

การศึกษาการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ โดยใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน 2 ชนิด ได้แก่ เบต้ากลูแคน และเปปติโดกลัยแคน รวมทั้งแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่แยกได้จากลำไส้กุ้งกุลาดำ พบว่าการใช้สารเบต้ากลูแคน ในปริมาณ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม สารเปปติโดกลัยแคน 0.18 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม และการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (ความเข้มข้น  $10^{10}$ - $10^{11}$  CFU/กรัม) 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มค่าองค์ประกอบทางภูมิคุ้มกันต่าง ๆ ของกุ้งกุลาดำ ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส การผลิตซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ความว่องไวในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้งกุลาดำ และความสามารถในการกำจัดเชื้อโรคจากระบบไหลเวียนได้ อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, เชื้อผสมของ *B. pumilus* + *B. sphaericus*, เชื้อผสมของ *B. pumilus* + *B. subtilis*, เชื้อผสมของ *B. sphaericus* + *B. subtilis* และ เชื้อผสมของ *B. pumilus* + *B. sphaericus* + *B. subtilis* สามารถที่จะเพิ่มปริมาณเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ความว่องไวในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้งกุลาดำ และความสามารถในการกำจัดเชื้อโรคจากระบบไหลเวียนได้เช่นเดียวกัน การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สารเบต้ากลูแคน 3 กรัม และเปปติโดกลัยแคน 0.18 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าการให้สารดังกล่าว 5 วัน ใน 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 1 เดือน ทำให้องค์ประกอบต่าง ๆ ทางระบบภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มควบคุม ได้นาน 6-7 สัปดาห์ หลังจากนั้นจึงมีค่าลดลง ส่วนการใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* ควรใช้ตลอดการเลี้ยง เนื่องจากแบคทีเรียดังกล่าวนอกเหนือจากคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแล้ว เชื้อ *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิดนั้นยังสามารถลดปริมาณของแบคทีเรียก่อโรค *Vibrio* spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำได้ 20.97-32.45 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ว่าเชื้อ *Bacillus* จะไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค *Vibrio harveyi* ได้เมื่อทดสอบโดยวิธี cross streak method แต่ขนาดของเซลล์ *V. harveyi* บริเวณจุดตัดของเชื้อเมื่อดูด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope พบว่ามีขนาดเล็กกว่าเซลล์ปกติ การศึกษาการแข่งขันในการใช้สารอาหารระหว่างเชื้อ *Bacillus* และเชื้อ *V. harveyi* โดยวิธี broth co culture assay โดยเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองทั้งเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม ปริมาณเชื้อเริ่มต้น  $10^3$  CFU/มิลลิลิตร นับปริมาณเชื้อที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง พบว่า *B. pumilus*, *B. sphaericus* และ *B. subtilis* สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 47.90, 48.41 และ 46.47 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิดนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ดีเนื่องจากมีความสามารถในการแข่งขันกับเชื้อก่อโรค และความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

Immunoenhancement of black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius by immunostimulant namely  $\beta$ -glucan, peptidoglycan and *Bacillus* spp. were studied. It was found that the optimum concentration that could enhance the immunity of this shrimp including phenoloxidase, superoxide anion, bactericidal activity and clearance ability were 3 gm  $\beta$ -glucan/kg feed, 0.18 gm peptidoglycan/kg feed, and 5 gm *Bacillus subtilis* /kg at total concentration of  $10^{10}$ - $10^{11}$  CFU/gm. However, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, the mixture of *B. pumilus* + *B. sphaericus*, a mixture of *B. pumilus* + *B. subtilis*, a mixture of *B. sphaericus* + *B. subtilis* and a mixture of *B. pumilus* + *B. sphaericus* + *B. subtilis* could enhance the immunity in 3 parameters including phenoloxidase, bactericidal activity and clearance ability. The duration of application of  $\beta$ -glucan and peptidoglycan were also studied. Similar results revealed that the application of 3 gm/kg feed of  $\beta$ -glucan and 0.18 gm/kg feed of peptidoglycan for 5 days per week and continue feeding for one month could enhance the immunity for about 6-7 weeks. The mixture of *Bacillus* spp. were recommended to be used daily throughout the entire crop because not only to enhance the immunity but also to reduce *Vibrio* spp. in shrimp intestine in the range of 20.97-32.45%. Although all *Bacillus* species did not show inhibition effect against *Vibrio harveyi* but Scanning Electron Microscope showed that the size of *V. harveyi* cell at the cross streak section area was smaller when compare with its normal cell. The competition on using nutrient for growth between *Bacillus* species and *V. harveyi* were studied *in vitro* by broth co culture assay. An initial concentration of  $10^3$  CFU/ml was used in monoculture and co-culture of *Bacillus* spp. and *V. harveyi*. Total *Bacillus* and *Vibrio* count were conducted after 0, 24, 48, 72, 96 and 120 hours. *B. pumilus*, *B. sphaericus* and *B. subtilis* could decrease *V. harveyi* by 47.90, 48.41 and 46.47%, respectively. This result supported that these *Bacillus* spp. can be applied as effective probiotic in *P. monodon* culture.