

การทดลองใช้โปรไบโอติกชนิด *Bacillus subtilis* และ *B. licheniformis* ซึ่งแยกได้จาก ลำไส้กุ้งกุลาดำ ผสมอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าการใช้ *B. subtilis* ร่วมกับ *B. licheniformis* ในอัตราส่วน 1:1 ที่ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีผลทำให้ระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้น กว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกทุก กลุ่มทดลองมีจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. ในลำไส้ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมพบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกชนิด *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ที่ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ทุกวันเป็นระยะเวลา 1 เดือน มี ระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับวันเว้นวัน และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกทุกกลุ่มทดลองมีจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. ในลำไส้ต่ำกว่า กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และพบว่าระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด หลังจากหยุดให้ 1 สัปดาห์แล้วค่อย ๆ ลดลงเท่ากับกลุ่มควบคุมในสัปดาห์ที่ 2 และเมื่อให้อาหาร ผสมโปรไบโอติกอีกครั้งพบว่ากุ้งมีระดับภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. ใน ลำไส้มีจำนวนลดลง จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกชนิด *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ที่ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและลดปริมาณเชื้อก่อ โรคสกุล *Vibrio* ในลำไส้ของกุ้งกุลาดำได้เป็นอย่างดี โดยควรให้จุลินทรีย์ดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง ในระหว่างการเลี้ยง

Application of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis*, isolated from the intestine of black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius), as probiotic was investigated. After feeding with probiotic, it was found that black tiger shrimp that were raised with the combination of *B. subtilis* and *B. licheniformis* (1:1) at 3 g/kg diet had significantly enhanced immune functions compared to other treatments and control ($P<0.05$). All treatment groups fed with probiotic supplemented feed showed significantly fewer number of *Vibrio* spp. in the intestine when compared to the control ($P<0.05$). In addition, the optimum time of probiotic application as every day and once in two days was investigated during the one month period. It was found that every day application showed significantly higher immune levels than once in two days application and the control ($P<0.05$). Again, *Vibrio* spp. were significantly reduced in all probiotic group compared to the control. It is quite interesting to notice that after one month of probiotic application for every day, most immune parameters would reach the peak after one week of normal feed and would drop to the same level of the control after the second week. And when the application of probiotic was repeated, the immune parameters would be enhanced again. The results from this research promptly suggest that the application of *B. subtilis* and *B. licheniformis* as probiotic could significantly enhance the immunity and reduce the amount of pathogenic *Vibrio* in the intestine of black tiger shrimp with continuous usage during the cultivation.