4. วิจารณ์ผลการทดลอง

จุลินทรีย์มีบทบาทที่สำคัญยิ่ง ต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต จุลินทรีย์มีบทบาทตั้งแต่การเป็นปฐมของห่วงโซ่อาหาร (primary food chain) เช่นจุลินทรีย์จำพวกยีสต์ แบคทีเรีย และจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงมีการนำจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาใช้ประกอบด้วย กุ้งกุลาดำก็เช่นเดียวกัน ระบิล (2545) ได้ศึกษาพยาธิวิทยา (histopathology) ของกุ้งกุลาดำ (P-15) พบว่ามีจุลินทรีย์จำนวนมาก อยู่ภายในระบบทางเดินอาหารโดยแออัดอยู่ ตั้งแต่โพรงปาก จนถึงปริเวณกระเพาะส่วนหน้า ซึ่งแสดงว่าจุลินทรีย์เป็นอาหารของลูกกุ้งวัยอ่อน ในธรรมชาติแล้วสามารถพบยีสต์ได้ทุกแห่ง โดยเฉพาะสภาวะแวดล้อมที่ประกอบไปด้วยน้ำเป็นส่วนใหญ่ พบว่ายีสต์สามารถทนได้ในสภาวะที่หลากหลาย ทั้งน้ำจืด น้ำปากอ่าว น้ำบริเวณชายฝั่ง และน้ำเค็ม โดยปริมาณและชนิดของยีสต์ จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของสารประกอบอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำ และจากการคัดเลือกยีสต์จากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยน้ำเค็มจากบริเวณชายฝั่งทั้ง 120 ตัวอย่าง ที่เก็บได้จากจังหวัด พัทลุง สงขลา และนครศรีธรรมราช สามารถพบยีสต์ทั้งหมด 198 ไอโซเลต จากการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 4 ส่วน คือ ปากถึงกระเพาะ ลำไส้ส่วนต้น ลำไส้ส่วนปลาย และซีกัม สามารถพบยีสต์เป็นจำนวน 50, 54, 49 และ 45 ตามลำดับ การศึกษายีสต์ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำในปัจจุบันมีการศึกษาน้อยมาก โดยมีการศึกษาถึงจุลินทรีย์ที่อยู่ประจำในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ พบว่าบริเวณทางเดินอาหารส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนท้าย มีจำนวนยีสต์เท่ากับ 2×10^2 - 3×10^2, 2×10^3 - 4.5×10^4 และ 1×10^2 - 7.5×10^3 CFU/digestive tract ตามลำดับ ส่วนในตับมียีสต์ 1×10^2 - 1.5×10^2 CFU/hepatopancreas และในน้ำเลี้ยงกุ้งมียีสต์ 3.2×10^4 - 3.9×10^4 CFU/ml สาหรี่ (2543) ซึ่ง ยีสต์ที่พบในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ มักจะมาจากสภาวะแวดล้อมทางน้ำ ซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยของกุ้งกุลาดำ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าบริเวณชายฝั่งจะพบยีสต์เป็นจำนวน 10 – 1,000 เซลล์ต่อน้ำหนึ่งลิตร สำหรับบริเวณน้ำลึกที่มีแหล่งของสารประกอบ

อินทรีย์ในปริมาณน้อยจะพบยีสต์ปริมาณ 10 เซลล์ต่อลิตรหรือน้อยกว่านั้น โดยอาจมีบางบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารอาหารสูง จะพบยีสต์ได้ในปริมาณมากถึง 3,000 – 4,000 เซลล์ต่อน้ำหนึ่งลิตร (Paul, 1998) นอกจากนี้ Andlid *et al*. (1998) ยังได้ทำการแยกเชื้อยีสต์จากลำไส้และ อุจจาระของปลา rainbow trout ซึ่งจะมีจำนวน 4 x 10^4 และ 3 x 10^6 เซลล์ต่อกรัมของลำไส้และอุจจาระ ตามลำดับ ส่วน Ampe และ Thiery (1998) พบยีสต์จำนวน น้อยกว่า 50 และ 50 CFU/digestive tract เมื่อทำการแยกจาก ลำไส้ส่วนต้นและสำไส้ส่วนปลายของกุ้งสายพันธุ์ *Branchinella spinosa*

