจำนวน 14 ตัว ซึ่งมีระยะ 4 สัปดาห์ก่อนวันคลอด และสิ้นสุดการทดลองเมื่อครบ 4 สัปดาห์หลังวันคลอด โคจะได้รับอาหารทดลอง คือ 1 กลุ่มควบคุม (T1) ไม่เสริมผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกยีสต์ และ 2 เสริมผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกยีสต์ จำนวน 50 กรัมต่อตัวต่อวัน (2.3×10^9 โคโลนี) โดยผสมกับอาหารสำเร็จรูปทางการค้าให้ในเวลาเช้า อาหารหยาบที่ใช้ คือ ฟางข้าวและหญ้าเนเปียร์สด สำหรับโคทดลอง ก่อนคลอดและหลังคลอด ตามลำดับ เก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่กิน และปริมาณการผลิตน้ำนมทุกวัน พบว่า การเสริมผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกยีสต์ไม่มีผลกระทบ ($P>0.05$) ต่อปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง กระบวนการหมักในกระเพาะรูเมน (ค่าความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และกรดไขมันที่ระเหยได้) ผลผลิตน้ำนม องค์ประกอบทางเคมีในน้ำนม (ยกเว้นค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับการเสริมด้วย T2 $P=0.05$) และปริมาณโซมาติกเซลล์ จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า ยีสต์แคนดิดา กลาบราต้า ไม่มีผลกระทบต่อค่าโลหิตวิทยา และสามารถใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์สำหรับโคนมได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

KRUNG WILACHAI : DEVELOPMENT OF PROBIOTIC YEAST PRODUCT TO IMPROVE RUMEN FERMENTATION AND ENHANCE PRODUCTIVITY IN DAIRY COWS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PRAMOTE PEANGKOUM, Ph.D., 108 PP.

YEAST/PROBIOTIC YEAST/CANDIDA GLABRATA/DAIRY COWS

Three studies were conducted. In experimental I, 91 yeast isolates were collected by using the conventional method, and purifying them by streak plate 3 times. Additionally, the API® 20C AUX Kit and sequencing of the D1/D2 domain of the 26S rRNA gene were used to accurately identify the resulting genera *Candida spp.* and *Issatchenkia orientalis.* The 12 strains of yeast from each ruminants, Dc4 14 18; Be1 2 7; Bu3 4 7 and Go10 16 19 that were selected to determine the best strain of yeast. For the results, first all strains of yeast were grown on pH 3.5-7.5, but both strain Bu3 or Dc18 were better propagated and resistance of TVFAs than other strains ($P<0.01$). On the other hand, the yeast strain Dc18 that was grown had high ability ($P<0.01$) under anaerobic condition incubated. The second, under *in vitro* trial three strains of yeast providing the best growth performance, which was strain Be7, Bu3 and Dc18. Thus, it could be concluded that the addition of live yeast culture, Dc18 with 20% of fermented fluid would improve gas kinetic, gas cumulative, and also increase acetic acid (C_2), acetic acid: propionic acid (C_3) ratio.

In experimental II, four ruminal cannulated dairy cows were used according to a 4 x 4 Latin square design, each period was 28 days. Treatment consisted of control group (T1) was without live yeast product and supplementation of live yeast product amount 3 levels, 50 100 and 150 g/h/d (1 gram product had viable 4.5×10^7 cfu.) for T2, T3 and T4, respectively. The results found that the concentration of live yeast

(*Canida glabrata*) product, which can be concluded that *C.glabrata* had no negative effect on hematology parameters. On the other hand, average ruminal pH had affected the live yeast concentration, although both of NH_3-N and PUN were not significantly different ($P>0.05$). Likewise VFAs showed no significant difference ($P>0.05$) with the live yeast product. In addition, the rumen microbial population did not show any significant difference ($P>0.05$) except on both yeast and ciliate protozoa population when compared with the control ($P<0.05$). Consequently, the concentration of the live yeast product at T2 could be appropriately used for dairy cows.

In experimental III, 14 multiparous transition lactating dairy cows were used in this study. The experiment started 4 weeks before calving and ended 4 weeks after calving. The dietaries consisted of two groups, including the control group (T1), without probiotic yeast and T2 with supplemented probiotic yeast product amount 50 g/h/d (2.3×10^9 cfu) on top dress with SUT® concentrate fed on the morning. Rice straw and fresh Napier grass were used as roughage sources for the pre-calving and post-calving periods, respectively. Consequently, supplementation of the probiotic yeast product did not have a negative effect on DMI, ruminal fermentation (pH, NH_3-N and VFAs), milk yield, milk components yield (milk fat and protein), milk compositions and somatic cell count ($P>0.05$). But, milk protein showed increasing trend ($P=0.05$) with added the probiotic yeast. On week 3 after calving, milk yield and composition were higher with supplemented *C. glabrata* than control group ($P<0.05$). And also yeast *C. glabrata* was not negatively effected on hematology, which is safely used in dairy cows.

School of Animal Technology and Innovation Student's Signature _____

Academic Year 2019 Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____