นอกจากนี้ Andlid (1998) ได้ทำการแยกยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* CBS 7764 และ *Debarymyces hansenii* HF1 จากระบบทางเดินอาหารของ rainbow trout Tannock (1998) ได้ศึกษา *Saccharomyces cerevisiae* และ *Torulopsis* spp. นอกจากนี้ Spencer (1997) พบยีสต์ในแม่น้ำและทะเลสาบมีสายพันธุ์ *Hansenula, Pichia, Saccharomyces cerevisiae, Candida, Cryptococcus, Rhodotorula, Torulopsis* และ *Trichosporon cutaneum*

คุณสมบัติการของโปรไบโอติกของเชื้อจุลินทรีย์ได้มีการเริ่มใช้กันมานานแล้ว โดย Eile Metchnikoff ได้เป็นคนแรกที่เริ่มต้นศึกษาเกี่ยวกับ โปรไบโอติก โดยให้คำจำกัดความว่าเป็นจุลินทรีย์ที่นำเข้าไปในร่างกายทางปากโดยมีจุดประสงค์เพื่อส่งเสริมให้มีสุขภาพที่ดีขึ้น สำหรับการนำคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกมาใช้ทางด้านสัตว์น้ำนั้น มีแนวโน้มการใช้ที่เพิ่มขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโต และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ ซึ่งการทดสอบคุณสมบัติส่วนใหญ่จะศึกษา การเจริญเติบโตในอุณหภูมิที่แตกต่าง การเจริญเติบโตที่ pH ต่ำ การอยู่รอดในระบบทางเดินอาหาร โดยได้ทำการคัดเลือกยีสต์ที่มีคุณสมบัติดังกล่าว เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ภายในลำไส้ เพื่อความสมดุลของระบบทางเดินอาหาร (Psomas *et al*., 2001) และการส่งเสริมการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำด้วย (Gullian *et al*., 2004) ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษายีสต์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติก โดย แยกยีสต์ได้จากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ ซึ่งมีคุณสมบัติที่เหมาะสมโดยสามารถทนต่อ pH ที่เหมาะสม การเจริญที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน ความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค ความสามารถใน

การใช้เกลือไนเตรท และความสามารถในการย่อยโปรตีน แป้ง และไขมัน ผลจากการทดลองพบว่า สามารถคัดเลือกยีสต์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติกได้ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 198 สายพันธุ์ คิดเป็น 19.44% จากจำนวนยีสต์ทั้งหมดที่นำมาศึกษา โดยทั้ง 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Cryptococcus* sp., *Candida* sp., *Cryptococcus* sp., *Sterigmatomyces* sp., *Pichia sp., Rhodotorula* sp. และ *Malassezia* sp.

สำหรับการศึกษาการเจริญที่ระดับ pH 4, 5, 6, 7 และ 8 พบว่ายีสต์ส่วนใหญ่สามารถเจริญที่ pH แตกต่างกันได้ โดย pH ที่ระดับ 7.0 และ 8.0 ที่นำมาศึกษา เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ และเป็นระดับ pH ของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วย ส่วน pH 5.5 – 6 เป็นระดับความเป็นกรดภายในบริเวณลำไส้ของกุ้งกุลาดำ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของระดับ pH ในสิ่งแวดล้อม ก็ยังส่งผลกระทบต่อการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ โดย พรเลิศ และคณะ (2541) ได้ทำการศึกษา พบว่าการเพิ่มค่า pH ของน้ำจาก 7.1 เป็น 10.0 จะทำให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียลดลง แต่จะไม่มีผลต่อการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยวิธีการกลืน (phagocytosis) ดังนั้นยีสต์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติกที่คัดเลือกได้จึงสามารถเจริญเติบโตใน pH ที่ระดับต่าง ๆ ได้ โดยสามารถอยู่รอดและเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะสิ่งแวดล้อมภายนอกตัวกุ้งกุลาดำ และ สภาวะสิ่งแวดล้อมภายในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ

นอกจากนี้อุณหภูมิ เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ รวมทั้งการเจริญของยีสต์ด้วย โดยพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 25 -30 องศาเซลเซียส ซึ่งในการทดลองนี้ได้ศึกษาอุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ กัน ได้แก่ 18, 25 และ 30 องศาเซลเซียส สำหรับอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส นั้น พบว่า ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่านี้ จะมีผลกระทบต่อกุ้ง โดยจะทำให้กุ้งเกิดความเครียดและไม่กินอาหาร และจากการศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างรวดเร็วพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิของน้ำจาก 26 องศาเซลเซียส เป็น 35 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง มีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ phenoloxidase และความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย (bactericidalactivity) ลดลงส่วนการลดอุณหภูมิจาก 26

องศาเซลเซียส เป็น 15 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการตอบสนองของระบบป้องกันภัยตนเอง (พรเลิศ และคณะ, 2541)

การรักษาอาการติดเชื้อโรคของกุ้งกุลาดำนั้น นิยมใช้ยาปฏิชีวนะ ที่มีจำหน่ายอยู่ทั่วไปในท้องตลาด ได้แก่ ออกซีเตตร้าซัยคลิน นอร์ฟล็อกซาซิน คลอแรมฟินิคอล และกรดออกโซลินิก จึงได้นำยีสต์ที่มีคุณสมบัติการทน pH การทนอุณหภูมิที่แตกต่างมาศึกษาการสร้างสารยับยั้งเชื้อก่อโรคต่าง ๆ ผลการทดลอง ปรากฏว่า ยีสต์ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ ซึ่งจากรายงานของ Bevanand Makower, 1963 (อ้างโดย Ciani, 2001) พบว่า ยีสต์ได้สร้างสารพิษที่เรียกว่า yeast killer toxin ซึ่งเป็นสารพวกโปรตีน ซึ่งมีการหลั่งออกมาภายในเซลล์ของยีสต์ โดยพิษที่สร้างขึ้นนี้จะไม่มีอันตรายต่อตัวเซลล์ของยีสต์ที่สร้างเอง แต่จะมีพิษต่อยีสต์ชนิดอื่น ๆ โดยจะไม่มีผลกับจุลินทรีย์ประเภทอื่น ๆ

ในปัจจุบันวิธีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสมัยใหม่ เป็นระบบพัฒนา แบบหนาแน่น (intensive system) จึงต้องใช้อาหารในปริมาณมาก เพื่อให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตและอัตรารอดสูง และให้ผลตอบแทนคุ้มค่ากับการลงทุน ผลจากสาเหตุดังกล่าว ทำให้เกิดผลเสีย เนื่องจากคุณภาพของน้ำเสื่อมลงเป็นอันมาก เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนจากอาหารของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ยังทำให้ปริมาณออกซิเจนลดต่ำลงเนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียต่าง ๆ ซึ่งส่งผลเสียต่ออัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ ดังนั้น ยีสต์ที่คัดเลือกได้สามารถหลั่งเอ็นไซม์ออกมาจากเซลล์ เช่น โปรติเอสสามารถย่อยโปรตีนได้ ก็จะช่วยลดปัญหาดังกล่าว นอกจากนี้ยังส่วนลดปัญหาเศษอาหารกุ้งที่เหลือจากการเลี้ยงและสิ่งที่กุ้งขับถ่ายออกมาในบ่อเลี้ยงกุ้ง เพื่อลดการแปรสภาพเป็นแอมโมเนีย ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของสารอินทรีย์ (Chin and Chen, 1987) และการเกิดขบวนการ nitrification โดยจุลินทรีย์บางชนิดก็จะเปลี่ยนแอมโมเนีย เป็นไนไตรท์และไนเตรท สารพิษที่เกิดขึ้น ยังส่งผลให้สัตว์น้ำที่เพาะเลี้ยงตาย และถึงแม้ว่าความเข้มข้นที่เกิดขึ้นไม่อยู่ในระดับที่ทำให้สัตว์น้ำตาย (Chiayvareesajja and Boyd, 1993) แต่ยังส่งผลกระทบให้กุ้งเกิดความเครียด อัตราการเจริญเติบโตช้าลงได้

การศึกษาครั้งนี้จึงมีการคัดเลือกยีสต์ที่มีคุณสมบัติในการใช้ไนเตรทได้ โดยพบว่าสามารถใช้ไนเตรทได้ถึง 57.14% โดยพบว่ายีสต์สามารถกำจัดไนเตรทจากน้ำเสียและน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ (Barnes and Wilson, 1978) เนื่องจากเกี่ยวข้องกับวัฏจักรไนโตรเจน คือ ในบ่อเลี้ยงกุ้งมีการสลายตัวของสารอินทรีย์ เช่น เศษอาหาร กุ้ง และสิ่งที่กุ้งขับถ่ายออกมา เป็นแอมโมเนีย

การนำยีสต์ที่มีประโยชน์มาใช้ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแลกติก สายพันธุ์ *Leuconostocs dextranicum* AM20 ให้มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหาร MRS เพียงอย่างเดียว สำหรับแบคทีเรียแลกติกที่เลี้ยงในอาหาร MRS กับอาหาร YA (อาหารที่ใช้เลี้ยงยีสต์) ผสมกัน พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด เมื่อเทียบกับอาหารอื่นที่เลี้ยง เนื่องจากอาหาร YA มีส่วนผสมของวิตามิน และกรดอะมิโน ในอาหารทำให้มีความอุดมสมบูรณ์สูงมาก จึงสามารถส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแลกติกได้ดี ยกเว้น ยีสต์สายพันธุ์ *Candida* sp. AJ70 ซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลกติกได้ดีกว่า ซึ่งอาจจะเป็นเพราะกรดอะมิโนและวิตามินต่าง ๆ ที่ยีสต์สร้างขึ้นมาก็ได้ สำหรับสายพันธุ์อื่น ๆ ที่ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Leuconostocs dextranicum* AM20 ได้นั้น อาจเนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นของยีสต์มีปริมาณน้อยกว่า และยีสต์เป็นเชื้อที่มีการเจริญเติบโตช้า ดังนั้นจึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ทัน กลไกระหว่างยีสต์และแบคทีเรียแลกติกไม่ได้มีการศึกษามากมายนักแต่มีการสันนิษฐานไว้ว่า การที่ยีสต์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลกติกได้ เมื่อมีการเลี้ยงร่วมกันนั้น ยีสต์อาจจะผลิตสารบางอย่างซึ่งมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแลคติกได้ การนำยีสต์ และแบคทีเรียแลคติกมาใช้ร่วมกันด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้น ยังไม่ค่อยพบเห็นบ่อยนัก ซึ่งส่วนใหญ่แล้ว มักจะมีการนำมาใช้ด้านผลิตภัณฑ์หมักต่าง ๆ โดย Naruhus และ Gadaga (2003) ได้ทำการศึกษาinteractionระหว่างยีสต์และแบคทีเรียแลกติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก ซึ่ง interaction ที่เกิดขึ้นมีอิทธิพลในการสร้างลักษณะของนมหมัก และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยยีสต์อาจจะผลิตวิตามินซึ่งทำให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลกติกเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้

ยีสต์ยังสร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์, proteolysis และ lipolysis รวมถึงการสร้างวิตามินและปัจจัยที่สนับสนุนการเจริญอื่น ๆ

Viljoen (2001) พบว่า ยีสต์ในธรรมชาติจะไปคอยช่วยเหลือ metabolizing ของแบคทีเรียแลคติกให้สมบูรณ์ขึ้น และจะปล่อย growth factors ออกมา ซึ่งจะไปมีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติก

Lorsetti *et al*. (2001) ได้ศึกษา *Brevibacterium linens* ซึ่งแยกมาจาก Limburger cheese ซึ่งต้องการ pantothenic acid (vitamin B5) สำหรับการเจริญเติบโต และยีสต์ที่อยู่ด้วยกันจะทำการสังเคราะห์ pantothenic acid และวิตามินอื่น ๆ เพื่อให้แบคทีเรียเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของ แบคทีเรีย โดยทำการผลิตวิตามิน และ peptides

การเลี้ยงกุ้งโดยมีการเพิ่มยีสต์ที่มีคุณสมบัติที่ดี และเป็นประโยชน์ในอาหารกุ้งเพื่อช่วยในการพัฒนา การเจริญเติบโต การรอดตาย และโครงสร้างของกุ้งกุลาดำที่ได้รับยีสต์เหล่านั้น พบว่า อาหารที่ผสมยีสต์สายพันธุ์ *Cryptococcus* sp. AJ 98 เป็นกลุ่มที่มีอัตราการเพิ่มของน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด รวมทั้งอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำต่อวัน และให้ผลอัตราการรอดตายของกุ้งถึง 100% ซึ่งสอดคล้องกับนักวิทยาศาสตร์หลายคนที่มีการนำยีสต์มาใช้ในสัตว์น้ำ เพื่อประโยชน์ดังกล่าว โดย Maeda (1992) ได้เริ่มทดสอบโดยการเพิ่ม “soil extract” ในการเลี้ยงกุ้ง โดยให้อัตราการรอดตายสูงเมื่อได้รับภายใน 4 วันแรกของการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับไม่ได้เติมสารสกัดลงไปซึ่งสันนิษฐานได้ว่าวัตถุประสงค์ของการเพิ่ม “soil extract” เพื่อให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นโตและอาจจะเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งอีกด้วย นอกจากนี้ สามารถใช้ประโยชน์ด้านเม็ดสีของยีสต์ ซึ่งแยกได้จากสิ่งแวดล้อมทางทะเล ในการเพิ่มการเจริญเติบโตของ *Lipopenaeus vannamei* (Gomez-Gil *et al*., 2000) และ Scholz *et al*. (1999) ได้ทำการทดลองใช้ยีสต์ผสมกับอาหารในกุ้ง *P. vannamei* โดยใช้อาหาร 5 ชนิด ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* 1% β-glucanที่สกัดได้จาก *Saccharomyces cerevisiae* 0.1% *Phaffia rhodozyma* 1% ยีสต์ (HPPR1) 1% และกลุ่มควบคุม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงทุกชนิด และพบว่า

อัตราการรอดชีวิตของอาหารที่บรรจุ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Phaffia rhodozyma* และ ยีสต์ (HPPR1) พบว่ามีอัตราการรอดที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากกุ้งแล้ว ยังมีการใช้ยีสต์ในสัตว์น้ำชนิดอื่น เช่น Sea bass โดย Tovar-Ramirez *et al*. (2004) ศึกษายีสต์โดยการผสมใส่ลงไปกับอาหารปริมาณ 0% 1.1% และ 5.7% โดยเลี้ยงเป็นเวลา 37 วัน โดยพบว่าเมื่อให้ยีสต์อัตราการอยู่รอดจะเพิ่มขึ้น 10% และจะลดการเจริญเติบโตที่ผิดปกติของของ Sea bass ลง และน้ำหนักของ Sea bass จะเพิ่มเป็น 2 เท่าเมื่อให้อาหารที่ผสมยีสต์ 1.1% ลงไปในอาหาร เมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ ซึ่งมีการใช้ ยีสต์ที่มีชีวิตในการเลี้ยง Sea bass นั้นช่วยพัฒนาอัตราการเจริญเติบโต โดยพบว่า polyamine เป็นตัว promoting ในระบบทางเดินอาหารและเพิ่มความสามารถของการดูดซึมแร่ธาตุในระบบทางเดินอาหาร โดย Bardocz *et al*. (1993) ได้ให้เหตุผลว่า polyamine เป็นสารที่ต้องการสูงในสัตว์น้ำขนาดเล็ก และมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต นอกจากนี้ Lara-flores *et al*. (2003) ได้ศึกษาผลของยีสต์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตของปลาหมอเทศ โดยใช้ยีสต์ 0.1% เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมยีสต์ โดยให้อาหารเป็นเวลา 9 สัปดาห์ โดยปรากฏว่าอาหารที่ผสมโปรไบโอติกจะให้การเจริญเติบโตที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมโดยพบว่าอาหารที่ผสมยีสต์ 40% ของอาหาร จะให้การเจริญเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพการกินอาหาร แสดงว่ายีสต์เป็นตัวกระตุ้นการเจริญเติบโตของการเลี้ยงปลาหมอเทศได้ดี และยังมีการศึกษาในปลา rainbow trout อีกด้วย โดยได้ทำการคัดเลือกยีสต์ *Rhodotorula rubra*, *R. glutinis* และ *Candida zeylanoides* ซึ่งแยกได้จากลำไส้ในระบบทางเดินอาหารของปลา rainbow trout พันธุ์พื้นเมือง และนำกลับไปเลี้ยงปลา rainbow trout ซึ่งพบว่าอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยีสต์ (Vazqvez-Juarez *et al*., 1993) นอกจากนี้ มีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงปูด้วย โดย Noh *et al*. (1994) ได้ศึกษาการนำยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ผสมในอาหาร ทำให้น้ำหนักสุทธิมีการเพิ่มขึ้น 10% ความสามารถในการย่อยอาหารที่ดี และส่งเสริมอัตราการเจริญเติบโต จากการที่โปรไบโอติกไปปรับปรุงการดูดซึมอาหาร และการย่อยสลายโปรตีน ซึ่งอาจจะอธิบายได้ว่า อาหารที่

ผสมยีสต์ให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีกว่า เพราะยีสต์ไปช่วยย่อยส่วนประกอบของอาหารให้เล็กลง ทำให้ง่ายต่อการดูดซึมและนำไปใช้ในสัตว์น้ำ ซึ่งนอกจากจะมีการนำยีสต์ไปใช้ในลักษณะเป็นเซลล์แล้ว ยังมีการสกัดสาร astaxanthin จากยีสต์ที่มีลักษณะโคโลนีสีแดงอีกด้วย โดย Storebakken *et al*. (2004) ได้ทำการศึกษา astaxanthin จากยีสต์สีแดง *(Xanthophyllomyces dendrorhous*) โดยศึกษา 3 ระดับ คือ 45% 70% และ 97% เปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ผสมด้วยยีสต์ แล้วนำไปเลี้ยงปลา trout เป็นเวลา 92 วัน โดยให้อาหารในอัตราส่วน 0.8 – 0.9 กิโลกรัม ทำให้ได้น้ำหนักเนื้อปลาเพิ่มขึ้นเป็น 1 กิโลกรัม ซึ่งทำให้สามารถเพิ่มน้ำหนักของกล้ามเนื้อ จาก 3.7% เป็น 17.4% จากประโยชน์ดังกล่าวแล้ว ยีสต์ที่มีลักษณะสีแดงยังสามารถใช้ประโยชน์ด้าน antioxidative biology จาก *Phaffia rhodozyma* โดยผสมในอาหาร 10.87% เปรียบเทียบกับไม่ได้ผสมยีสต์ในอาหารพบว่าปริมาณน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น 138.7% และ 125.8% ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งต่อวัน มีค่าเท่ากับ 1.56% เมื่อเทียบกับไม่ได้ผสมยีสต์ในอาหารมี 1.35% ตามลำดับ (Nakano *et al*., 1999) ต่อมา Pan *et al*. (2003) ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณของ astaxanthin ในอาหารสำหรับกุ้งกุลาดำ โดยใช้ความเข้มข้น 0 และ 71.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเพื่อดูความต้านทานแอมโมเนียในน้ำที่มีความเข้มข้น 0.02, 0.2, 2 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการอยู่รอดของกุ้งกุลาดำเมื่อให้อาหารที่ผสม astaxanthin พบว่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงว่า การทนทานความเข้มข้นแอมโมเนียของกุ้งกุลาดำ มีการปรับปรุงขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มี astaxanthin โดย astaxanthin เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับกุ้งกุลาดำเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมาก นอกจากนี้ Chien *et al*. (2003) ยังพบว่า astaxanthin มีประโยชน์โดยสามารถต้านทานต่อความเค็มที่ระดับความเข้มข้นสูงได้อีกด้วย

ผลการตรวจนับหลังจากให้อาหารที่ผสมยีสต์แก่กุ้งกุลาดำกินแล้ว ทำการผ่าตัดระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ และตรวจนับเชื้อยีสต์จะพบปริมาณเชื้อมากที่สุดและน้อยที่สุดคือ 2.57×10^5 CFU/ml และ 9.3×10^3 CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งบริเวณที่พบยีสต์มากที่สุด ที่บริเวณลำไส้ส่วนปลายโดย Tovar-Ramirez *et al*. (2004) ได้ทำการผสมยีสต์ในอาหารซึ่งมีปริมาณ 10^6 CFU/g และเมื่อทำการตรวจปริมาณยีสต์เมื่อเลี้ยง

ไป 30 วัน พบว่ามียีสต์อยู่ทั้งหมด 1.1 x 10^4 CFU/g สำหรับผลการนับเชื้อ *Vibrio* พบมากที่สุด 4.55 x 10^5 CFU/ml และพบน้อยที่สุด 1.05 x 10^4 CFU/ml โดย *Vibrio* จะพบบริเวณทุกส่วน คือ ปาก – กระเพาะ, ลำไส้ส่วนต้น, ลำไส้ส่วนปลาย และบริเวณซีกัม ส่วนจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะพบมากที่สุด 8.42 x 10^6 CFU/ml และพบน้อยที่สุดเป็นจำนวน 1.61 x 10^6 CFU/ml และจะพบบริเวณลำไส้ส่วนปลายมากที่สุด โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่า มีความใกล้เคียงกัน ซึ่งปกติในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ทุกชนิดมีจุลินทรีย์ปริมาณหนึ่ง เพื่อทำหน้าที่ย่อยสลายอาหารและเพิ่มการดูดซึมสารอาหารให้ดียิ่งขึ้น โดย สุรศักดิ์ (2544) พบว่า ในกุ้งกุลาดำที่แข็งแรงจะมีจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ครอบครองพื้นที่ในระบบทางเดินอาหารเสมอ ซึ่งจากการศึกษาแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้ พบว่าตัวอย่างบริเวณ ทางเดินอาหารของกุ้งสีน้ำตาล *(Penaeus aztecus*) ซึ่งมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด อยู่ในช่วง 7.5 x 10^6 – 2.6 x 10^7 CFU/g (Dempsey *et al*., 1989) สำหรับ วรรณนิภา (2539) ได้ศึกษาแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากบริเวณทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำและน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่า ในทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด 1.2 x 10^6 – 3.4 x 10^7 CFU/g และในน้ำมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด 1 x 10^4 - 4.4 x 10^5 CFU/ml ต่อมา ลิลา (2540) ได้ศึกษาแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียรวมอยู่ในน้ำถึง 10^2 - 10^4 cells/ml

การศึกษาการทนต่อการเกิดโรคต่อเชื้อ *V. harveyi* ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยยีสต์เป็นเวลา 30 วัน โดยใช้เชื้อ *V. harveyi* ที่มีความเข้มข้น 3 x 10^7 CFU/ml ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผลปรากฏว่ากลุ่มการทดลองที่มีอัตราการรอดตาย 100% มีอยู่ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มการทดลองที่ได้รับยีสต์สายพันธุ์ *Cryptococcus* sp. AJ 98, *Stengmatomyces* sp.AJ 176 และ *Phaffia* sp. AJ 179 ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการผสมยีสต์ลงไปในอาหารพบอัตราการรอดตายเพียง 28.57% ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีความสอดคล้องกันกับการทดสอบของ Garriques and Arevalo (1995) โดยใช้ *V. alginolyticus* ซึ่งแยกมาได้จากน้ำทะเล นำมาทดสอบกับ *Litopenaeus vannamei* ผลปรากฏว่ากุ้งที่เลี้ยงไม่มีอัตราการตายเมื่อทำการทดสอบกับเชื้อก่อโรค (Challenge pathogenicity test)

สำหรับระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ มีการศึกษาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมยีสต์ สายพันธุ์ *Cryptococcus* sp. AJ 98 ได้ให้ค่ากิจกรรมมากที่สุด คือ 305.84 unit/min/mg protein ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งอาจเป็นเพราะกุ้งได้รับเชื้อยีสต์ โดยที่ผนังเซลล์ที่มีส่วนประกอบของโพลีแซคคาร์ไรด์และ เปปทิโดไกลแคน ซึ่งเป็นสารที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ จึงทำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดความว่องไวของฟีนอลออกซิเดสและระบบภูมิคุ้มกันอื่น ๆ ในร่างกายได้และจากรายงานของ Devaraja *et al*. (1998) พบว่า ความว่องไวของฟีนอลออกซิเดสในเม็ดเลือดกุ้งที่ได้รับการกินอาหารผสมแบคทีเรียที่ผลิตจาก *V. harveyi* และกลูแคนมีค่าเพิ่มขึ้นกว่าชุดควบคุม แสดงว่าองค์ประกอบของผนังเซลล์ หรือสารประกอบอื่นที่ผลิตจากแบคทีเรียและยีสต์สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในตัวกุ้งได้ ต่อมา พรเลิศ และคณะ (2541) ได้ทดลองใช้ β-glucan ซึ่งเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดหนึ่งที่ทำการสกัดได้จากยีสต์ ผสมอาหารให้กุ้งกินในอัตรา 5 และ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมเป็นเวลา 3 วันติดต่อกัน และทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อหาปริมาณเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ความสามารถในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการกลืน และความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า ตลอดระยะเวลาในการให้อาหารผสม β-glucan ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ไม่มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เด่นชัด ในขณะที่กุ้งที่ได้รับ β-glucan ในอัตรา 10 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีปริมาณเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ความสามารถในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการกลืน และความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มขึ้นต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับ β-glucan นานติดต่อกัน 3 วัน

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเลือด โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการผสมยีสต์ในอาหารกับกลุ่มการทดลองอื่น ๆ ที่มีการผสมยีสต์ไปในอาหาร พบว่า กลุ่มควบคุมให้ปริมาณเม็ดเลือดรวมเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 2.45×10^7 cell/ml และยีสต์สายพันธุ์ R*hodotorulla* sp. AJ 181 จะให้ปริมาณเม็ดเลือดสูงที่สุด คือ 5.03×10^7 cell/ml ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ruangsri *et al*. (2004) พบว่ากุ้งที่ติดเชื้อแบคทีเรียจะมีปริมาณเม็ดเลือดในระบบไหลเวียนต่ำกว่ากุ้งปกติมากเนื่องจาก

เชื้อแบคทีเรียเป็นสิ่งแปลกปลอม เมื่อเข้าสู่ตัวกุ้งเม็ดเลือดจะเข้ามาล้อมจับเพื่อกำจัดออกนอกตัว จึงทำให้เม็ดเลือดในระบบไหลเวียนลดลง และสอดคล้องกับรายงานของ Martin *et al*. (1993) โดยพบว่าปริมาณเม็ดเลือดของกุ้ง *Sicyonia ingentis* ลดลง 20% หลังจากฉีดเชื้อแบคทีเรียไป 24 ชั่วโมง

ความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคในเลือด ของกุ้งกุลาดำพบว่ากลุ่มที่กำจัด *Vibrio harveyi* ในเลือดได้น้อยที่สุดคือกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ผสมยีสต์ลงไปแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Scholz *et al*. (1999) พบว่า ความสามารถของกุ้งในการกำจัด *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ BPO5 ออกจากเลือดของกุ้ง โดยให้กินอาหารที่ผสมยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae*, *Phaffia rhodozyma* HPPR1 และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับยีสต์ ผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม