การใช้แบคทีเรียเพื่อจัดการคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระบบปิด

ว่าที่ร้อยตรีจันทสิงห์ ดวงบ้านเช่า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544
ISBN 974-17-0205-1
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

USE OF BACTERIA FOR WATER QUALITY AND ORGANIC COMPOUND IN SEDIMENT MANAGEMENT IN CLOSED SYSTEM OF *Penaeus monodon* Fabricius CULTURE

Acting 2nd Lt. Chantasing Duangbansao

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Environmental Science
Inter-department of Environmental Science
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2001

ISBN 974-17-0205-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้แบคทีเรียเพื่อจัดการคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระบบปิด
โดย	ว่าที่ร้อยตรีจันทสิงห์ ดวงบ้านเซ่า
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา กีระนันทน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กำธร ธีรคุปต์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จันทสิงห์ ดวงบ้านเซ่า : การใช้แบคทีเรียเพื่อจัดการคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระบบปิด (USE OF BACTERIA FOR WATER QUALITY AND ORGANIC COMPOUND IN SEDIMENT MANAGEMENT IN CLOSED SYSTEM OF *Penaeus monodon* Fabricius CULTURE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล 150 หน้า. ISBN 974-17-0205-1.

การทดลองเลี้ยงแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus* S11, *B. subtilis* และ *B. firmus* ในอาหารดัดแปลงแป้งและปลาป่น พบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในอัตราส่วนแป้งและปลาป่น 1:1%(wt/v) และการผสมอาหาร พบว่า โพรไบโอติกแบคทีเรียปริมาตร 10%(v/wt) เหมาะสมในการนำไปผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูปใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อพลาสติกขนาดความจุน้ำ 130 ลิตร ระบบน้ำแบบปิด ใช้กุ้งกุลาดำขนาด 5.96±1.45 กรัม ปล่อยกุ้ง 20 ตัวต่อบ่อ เป็นระยะเวลา 30 วัน ให้อาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 และเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ควบคุมให้มีจำนวนไม่ต่ำกว่า 10^3 CFU ml^{-1} พบว่า คุณภาพน้ำและอัตราการเติบโตของกุ้งกุลาดำทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ดี พบว่า กุ้งที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียมีอัตรารอดสูงกว่า กลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระยะโพสลาวี 25 (PL25) ในบ่อดินขนาด 900 ตารางเมตร ปล่อยกุ้งอัตราความหนาแน่น 33 ตัวต่อตารางเมตร ให้อาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 และเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง เปรียบเทียบกับบ่อควบคุมที่ไม่ใส่แบคทีเรีย หลังจากการเลี้ยงครบ 100 วัน พบว่า กุ้งกุลาดำจากบ่อทดสอบมีอัตราการเติบโตแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีผลผลิตสูงกว่าบ่อควบคุม จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินทุก 2 สัปดาห์ พบว่า บีโอดี ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด ไนไตรท์ ไนเตรท ออโธฟอสเฟตและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินมีค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองต่ำกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สหสาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2544 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

##4289656820 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEY WORD : WATER QUALITY/*Penaeus monodon*/PROBIOTIC/*Bacillus*

CHANTASING DUANGBANSAO : USE OF BACTERIA FOR WATER QUALITY AND ORGANIC COMPOUND IN SEDIMENT MANAGEMENT IN CLOSED SYSTEM OF *Penaeus monodon* Fabricius CULTURE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D. 150 pp. ISBN 974-17-0205-1.

Bacillus S11, *B. subtilis and B. firmus* can grow well in practical media consisting of wheat flour and fish meal as 1:1 %(wt/v). *Bacillus* S11 can be mixed well at a ratio of 10% in shrimp feed and used for the following experiments. Two experiments were conducted for bacteria used in water recondition and probiotic. The first one was carried out in a 130 L container, shrimp at average size of 5.96±1.45 gram were stocked in each unit. The experiment was a completely randomized design, included control (no bacteria treated) and treatment units(provided with probiotic and water recondition bacteria at a concentration of 10^3 CFU ml^{-1}) with 3 replications. Both systems had no water change during 30 days of experiment. The result indicated that water quality in both systems was not significantly different, but shrimp fed *Bacillus* S11 gave better survival than the control one.

In the second experiment, black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius, postlarvae 25 were cultured in earthen pond, the size of 900 m^2, at a density of 33 shrimps/m^2 in closed water system. *Bacillus* S11-probiotic feed and added *Bacillus* spp. into the pond for ~10^3 CFU ml^{-1} were conducted as a tested group through this experiment. After 100-day of culturing, the significant difference ($p<0.05$) of shrimp growth from the tested group more than that of the control was observed. As well as shrimp yield from the tested group was higher. Water quality and organic compound in sediment monitoring every 2 weeks; for example, BOD, total ammonia, nitrite, nitrate, orthophosphate and organic compound in sediment from tested group were lower than those of the control significantly ($p<0.05$).

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Inter-department Environmental Science Student's signature _____

Field of study Environmental Science Advisor's signature _____

Academic year 2001 Co-advisor's signature _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้โดยรับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ และ รศ. ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ ผศ. ดร.กำธร ธีรคุปต์ ผศ. ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ที่กรุณาเป็นกรรมการในการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ศ. ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เรื่องสถานที่ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง ที่ตำบลบึงบอน อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือในการทำงานวิจัยบางส่วน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา รวมทั้งพี่ เพื่อนและน้องๆที่มีส่วนเกี่ยวข้องที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือในการทำงานวิจัยบางส่วน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล รวมทั้งพี่ๆที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณอรุณ ธัญญนันท์ ที่ช่วยให้ความรู้ทางวิชาการและสอนเทคนิคต่างๆ ในการทำงานวิจัย คุณอวยพร ประชาชิต คุณสำรอง ประชาชิต คุณบุญ สิทธิเลิศ และคุณสมบูรณ์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ทำงานวิจัยบางส่วน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของหน่วยปฏิบัติการฯ ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณทบวงมหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และพี่สาว ที่ได้ให้กำลังใจ ช่วยเหลือและสนับสนุนตั้งแต่ต้นจนเสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ญ

สารบัญรูป.....ฎ

สัญลักษณ์และคำย่อ.....ฎ

บทที่

1. บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์.....2

1.3 สมมติฐาน.....2

1.4 ขอบเขตการศึกษา.....3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4

2.1 อนุกรมวิธานของกุ้งกุลาดำ.....4

2.2 ลักษณะภายนอกของกุ้งกุลาดำ.....4

2.3 ลักษณะนิสัยของกุ้งกุลาดำ.....5

2.4 วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ.....5

2.5 การเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย.....6

2.6 ระบบการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ.....7

2.7 การใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.....8

2.8 บทบาทของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์.....10

2.9 คุณภาพน้ำในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.....13

2.10 การสะสมของตะกอนพื้นบ่อ.....18

3. อุปกรณ์และวิธีการศึกษา.....20

3.1 อุปกรณ์.....20

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....20

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย……..21
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย……21
3.4.1 ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานและคุณสมบัติของแบคทีเรีย…21
3.4.2 อัตราส่วนของแป้ง-ปลาป่นที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย……23
3.4.3 ปริมาตรโพรไบโอติกแบคทีเรียที่เหมาะสมในการผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป……..23
3.4.4 การเพิ่มจำนวนแบคทีเรียใน Reactor Fermentor……....24
3.4.5 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ…… 25
3.4.6 การตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ…….. 27
3.4.7 วิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ……..27
3.4.8 ปริมาณจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ…….. 33
3.4.9 อัตราการเติบโตและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำ……....33
3.4.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ……....33
4. ผลการศึกษา……..……34
4.1 ลักษณะการเจริญ สัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของแบคทีเรีย…….34
4.2 อัตราส่วนของแป้ง-ปลาป่น ที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย…...35
4.3 ปริมาตรโพรไบโอติกแบคทีเรียที่เหมาะสมในการผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป……36
4.4 ผลการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ……38
4.4.1 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1……38
4.4.2 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2……50
4.4.3 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3……57
5. อภิปรายผลการศึกษา……..……...70
6.สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ……77
รายการอ้างอิง……...79

ภาคผนวก.....87
ภาคผนวก ก.....88
ภาคผนวก ข.....91
ภาคผนวก ค..... 93
ภาคผนวก ง.....95
ภาคผนวก จ.....100
ภาคผนวก ฉ.....125
ภาคผนวก ช.....126
ภาคผนวก ซ.....127
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....150

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ปฏิกิริยาที่มีผลต่อค่าความเป็นด่างของน้ำ..... 15

3.1 พารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา เครื่องมือและวิธีการทดลอง.....27

4.1 ลักษณะการเจริญและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11, *B. subtilis* และ *B. firmus*..... 34

4.2 อัตราส่วนของแป้ง-ปลาป่นที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย.....35

4.3 ปริมาตรของโพรไบโอติกแบคทีเรียหลังการผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป.....36

4.4 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1.....44

4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1.....46

4.6 อัตราการเติบโตและจำนวนจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1.....48

4.7 อัตราการเติบโตของกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2.....54

4.8 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2.....55

4.9 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอดินในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2..... 56

4.10 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3.....64

4.11 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3..... 66

4.12 อัตราการเติบโตและจำนวนจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3..... 68

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 แหล่งที่มาของของแข็งและสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นในประเทศไทย.....19

3.1 Reactor Fermentor ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย.....24

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญญลักษณ์และคำย่อ

ชม.	=	ชั่วโมง
ซ.ม.	=	เซนติเมตร
°ซ.	=	องศาเซลเซียส
มล.	=	มิลลิลิตร
มก.	=	มิลลิกรัม
ลบ.ซ.ม.	=	ลูกบาศก์เซนติเมตร
CFU g^{-1}	=	โคโลนีต่อกรัม
CFU ml^{-1}	=	โคโลนีต่อมิลลิลิตร
mg L^{-1}	=	มิลลิกรัมต่อลิตร
mS cm^{-1}	=	มิลลิซิเมนต่อเซนติเมตร
v/v	=	ปริมาตรต่อปริมาตร
v/wt	=	ปริมาตรต่อน้ำหนัก
wt/v	=	น้ำหนักต่อปริมาตร
%	=	เปอร์เซ็นต์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้ง ปัจจุบันกลายเป็นอุตสาหกรรมหลักในหลายๆประเทศ ทำให้ผลผลิตของกุ้งมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี พบว่าผลผลิตกุ้งทั่วโลกโดยรวมมีปริมาณถึง 810,000 เมตริกตัน (Rosenberry, 1999 อ้างถึงใน Burford และ Williams, 2001) และกุ้งที่นิยมเลี้ยงกันทั่วโลกได้แก่ กุ้งกุลาดำ สำหรับประเทศไทยยังคงสามารถผลิตกุ้งส่งออกได้มากเป็นอันดับ 1 ของโลก โดยในปี พ.ศ. 2544 มีปริมาณการส่งออก 255,568 เมตริกตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออกประมาณ 98,680 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ 2543 ประมาณ 2.38% (กรมศุลกากร, 2545) ซึ่งตลาดที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกาโดยพบว่ามีการนำเข้ากุ้งในช่วง 10 เดือนแรกของปี พ.ศ. 2544 ปริมาณสูงถึง 380,227 เมตริกตัน เพิ่มขึ้น 13% จากปี พ.ศ. 2543 (แอลเอ็มอาร์ ชริ้ม มาร์เกต รีพอต, 2545)

จากปริมาณการส่งออกกุ้งและความต้องการของตลาดโลกนี้เอง ทำให้อุตสาหกรรม การเลี้ยงกุ้งรวมถึงอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องในประเทศไทยขยายตัวอย่างรวดเร็ว โดยในปี พ.ศ. 2540 พบว่า มีพื้นที่การเลี้ยงกุ้งเพิ่มขึ้นเป็น 457,000 ไร่ ในพื้นที่ 22 จังหวัด (กรมประมง, 2543) และมีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงจากการเลี้ยงแบบธรรมชาติ เป็นการเลี้ยงแบบปล่อยเสริมและแบบพัฒนาหรือแบบหนาแน่น โดยประเทศไทยมีพื้นที่การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาสูงถึง 80%ของพื้นที่การเลี้ยงทั้งหมด (Rosenberry, 1998)

การเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาซึ่งมีการปล่อยกุ้งในอัตราที่หนาแน่นและมีการให้อาหารสำเร็จรูปในปริมาณสูงก่อให้เกิดการสะสมของสารอินทรีย์รวมทั้งซากสิ่งมีชีวิตต่างๆและตะกอนที่ติดมากับน้ำ บริเวณพื้นบ่อโดยเฉพาะเศษอาหารที่เหลือตกค้าง (วิชัย ลาภจตุพร, 2535) ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งจะมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสประกอบอยู่ในปริมาณสูง (Degain และ Gallagher, 1985) นอกจากนี้อาหารที่เหลือตกค้างที่พื้นบ่อจะเพิ่มปริมาณตามปริมาณอาหารที่ให้ ซึ่งทำให้ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในดินเพิ่มขึ้นมากตามไปด้วย (พุทธ ส่องแสงจินดา และคณะ, 2533)

พบว่าประมาณ 88% ของไนโตรเจนที่เข้าไปสู่บ่อกุ้งนั้นมาจากอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้ง (Wang, 1990) ซึ่งก่อให้เกิดสารประกอบที่เป็นพิษต่อกุ้ง เช่น แอมโมเนียและไนไตรท์ ทำให้สภาพของน้ำไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยง (Taiganides, 1967) ส่งผลทำให้กุ้งเกิดความเครียดและอ่อนแอ โดยกุ้งจะมีการเจริญเติบโตช้า กินอาหารน้อยลง ลอกคราบช้าและเสี่ยงต่อการเกิดโรค (Funge-Smith และ Briggs, 1998)

การวิจัยในครั้งนี้จึงได้นำแบคทีเรียที่ได้มีการค้นพบและมีการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ (laboratory scale) และระดับบ่อดิน (grow-out pond) มาประยุกต์ใช้ โดยมีแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ได้แก่ โพรไบโอติกแบคทีเรียที่แยกและคัดเลือกสายพันธุ์จากลำไส้กุ้งกุลาดำและศึกษา มาแล้วว่ามีคุณสมบัติในการช่วยเพิ่มอัตรารอด อัตราการเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันให้กับกุ้งกุลาดำได้ (Rengpipat และคณะ, 1998a; Rengpipat และคณะ, 2000) และแบคทีเรียที่ช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ได้จากการแยกและคัดเลือกสายพันธุ์จากดินและน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยมีการศึกษามาแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ (เปรมสุดา สมาน, 2539)

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ และปริมาณสารอินทรีย์ที่ตกค้างอยู่บริเวณพื้นบ่อ เมื่อเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

1.2.2 ศึกษาอัตรารอด อัตราการเติบโตและผลผลิตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรียและเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

1.3 สมมติฐาน

1.3.1 คุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ที่ตกค้างในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่เติมและไม่เติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำมีความแตกต่างกัน

1.3.2 กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรียและเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำมีอัตรารอด อัตราการเติบโตและผลผลิตแตกต่างจากกุ้งกุลาดำที่ไม่เติมแบคทีเรียดังกล่าว

1.4 ขอบเขตการศึกษา

ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์บริเวณพื้นบ่อ รวมทั้งอัตรารอดอัตราการเติบโตและผลผลิตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรียและเติมแบคทีเรียชนิด *Bacillus* spp. ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำระหว่างการเลี้ยงเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการเติมแบคทีเรียดังกล่าว

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ลดปัญหาคุณภาพน้ำ การสะสมของตะกอนพื้นบ่อและการระบาดของโรคกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

1.5.2 เป็นแนวทางในการนำแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการควบคุมคุณภาพน้ำและโพรไบโอติกแบคทีเรียไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด

1.5.3 สามารถนำผลการศึกษามาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการตัดสินใจหาวิธีการที่เหมาะสมต่อการจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา เพื่อลดผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อสิ่งแวดล้อม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุกรมวิธานของกุ้งกุลาดำ (SEAFDEC, 1988)

Phylum Arthropoda

Class Crustacea

Subclass Malacostraca

Superorder Eucarida

Order Decapoda

Suborder Natantia

Infraorder Penaeidea

Superfamily Penaeoidea

Family Penaeidae Rafinesque, 1815

Subfamily Penaeinae

Genus *Penaeus* Fabricius, 1798

Species *Penaeus monodon* Fabricius, 1798

กุ้งกุลาดำ หรือ กุ้งลาย เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีขนาดใหญ่ที่สุดในวงศ์ Penaeidae มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Giant tiger prawn หรือ Jumbo tiger prawn (ประจวบ หลำอุบล, 2543)

2.2 ลักษณะภายนอกของกุ้งกุลาดำ

เปลือกหุ้มตัวเรียบและมันเงา ลำตัวจะเป็นสีม่วงแดง มีแถบสีน้ำตาลหรือดำพาดขวางลำตัวเป็นปล้องๆ โคนขาว่ายน้ำมีแถบสีเหลืองเป็นปล้องๆ เปลือกหุ้มส่วนหัวมีลักษณะเกลี้ยง ไม่มีขน หนวดมีสีดำไม่มีลาย กรีทางด้านบนจะมีฟันอยู่ 6-8 ซี่ (ปกติจะพบ 7 ซี่) และด้านล่างของกรีจะพบฟัน 2-4 ซี่ (ปกติจะพบ 3 ซี่) ร่องข้างกรีทั้งสองด้าน มีลักษณะแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีอันสุดท้าย ที่ขาเดินคู่ที่ 5 ไม่มีระยางค์อันนอก (SEAFDEC, 1988; วัลลภ คงเพิ่มพูน, 2534)

2.3 ลักษณะนิสัยของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำมีการเจริญเติบโตรวดเร็ว ในธรรมชาติชอบอาศัยอยู่ในบริเวณน้ำลึกเขตร้อนที่มีท้องทะเลเป็นโคลนปนทราย วัยอ่อนเป็นแพลงค์ตอนว่ายน้ำได้อย่างอิสระ วัยรุ่นจะเคลื่อนย้ายเข้าสู่ฝั่งเพื่อเลี้ยงตัวและเดินทางกลับสู่ทะเลลึกเมื่อโตเต็มวัยเพื่อผสมพันธุ์ (ประจวบ หลำอุบล, 2543; วัลลภ คงเพิ่มพูน, 2534) ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี เช่น สามารถทนอยู่ในน้ำทะเลที่มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 12-36 °ซ. และทนต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ในช่วงกว้าง คือ 0.2-70 ส่วนในพันส่วนถ้าความเค็มเปลี่ยนแปลงอย่างช้าๆ (Liao, 1992) ชอบหมกตัวและหากินตามพื้นทะเล กินอาหารจำพวกพืชและสัตว์ทั้งที่ตายแล้วและยังมีชีวิตอยู่ ยึดครองพื้นที่ขณะกินอาหาร (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2543)

2.4 วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำที่ได้รับการผสมพันธุ์แล้วจะวางไข่ที่ระดับน้ำทะเลลึกประมาณ 30 เมตร ขึ้นไปใกล้กับพื้นท้องทะเล โดยไข่ที่แก่และสุกเต็มที่จะถูกขับออกมาจากช่องที่อยู่บริเวณขาเดินคู่ที่ 3 พร้อมๆกับการขับน้ำเชื้อที่กุ้งตัวเมียเก็บไว้ออกมาโคนขาเดินคู่ที่ 5 แล้วเกิดการปฏิสนธิขึ้นในน้ำ ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วจะมีสีเขียวค่อนข้างเหลือง ตัวอ่อนภายในไข่จะเริ่มแบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงไปเป็นลูกกุ้งวัยอ่อนระยะแรก เรียกว่า นอเพลียส (Nauplius) ภายในระยะเวลาประมาณ 14-15 ชั่วโมง ระยะนอเพลียสนี้จะมีการพัฒนาทั้งหมด 6 ระยะ (Nauplius 1 – Nauplius 6) ใช้เวลาประมาณ 1.5 วัน จะเข้าสู่ระยะที่ 2 เรียกว่า ซูเอีย (Zoea หรือ Protozoea) ซึ่งจะมีการพัฒนาทั้งหมด 3 ระยะ (Zoea 1 – Zoea 3) โดยใช้เวลาประมาณ 5 วัน แล้วก็จะเข้าสู่ระยะที่ 3 เรียกว่า ไมซีส (Mysis) โดยระยะนี้มีการพัฒนาทั้งหมด 3 ระยะ (Mysis 1 – Mysis 3) ใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน จากนั้นก็จะเข้าสู่ช่วงกุ้งวัยอ่อนระยะสุดท้าย เรียกว่า โพสลาวา (Postlarva หรือ Megalopa) หรือกุ้งคว่ำ ระยะนี้กุ้งจะเปลี่ยนพฤติกรรมจากความเป็นอยู่บริเวณผิวน้ำลงสู่ผิวดินและเดินทางเข้าใกล้ฝั่งหรือปากแม่น้ำ เพื่อการเจริญ ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 6-15 วัน จากนั้นจะเข้าสู่ระยะกุ้งวัยรุ่น (Juvenile) และการเคลื่อนไหวจะคล้ายกุ้งที่โตเต็มที่ ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 15 วัน จากนั้นก็จะเข้าสู่ระยะ กุ้งชำ (Adolescent) โดยในระยะนี้จะมีอวัยวะครบเช่นเดียวกับพ่อแม่ทุกประการ สามารถแยกเพศได้ จากนั้นก็จะพัฒนาเข้าสู่ระยะเจริญพันธุ์ (Subadult) ซึ่งเป็นระยะที่กุ้งมีความสมบูรณ์ทางเพศ โดยการผสมพันธุ์ครั้งแรกมักจะเริ่มขึ้นในบริเวณป่าชายเลนซึ่งเป็นแหล่งอาศัย จากนั้นกุ้งก็จะอพยพสู่บริเวณทะเลลึกและเจริญกลายเป็นกุ้งโตเต็มวัย (Adult) ซึ่งมีการสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์แบบ สามารถผสมพันธุ์ได้หลายครั้งและกลับมาวางไข่ต่อไป จนครบอายุขัยซึ่งมีประมาณ 18-24 เดือน (SEAFDEC, 1988; นันทริกา ชันซื่อ, 2540)

2.5 การเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย

การทำนากุ้งในประเทศไทยนั้น Varikul (1985) รายงานว่า ได้เริ่มทำกันมาอย่างน้อย 30 ปี เริ่มแรกเกิดจากการที่ลูกกุ้งจากธรรมชาติเข้าไปอาศัยในนาข้าวที่อยู่บริเวณป่าไม้ชายเลน และต่อมาได้มีการทำนากุ้งควบคู่ไปกับการทำนาข้าว โดยเริ่มจากจังหวัดสมุทรปราการและขยายบริเวณไปตามจังหวัดอื่นๆที่อยู่ใกล้ชายทะเล ต่อมาได้มีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเลี้ยงซึ่งพอที่จะจำแนกออกได้เป็น 3 แบบ คือ การเลี้ยงแบบธรรมชาติ หรือแบบดั้งเดิม (Conventional หรือ Extensive Growout System) การเลี้ยงแบบปล่อยเสริมหรือกึ่งพัฒนา (Semi-intensive Growout System) และการเลี้ยงแบบพัฒนาหรือแบบหนาแน่น (Intensive Growout System) (ประจวบ หลำอุบล, 2531) ในปัจจุบันมีรูปแบบการเลี้ยงเพิ่มขึ้นอีก คือ การเลี้ยงแบบหนาแน่นพิเศษ (Ultra-intensive หรือ Super-intensive Growout System)

การเลี้ยงแบบพัฒนาเป็นการเลี้ยงที่นิยมมากในปัจจุบัน เพราะให้ผลตอบแทนที่แน่นอน การเลี้ยงมีการควบคุมปัจจัยการผลิตทั้งหมดโดยนำความรู้ทางวิชาการและเทคโนโลยีที่ทันสมัยมาใช้ บ่อเลี้ยงจะมีขนาด 0.25-2 เฮคแตร์ (1 เฮคแตร์ เท่ากับ 6.25 ไร่) มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมจตุรัสหรือสี่เหลี่ยมผืนผ้า ความลึกของน้ำ 1.5-2.0 เมตร อัตราความหนาแน่นที่ใช้ในการเลี้ยง 20-60 ตัวต่อตารางเมตร (Fast และ Menasveta, 2000) ให้อาหารสำเร็จรูปที่มีคุณภาพสูงเพื่อให้ได้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่สูงสุดภายในระยะเวลาที่สั้นเท่าที่จะทำได้ (ลิลา เรืองแป้น, 2534) ให้อากาศโดยใช้เครื่องให้อากาศและมีการพ่นออกซิเจนใส่เข้าไปในน้ำ มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตรา 10-20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำทั้งหมดในบ่อเลี้ยงกุ้งต่อวัน ผลผลิตที่ได้มีปริมาณ 5,000-15,000 กิโลกรัมต่อเฮคแตร์ต่อปี สามารถเลี้ยงได้ 2.5-3.0 ครั้งต่อปี

การเลี้ยงแบบหนาแน่นพิเศษเป็นการเลี้ยงที่ต้องควบคุมปัจจัยการผลิตทั้งหมด ใช้เทคโนโลยีสูง และผู้ที่ชำนาญการเป็นพิเศษ บ่อที่ใช้ในการเลี้ยงมีขนาด น้อยกว่า 0.25 เฮคแตร์ และมีรูปร่างแบบเดียวกัน ความลึกของน้ำไม่แน่นอน ลูกกุ้งที่นำมาเลี้ยงได้จากโรงเพาะฟักซึ่งมีการควบคุมทั้งชนิดและขนาด อัตราความหนาแน่นที่ใช้ในการเลี้ยง มากกว่า 100 ตัวต่อตารางเมตร (Fast และ Menasveta, 2000) ให้อาหารสำเร็จรูปโดยอาหารที่ให้ต้องมีคุณภาพสูงและสารอาหารครบสมบูรณ์เพราะเป็นแหล่งอาหารเพียงแหล่งเดียวที่กุ้งจะได้รับ ให้อากาศโดยใช้เครื่องให้อากาศและการเปลี่ยนถ่ายน้ำซึ่งมีอัตราการเปลี่ยนถ่าย มากกว่า 100 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำทั้งหมดในบ่อเลี้ยงต่อวัน ผลผลิตที่ได้ประมาณ 30,000-150,000 กิโลกรัมต่อเฮคแตร์ต่อปีสามารถเลี้ยงได้มากกว่า 3 ครั้งต่อรอบปี

ระบบการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนาที่ใช้ดำเนินการเลี้ยงกันอยู่เดิม คือ ระบบเปิด (Opened Water System) เป็นระบบที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำบ่อยๆในการควบคุมรักษาคุณสมบัติของน้ำ ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาในด้านสิ่งแวดล้อมและโรคระบาดของกุ้งทั้งภายในและภายนอกฟาร์ม ขณะนี้เริ่มมีความสนใจการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบระบบปิด (Closed System) มากขึ้น ซึ่งเป็นระบบที่มีการจัดการคุณภาพดินและน้ำควบคู่ไปกับการเลี้ยงกุ้ง

2.6 ระบบการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

อนันต์ ตันสุตะพานิช (2536) ได้แบ่งการเลี้ยงกุ้งตามระบบการเลี้ยงของลักษณะการใช้น้ำออกเป็น 3 ระบบ คือ

1. การเลี้ยงระบบเปิด “Opened Water System” เป็นการเลี้ยงโดยใช้การเปลี่ยนถ่ายน้ำบ่อยๆในการควบคุมรักษาคุณสมบัติของน้ำ

2. การเลี้ยงระบบปิด “Closed Water System” เป็นการเลี้ยงโดยการใช้กระบวนการต่างๆ ทั้งทางชีวะ เคมีและฟิสิกส์ในการควบคุมรักษาคุณสมบัติของน้ำ

ลักษณะข้อดีและข้อเสียของการเลี้ยงระบบปิด (Shepherd และ Bromage, 1988) คือ สามารถควบคุมสภาวะต่างๆ ในการเลี้ยงได้ สามารถลดปัญหาการขาดแคลนน้ำ หลีกเลี่ยงปัญหาคุณภาพน้ำ ไม่มีข้อจำกัดเรื่องที่ตั้ง และการจัดการทำได้สะดวก ส่วนผลเสีย คือ ต้นทุนในการจัดการระบบสูงขึ้นในระบบที่ซับซ้อนขึ้นและการเกิดโรคขึ้นในระบบจะมีการระบาดอย่างรวดเร็ว และยังมีอินทรีย์สารสะสมเป็นจำนวนมาก ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพดินและน้ำ

3. การเลี้ยงในระบบหมุนเวียนน้ำกลับมาใช้ใหม่ “Recycle Water System” เป็นการเลี้ยงโดยการใช้กระบวนการต่างๆ ทั้งทางชีวะ เคมีและฟิสิกส์ บำบัดน้ำที่ออกมาจากบ่อเลี้ยงแล้วนำหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่อย่างต่อเนื่อง

ระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิด (Closed Recirculating System) ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง โดยมีหลักการ คือ สูบน้ำเข้าระบบเพียงครั้งเดียว ปรับคุณภาพน้ำทั้งระบบ ไม่มีการระบายถ่ายเทน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งระหว่างการเลี้ยงและช่วงจับกุ้งออกสู่ภายนอกฟาร์มโดยตรง แต่จะมีการนำน้ำเข้าสู่บ่อบำบัดน้ำ โดยใช้ผักตบชวาและปลาที่กินพืช เช่น ปลานิล ปลาตะเพียนขาว แล้วนำน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วกลับมาเลี้ยงกุ้งใหม่ได้ น้ำทิ้งที่ปล่อยออกสู่ภายนอกฟาร์มจะต้องผ่านขั้นตอน

การบำบัดให้ได้ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งก่อน (พยุง ภัทรกุลชัย และ วิชัย ลาภจตุพร, 2543) ซึ่งระบบดังกล่าวนี้เหมาะสำหรับการเลี้ยงกุ้งในเขตพื้นที่น้ำจืด เพราะสามารถควบคุมโรคได้ดีกว่าใช้น้ำน้อย มีน้ำที่มีคุณภาพสูงใช้และสามารถพัฒนาคุณภาพน้ำก่อนปล่อยออกจากฟาร์มได้ (Fast และ Menasveta, 1998; Limsuwan และ Chanratchakool, 1998)

2.7 การใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

โพรไบโอติก เป็นจุลินทรีย์เสริมที่มีชีวิตซึ่งมีผลที่เป็นประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน โดยเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องหรืออยู่รอบๆเจ้าบ้าน หรือโดยปรับปรุงการใช้ประโยชน์จากอาหารหรือพัฒนาคุณค่าทางโภชนาการ หรือโดยพัฒนาการตอบสนองต่อโรค หรือโดยพัฒนาคุณภาพสิ่งแวดล้อมของเจ้าบ้าน (Verschuere และคณะ, 2000) ซึ่งการใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก แต่ได้มีการนำมาทดลองใช้กับสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา (Verschuere และคณะ, 2000; Gatesoupe, 1999) โดยวัตถุประสงค์ของการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือ เพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำโดยปรับสมดุลย์ของประชากรแบคทีเรีย และลดจำนวนเชื้อก่อโรค (Wang และคณะ, 1999)

โพรไบโอติกส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียโดยเฉพาะแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lee และคณะ,1999) โดยการนำไปใช้อาจจะประกอบด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์เดี่ยวหรืออาจจะประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์จนถึงมากกว่า 8 สายพันธุ์ ซึ่งผลประโยชน์จากการได้รับโพรไบโอติก (Fuller, 1989) มีดังนี้

1. ยับยั้งจุลินทรีย์ โดย
   1.1 สร้างสารต้านจุลชีพ
   1.2 แข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นโดยการแย่งอาหาร
   1.3 แข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นโดยการแย่งพื้นที่จับ
2. เปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์
   2.1 เพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์
   2.2 ลดกิจกรรมของเอนไซม์
3. กระตุ้นภูมิคุ้มกัน
   3.1 เพิ่มระดับแอนติบอดี (antibody)
   3.2 เพิ่มกิจกรรมของแมคโครฟาจ (macrophage)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Moriarty (1998) ใช้ *Bacillus* spp. ในการเลี้ยงกุ้งตระกูลพีเนียส โดยให้มี *Bacillus* spp. ในน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งปริมาณ 10^4-10^5 CFU ml^{-1} ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง พบว่า กุ้งในบ่อที่ไม่ได้ใส่ *Bacillus* spp. ประสบปัญหาการตายด้วยโรคเรืองแสงก่อน 80 วันของการเลี้ยง ในขณะที่กุ้งบ่อที่ใช้ *Bacillus* spp. ซึ่งเป็นโพรไบโอติกในการเลี้ยง สามารถเลี้ยงได้มากกว่า 160 วันโดยไม่มีปัญหาโรคเรืองแสง นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำของบ่อกุ้งที่ผสมโพรไบโอติกในการเลี้ยงจะมีปริมาณ วิบริโอและวิบริโอเรืองแสงในปริมาณที่ต่ำและดินในบ่อจะตรวจพบวิบริโอต่ำและไม่พบวิบริโอเรืองแสงเลย

Rengpipat และคณะ (1998a) ใช้ *Bacillus* S11 ที่แยกได้จากทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำจากอ่าวไทย เป็นโพรไบโอติกผสมอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 30 (PL30) เป็นระยะเวลา 100 วัน โดยทำการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำในระดับบ่อปูนซีเมนต์ ขนาดบรรจุน้ำ 0.6 ตัน จากการศึกษาพบว่ากุ้งกุลาดำมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และมีความสามารถในการต้านทานได้ 100% หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับ *Bacillus* S11 ซึ่งมีอัตรารอดเพียง 26%

Rengpipat และคณะ (1998b) แสดงการส่งผ่านอาหารกุ้งกุลาดำด้วยวิธี Bioencapsulation ได้สำเร็จโดยใช้ *Bacillus* S11 ซึ่งเป็นโพรไบโอติกผ่านทางอาร์ทีเมีย ที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำ หลังจากเลี้ยงกุ้งระยะโพสลาวา 10 (PL10) เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่กินอาร์ทีเมียที่มีโพรไบโอติกอยู่ โตเร็วและมีปัญหาการเกิดโรคน้อยกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

Phianphak และคณะ (1999) ใช้ *Lactobacillus* spp. 5 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากทางเดินอาหารไก่ นำมาผสมกับอาหารกุ้ง แล้วนำมาใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 30 (PL30) ในบ่อขนาด 0.6 ตัน เป็นระยะเวลา 100 วัน พบว่า การเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Lactobacillus* spp. ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และเมื่อนำกุ้งทั้งสองกลุ่มมาเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* D331 โดยวิธีการแช่เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งในกลุ่มควบคุมมีการตาย 74% ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกมีการรอด 100%

Rengpipat และคณะ (2000) ติดตาม Immunity Indexes จากเลือดกุ้งกุลาดำ พบว่ากุ้งกุลาดำที่เสริมด้วยโพรไบโอติก *Bacillus* S11 มีค่าของ Immunity Indexes โดยรวมมากกว่าค่าต่างๆที่ตรวจพบจากกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะ Phagocytosis และ Phagocytic Indexes จากเลือดกุ้งกุลาดำ และ Immunity Indexes เพิ่มขึ้นตามอายุของกุ้งที่เพิ่มขึ้นอย่าง

เห็นได้ชัด เมื่อทำการเหนี่ยวนำให้กุ้งกุลาดำทั้ง 2 กลุ่มเกิดโรคเรืองแสง ค่า Phagocytic Indexes อัตราการรอดชีวิตและน้ำหนักตัวของกุ้งกุลาดำในกลุ่มที่เสริมโพรไบโอติกสูงกว่าที่ตรวจพบในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

อรุณ ธัญญนันท์ (2544) ศึกษาการเสริม *Bacillus* S11 ในกุ้งกุลาดำ ที่เลี้ยงในกระชังขนาด 2 ตารางเมตรในบ่อดินเดียวกัน พบว่า น้ำหนักและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารผสมโพรไบโอติกมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และเมื่อทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในกระชังโดยการเสริม *Bacillus* S11 ในอาหารมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมต่ำกว่าและมีการตายช้ากว่ากลุ่มควบคุม

2.8 บทบาทของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์

ในการย่อยสลายสารนั้นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญได้แก่ Autotrophic microorganism และ Heterotrophic microorganism (Schroeder, 1978) สำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและในระบบนิเวศน์ในน้ำ แบคทีเรียมีบทบาทในการย่อยสลายสารอินทรีย์และการหมุนเวียนสารอาหาร (Moriarty, 1986) โดยมีความสำคัญในกระบวนการเผาผลาญพลังงานของระบบนิเวศน์ในน้ำ (Valiela, 1995) สามารถใช้คาร์บอน 40-60% ของคาร์บอนทั้งหมดที่ผู้ผลิตสร้างในสายใยอาหาร (Cole, Findlay และ Pace, 1988) ในบ่อเลี้ยงปลาที่มีการใส่ปุ๋ยคอกจากมูลวัวและมูลไก่ จะเป็นแหล่งของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของจุลินทรีย์ ซึ่งปุ๋ยคอกจะไม่เป็นแหล่งอาหารที่ดีของปลาแต่จะเป็นแหล่งอาหารที่สมบูรณ์ของจุลินทรีย์ ทำให้จำนวนของ Autotroph, Heterotroph, Plankton และสัตว์หน้าดินเล็กๆมีจำนวนมากพอที่จะเป็นอาหารของปลาโดยตรง (Biro, 1995) จุลินทรีย์จะใช้สารอินทรีย์ต่างๆที่อยู่ในแหล่งน้ำนำไปสร้างเป็นโปรตีนซึ่งจะกลายเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของสัตว์น้ำ (Schroeder, 1978) รวมทั้งสิ่งมีชีวิตเล็กๆพวก meiofauna และโปรโตซัว (Moriarty, 1986) สิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะเป็นตัวสร้างไนโตรเจนและฟอสฟอรัสซึ่งจะเป็นแหล่งอาหารสำคัญของสาหร่ายต่อไป (Ferchel และ Harrison, 1976; Lee, 1980)

Pruder (1986) ได้ศึกษาใช้จุลินทรีย์ Autotroph และ Heterotroph ปรับปรุงคุณภาพน้ำในโครงการ Sea Grant Aquaculture Plan 1983-1987 Research โดยได้มีการควบคุมระบบน้ำ การให้อากาศ การให้อาหาร ควบคุมโรค ผลผลิตปลาที่ได้มีปริมาณมากกว่าบ่อที่ไม่ได้ใช้จุลินทรีย์ถึง 6 เท่า

Kodata, Yoshida และ Mitsuhashi (1983) ได้ศึกษาการบำบัดน้ำในทะเลสาบโดยใช้เทคนิค intermittent aeration ประกอบด้วยแบคทีเรียหลายชนิด อาทิ แบคทีเรียที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ ไนตริฟิเคชั่น (Nitrification) และดีไนตริฟิเคชั่น (Denitrification) มีทั้งส่วนให้อากาศและไม่ให้อากาศ พบว่า สามารถกำจัดไนโตรเจนในน้ำได้ถึง 95-98% และลดปริมาณสารอินทรีย์ได้ดี โดยวัดจากค่าซีโอดีและบีโอดี และผลการให้อากาศแบบเป็นระยะ สามารถบำบัดน้ำได้ดีกว่าการให้อากาศตลอดเวลา

แบคทีเรียต้องการทั้งธาตุอาหารและสารอินทรีย์ในการเจริญ (Ducklow และ Carlson, 1992) รวมทั้งปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อปฏิกิริยาต่างๆที่เกิดขึ้นภายในกลุ่มของจุลินทรีย์ เช่น อุณหภูมิ ความเข้มข้นอาหาร และการขนส่งมวลสาร (Wiggins และ Alexander, 1988) อีกทั้งปริมาณอากาศที่ต้องมีเพียงพอ ซึ่งพบว่าในบ่อปลาที่มีอากาศหมุนเวียนเพียงพอจะมีปริมาณแบคทีเรียสูงกว่าในภาวะที่ไม่มีอากาศถึง 10 เท่า ทั้งนี้การย่อยสลายในภาวะมีอากาศเกิดได้เร็วกว่าในภาวะไร้อากาศ (Blackburn, Lund และ Krom, 1988) นอกจากนี้ระดับพีเอชในน้ำต้องเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์จะทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 7.0-8.2 ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจึงต้องมีการปรับสภาพน้ำโดยใช้วัสดุปูนต่างๆเพื่อให้พีเอชอยู่ในช่วงดังกล่าว (ธนิต ผิวนิ่ม, 2536)

จุลินทรีย์จะย่อยสลายสารต่างๆ โดยการสร้างเอนไซม์ซึ่งจะขับออกภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) โดยเอนไซม์ที่สำคัญได้แก่ โปรติเอส (Protease) อะไมเลส (amylase) และไลเปส (lipase) เป็นต้น ซึ่งแหล่งในการสร้างเอนไซม์ส่วนใหญ่จะเป็น รา และ *Bacillus* sp. (Staley และ Stanley, 1986) โดยเฉพาะ *Bacillus* sp. จะพบได้ทั่วไปในดิน น้ำ และอากาศ เพราะมีการสร้างสปอร์ซึ่งมีคุณสมบัติทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ความร้อนสูง ความแห้งแล้ง สารฆ่าเชื้อ ได้ดีกว่า vegetative cell มีทั้งแบบต้องการอากาศ และบางชนิดสามารถเจริญได้ในภาวะมีอากาศเพียงเล็กน้อย (Willium, 1989) *Bacillus* บางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ เช่น *B. polymyxa* *Bacillus* ส่วนใหญ่เจริญได้ดีในช่วงพีเอชเป็นกลาง สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิต่างๆ ในน้ำทะเลพบแบคทีเรียบาซิลลัสมากกว่า 20% ของจุลินทรีย์จำพวก heterotrophic flora โดยพบมากในบริเวณใกล้ฝั่งและลดลงเมื่อห่างฝั่งออกไป บาซิลลัสที่พบมากได้แก่ *B. lichenniformis, B. subtilis* และ *B. pumilis* ตามลำดับ ในดินตะกอนจะพบแบคทีเรียมากกว่าในน้ำทะเล (Austin, 1988)

Fushs และคณะ (1972) พบว่าการใช้ฟอสฟอรัสของแบคทีเรียบางชนิดเช่น *Bacillus* sp. จะสามารถดูดซับฟอสฟอรัสได้ดีกว่าพืชน้ำ ดังนั้นปริมาณของแบคทีเรียจะสามารถควบคุม

ปริมาณฟอสฟอรัสได้ดีและเป็นการควบคุมปริมาณการเพิ่มของพืชน้ำได้ดีด้วย Ehrlich, Cantin และ Horsfall (1989) ทดลองใช้แบคทีเรีย 1% ในบ่อเลี้ยงปลาเทราท์จะสามารถลดปริมาณแอมโมเนียลงได้ 90% และลดค่าปริมาณฟอสฟอรัสลงได้ 85% เมื่อเทียบกับบ่อที่ไม่ได้ใส่แบคทีเรีย

สมพร ธนวิริยะกุล (2535) ศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียเฮตเทอโรโทรปจากตัวอย่างน้ำและดินในบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่ามีปริมาณแบคทีเรีย $1.5x10^{3}$ – $5.6x10^{6}$ cells ml^{-1} และ $2.7x10^{5}$ – $8.4x10^{7}$ cells g^{-1} และคัดเลือกชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายโปรตีน แป้ง และไขมัน จากการจัดจำแนกพบว่าเป็นแบคทีเรียชนิด *Bacillus subtilis* และทำการทดลองเลี้ยงกุ้งในบ่อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยใส่เชื้อที่คัดเลือกได้ประมาณ 10^{7} cells ml^{-1} พบว่าในบ่อที่ใส่เชื้อปริมาณไนไตรท์ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และค่า BOD ต่ำกว่าบ่อที่ไม่ใส่เชื้อ

ชลิต โนระดี (2535) ศึกษาผลของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus subtilis* ในการย่อยสลายสารอินทรีย์จากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยเลี้ยงกุ้งในบ่อซีเมนต์ที่มีพื้นเป็นดินเหนียว ปล่อยกุ้งความหนาแน่น 40 ตัวต่อตารางเมตร พบว่า จากการเติมแบคทีเรียในอัตรา 1 กิโลกรัมต่อไร่ทุกๆ 2 สัปดาห์ ทำให้กุ้งมีอัตรารอดสูง แต่มีความยาวและน้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างกับชุดควบคุม สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในการเลี้ยงระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า สามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ได้ 69% และมีปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรทและค่าบีโอดี ต่ำกว่าการทดลองที่ไม่เติมแบคทีเรีย

ในการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมักจะใช้จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ในการย่อยสลาย เพราะจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการย่อยสลายสารได้ต่างกัน ดังนั้นการนำเอาจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียหรือการย่อยสลายของเสียในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น

เปรมสุดา สมาน (2539) ศึกษาการใช้แบคทีเรียรวมกัน 5 สายพันธุ์ เลี้ยงในแหล่งอาหารที่มีอาหารกุ้งละลายอยู่ พบว่าสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ได้มากกว่าการใช้แบคทีเรียเพียงสายพันธุ์เดียว

Pedro, Alvaraz และ Timothy (1991) ได้เปรียบเทียบการใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์เดียว (Pure culture) กับการใช้จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ (Mixed culture) ที่แยกได้จากน้ำมันและ phenol พบว่า การใช้จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์สามารถย่อยสลาย benzene, toluene และ xylene ได้ดีกว่าการใช้จุลินทรีย์เพียงสายพันธุ์เดียว

2.9 คุณภาพน้ำในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สิ่งแวดล้อมภายในบ่อซึ่งรวมถึงน้ำและตะกอนพื้นบ่อ (sediment) มีส่วนสำคัญอย่างมาก (Funge-Smith และ Briggs, 1998) ซึ่งพบว่า การหมุนเวียนของธาตุอาหารและความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำจะมีผลมาจากสิ่งมีชีวิตต่างๆบริเวณตะกอนดิน (Bratvold และ Browdy, 2001) อีกทั้งปัจจัยทางนิเวศน์วิทยาและสิ่งแวดล้อมจะส่งผลต่อปัญหาการเกิดโรคในฟาร์มกุ้งได้ด้วย (Kautsky และคณะ, 2000) ดังนั้นคุณภาพน้ำและตะกอนดินเป็นส่วนสำคัญที่จะต้องได้รับการตรวจติดตามและจัดการให้เหมาะสมต่อการอยู่รอดและการเจริญของสัตว์น้ำ ซึ่งจะมีผลต่อปริมาณผลผลิตภายในฟาร์ม ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่ควรตรวจวัดและวิเคราะห์ ได้แก่

พีเอชของน้ำ (pH)

การเปลี่ยนแปลงพีเอชเกิดจากปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสงของพืชและการหายใจของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ ซึ่งมีผลจากปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ โดยพบว่าพีเอชของน้ำในรอบวันจะสูงสุดในช่วงบ่ายและต่ำสุดในช่วงเช้า ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำควรมีค่าพีเอชของน้ำอยู่ในช่วง 7.5-8.5 (พรเลิศ จันทร์รัชชกูล, เจ เอฟ เทอร์นบอล และชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2537) หากพีเอชมีค่าต่ำกว่า 4 หรือสูงกว่า 10 อาจทำให้กุ้งตายได้ (Boyd และ Fast, 1992) ซึ่งผลของพีเอชนั้นมักจะมาจากความเป็นพิษของสาร (substances) ตัวอื่น เช่น แอมโมเนีย และไนไตรท์ (Parker, 1995)

อุณหภูมิของน้ำ (Water temperature)

อุณหภูมิของน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Barnabé, 1994) เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อการกินอาหาร (feed) ระบบการสืบพันธุ์(reproduction) ระบบภูมิคุ้มกัน (immunity) และกระบวนการเผาผลาญพลังงาน (metabolism) ของสัตว์ และยังก่อให้เกิดการหมุนเวียนของธาตุอาหารและออกซิเจนในแนวดิ่งของแหล่งน้ำได้ อีกทั้งยังมีผลต่อปริมาณของแอมโมเนียอิสระ (NH_3) ในน้ำด้วย (Parker, 1995) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำอุณหภูมิของน้ำควรอยู่ในช่วง 27-33 °ซ. (Lester และ Pante, 1992) เนื่องจากกุ้งเป็นสัตว์เลือดเย็น การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างช้าๆจะไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตของกุ้ง แต่ถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำมากเกินไปอาจทำให้กุ้งตายได้ (วัลลภ คงเพิ่มพูน, 2534)

การนำไฟฟ้า (Conductivity)

การนำไฟฟ้าของน้ำ หมายถึง ความสามารถของน้ำในการเป็นสื่อนำกระแสไฟฟ้า (Boyd, 1979) ตัวการที่เป็นสื่อนำกระแสไฟฟ้าในน้ำ คือ อิออน (Ion) ของสารประกอบอนินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดอนินทรีย์ ด่างและเกลือ สารเหล่านี้เมื่ออยู่ในน้ำจะแตกตัวให้อิออนได้ ดังนั้นการนำไฟฟ้าของน้ำจะขึ้นอยู่กับปริมาณความหนาแน่นของสารประกอบอนินทรีย์ ซึ่งสารสำคัญที่ละลายอยู่ในน้ำ ได้แก่ แคลเซี่ยม (Ca^{2+}) โซเดียม (Na^{+}) โปแตสเซียม (K^{+}) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) หรือรูปสารประกอบ เช่น คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) ซัลเฟต (SO_4^{2-}) ออโธฟอสเฟต (PO_4^{3-}) และไนเตรท (NO_3^{-}) เป็นต้น (ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2540) ในน้ำธรรมชาติปกติจะมีค่าการนำไฟฟ้า 20-1,500 μmhos cm^{-1} (Boyd, 1979)

ความเค็ม (Salinity)

ความเค็มของน้ำจะมีผลต่อขบวนการแพร่ผ่าน (Osmoregulation) และการแลกเปลี่ยนอิออน (Ion transport) (Lester และ Pante, 1992) สัตว์น้ำแต่ละชนิดจะมีความทนต่อความเค็มได้ต่างกัน ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงต้องพิจารณาถึงความเค็มของน้ำเป็นสิ่งสำคัญ(Barnabé, 1994) ซึ่งกุ้งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีความเค็มอยู่ในช่วง 15-30 ส่วนในพันส่วน (Wickins, 1982 อ้างถึงใน Lee และ Wickins, 1992) แต่กุ้งก็สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำที่มีความเค็มต่ำ เช่น กุ้งที่เลี้ยงในพื้นที่น้ำจืดสามารถเจริญได้ที่ความเค็มต่ำกว่า 5 ส่วนในพันส่วน ในน้ำที่มีความเค็มสูงกว่า 45-60 ส่วนในพันส่วน สามารถทำให้กุ้งตายได้ (Boyd และ Fast, 1992)

ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen)

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในรอบวันมีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งเกิดจากขบวนการสังเคราะห์แสงโดยสาหร่ายและขบวนการหายใจ รวมทั้งการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน (Boyd, 1979) ในแหล่งน้ำจะพบว่ามีปริมาณออกซิเจนสูงสุดในช่วงบ่ายและต่ำสุดในช่วงเช้า ซึ่งในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำควรรักษาปริมาณออกซิเจนในน้ำให้มีไม่ต่ำกว่า 4 mg L^{-1} จึงจะไม่ทำให้สัตว์น้ำเกิดความเครียด (Parker, 1995) ปริมาณออกซิเจนในช่วงระหว่าง 3.5 mg L^{-1} จนถึงจุดอิ่มตัว กุ้งจะมีอัตรารอดสูงและสามารถเจริญเติบโตได้ดี หากมีค่าอยู่ในช่วง 0-1.5 mg L^{-1} สามารถทำให้กุ้งตายได้ ทั้งนี้ขึ้นกับระยะเวลาที่สัมผัส และหากปริมาณออกซิเจนเกินจุดอิ่มตัวก็เป็นอันตรายต่อกุ้งได้เช่นกัน (Boyd และ Fast, 1992)

ความเป็นด่างของน้ำ (Alkalinity)

ค่าความเป็นด่างเป็นการวัดปริมาณคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) ซึ่งเรียกว่า ค่าความเป็นด่างรวม (Total alkalinity) ที่อยู่ในรูปของสารประกอบ โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) และ แคลเซียมหรือแมกนิเซียมไบคาร์บอเนต (Calcium or Magnesium bicarbonate) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ (buffering) ในน้ำ (Parker, 1995) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะสัมพันธ์กับคาร์บอเนต ไบคาร์บอเนตและ กรดคาร์บอนิก (Barnabé, 1994) ดังสมการที่ 2.1

$$2H_2O + 2CO_2 \rightleftharpoons 2H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + 2HCO_3^- \rightleftharpoons 2H^+ + 2CO_3^{2-} \qquad (2.1)$$

carbon dioxide — carbonic acid — bicarbonate — carbonate

สำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำควรมีค่าความเป็นด่างอยู่ในช่วง 80-100 mgL^{-1} (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2543) จะทำให้กุ้งเจริญเติบโตดี ค่าความเป็นด่างในแหล่งน้ำสามารถเปลี่ยนแปลงได้จากปฏิกิริยาหลายชนิด ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปฏิกิริยาที่มีผลต่อค่าความเป็นด่างของน้ำ (Stumm และ Morgan, 1996)

Process	Alkalinity Change for Forward Reaction
Photosynthesis and respiration:	
(1a) $nCO_2 + nH_2O \underset{\text{respir.}}{\overset{\text{photos.}}{\rightleftharpoons}} (CH_2O)_n + nO_2$	No change
(1b) $106CO_2 + 16NO_3^- + HPO_4^{2-} + 122H_2O + 18H^+ \underset{\text{respir.}}{\overset{\text{photos.}}{\rightleftharpoons}} \{C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P_1\}_{\text{"algae"}} + 138O_2$	Increase
(1c) $106CO_2 + 16NH_4^+ + HPO_4^{2-} + 108H_2O \underset{\text{respir.}}{\overset{\text{photos.}}{\rightleftharpoons}} \{C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P_1\} + 107O_2 + 14H^+$	Decrease
Nitrification:	
(2) $NH_4^+ + 2O_2 \longrightarrow NO_3^- + H_2O + 2H^+$	Decrease
Denitrification:	
(3) $5CH_2O + 4NO_3^- + 4H^+ \longrightarrow 5CO_2 + 2N_2 + 7H_2O$	Increase
Sulfide oxidation:	
(4a) $HS^- + 2O_2 \longrightarrow SO_4^{2-} + H^+$	Decrease
(4b) $FeS_2(s) + \frac{15}{4}O_2 + 3\frac{1}{2}H_2O \longrightarrow Fe(OH)_3(s) + 4H^+ + 2SO_4^{2-}$ pyrite	Decrease
Sulfate reduction:	
(5) $SO_4^{2-} + 2CH_2O + H^+ \longrightarrow 2CO_2 + HS^- + H_2O$	Increase
$CaCO_3$ dissolution:	
(6) $CaCO_3 + CO_2 + H_2O \rightleftharpoons Ca^{2+} + 2HCO_3^-$	Increase

บีโอดี (Biochemical oxygen demand, BOD)

การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ทั้งในน้ำและดินพื้นบ่อนั้นจำเป็นต้องมีการใช้ออกซิเจน (Barnabé, 1994) ดังนั้นบีโอดีจึงเป็นการวัดปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ซึ่งสามารถบอกถึงลักษณะของน้ำว่ามีสารอินทรีย์ปะปนมากน้อยเพียงใด ในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำค่าบีโอดีจะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำ ความขุ่นใส ปริมาณแพลงค์ตอนพืชและปริมาณไนเตรท ซึ่งพบว่าหากอุณหภูมิของน้ำเพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้กิจกรรมด้านชีวะ (biological activity) ในแหล่งน้ำสูงขึ้น ส่งผลทำให้ปริมาณแพลงค์ตอนพืชเพิ่มขึ้น น้ำมีความขุ่นมากขึ้น ยังผลถึงปริมาณแบคทีเรียซึ่งมีหน้าที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นจึงมีผลทำให้ค่าบีโอดีและปริมาณไนเตรทในน้ำสูงขึ้นตามลำดับ (Hudson และ Lester, 1992)

สารประกอบไนโตรเจน

ไนโตรเจน (N_2) มีในบรรยากาศถึง 78% มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตโดยเป็นส่วนประกอบของโปรตีน ไขมันและสารชีวเคมีต่างๆ (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 2536; Stickney, 1979) แบคทีเรียบางชนิดและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถตรึงไนโตรเจนให้อยู่ในรูปสารอินทรีย์ไนโตรเจน (Organic nitrogen) ได้ (Hargreaves, 1998; Stumm และ Morgan, 1996)

ไนโตรเจนในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะพบอยู่ในรูปแอมโมเนียมากที่สุด ซึ่งเกิดจากการขับถ่ายของกุ้งบริเวณเหงือก อาหารที่เหลือตกค้างและขี้กุ้ง แอมโมเนียในน้ำจะแตกตัวอยู่ในรูปของแอมโมเนียอิออน หรือแอมโมเนียม (Ionized ammonia, NH_4^+) และ แอมโมเนียอิสระ (Unionized ammonia, NH_3) โดยสัดส่วนหรือเปอร์เซ็นต์การแตกตัว (Ionization) จะขึ้นอยู่กับพีเอชและอุณหภูมิของน้ำ (Parker, 1995) ดังสมการที่ 2.2

$$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^- \qquad (2.2)$$

การเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียในรอบวันเกิดจากปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) และ การหายใจ (Respiration) ซึ่งจะมีผลต่อพีเอชของน้ำ ปริมาณของแอมโมเนียอิสระ (NH_3) ในแหล่งน้ำจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับพีเอชของน้ำ Hargreaves (1998) รายงานว่า จะมีแอมโมเนียในรูปของแอมโมเนียอิสระ (NH_3) 50% ที่พีเอชของน้ำเท่ากับ 9.3, 10% ที่พีเอชของน้ำเท่ากับ 8.3 และ 1% ที่พีเอชของน้ำเท่ากับ 7.3

แอมโมเนียสามารถสะสมอยู่ในสัตว์น้ำได้ แต่หากมีปริมาณมากจะส่งผลเสียต่อสัตว์น้ำ โดยจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งสามารถทำให้สัตว์น้ำตายได้ หากแอมโมเนียอิสระ (NH_3) ในสิ่งแวดล้อมสูงขึ้นจะส่งผลให้การขับถ่ายแอมโมเนียในเลือดปลาลดลง(Hargreaves และ Kucuk, 2001)

สารประกอบไนโตรเจนในแหล่งน้ำมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา อาจมีการสูญหายไปจากระบบโดยการระเหยในรูปของก๊าซไนโตรเจน (N_2) หรือ แอมโมเนีย (Funge-Smith และ Briggs, 1998) แพลงค์ตอนพืชดึงไปใช้และการเปลี่ยนรูปเป็นไนไตรท์และไนเตรท โดยผ่านขบวนการไนตริฟิเคชั่น (Nitrification) ซึ่งเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ได้แก่ *Nitrosomonas* และ *Nitrobacter* ซึ่งจะออกซิไดซ์แอมโมเนียไปอยู่ในรูปของไนไตรท์และไนเตรท ตามลำดับ (Hargreaves, 1998) ดังสมการที่ 2.3 และ 2.4

$$NH_4^+ + 1\,\tfrac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow NO_2^- + 2H^+ + H_2O \qquad (2.3)$$

และ

$$NO_2^- + \tfrac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow NO_3^- \qquad (2.4)$$

ไนไตรท์ที่เกิดจากขบวนการไนตริฟิเคชั่นของแอมโมเนียโดยแบคทีเรียกลุ่ม *Nitrosomonas* จัดเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ(Potentially-toxic nitrogenous compound) หากสะสมในปริมาณมาก โดยไนไตรท์จะไปจับกับฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในเลือดของสัตว์น้ำและเปลี่ยนเป็นเมทิโมโกลบิน (Methemoglobin) ซึ่งไม่สามารถจับกับออกซิเจนได้ (Hargreaves, 1998) ทำให้เลือดมีสีชาแก่หรือเข้ม (Chocolate brown color) และสัตว์น้ำจะตายในที่สุด เรียกโรคนี้ว่า brown blood disease หรือ Methemoglobinemia (Parker, 1995) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำควรมีปริมาณไนไตรท์ไม่เกิน 10 mg L^{-1}

ไนเตรทจะเป็นสารประกอบไนโตรเจนขั้นสุดท้ายของขบวนการไนตริฟิเคชั่นของไนไตรท์ โดยแบคทีเรียกลุ่ม *Nitrobacter* ซึ่งจะไม่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำโดยตรง พืชสามารถนำสารประกอบไนโตรเจนไปใช้ในรูปของไนเตรทและปล่อยแอมโมเนียออกมาโดยมีแสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyzed) ดังสมการที่ 2.5

$$NO_3^- + H_3O^+ \longrightarrow NH_3 + 2O_2 \qquad (2.5)$$

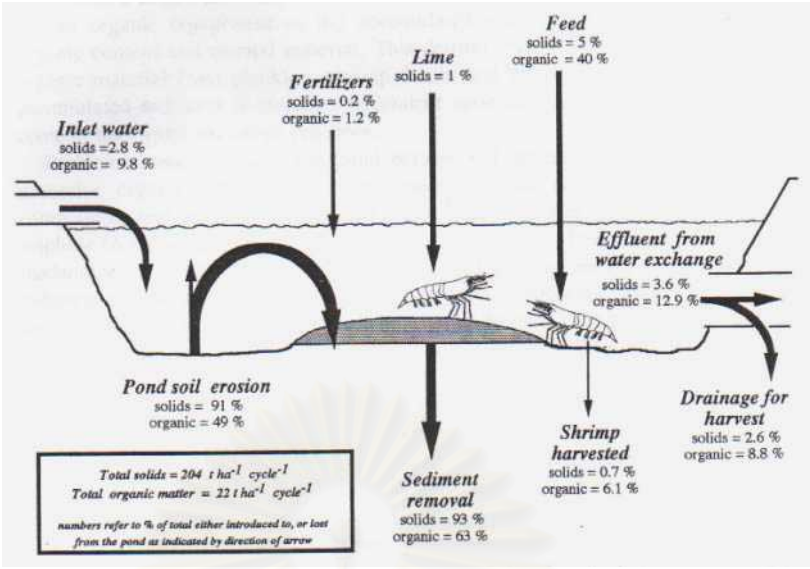
ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสในน้ำที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จะอยู่ในรูปของออโธฟอสเฟต (Orthophosphate, PO_4^{3-}) เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและถือว่าเป็นปัจจัยจำกัดของพืชและสาหร่าย (Heath และคณะ, 1980) ออโธฟอสเฟตในแหล่งน้ำมาจากปุ๋ย อาหารสัตว์น้ำ และของเสียจากสัตว์น้ำที่ละลายอยู่ (Wiesmann และคณะ, 1988) ซึ่งพบว่ามีปริมาณฟอสฟอรัสถึง 51% จากอาหารในบ่อเลี้ยงกุ้ง (Funge-Smith และ Briggs, 1998) โดยฟอสฟอรัสอาจจะมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.01- มากกว่า 200 mg L^{-1} (Wetzel, 1975) ซึ่งหากมีในแหล่งน้ำในปริมาณสูงจะมีผลทำให้ผู้ผลิตเบื้องต้น (Primary producers) เจริญอย่างรวดเร็ว (Stickney, 1979) ก่อให้เกิดผลต่อคุณภาพน้ำ ได้แก่ พีเอช แอมโมเนียและไนไตรท์ เป็นต้น

2.10 การสะสมของตะกอนพื้นบ่อ

ในระบบการเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่น ตะกอนและสิ่งต่างๆที่อยู่บริเวณผิวดินจะมีผลในเชิงบวกและลบต่อผลผลิตของกุ้ง (Bratvold และ Browdy, 2001) ซึ่งตะกอนพื้นบ่อประกอบด้วยของแข็ง (Solid) และสารอินทรีย์ (Organic matter) สาเหตุเกิดจากการพังทลายของดินบริเวณคันบ่อ ซึ่งพบว่ามีของแข็งอยู่ 88-93% และปริมาณสารอินทรีย์ 40-60% อาหารสัตว์น้ำจะพบว่ามีปริมาณสารอินทรีย์อยู่ 31-50% (Funge-Smith และ Briggs, 1998) รวมทั้งของเสียที่เกิดจากการขับถ่ายของสัตว์น้ำ (Fecal solid) และแพลงค์ตอนพืชที่ตาย (Hargreaves, 1998) ตะกอนเหล่านี้จะสะสมอยู่ที่พื้นบ่อในรูปของเลน (sludge) (Briggs และ Funge-Smith, 1994)

Schroeder และคณะ (1991) รายงานว่า มี 50%ของสาหร่าย (Algal) (ประมาณ 10 กรัมน้ำหนักแห้ง /ตารางเมตร/วัน) ตกลงสู่พื้นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำในแต่ละวัน และพบว่าในบ่อเลี้ยงกุ้งแบบกึ่งพัฒนาจะมีแพลงค์ตอนพืชประมาณ 48-66% ตกลงสู่พื้นบ่อ (Lorenzen และคณะ, 1997) ในบ่อเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นจะพบว่ามีอัตราการตกตะกอนของสารอินทรีย์มากถึง 800 กรัมน้ำหนักแห้ง /ตารางเมตร/วัน (Wyban และ Sweeney, 1989)



รูปที่ 2.1 แหล่งที่มาของของแข็งและสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นในประเทศไทย (Funge-Smith และ Briggs, 1998)

การสะสมของตะกอนพื้นบ่อจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและปริมาณผลผลิตของกุ้งกุลาดำ ซึ่งพบว่าบริเวณพื้นบ่อจะมีการปลดปล่อยแอมโมเนีย สารประกอบอินทรีย์ซัลไฟด์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Avnimelech, 1996; Lin, 1989) Hargreaves (1997) รายงานว่า แอมโมเนียประมาณ 25-33% ถูกปลดปล่อยออกมาจากตะกอนพื้นบ่อเลี้ยงปลา และตะกอนพื้นบ่อยังส่งผลต่อปริมาณออกซิเจนในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งพบว่าหากออกซิเจนในน้ำลดลง สัตว์น้ำจะเกิดอาการเครียดหรืออาจตายได้ (Madenjian และคณะ, 1987)

การลดปัญหาการสะสมของตะกอนพื้นบ่อ ทำได้โดย การควบคุมปริมาณอาหารให้เพียงพอต่อการบริโภคของสัตว์น้ำ หรือการใช้ใบพัดตีน้ำเพื่อให้มีปริมาณออกซิเจนเพียงพอต่อ การย่อยสลายของแบคทีเรีย อีกทั้งยังสามารถช่วยทำให้ตะกอนแขวนลอยอยู่ในน้ำได้

Hopkins, Paul และ Browdy (1994) ศึกษาการจัดการตะกอนในการเลี้ยงกุ้งทะเลแบบหนาแน่นและไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 3 ระบบคือ Remain, Remove และ Resuspend พบว่ากุ้งมีอัตรารอดสูงสุดจากการเลี้ยงด้วยระบบ Resuspend เท่ากับ 54.1% โดยมีผลผลิต 3,474 kg ha^{-1} แต่ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 148 วัน ระบบ Remove มีคุณภาพน้ำ (DO, BOD, TAN, Nitrite, Nitrate และ Orthophosphate) เฉลี่ยดีกว่าทุกระบบคือ 5.0, 17.9, 1.5, 1.1, 8.4 และ 0.7 mg L^{-1} ตามลำดับ และสามารถลดสารประกอบไนโตรเจนได้ถึง 67% ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เข้าสู่ระบบ

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

3.1 อุปกรณ์

ตู้"ISSCO" Laminar Flow รุ่น BV-124 ของบริษัท International Scientific, USA

เครื่องอบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) รุ่น MLS 3020 ของบริษัท SANYO Electric, JAPAN

เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer) รุ่น G-560E ของบริษัท Scientific Industries, Inc., USA

เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Psychrotherm controlled environment incubator shaker) รุ่น 6-21 ของบริษัท New Brunswick Scientific, USA

ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น RO-8 ของบริษัท Memmert, Western Germany

เครื่องเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย (Reactor Fermentor) รุ่น TU-A439A ของบริษัท Patkol, THAILAND

เครื่องวัดการดูดกลืนแสงยูวี (UV-Visible Spectrophotometer) รุ่น Spectronic GENESYS 5 ของบริษัท New Brunswick Scientific, USA

เครื่องเผาตะกอนดิน (Electric muffle furnace) รุ่น EML 11-2 ของบริษัท Carbolite, ENGLAND

ตู้อบสาร (Oven) รุ่น U-30 ของบริษัท Memmert, Germany

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวทริปติกซอย (Tryptic soy broth) ของบริษัท Difco Laboratories, USA

อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งทริปติกซอย (Tryptic soy broth) ของบริษัท Difco Laboratories, USA

อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งไทโอซัลเฟตซิเตรทบายซอลท์ (Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar) ของบริษัท Difco Laboratories, USA

Sodium thiosulphate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) ของบริษัท Ajax, Australia

Sodium nitroprusside ($Na_2[Fe(CN)_5NO].2H_2O$) ของบริษัท Ajax, Australia

Sulfanilamide ($C_6H_8N_2O_2S$) ของบริษัท Merck, Germany

N-(1-Naphthyl)ethylenediamine Dihydrochloride ($C_{12}H_{14}N_2.2HCl$) ของบริษัท Fluka, Switzerland

L(+)Ascorbic acid ($C_6H_8O_6$) ของบริษัท Carlo Erba, Italy

Antimony potassium tartrate ($K(SbO)C_4H_4O_6.1/2H2O$) ของบริษัท Carlo Erba, Italy

หมายเหตุ รายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีแสดงในภาคผนวก ก และภาคผนวก ง

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. *Bacillus* S11

เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก แยกและคัดเลือกสายพันธุ์จากลำไส้กุ้งกุลาดำที่มีสุขภาพดี โดยวรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) ใช้สำหรับเตรียมเซลล์เพื่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

2. *Bacillus subtilis* (P1) และ *Bacillus firmus* (P4)

เป็นสายพันธุ์ที่แยกและคัดเลือกจากตะกอนดินและน้ำในบ่อกุ้งกุลาดำที่ให้ผลผลิตสูง โดยเปรมสุดา สมาน (2539) ใช้สำหรับเตรียมเซลล์เพื่อใส่ลงในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานและคุณสมบัติของแบคทีเรีย

ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยา

สังเกตลักษณะขอบ รูปร่าง และลักษณะการสร้างสี (Pigment) ของโคโลนีแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารแข็งทริปติกซอย (ภาคผนวก ก ข้อ 1) และลักษณะการเจริญในอาหารเหลวทริปติกซอย (ภาคผนวก ก ข้อ 2)

การติดสีแกรม

ใช้แบคทีเรียที่เจริญบนอาหารแข็งทริปติกซอย (ภาคผนวก ก ข้อ 1) อายุ 24 ชั่วโมง นำไปย้อมแกรม (ภาคผนวก ข ข้อ 1-4) ดูรูปร่างและการจัดเรียงตัวของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

คุณสมบัติทางชีวเคมี

การย่อยสลายแป้ง

เขี่ยแบคทีเรียจากโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็งทริปติกซอย (ภาคผนวก ก ข้อ 1) ขีดลงบนอาหารแข็งแป้ง (Starch agar) (ภาคผนวก ก ข้อ 4) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ. เป็นเวลา 48 ชม. ดูผลการทดลองโดยราดสารละลายไอโอดีน (ภาคผนวก ข ข้อ 1) ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย ถ้าเกิดเป็นบริเวณใส (Clear zone) รอบโคโลนีแบคทีเรียที่เจริญ แสดงว่าแบคทีเรียย่อยแป้งได้ (Gerhardt และคณะ, 1981)

การย่อยสลายโปรตีน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 แต่เปลี่ยนอาหารแข็งที่ใช้ทดสอบการย่อยสลายเป็นอาหารแข็งนมพร่องไขมัน (Skim milk agar) (ภาคผนวก ก ข้อ 5) ดูผลการทดลองโดยแบคทีเรียที่ย่อยสลายโปรตีนได้จะเกิดบริเวณใส (Clear zone) รอบโคโลนีแบคทีเรียที่เจริญ (Gerhardt และคณะ, 1981)

การย่อยสลายไขมัน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 แต่เปลี่ยนอาหารแข็งที่ใช้ทดสอบการย่อยสลายเป็นอาหารแข็งทวีน 80 (Tween 80 agar) (ภาคผนวก ก ข้อ 6) ดูผลการทดลองโดยแบคทีเรียที่ย่อยสลายไขมันได้จะเกิดตะกอนขุ่นขาวรอบโคโลนีแบคทีเรียที่เจริญ (Demphey, 1987)

การสร้างยูรีเอส

ถ่ายแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงในอาหารคริสเตนส์ยูเรีย (Christen's urea) (ภาคผนวก ก ข้อ 7) บ่มเลี้ยงที่ 37 °ซ. เป็นเวลา 1-4 วัน ถ้าปรากฏสีชมพูสดบนอาหาร แสดงว่าแบคทีเรียสามารถสร้างยูรีเอสย่อยสลายยูเรียให้แอมโมเนียออกมาทำให้อาหารมีสภาพเป็นด่าง จึงเปลี่ยนสีฟีนอลเรดจากสีส้ม (พีเอช 6.8) กลายเป็นสีชมพูเข้ม (พีเอช 8.1) ให้ผลเป็นบวก ถ้าไม่เปลี่ยนสีอาหารให้ผลเป็นลบ (Ederer, Chu และ Blazeric, 1971)

การใช้ไนเตรท

ถ่ายแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลวไนเตรท (Nitrate broth) (ภาคผนวก ก ข้อ 8) บ่มเลี้ยงที่ 37 °ซ. เป็นเวลา 48 ชม. ตรวจสอบไนไตรท์ที่เกิดขึ้นโดยการเติมกรดซัลฟานิลิค (Sulfanilic acid) 2-3 หยด และแอลฟาแนพทิลลามีน (α-Napthylamine) (ภาคผนวก ข ข้อ 5) ลงไปตามลำดับ ถ้าเกิดสีแดง ภายใน 30 วินาที ให้ผลเป็นบวก สีแดงที่เกิดขึ้นเนื่องจากไนไตรท์ที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับ Sulfanilic acid ได้สารประกอบประเภทเกลือไดอะโซเนียม (Diazonium) และเกลือที่ได้จะรวมตัวกับ Napthylamine ทำให้เกิดสีแดงของ อะโซดาย (Azodye) ที่ละลายน้ำได้ แต่ถ้าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงให้ผลเป็นลบ บางครั้งไนไตรท์ที่เกิดขึ้นทั้งหมดจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย อาหารจึงไม่เปลี่ยนสี ดังนั้นจึงต้องใส่ผงสังกะสีลงไปทดสอบ ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดงเนื่องจากสังกะสีไปดึงออกซิเจนออกจากไนเตรทให้กลายเป็นไนไตรท์ แสดงว่าแบคทีเรียไม่สามารถใช้ไนเตรทได้ให้ผลเป็นลบ ถ้าไม่เกิดสีแดง แสดงว่า ไนไตรท์เปลี่ยนเป็นแอมโมเนียหมดจึงให้ผลเป็นบวก

3.4.2 อัตราส่วนของแป้ง-ปลาป่นที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย

เตรียมอาหารแป้ง-ปลาป่นในอัตราส่วนต่างๆได้แก่ 1:1, 1:2, 2:1 และ 2:2 % (wt/v) เช่น ในอัตราส่วน 1:1% (wt/v) จะเติมแป้ง 1 กรัมและปลาป่น 1 กรัม ในน้ำ 100 มล. นำไปนึ่งอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ. เป็นเวลา 20 นาที เติมแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลวทริปติกซอย (ภาคผนวก ก ข้อ 2) ลงในอาหารในแต่ละอัตราส่วนปริมาณ 3 % (v/v) เขย่าที่อุณหภูมิ 37 °ซ. ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชม. ดูผลการทดลองโดยการทำ Total plate count

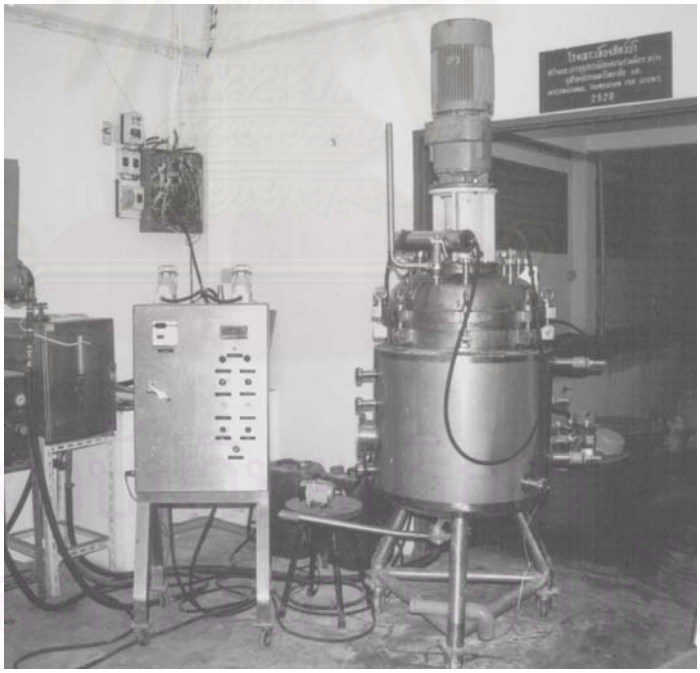
3.4.3 ปริมาตรโพรไบโอติกแบคทีเรียที่เหมาะสมในการผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป

นำโพรไบโอติกแบคทีเรียที่เจริญในอาหารแป้ง-ปลาป่นที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.4.2 ผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูปปริมาตร 5, 10, 15, 20 และ 30 % (v/wt) เช่น ปริมาตร 5% (v/wt) จะใช้โพรไบโอติกแบคทีเรียที่เจริญในอาหารดัดแปลงจำนวน 5 มล. คลุกกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป 100 กรัม ดูปริมาตรที่เหมาะสมที่ไม่ทำให้อาหารเม็ดแตกตัวและมีจำนวนโพรไบโอติกแบคทีเรียไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU g^{-1} ดูผลการทดลองโดยการทำ Total plate count

3.4.4 การเพิ่มจำนวนแบคทีเรียใน Reactor Fermentor

เติมน้ำ 3 ใน 5 ส่วนของปริมาตรทั้งหมดของถัง (ประมาณ 90 ลิตร) ใส่ปลาป่น 1 %(wt/v) ต้มให้เดือดที่อุณหภูมิ 100 °ซ. เป็นเวลา 30 นาที กรองเศษปลาป่นผ่านผ้ากรองที่มีขนาดตาละเอียด และนำน้ำ ที่ผ่านการกรองกลับเข้าถัง เติมแป้งข้าวเจ้า 1 %(wt/v) และยีสต์เอ็กแทรก (Yeast extract) 0.5 %(wt/v) ต้มที่อุณหภูมิ 125 °ซ. ความดัน 23 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิ 37-45 °ซ. และเติมแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลวทริปติกซอย (ภาคผนวก ก ข้อ 2) ปริมาณ 3 %(v/v) พร้อมทั้งให้อากาศและเปิดใบพัดกวน เลี้ยงเป็นเวลา 24 ชม.

หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชม. ทำการเก็บตัวอย่างแบคทีเรียไปตรวจสอบการปนเปื้อนรวมถึงจำนวนของแบคทีเรียที่ต้องการ ซึ่งต้องให้มีจำนวนใกล้เคียงกับการทดลองในห้องปฏิบัติการ (ประมาณ 10^8 CFU ml^{-1}) และบรรจุลงถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร เก็บรักษาในห้องที่มีอุณหภูมิ 4 °ซ. ก่อนนำไปใช้



รูปที่ 3.1 Reactor Fermentor ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย

Reactor Fermentor มีขนาดบรรจุ 150 ลิตร สร้างขึ้นโดยทีมวิศวกรจากบริษัท พัฒน์กล ในปี พ.ศ. 2536 พร้อมระบบควบคุมอุณหภูมิและใบพัดกวน

3.4.5 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

1) การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

ทำการทดลองในถังพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 ซ.ม. ขนาดความจุน้ำ 130 ลิตร ความเค็มของน้ำ 15 ส่วนในพันส่วน ปล่อยกุ้ง 20 ตัวต่อถัง ความยาวและน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 8.78±0.72 ซ.ม. และ 5.96±1.45 กรัม ตามลำดับ ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน ให้อาหาร 3 เวลา ได้แก่ 7.00 น. 12.00 น.และ 17.00 น. ปริมาณ 2-4%ของน้ำหนักกุ้งทั้งหมด ในแต่ละถังต่อวัน (Allan, Moriarty และ Maguire, 1995) ออกแบบการทดลองโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ทำกลุ่มละ 3 ซ้ำ คือ

1. กลุ่มควบคุม (Control) คือกลุ่มที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปโดยไม่ผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และไม่เติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำ
2. กลุ่มเติมแบคทีเรีย คือกลุ่มที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง โดยควบคุมจำนวนแบคทีเรียให้มี ไม่ต่ำกว่า 10^3 CFU ml^{-1}

ตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. รวมทั้งอัตราการเติบโตและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำ

2) การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2

กุ้งกุลาดำระยะ postlarvae 24 (PL24) จากบ่อเลี้ยงกุ้งจังหวัดฉะเชิงเทรา นำมาเลี้ยงในบ่อดินขนาด 4,800 ตารางเมตร ที่เตรียมไว้ (ภาคผนวก ค ข้อ 1) บรรจุน้ำความเค็ม 2 ส่วนในพันส่วน ปล่อยกุ้งอัตราความหนาแน่น 42 ตัวต่อตารางเมตร ให้อากาศด้วยเครื่องตีน้ำแบบใบพัด ทำการเลี้ยงกุ้งโดยใช้ระบบการเลี้ยงแบบปิด (Closed System) (Fast และ Menasveta, 1998) ให้อาหาร 4 เวลาต่อวัน การทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

1. บ่อควบคุม (Control) คือบ่อที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปโดยไม่ผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และไม่เติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำ

2. บ่อเติมแบคทีเรีย คือบ่อที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง โดยควบคุมจำนวนแบคทีเรียให้มี ไม่ต่ำกว่า 10^3 CFU ml^{-1}

ตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน รวมทั้งอัตราการเติบโตและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำ

3) การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

กุ้งกุลาดำระยะ postlarvae 12 (PL12) จากบ่อเลี้ยงกุ้งจังหวัดฉะเชิงเทรา นำมาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์กลมเป็นเวลา 13 วัน หลังจากนั้นนำไปเลี้ยงในบ่อดินขนาด 900 ตารางเมตรที่เตรียมไว้ (ภาคผนวก ค ข้อ 2) บรรจุน้ำความเค็ม 5 ส่วนในพันส่วน ปล่อยกุ้งอัตราความหนาแน่น 33 ตัวต่อตารางเมตร ให้อากาศด้วยเครื่องตีน้ำแบบใบพัดและสายอากาศพร้อมหัวทรายทำการเลี้ยงกุ้งโดยใช้ระบบการเลี้ยงแบบปิด (Closed System) (Fast และ Menasveta, 1998) ให้อาหาร 4 เวลาต่อวัน การทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

1.บ่อควบคุม (Control) คือบ่อที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปโดยไม่ผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และไม่เติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำ

2.บ่อเติมแบคทีเรีย คือบ่อที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง โดยควบคุมจำนวนแบคทีเรียให้มีไม่ต่ำกว่า 10^3 CFU ml^{-1}

ตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. ในตัวอย่างน้ำและดินพื้นบ่อ รวมทั้งอัตราการเติบโตและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำ

3.4.6 การตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1 ทำการศึกษาทุก 7 วัน การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2 และ 3 จะทำการศึกษาเหมือนกันทุก 2 สัปดาห์ โดยจะทำการศึกษา ดังนี้

ตารางที่ 3.1 พารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา เครื่องมือและวิธีการทดลอง

พารามิเตอร์ที่ตรวจวัด	เครื่องมือ : รุ่น / วิธีวิเคราะห์
พีเอช ของน้ำ(pH)	pH-meter YSI model 63
อุณหภูมิน้ำ (Water temperature)	DO-meter YSI model 52
ความเค็ม (Salinity)	SCT-meter YSI model 63
ค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity)	SCT-meter YSI model 63
ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO)	DO-meter YSI model 52
ค่าความเป็นด่างรวม (Total Alkalinity)	Titration Method (APHA, 1992)
บีโอดี (Biochemical oxygen demand, BOD)	5-Day BOD Test (APHA, 1992)
ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (Total Ammonia)	Standard Method (Parsons, 1984)
ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite)	Colorimetric Method (Parsons, 1984)
ปริมาณไนเตรท (Nitrate)	Cadmium Reduction Method (APHA, 1992)
ปริมาณออโธฟอสเฟต (Orthophosphate)	Ascorbic Acid Method (Parsons, 1984)
ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน (Organic compound)	Ignition loss Method (Chuan and Sugahara, 1984)

3.4.7 วิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ค่าความเป็นด่างรวม (Total Alkalinity)

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1.เตรียมน้ำตัวอย่างให้มีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง ปริมาตร 100 มล. ลงในขวดรูปชมพู่

2.เติมสารละลาย phenolphthalein indicator (ภาคผนวก ง ข้อ 1.5) 4 หยด ถ้าสารละลายมีสีชมพูให้ไตเตรตด้วย 0.02 N H_2SO_4 หรือ HCl (ภาคผนวก ง ข้อ 1.3) การไตเตรต

ค่อยๆรินกรดครั้งละประมาณ 0.2 มล. เขย่าสารละลายให้ผสมกันและเติมกรดครั้งต่อไปจนสีชมพูหมดไป ถ้าสารละลายไม่มีสีชมพูหรือเมื่อไตเตรตจนสีชมพูหมดไปให้ดำเนินการตามข้อ 3

3.เติมสารละลาย methyl orange (ภาคผนวก ง ข้อ 1.4) 2 หยด ลงในสารละลายที่ได้จากข้อ 2 ไตเตรตด้วยกรดจนได้สารละลายสี faint orange (หรือ reddish orange)

4.บันทึกปริมาตร (มล.) ของกรดที่ใช้ในข้อ 2 และ 3 นำมาคำนวณหาความเป็นด่าง ดังสมการที่ 3.1 - 3.3

$$\text{Pre Alkalinity (as mg } CaCO_3\ L^{-1}) = \frac{AxNx50{,}000}{\text{มล.ของน้ำตัวอย่าง}} \qquad (3.1)$$

$$\text{Alkalinity (as mg } CaCO_3\ L^{-1}) = \frac{BxNx50{,}000}{\text{มล.ของน้ำตัวอย่าง}} \qquad (3.2)$$

เมื่อ

A = มล.ของกรดซึ่งไตเตรตน้ำตัวอย่างถึง pH 8.3 (ตามข้อ 2)

B = มล.ของกรดซึ่งไตเตรตน้ำตัวอย่างถึง pH 4.5 (ตามข้อ 3)

N = normality ของกรด

ค่าความเป็นด่างทั้งหมด = Pre Alkalinity + Alkalinity (3.3)

บีโอดี (Biochemical oxygen demand, BOD)

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. เติมออกซิเจนให้กับน้ำตัวอย่างโดยใช้เครื่องปั๊มลม
2. รินน้ำตัวอย่างลงในขวดบีโอดีจนเต็ม 2 ขวด ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ ปิดจุกให้สนิทโดยมีน้ำหล่อที่ปากขวด

ขวดแรก ให้หาค่า DO เริ่มต้น (DO_0)

ขวดที่สอง ห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์และเก็บบ่มที่ 20 °ซ.

3. หลังจาก 5 วัน แล้วนำตัวอย่างนั้นมาหาค่า DO ที่เหลืออยู่ (DO_5)
4. การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจน (DO) ในตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.1 เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต (ภาคผนวก ง ข้อ 2.1) และอัลคาไล-ไอโอไดด์ รีเอเจนท์ (ภาคผนวก ง ข้อ 2.2) อย่างละ 1 ลบ.ซ.ม. ลงในขวดตัวอย่าง ตามลำดับ ปิดด้วยจุก และเขย่าให้เข้ากัน ประมาณ 15 ครั้ง

4.2 ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายตกตะกอน จนส่วนบนของสารละลายใส

4.3 เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 1 ลบ.ซ.ม. ปิดด้วยจุก และเขย่าจนกระทั่งตะกอนละลายหมด

4.4 รินสารละลายลงในบีกเกอร์ 10 ลบ.ซ.ม. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 N (ภาคผนวก ง ข้อ 2.5) ที่บรรจุอยู่ในหลอดฉีดยาขนาด 1 ลบ.ซ.ม. จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง (ภาคผนวก ง ข้อ 2.4) 1-2 หยด จะได้สีน้ำเงินเข้ม และไตเตรทต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป อ่านปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ ในหน่วยไมโครลิตร

<u>การคำนวณปริมาณออกซิเจนในน้ำ</u>

ถ้าตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการไตเตรทมีปริมาตร 200 ลบ.ซ.ม. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 N 1.0 ลบ.ซ.ม. จะมีค่าสมมูลพอดีกับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 1.0 มก.ต่อลิตร

ในที่นี้ใช้ตัวอย่างน้ำ 10 ลบ.ซ.ม. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 N 50 ไมโครลิตร จะมีค่าสมมูลพอดีกับปริมาณออกซิเจนละลาย 1.0 มก.ต่อลิตร

<u>การคำนวณค่าบีโอดี</u>

$$\text{ค่า BOD (mg L}^{-1}\text{)} = DO_0 - DO_5 \qquad (3.4)$$

เมื่อ DO_0 = DO เริ่มต้นของน้ำตัวอย่าง (mg L^{-1})

DO_5 = DO หลังการบ่ม เป็นเวลา 5 วัน (mg L^{-1})

ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (Total Ammonia)

วิธีวิเคราะห์

1. นำน้ำตัวอย่าง 50 มล. ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ใช้น้ำกลั่นปราศจากแอมโมเนีย (ภาคผนวก ง ข้อ 3.1) หรือน้ำ de-ionized เป็นแบลงค์

2. เติมสารละลายฟีนอล (ภาคผนวก ง ข้อ 3.2) 2 มล. เขย่าผสมให้เข้ากัน

3. เติมสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (ภาคผนวก ง ข้อ 3.3) 2 มล. เขย่าผสมให้เข้ากัน

4. เติมสารละลายออกซิไดซ์ซิง (ภาคผนวก ง ข้อ 3.6) 5 มล. เขย่าผสมให้เข้ากัน

5. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20-27 °ซ) เป็นเวลา 1 ชม. แต่ไม่ควรเกิน 24 ชม. เพื่อให้สารละลายเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ปิดปลายขวดรูปชมพู่ด้วยกระดาษ aluminium foil เกิดเป็นสารประกอบ indophenol ซึ่งมีสีน้ำเงิน หลังจากนั้นนำไปวัดหาค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตัวอย่างที่ลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ ไปหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite)

วิธีวิเคราะห์

1. นำน้ำตัวอย่าง 50 มล. ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์

2. เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ (ภาคผนวก ง ข้อ 4.1) 1 มล. เขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 2 นาที แต่ไม่ควรเกิน 10 นาที

3. เติมสารละลายเอ็นอีดีไดไฮโดรคลอไรด์ (ภาคผนวก ง ข้อ 4.2) 1 มล. เขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่ควรเกิน 2 ชม. หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตัวอย่างที่ลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ ไปหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

ปริมาณไนเตรท (Nitrate)

การเตรียม Column สำหรับ reduce ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์

1. ชั่ง Cadmium filings (ภาคผนวก ง ข้อ 5.3) ประมาณ 100 กรัม (ใช้ได้ประมาณ 2 column) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มี 2 N HCl (ภาคผนวก ง ข้อ 5.5) ประมาณ 500 มล. ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชม. และใช้แท่งแก้วคนเป็นครั้งคราว

2. รินส่วนที่เป็นของเหลวออก ล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆครั้ง จนกระทั่งแน่ใจว่ากรดถูกล้างออกไปหมด

3. เติมสารละลายคิวปริกซัลเฟต (ภาคผนวก ง ข้อ 5.4) 500 มล. คนด้วยแท่งแก้วประมาณ 5 นาที หรือคนจนสีฟ้าของสารละลายจางลงหรือหมดไปและเริ่มมีตะกอนของทองแดงล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 10 ครั้ง

4. ใช้คีมคีบใยแก้ว (glass wool) ชิ้นเล็กๆใส่ลงไปใน column เกลี่ยใยแก้วให้อยู่ส่วนล่างของ column เติมสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เจือจาง (ภาคผนวก ง ข้อ 5.2) ให้เต็ม column

5. ตัก cadmium filings จากข้อ 3 ค่อยๆใส่ลงใน column จนหมด ระวังไม่ให้ column อัดตัวแน่นเกินไป ขณะเดียวกันควรไขสารละลายออกช้าๆ เพื่อป้องกันสารละลายล้น column แต่ควรให้สารละลายเต็ม column อยู่เสมอ เพื่อให้ cadmium ถูกอากาศน้อยที่สุด อุดปิดด้านบนของ column ด้วยใยแก้ว ปรับอัตราการไหลประมาณ 100 มล.ต่อ 8-12 นาที

6. เก็บรักษา column โดยเติมสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เจือจาง(ภาคผนวก ง ข้อ 5.2) ให้เต็ม หยุดการไหลของสารละลาย เพื่อพัก column ไว้จนกว่าจะถึงเวลาใช้ครั้งใหม่

วิธีวิเคราะห์

1. เติมสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น (ภาคผนวก ง ข้อ 5.1) 2 มล. ในน้ำตัวอย่าง 100 มล. ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ เขย่าผสมให้เข้ากัน

2. เติมสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 5 มล. ลงใน column แล้วปรับให้สารละลายใน column ให้อยู่เหนือใยแก้วเล็กน้อย

3. เติมสารละลายข้อ 1 ที่เหลือลงใน column เปิดสารละลายออกจาก column ในอัตรา 100 มล. ต่อ 8-12 นาที โดยเปิดสารละลายออกประมาณ 40 มล. แล้วเก็บสารละลายที่เปิดออกช่วงหลังให้ได้ปริมาตร 50 มล.

4. เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ (ภาคผนวก ง ข้อ 4.1) 1 มล. ลงในสารละลายข้อ 3 เขย่าตั้งทิ้งไว้ 2-8 นาที

5. เติมสารละลายเอ็นอีดีไดไฮโดรคลดไรด์ (ภาคผนวก ง ข้อ 4.2) 1 มล. เขย่าตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาทีแต่ไม่ควรเกิน 2 ชม. หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ลบค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ออกแล้ว ไปหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

ปริมาณออโธฟอสเฟต (Orthophosphate)

วิธีวิเคราะห์

1. นำน้ำตัวอย่างปริมาตร 100 มล. ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์

2. เติมสารผสมรีเอเจนท์ (ภาคผนวก ง ข้อ 6.5) ปริมาตร 10 มล. เขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แต่ไม่ควรเกิน 2 ชม. หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ลบค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ออกแล้ว ไปหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน (Organic compound)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างดินประมาณ 5 กรัม ใส่ลงในเพตริดิส นำไปอบในตู้อบ (oven) ที่อุณหภูมิ 110 °ซ. เป็นเวลา 2 ชม.

2. นำ crucible ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 110 °ซ. เป็นเวลา 2 ชม. และทิ้งให้เย็นใน desiccator มาชั่งและบันทึกน้ำหนัก

3. นำดินที่อบแห้งประมาณ 4.5 กรัม ใส่ลงใน crucible บันทึกน้ำหนักของดิน

4. นำไปเผาใน electric muffle furnace ที่อุณหภูมิ 700 °ซ. เป็นเวลา 2 ชม.

5. นำ crucible ที่ผ่านการเผามาทิ้งให้เย็นใน desiccator เป็นเวลา 1 ชม. ชั่งหาน้ำหนัก และคำนวณปริมาณสารอินทรีย์ ดังสมการที่ 3.5

$$\text{ปริมาณสารอินทรีย์ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนเผา - น้ำหนักหลังเผา}}{\text{น้ำหนักก่อนเผา}} \times 100 \quad (3.5)$$

3.4.8 ปริมาณจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด, *Bacillus subtilis, B. firmus* และแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. ในตัวอย่างน้ำและดินพื้นบ่อ ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยวิธี Total plate count

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Bacillus* spp. ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งทริปติกซอย (ภาคผนวก ก ข้อ 1) ส่วนแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งไทโอซัลเฟตซิเตรทบายซอลล์ซูโครส (ภาคผนวก ก ข้อ 3)

3.4.9 อัตราการเติบโตและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำ

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1 ทำการศึกษาทุก 7 วัน การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2 และ 3 จะทำการศึกษาทุก 2 สัปดาห์ โดยแต่ละครั้งจะทำการสุ่มชั่งวัดความยาว (ซ.ม.) และน้ำหนัก (กรัม) ของกุ้งกุลาดำ

เมื่อเลี้ยงกุ้งครบตามกำหนดจะทำการจับกุ้งขึ้นจากบ่อเพื่อเช็คอัตรารอด (%) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแต่ละครั้ง

3.4.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการศึกษา

4.1 ลักษณะการเจริญ สัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของแบคทีเรีย

จากการตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เลี้ยงในอาหารเหลวทริปติกซอย (ภาคผนวก ก ข้อ 2) เขย่าที่อุณหภูมิ 37 °ซ. ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชม. และทำการตรวจหาจำนวนโดยวิธี Total plate count พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11, *B. subtilis* (P1) และ *B. firmus* (P4) มีจำนวนเท่ากับ $1.2x10^9$, $3.9x10^8$ และ $1.1x10^9$ CFU ml^{-1} ตามลำดับ

ผลการตรวจสอบลักษณะการเจริญและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11, *B. subtilis* (P1) และ *B. firmus* (P4) แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะการเจริญและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11, *B. subtilis* (P1) และ *B. firmus* (P4)

ลักษณะที่ทดสอบ	*Bacillus* S11	*B. subtilis* (P1)	*B. firmus* (P4)
1.Culture characteristics			
Form	Irregular	Irregular	Circular
Elevation	Flat	Raised	Convex
Margin	Undulate	Undulate	Entire
Surface	Ruguse	Ruguse	Smooth
Optical	Opaque	Opaque	Opaque
Consistency	Brittle	Brittle	Brittle
NA slant	Beaded	Beaded	Filiform
NB growth	Ring	Ring	Pellicle
Sediment	Flasky	Flasky	Flasky

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.1 **(ต่อ)**

ลักษณะที่ทดสอบ	*Bacillus* S11	*B. subtilis* (P1)	*B. firmus* (P4)
2. Morphological characteristics			
Rod	Yes	Yes	Yes
Spore	Yes	Yes	Yes
Gram's stain	positive	positive	positive
3. Physiological characteristics			
Starch hydrolysis	+	+	+
Casein hydrolysis	+	+	+
Lipid hydrolysis	+	+	+
Urease	+	+	-
Nitrate utilization	+	+	-

'+' = positive test, '-' = negative test

4.2 อัตราส่วนของแป้ง-ปลาป่น ที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย

จากการเลี้ยงแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหารแป้ง-ปลาป่นที่อัตราส่วน 1:1, 1:2, 2:1 และ 2:2 %(wt/v) เขย่าที่อุณหภูมิ 37 °ซ. ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชม. ตรวจสอบผลโดยการทำ Total plate count ผลการตรวจสอบแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 อัตราส่วนของแป้ง-ปลาป่นที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย

อัตราส่วนแป้ง-ปลาป่น	**จำนวนแบคทีเรีย** (CFU ml^{-1})*		
%(wt/v)	*Bacillus* S11	*B. subtilis*	*B. firmus*
1 : 1	$1.4x10^8$	$1.5x10^8$	$5.9x10^8$
1 : 2	$2.0x10^8$	$0.7x10^8$	$6.3x10^8$
2 : 1	$3.1x10^8$	$0.6x10^8$	$3.1x10^8$
2 : 2	$2.0x10^8$	$2.4x10^8$	$7.3x10^8$

*ค่าเฉลี่ย (n=3)

จากตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่า ในแต่ละอัตราส่วน แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถเจริญได้โดยมีจำนวนประมาณ 10^8 CFU ml^{-1} โดยในอัตราส่วน 2:2% (wt/v) ซึ่งเป็นอัตราส่วนเดียวกันกับอัตราส่วน 1:1% (wt/v) แต่ใช้แป้งและปลาป่นในปริมาณที่มากกว่า หลังจากการเลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชม. พบว่ายังคงมีแป้งและปลาป่นที่แบคทีเรียไม่ได้ย่อยสลายเหลืออยู่จำนวนมาก หากนำไปใส่ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ จะทำให้น้ำมีสารอินทรีย์เพิ่มมากขึ้นและส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำภายในบ่อ ดังนั้นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการใช้เพิ่มจำนวนแบคทีเรีย คือ อัตราส่วน 1:1% (wt/v) เนื่องจากมีจำนวนแบคทีเรียใกล้เคียงกับอัตราส่วนอื่นๆอีกทั้งใช้ปริมาณแป้งและปลาป่นน้อยที่สุด

4.3 ปริมาตรโพรไบโอติกแบคทีเรียที่เหมาะสมในการผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป

นำโพรไบโอติกแบคทีเรียที่เจริญในอาหารแป้ง-ปลาป่นอัตราส่วน 1:1 %(wt/v) ที่ได้จากการศึกษาในข้อ 4.2 ผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูปปริมาตร 5, 10, 15, 20 และ 30 %(v/wt) ดูปริมาตรที่เหมาะสมที่ไม่ทำให้อาหารเม็ดแตกตัวและมีจำนวนโพรไบโอติกแบคทีเรียไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU g^{-1} ดูผลการทดลองโดยการทำ Total plate count ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาตรของโพรไบโอติกแบคทีเรียหลังการผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป

ปริมาตรของโพรไบโอติกแบคทีเรีย %(v/wt)	**จำนวนโพรไบโอติกแบคทีเรีย (CFU g^{-1}) ในอาหารกุ้ง***
5	$<10^3$
10	**$3.45x10^3$**
15	$5.30x10^3$
20	$5.75x10^3$
30	อาหารเม็ดแตกตัว

*ค่าเฉลี่ย (n=3)

จากตารางที่ 4.3 จะเห็นได้ว่า หลังจากผสมโพรไบโอติกแบคทีเรียกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป และตรวจนับจำนวนแบคทีเรียในอาหาร พบว่าโพรไบโอติกแบคทีเรียปริมาตร 5%(v/wt) มีจำนวนแบคทีเรียน้อยกว่า 10^3 CFU g^{-1} และที่ปริมาตร 30%(v/wt) นั้นทำให้อาหารเม็ดแตกตัว จึงไม่เหมาะสมในการนำไปใช้ ส่วนที่ปริมาตร 10, 15 และ 20%(v/wt) สามารถตรวจพบจำนวนโพรไบโอติกแบคทีเรียได้ประมาณ 10^3 CFU g^{-1} ดังนั้นปริมาตรโพรไบโอติกแบคทีเรียที่เหมาะสมในการผสมกับอาหารกุ้งสำเร็จรูป คือ ปริมาตร 10%(v/wt) เนื่องจากมีจำนวนโพรไบโอติกแบคทีเรียใกล้เคียงกับปริมาตรอื่นๆที่สามารถตรวจนับจำนวนแบคทีเรียได้และใช้ปริมาตรน้อยที่สุด ทั้งนี้จำนวนโพรไบโอติกแบคทีเรียในอาหารกุ้งมีเพียง 10^3 CFU g^{-1} เนื่องจาก เซลล์ของแบคทีเรียในอาหารดัดแปลงแป้งและปลาป่นอยู่ในรูปสารแขวนลอยจึงมีจำนวนของแบคทีเรียต่อปริมาตรน้อยกว่าเมื่อเทียบกับ การนำเซลล์มาปั่นเหวี่ยง หรือตกตะกอนเซลล์ให้อยู่ในรูปเซลล์เปียก (Wet cell) โดยการนำแบคทีเรียในรูปสารแขวนลอยไปผสมกับอาหารกุ้ง เพื่อความสะดวกในการผสมกับอาหารและทำให้แบคทีเรียกระจายทั่วอาหารเม็ดสำเร็จรูป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 ผลการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

4.4.1 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

เลี้ยงกุ้งกุลาดำในถังพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 70 ซ.ม. ความจุน้ำ 130 ลิตร ความเค็มของน้ำ 15 ส่วนในพันส่วน ปล่อยกุ้ง 20 ตัวต่อถัง ความยาวและน้ำหนักเฉลี่ย เท่ากับ 8.78±0.72 ซ.ม. และ 5.96±1.45 กรัม ตามลำดับ ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน ให้อาหาร 3 เวลา ได้แก่ 7.00 น., 12.00 น. และ 17.00 น. ปริมาณ 2-4%ของน้ำหนักกุ้งทั้งหมดในแต่ละถังต่อวัน (Allan, Moriarty และ Maguire, 1995) ออกแบบการทดลองโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม ทำกลุ่มละ 3 ซ้ำ คือ

1. กลุ่มควบคุม (Control) คือกลุ่มที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปโดยไม่ผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และไม่เติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำ

2. กลุ่มเติมแบคทีเรีย คือกลุ่มที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง โดยควบคุมจำนวนแบคทีเรียให้มีไม่ต่ำกว่า 10^3 CFU ml^{-1}

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 30 วัน โดยทำการศึกษาทุก 7 วัน ได้ผลการทดลองดังนี้

พีเอชของน้ำ

พีเอชของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าพีเอชของน้ำเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 6.83-7.47 ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 7.20±0.31 กลุ่มเติมแบคทีเรียมีค่าพีเอชของน้ำเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 6.78-7.57 ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 7.25±0.34 โดยในกลุ่มควบคุมมีค่าพีเอชของน้ำต่ำกว่ากลุ่มเติมแบคทีเรียในช่วง 14 วันแรกของการเลี้ยงและเพิ่มขึ้นในวันที่ 21 และ 28 ส่วนในกลุ่มเติมแบคทีเรียมีค่าพีเอชของน้ำลดลงต่ำสุดในวันที่ 21 ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรีย พบว่า กลุ่มควบคุมมีพีเอชของน้ำไม่แตกต่างจากกลุ่มเติมแบคทีเรีย โดยมีการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.1

อุณหภูมิของน้ำ

อุณหภูมิของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 26.00-28.77 °ซ. ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 27.40±1.23 °ซ. กลุ่มเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 27.20-29.33 °ซ. ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 27.87±0.98 °ซ. โดยพบว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทั้งสองกลุ่มการทดลองมีค่าใกล้เคียงกันตลอดช่วงเวลาการทดลอง เนื่องจากมีการใช้ขดลวดให้ความร้อนควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียพบว่า กลุ่มควบคุมมีอุณหภูมิของน้ำไม่แตกต่างจากกลุ่มเติมแบคทีเรีย โดยมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.2

ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ

ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำอยู่ในช่วง 25.89-27.12 mS cm^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 26.61±0.80 mS cm^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำอยู่ในช่วง 26.04-29.66 mS cm^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 27.84±1.29 mS cm^{-1} โดยพบว่า ค่าการนำไฟฟ้าในกลุ่มเติมแบคทีเรียสูงกว่ากลุ่มควบคุมทุกช่วงเวลาการทดลอง ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียพบว่า กลุ่มควบคุมมีค่าการนำไฟฟ้าของน้ำต่ำกว่ากลุ่มเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.3

ความเค็มของน้ำ

ความเค็มของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 15.13-16.00 ส่วนในพันส่วน ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 15.46±0.39 ส่วนในพันส่วน กลุ่มเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 15.13-17.20 ส่วนในพันส่วน ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 16.07±0.70 ส่วนในพันส่วน โดยในช่วงเริ่มต้น น้ำมีความเค็มเท่ากันทั้งสองกลุ่มการ

ทดลองและเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุดในวันที่ 28 ของการเลี้ยง ซึ่งพบว่าหลังจากวันที่ 7 ของการเลี้ยงในกลุ่มเติมแบคทีเรียมีค่าความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้นและสูงกว่ากลุ่มควบคุมตลอดช่วงเวลาการเลี้ยง จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียพบว่า กลุ่มควบคุมมีความเค็มของน้ำต่ำกว่ากลุ่มเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.4

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 5.62-8.13 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 7.06±1.03 mg L^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 5.24-8.23 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.72±1.19 mg L^{-1} โดยปริมาณออกซิเจนละลายน้ำของทั้งสองกลุ่มการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงใกล้เคียงกันและอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเติบโตของกุ้งกุลาดำ ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียพบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำไม่แตกต่างจากกลุ่มเติมแบคทีเรีย โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.5

ค่าความเป็นด่างรวมของน้ำ

ค่าความเป็นด่างรวมของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมของน้ำอยู่ในช่วง 73.00-92.33 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 77.93±19.43 mg L^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมของน้ำอยู่ในช่วง 49.67-96.67 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 72.27±18.43 mg L^{-1} โดยพบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีค่าความเป็นด่างรวมของน้ำเพิ่มขึ้นในวันที่ 7 ของการเลี้ยง หลังจากนั้นมีค่าลดลงโดยลดลงต่ำสุดในวันที่ 14 ในกลุ่มควบคุมและวันที่ 21 ในกลุ่มเติมแบคทีเรีย ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียพบว่า กลุ่มควบคุมมีค่าความเป็นด่างรวมของน้ำไม่แตกต่างจากกลุ่มเติมแบคทีเรีย โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมของน้ำในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.6

ค่าบีโอดี

ค่าบีโอดีเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีอยู่ในช่วง 6.90-81.33 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 47.38±25.36 mg L^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีอยู่ในช่วง 6.93-81.33 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 48.59±25.31 mg L^{-1} โดยทั้งสองกลุ่มการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดในวันที่ 28 ของการเลี้ยง ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรีย พบว่า กลุ่มควบคุมมีค่าบีโอดีไม่แตกต่างจากกลุ่มเติมแบคทีเรีย โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.7

ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด

ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.5334-6.4750 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 2.1082±3.4475 mg-N L^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียมีปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในช่วง 1.5447-9.8307 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.7094±4.1724 mg-N L^{-1} โดยพบว่า ในกลุ่มเติมแบคทีเรียมีปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดสูงกว่ากลุ่มควบคุมทุกช่วงเวลาการทดลอง ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียพบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดต่ำกว่ากลุ่มเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.8

ปริมาณไนไตรท์

ปริมาณไนไตรท์เฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.0194-17.5579 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 11.2221±8.6018 mg-N L^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียมีปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.0208-20.1741 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 10.3536±7.9803 mg-N L^{-1} โดยพบว่า ในกลุ่มเติมแบคทีเรียมีปริมาณไนไตรท์ส่วนใหญ่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรีย

พบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณไนไตรท์ไม่แตกต่างจากกลุ่มเติมแบคทีเรีย โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์ในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.9

ปริมาณไนเตรท

ปริมาณไนเตรทเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.0077-1.2421 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.5700±0.4784 mg-N L^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.0088-1.4766 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.6727±0.5559 mg-N L^{-1} โดยพบว่า ทั้งสองกลุ่มมีแนวโน้มการสะสมปริมาณไนเตรทเพิ่มขึ้นตลอดช่วงเวลาการทดลอง ทั้งนี้ในกลุ่มเติมแบคทีเรียมีปริมาณไนเตรทสูงกว่ากลุ่มควบคุมทุกช่วงเวลาการทดลอง ยกเว้นในวันที่ 7 ของการเลี้ยง ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียพบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณไนเตรทต่ำกว่ากลุ่มเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.10

ปริมาณออโธฟอสเฟต

ปริมาณออโธฟอสเฟตเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่ากลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.1230-5.4908 mg-P L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 3.1064±1.9465 mg-P L^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.1978-4.1671 mg-P L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 2.1361±1.6414 mg-P L^{-1} โดยพบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีแนวโน้มการสะสมปริมาณออโธฟอสเฟตเพิ่มขึ้นตลอดช่วงเวลาการทดลอง ทั้งนี้ในกลุ่มควบคุมมีปริมาณออโธฟอสเฟต สูงกว่ากลุ่มเติมแบคทีเรียทุกช่วงเวลาหลังจากเริ่มต้นการทดลอง ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดอลงระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียพบว่ากลุ่มควบคุมมีปริมาณออโธฟอสเฟตสูงกว่ากลุ่มเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมี การเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และภาคผนวก จ รูปที่ 1.11

ในการติดตามอัตราการเติบโตของกุ้งกุลาดำ พบว่า กุ้งกุลาดำกลุ่มเติมแบคทีเรีย มีความยาวและน้ำหนักไม่แตกต่างกับกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.6 ภาคผนวก จ รูปที่ 1.12 และ 1.13 ตามลำดับ) และมีอัตรารอดหลังจากทำการเลี้ยงครบ 30 วัน ในกุ้งกลุ่มเติมแบคทีเรีย 70.7% มากกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมซึ่งมีอัตรารอด 59.3 % โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ (ภาคผนวก จ รูปที่ 1.14)

จากการติดตามปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด *Bacillus subtilis, B. firmus* และ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้ง จากทั้ง 2 กลุ่มการทดลองพบว่า ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.49x10^{4} – 1.23x10^{5}$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $7.37x10^{2} – 3.03x10^{3}$ CFU ml^{-1} (ตารางที่ 4.6 ภาคผนวก จ รูปที่ 1.15) ในกลุ่มเติมแบคทีเรียตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.11x10^{4} – 1.31x10^{5}$ CFU ml^{-1} ตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $5.82x10^{2} – 4.28x10^{3}$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในกลุ่มเติมแบคทีเรียอยู่ในช่วง $3.48x10^{3} – 8.71x10^{3}$ CFU ml^{-1} (ตารางที่ 4.6 ภาคผนวก จ รูปที่ 1.16) โดยในช่วง 14 วันแรกของการทดลองในกลุ่มเติมแบคทีเรียไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวได้ เนื่องจากมีการเติมแบคทีเรียในปริมาณที่น้อยเกินไปจึงมีการเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียในวันที่ 14 ของการเลี้ยง ส่วนในกลุ่มควบคุมตรวจไม่พบแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

พารามิเตอร์ /เวลา (วัน)	พีเอชของน้ำ *		อุณหภูมิน้ำ (°C) *		ความนำไฟฟ้า (mS cm^{-1}) *		ความเค็ม (ppt) *		ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (mg L^{-1}) *		ความเป็นด่างรวม (mg L^{-1}) *	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย
0	7.47 ±0.05	7.57 ±0.03	26.97 ±0.23	27.20 ±0.10	25.89^{b} ±0.09	26.04^{a} ±0.03	15.13^{a} ±0.06	15.13^{a} ±0.12	7.02 ±0.54	7.13 ±0.47	79.00 ±0.00	79.00 ±0.00
7	7.39 ±0.31	7.57 ±0.08	27.63 ±0.71	27.47 ±0.12	26.33^{b} ±0.45	27.24^{a} ±0.09	15.20^{b} ±0.10	15.83^{a} ±0.06	8.13 ±0.83	8.23 ±0.47	92.33 ±7.77	96.67 ±5.13
14	6.83 ±0.35	7.09 ±0.30	28.77 ±0.23	29.33 ±0.15	27.01^{b} ±0.33	28.47^{a} ±0.07	15.27^{b} ±0.15	15.97^{a} ±0.12	5.62 ±0.39	5.24 ±0.28	60.33 ±27.10	70.33 ±23.44

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

พารามิเตอร์ /เวลา (วัน)	พีเอชของน้ำ*		อุณหภูมิน้ำ (°C)*		ความนำไฟฟ้า (mS cm^{-1})*		ความเค็ม (ppt)*		ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (mg L^{-1})*		ความเป็นด่างรวม (mg L^{-1})*	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย
21	7.02 ±0.12	6.78 ±0.10	27.63 ±1.55	27.40 ±1.15	27.12^{a} ±1.14	27.81^{a} ±0.52	15.70^{b} ±0.17	16.23^{a} ±0.12	7.69 ±0.63	7.30 ±0.30	73.00 ±21.66	49.67 ±1.53
28	7.31 ±0.07	7.26 ±0.12	26.00 ±1.18	27.97 ±0.91	26.71^{b} ±1.14	29.66^{a} ±0.68	16.00^{b} ±0.36	17.20^{a} ±0.20	6.82 ±0.57	5.68 ±0.43	85.00 ±22.11	65.67 ±1.15
ค่าเฉลี่ย	7.20^{a} ±0.31	7.25^{a} ±0.34	27.40^{a} ±1.23	27.87^{a} ±0.98	26.61^{b} ±0.80	27.84^{a} ±1.29	15.46^{b} ±0.39	16.07^{a} ±0.70	7.06^{a} ±1.03	6.72^{a} ±1.19	77.93^{a} ±19.43	72.27^{a} ±18.43

*ค่าเฉลี่ย±SD (n=3)

ตัวอักษรยกที่ต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรีย ของแต่ละองค์ประกอบ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

พารามิเตอร์/เวลา (วัน)	บีโอดี (mg L^{-1}) *		ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณไนไตรท์ (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณไนเตรท (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณออโธฟอสเฟต (mg-P L^{-1}) **	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย
0	6.90 ±1.15	6.93 ±0.32	1.1876^{b} ±0.4343	1.5447^{a} ±0.1348	0.0194 ±0.0037	0.0208 ±0.0018	0.0077^{b} ±0.0005	0.0088^{a} ±0.0008	0.1230^{b} ±0.0218	0.1978^{a} ±0.0105
7	52.67 ±2.89	46.33 ±4.04	6.4750^{a} ±6.1503	7.1634^{a} ±0.9778	6.1130 ±3.3610	4.5554 ±0.8373	0.3391^{a} ±0.1706	0.2616^{a} ±0.0302	2.1777^{a} ±0.1089	0.7737^{b} ±0.0900
14	40.00 ±3.00	49.00 ±8.54	1.0713^{b} ±0.3054	9.8307^{a} ±4.4366	17.5579 ±7.3150	10.8099 ±5.8633	0.5362^{a} ±0.1940	0.6691^{a} ±0.3232	2.9291^{a} ±0.2049	1.7504^{b} ±0.2995

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.5 **(ต่อ)**

พารามิเตอร์/ เวลา (วัน)	บีโอดี (mg L^{-1}) *		ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณไนไตรท์ (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณไนเตรท (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณออโธฟอสเฟต (mg-P L^{-1}) **	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย
21	56.00 ±2.00	59.33 ±1.15	1.2734^{a} ±0.1648	3.4076^{a} ±3.3831	17.3049 ±5.9971	20.1741 ±2.6465	0.7250^{a} ±0.4178	0.9476^{a} ±0.2758	4.8117^{a} ±0.2005	3.7913^{b} ±0.6816
28	81.33 ±7.51	81.33 ±1.53	0.5334^{a} ±0.2066	1.6004^{a} ±1.8216	15.1173 ±5.6364	16.2080 ±1.7199	1.2421^{b} ±0.2550	1.4766^{a} ±0.1418	5.4908^{a} ±0.2425	4.1671^{b} ±0.2225
ค่าเฉลี่ย	47.38^{a} ±25.36	48.59^{a} ±25.31	2.1082^{b} ±3.4475	4.7094^{a} ±4.1724	11.2221^{a} ±8.6018	10.3536^{a} ±7.9803	0.5700^{b} ±0.4784	0.6727^{a} ±0.5559	3.1064^{a} ±1.9465	2.1361^{b} ±1.6414

*ค่าเฉลี่ย±SD (n=3)

**ค่าเฉลี่ย±SD (n=9)

ตัวอักษรยกที่ต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรีย ของแต่ละองค์ประกอบ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.6 อัตราการเติบโตและจำนวนจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

พารามิเตอร์/เวลา (วัน)	ความยาวกุ้ง (cm)		น้ำหนักกุ้ง (g)		Log total counts (CFU ml^{-1}) *		Log total counts ของ Vibrio spp. (CFU ml^{-1}) *	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย
0	8.75 ±0.78	8.80 ±0.65	5.90 ±1.54	6.01 ±1.36	4.35^{a} ±0.36	4.01^{b} ±0.18	3.01^{a} ±0.44	2.68^{a} ±0.28
7	8.85 ±0.85	8.93 ±0.72	6.03 ±1.76	6.24 ±1.56	4.32^{a} ±0.12	4.30^{a} ±0.09	3.10^{b} ±0.14	3.30^{a} ±0.16
14	8.86 ±0.89	9.00 ±0.74	6.13 ±1.92	6.50 ±1.75	4.99^{a} ±0.36	5.12^{a} ±0.05	3.38^{a} ±0.31	3.41^{a} ±0.43

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.6 **(ต่อ)**

พารามิเตอร์/เวลา (วัน)	ความยาวกุ้ง (cm)		น้ำหนักกุ้ง (g)		Log total counts (CFU ml^{-1}) *		Log total counts ของ Vibrio spp. (CFU ml^{-1}) *	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	กลุ่มเติมแบคทีเรีย
21	8.70 ±0.77	8.91 ±0.88	5.94 ±1.63	6.69 ±2.14	4.21^{b} ±0.39	4.71^{a} ±0.09	2.93^{b} ±0.35	3.21^{a} ±0.15
28	8.79 ±0.80	8.87 ±0.83	5.95 ±1.52	6.07 ±1.71	4.09^{b} ±0.32	4.51^{a} ±0.22	2.58^{b} ±0.70	3.58^{a} ±0.22
ค่าเฉลี่ย	8.84^{a} ±0.82	8.90^{a} ±0.75	6.06^{a} ±1.68	6.31^{a} ±1.70	4.39^{b} ±0.44	4.53^{a} ±0.40	3.00^{b} ±0.48	3.24^{a} ±0.40

*ค่าเฉลี่ย±SD (n=9)

ตัวอักษรยกที่ต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรีย ของแต่ละองค์ประกอบ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4.2 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2

เลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะ postlarvae 24 (PL24) ในบ่อดินขนาด 4,800 ตร.ม. (ภาคผนวก ค ข้อ 1) ความเค็มของน้ำ 4 ส่วนในพันส่วน ปล่อยกุ้งอัตราความหนาแน่น 42 ตัวต่อตารางเมตร ให้อากาศด้วยเครื่องตีน้ำแบบใบพัดและสายอากาศพร้อมหัวทราย ทำการเลี้ยงกุ้งโดยใช้ระบบการเลี้ยงแบบปิด (Closed System) ให้อาหาร 4 เวลาต่อวัน ตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน รวมทั้งอัตราการเติบโตและอัตรารอดและผลผลิตของกุ้งกุลาดำ โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1.บ่อควบคุม (Control) คือบ่อที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปโดยไม่ผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และไม่เติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำ

2.บ่อเติมแบคทีเรีย คือบ่อที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

ในวันที่ 68 ของการเลี้ยง พบว่า กุ้งกุลาดำในบ่อควบคุมตายเป็นจำนวนมาก เนื่องจากแพลงค์ตอนพืชในน้ำตาย (Plankton drop) น้ำในบ่อเลี้ยงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จากการตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียโดยใช้ Test Kits ของผู้ดูแลการเลี้ยงพบว่ามีปริมาณแอมโมเนียสูงอยู่ในระดับที่ ทำให้กุ้งตายในระยะเวลาสั้น จึงทำการจับกุ้งในบ่อควบคุมขึ้นทั้งหมด ผลการทดลองจึงมีข้อมูลเพียง 58 วันของการเลี้ยงเท่านั้น ส่วนกุ้งในบ่อเติมแบคทีเรียไม่พบอาการผิดปกติใดๆจึงทำการเลี้ยงจนครบ 100 วัน

หลังจากทำการอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนเป็นระยะเวลา 15 วัน ในพื้นที่ที่ล้อมด้วยผ้าพลาสติกในบ่อเลี้ยงแต่ละบ่อแล้ว ทำการเปิดผ้าพลาสติกออกและเริ่มตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ โดยทำการศึกษาทุก 2 สัปดาห์ โดยเริ่มที่การเลี้ยง 15 วัน ได้ผลการทดลองดังนี้

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินในการเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 58 วัน โดยทำการศึกษาทุก 2 สัปดาห์ ได้ผลการทดลองดังนี้

พีเอชของน้ำ

พีเอชของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น.โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.82-8.06 ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 7.97±0.12 บ่อเติมแบคทีเรียมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.81-8.39 ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.09±0.26 โดยมีการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำแสดงดังตารางที่ 4.8 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.1

อุณหภูมิของน้ำ

อุณหภูมิของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น.โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 28.37-30.40 °ซ. ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 29.41±0.91 °ซ. บ่อเติมแบคทีเรียมีอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 28.57-30.60 °ซ. ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 29.53±0.89 °ซ. โดยมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำแสดงดังตารางที่ 4.8 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.2

ความเค็มของน้ำ

ความเค็มของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น.โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 2.00-4.00 ส่วนในพันส่วน ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 3.33±1.00 ส่วนในพันส่วน บ่อเติมแบคทีเรียมีความเค็มของน้ำเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองเท่ากับ 2.00±0.00 ส่วนในพันส่วน โดยมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำแสดงดังตารางที่ 4.8 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.3

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น.โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 7.87-9.13 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.33±0.76 mg L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 7.77-9.13 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.57±0.67 mg L^{-1} โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำแสดงดังตารางที่ 4.8 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.4

ค่าความเป็นด่างรวมของน้ำ

ค่าความเป็นด่างรวมของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีความเป็นด่างรวมของน้ำอยู่ในช่วง 63.20-124.60 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 96.92±29.68 mg L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีค่าความเป็นด่างรวมของน้ำอยู่ในช่วง 75.20-126.20 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 102.77±24.58 mg L^{-1} โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมของน้ำแสดงดังตารางที่ 4.8 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.5

ค่าบีโอดี

ค่าบีโอดีเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีค่าบีโอดีอยู่ในช่วง 3.43-5.97 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 5.11±1.28 mg L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีค่าบีโอดีอยู่ในช่วง 5.07-7.87 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 6.43±1.25 mg L^{-1} โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีแสดงดังตารางที่ 4.9 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.6

ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด

ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.0342-0.1140 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0700±0.0425 mg-N L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.0100-0.0360 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0294±0.0122 mg-N L^{-1} โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 4.9 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.7

ปริมาณไนไตรท์

ปริมาณไนไตรท์เฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.0065-0.0258 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0106±0.0071 mg-N L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.0061-0.0089 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0075±0.0020 mg-N L^{-1} โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์แสดงดังตารางที่ 4.9 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.8

ปริมาณไนเตรท

ปริมาณไนเตรทเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.0169-0.1060 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0468±0.0443 mg-N L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.0105-0.0254 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0180±0.0125 mg-N L^{-1} โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทแสดงดังตารางที่ 4.9 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.9

ปริมาณออโธฟอสเฟต

ปริมาณออโธฟอสเฟตเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีปริมาณออโธฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.0162-0.0404 mg-P L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0267±0.0126 mg-P L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณออโธฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.0172-0.0357 mg-P L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0248±0.0215 mg-P L^{-1} โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตแสดงดังตารางที่ 4.9 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน

ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินอยู่ในช่วง 10.69-12.99 % ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 11.59±1.67 % บ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินอยู่ในช่วง 8.22-10.76 % ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 10.55±1.41 % โดยมีการ เปลี่ยนแปลงปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินแสดงดังตารางที่ 4.9 และภาคผนวก จ รูปที่ 2.11

ติดตามอัตราการเติบโตของกุ้งกุลาดำ พบว่า กุ้งกุลาดำในบ่อเติมแบคทีเรียมีขนาดความยาวและน้ำหนักหลังจากวันที่ 30 ของการเลี้ยง ต่ำกว่าบ่อควบคุม (ตารางที่ 4.7 ภาคผนวก จ รูปที่ 2.12 และ 2.13 ตามลำดับ) แต่มีอัตรารอดเฉลี่ยจากการสุ่มวัด ในกุ้งบ่อควบคุมเท่ากับ 6.20 % ต่ำกว่ากุ้งในบ่อเติมแบคทีเรียซึ่งมีอัตรารอด 10.23 %

ตารางที่ 4.7 อัตราการเติบโตของกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุลาดำครั้งที่ 2

อัตราการเติบโต/	ความยาว (cm)*		น้ำหนัก (g)*	
เวลา (วัน)	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
30	6.56±0.89	7.04±1.00	2.81±1.03	3.07±1.27
44	9.93±1.11	9.30±0.86	7.58±2.78	6.28±1.74
58	10.66±1.83	8.99±1.36	9.87±4.69	6.18±2.91

*ค่าเฉลี่ย±SD (n=50)

ตารางที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2

พารามิเตอร์/เวลา (วัน)	พีเอชของน้ำ*		อุณหภูมิน้ำ (°C)*		ความเค็ม (ppt)*		ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (mg L^{-1})*		ความเป็นด่างรวม (mg L^{-1})*	
	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
30	7.82 ±0.03	8.07 ±0.01	30.40 ±0.20	30.60 ±0.10	2.00 ±0.00	2.00 ±0.00	7.87 ±0.06	7.77 ±0.06	124.60 ±0.55	126.20 ±2.39
44	8.03 ±0.03	7.81 ±0.07	29.47 ±0.38	29.43 ±0.23	4.00 ±0.00	2.00 ±0.00	9.13 ±0.21	8.80 ±0.36	107.00 ±18.33	109.67 ±16.17
58	8.06 ±0.09	8.39 ±0.08	28.37 ±0.15	28.57 ±0.06	4.00 ±0.00	2.00 ±0.00	8.00 ±0.92	9.13 ±0.40	63.20 ±4.44	75.20 ±1.92

*ค่าเฉลี่ย (n=3)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2

พารามิเตอร์ /เวลา (วัน)	บีโอดี (mg L^{-1})*		ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (mg-N L^{-1})**		ปริมาณไนไตรท์ (mg-N L^{-1})**		ปริมาณไนเตรท (mg-N L^{-1})**		ปริมาณออโธฟอสเฟต(mg-P L^{-1})**		ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน (%)*	
	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
30	3.43 ±0.40	5.07 ±0.40	0.1140 ±0.0473	0.0100 ±0.0010	0.0258 ±0.0086	0.0070 ±0.0007	0.1060 ±0.0229	0.0105 ±0.0019	0.0291 ±0.0064	0.0172 ±0.0022	10.69 ±2.15	9.33 ±1.04
44	5.97 ±0.15	6.37 ±0.40	0.0342 ±0.0054	0.0329 ±0.0060	0.0065 ±0.0010	0.0061 ±0.0016	0.0169 ±0.0031	0.0254 ±0.0190	0.0162 ±0.0115	0.0711 ±0.1159	11.07 ±0.54	11.11 ±0.60
58	5.93 ±0.15	7.87 ±0.21	0.1051 ±0.0125	0.0360 ±0.0131	0.0097 ±0.0006	0.0089 ±0.0018	0.0177 ±0.0012	0.0181 ±0.0021	0.0404 ±0.0043	0.0196 ±0.0013	12.99 ±1.01	11.21 ±1.64

*ค่าเฉลี่ย (n=5)

**ค่าเฉลี่ย (n=15)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4.3 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

เลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะ postlarvae 25 (PL25) ในบ่อดินขนาด 900 ตารางเมตร (ภาคผนวก ค ข้อ 2) ความเค็มของน้ำ 5 ส่วนในพันส่วน ปล่อยกุ้งอัตราความหนาแน่น 33 ตัวต่อตารางเมตร ให้อากาศด้วยเครื่องตีน้ำแบบใบพัดและสายอากาศพร้อมหัวทราย ทำการเลี้ยงกุ้งโดยใช้ระบบ การเลี้ยงแบบปิด (Closed System) ให้อาหาร 4 เวลาต่อวัน ตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* spp. ในตัวอย่างน้ำและตะกอนดิน รวมทั้งอัตราการเติบโตและอัตรารอดและผลผลิตของกุ้งกุลาดำ โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1.บ่อควบคุม (Control) คือกลุ่มที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปโดยไม่ผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย และไม่เติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำ

2.บ่อเติมแบคทีเรีย คือกลุ่มที่ให้อาหารกุ้งสำเร็จรูปผสมโพรไบโอติกแบคทีเรียและเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินในการเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 100 วัน โดยทำการศึกษาทุก 2 สัปดาห์ ได้ผลการทดลองดังนี้

พีเอชของน้ำ

พีเอชของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น. โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.33-8.78 ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.24±0.42 บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชอยู่ในช่วง 8.10-8.87 ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.37±0.25 โดยพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของทั้งสองชุดการทดลองอยู่ในระดับที่เหมาะตลอดการทดลอง ยกเว้นในวันที่ 98 ของการเลี้ยงในบ่อควบคุม พบว่า มีการตายของแพลงค์พืชอย่างรวดเร็ว ทำให้พีเอชของน้ำลดลงต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมเล็กน้อย ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีพีเอชของน้ำไม่แตกต่างจากบ่อที่มีการเติมแบคทีเรีย โดยมีการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10 และ ภาคผนวก จ รูปที่ 3.1

อุณหภูมิของน้ำ

อุณหภูมิของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น. โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 29.83-32.57 °ซ. ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 30.99±1.03 °ซ. บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 30.10-32.70 °ซ. ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 31.29±1.02 °ซ. โดยพบว่าส่วนใหญ่ในบ่อเติมแบคทีเรียจะมีอุณหภูมิของน้ำสูงกว่าบ่อควบคุม ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีอุณหภูมิต่ำกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10 และ ภาคผนวก จ รูปที่ 3.2

ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ

ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น.โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำอยู่ในช่วง 6.16-10.72 mS cm^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.78±1.52 mS cm^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำอยู่ในช่วง 7.53-10.99 mS cm^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 9.30±1.14 mS cm^{-1} โดยพบว่าทั้งสองชุดการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำใกล้เคียงกันและลดลงต่ำสุดในช่วงสุดท้ายของการเลี้ยง ทั้งนี้หลังจากเริ่มการทดลองในบ่อเติมแบคทีเรียมีค่าการนำไฟฟ้าของน้ำสูงกว่าบ่อควบคุมทุกช่วงเวลาการทดลอง ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10 และภาคผนวก จ รูปที่ 3.3

ความเค็มของน้ำ

ความเค็มของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น. โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 2.90-5.47 ส่วนในพันส่วน ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.40±0.80 ส่วนในพันส่วน บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 3.57-5.40 ส่วนในพันส่วน ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 4.65±0.59 ส่วนในพันส่วน โดยทั้งสองชุดการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำใกล้เคียงกันและลดลงต่ำสุดในช่วงสุดท้ายของการเลี้ยง ทั้งนี้ตั้งแต่วันที่ 28 ของการเลี้ยงเป็นต้นไป พบว่าบ่อเติมแบคทีเรียมีความเค็มของน้ำสูงกว่าบ่อควบคุมทุกช่วงเวลาการทดลอง ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและ บ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีความเค็มของน้ำต่ำกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10 และ ภาคผนวก จ รูปที่ 3.4

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ

ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง ในเวลา 11.00 น. โดยประมาณ พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 6.27-9.60 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.13±1.24 mg L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 5.90-9.63 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 8.68±1.25 mg L^{-1} โดยทั้งสองชุดการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำใกล้เคียงกัน ยกเว้นในวันที่ 98 ของการเลี้ยง ในบ่อควบคุมพบว่า มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดลง เนื่องจากการตายของแพลงค์พืชอย่างรวดเร็ว และในวันที่ 28 ของการเลี้ยง พบว่า ทั้งสองชุดการทดลองมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดลง เนื่องจากในขณะทำการตรวจวัด ท้องฟ้ามีเมฆฝนมาก จึงทำให้มีแสงไม่เพียงพอต่อการสังเคราะห์แสงของแพลงค์ตอนพืช แต่พบว่ายังมีปริมาณอยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10และภาคผนวก จ รูปที่ 3.5

ค่าความเป็นด่างรวมของน้ำ

ค่าความเป็นด่างรวมของน้ำเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงความเป็นด่างรวมของน้ำอยู่ในช่วง 83.0-104.67 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 93.38±8.96 mg L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมของน้ำอยู่ในช่วง 85.0-103.0 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 93.29±9.04 mg L^{-1} โดยพบว่าส่วนใหญ่ในบ่อควบคุมมีค่าความเป็นด่างรวมของน้ำสูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรีย ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอด การทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีค่าความเป็นด่างรวมไม่แตกต่างจากบ่อเติมแบคทีเรีย โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมของน้ำในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดัง ตารางที่ 4.10และภาคผนวก จ รูปที่ 3.6

ค่าบีโอดี

ค่าบีโอดีเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีอยู่ในช่วง 9.70-105.00 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 39.37±29.92 mg L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีอยู่ในช่วง 8.80-45.30 mg L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 25.36±11.88 mg L^{-1} โดยพบว่า ตั้งแต่วันที่ 28 ของการเลี้ยงเป็นต้นไป บ่อควบคุมมีค่าบีโอดีสูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรียทุกช่วงเวลาการทดลอง และมีการสะสมเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 98 ของการเลี้ยง ซึ่งสาเหตุเกิดจากการตายของแพลงค์ตอนพืชอย่างรวดเร็ว จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีค่าบีโอดีสูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.11 และภาคผนวก จ รูปที่ 3.7

ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด

ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.0162-1.3400 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.2046±0.4330 mg-N L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.0308-0.0601 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0433±0.0118 mg-N L^{-1} โดยในบ่อควบคุมมีปริมาณ

แอมโมเนียทั้งหมด ส่วนใหญ่สูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรีย แต่อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งยกเว้นวันที่ 98 ของการเลี้ยง ซึ่งพบว่า บ่อควบคุมมีปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงถึง 1.34 mg-N L^{-1} เนื่องจากการตายของแพลงค์พืชอย่างรวดเร็ว ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดสูงกว่า บ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.11 และภาคผนวก จ รูปที่ 3.8

ปริมาณไนไตรท์

ปริมาณไนไตรท์เฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.0089-0.0223 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0143±0.0043 mg-N L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.0047-0.0150 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0117±0.0031 mg-N L^{-1} โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์ในบ่อควบคุมลดลงหลังจากเริ่มการทดลอง จนถึงวันที่ 42 ของการเลี้ยงและมีแนวโน้มการสะสมเพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงสุดในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง ในขณะที่บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงที่แคบและมีแนวโน้มลดลงตั้งแต่วันที่ 70 ของการเลี้ยง และลดลงต่ำสุดในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีปริมาณไนไตรท์สูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณ ไนไตรท์และการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.11และภาคผนวก จ รูปที่ 3.9

ปริมาณไนเตรท

ปริมาณไนเตรทเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.0140-0.1209 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0396±0.0394 mg-N L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.0126-0.0570 mg-N L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0243±0.0157 mg-N L^{-1} โดยพบว่าในช่วงเริ่มต้นการทดลองจนถึงวันที่ 70 ของการเลี้ยงทั้งสองชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วงแคบๆ แต่หลังจากวันที่ 70เป็นต้นไป พบว่า บ่อควบคุมมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทเพิ่มสูงขึ้นและมีค่าสูง

สุดในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง ในขณะที่บ่อเติมแบคทีเรียมีการสะสมปริมาณไนเตรทเพิ่มสูงขึ้น ในวันที่ 84 ของการเลี้ยงและลดลงในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุม มีปริมาณไนเตรทสูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดัง ตารางที่ 4.11 และภาคผนวก จ รูปที่ 3.10

ปริมาณออโธฟอสเฟต

ปริมาณออโธฟอสเฟตเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.0251-0.0663 mg-P L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0538±0.0129 mg-P L^{-1} บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.0186-0.0858 mg-P L^{-1} ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.0493±0.0186 mg-P L^{-1} โดยพบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตส่วนใหญ่ สูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรีย ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีปริมาณออโธฟอสเฟตสูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.11 และภาคผนวก จ รูปที่ 3.11

ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน

ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินเฉลี่ยที่วัดในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง พบว่าบ่อควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินอยู่ในช่วง 10.24-14.22 % ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 12.53±1.69 % บ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินอยู่ในช่วง 9.84-13.72 % ค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่าเท่ากับ 11.25±2.15 % โดยในช่วง 28 วันแรกของการทดลอง พบว่าในบ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินสูงกว่าบ่อควบคุมและเริ่มลดลงต่ำกว่าบ่อควบคุมหลังจากวันที่ 42 ของการเลี้ยงเป็นต้นไป ซึ่งจากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินสูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอินทรีย์

ในตะกอนดินและการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลาการทดลองแสดงดัง ตารางที่ 4.11 และภาคผนวก จ รูปที่ 3.12

ในการติดตามอัตราการเติบโตของกุ้งกุลาดำ พบว่า กุ้งกุลาดำในบ่อเติมแบคทีเรียมีขนาดความยาวและน้ำหนักแตกต่างกับบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.12 ภาคผนวก จ รูปที่ 3.13 และ 3.14 ตามลำดับ) อัตรารอดหลังจากทำการเลี้ยงครบ 100 วัน ในกุ้งบ่อควบคุมเท่ากับ 46.63 % มากกว่ากุ้งในบ่อเติมแบคทีเรียซึ่งมีอัตรารอด 35.01 % และมีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 121 และ 132 กิโลกรัม ตามลำดับ

จากการติดตามปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด *Bacillus subtilis, B. firmus* และ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้ง จากทั้ง 2 กลุ่มการทดลองพบว่า ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำบ่อควบคุมตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $8.57x10^{2} – 1.60x10^{4}$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $0.67x10 – 6.83x10$ CFU ml^{-1} (ตารางที่ 4.12 ภาคผนวก จ รูปที่ 3.15) ในบ่อเติมแบคทีเรียตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $8.67x10^{2} – 9.33x10^{4}$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $0.67x10 – 5.33x10$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในบ่อเติมแบคทีเรียอยู่ในช่วง $1.09x10^{2} – 9.0x10^{4}$ CFU ml^{-1} (ตารางที่ 4.12 ภาคผนวก จ รูปที่ 3.16) ส่วนในบ่อควบคุมตรวจไม่พบแบคทีเรียในสายพันธุ์ดังกล่าว

ตะกอนดินในบ่อควบคุมตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.83x10^{6}–3.93x10^{6}$ CFU g^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $6.67x10 – 2.03x10^{4}$ CFU g^{-1} (ตารางที่ 4.12 ภาคผนวก จ รูปที่ 3.17) ในบ่อเติมแบคทีเรียตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.40x10^{6}$- $5.53x10^{6}$ CFU g^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $3.00x10^{2} – 2.71x10^{4}$ CFU g^{-1} ตรวจพบ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในบ่อเติมแบคทีเรียอยู่ในช่วง $1.70x10^{5} – 3.63x10^{6}$ CFU g^{-1} (ตารางที่ 4.10 ภาคผนวก จ รูปที่ 3.18) ส่วนในบ่อควบคุมตรวจไม่พบแบคทีเรียในสายพันธุ์ดังกล่าว

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรีย พบว่า บ่อควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในน้ำและตะกอนดินไม่แตกต่างจากบ่อเติมแบคทีเรีย

ตารางที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

พารามิเตอร์ / เวลา (วัน)	พีเอชของน้ำ*		อุณหภูมิน้ำ (°C)*		ค่าการนำไฟฟ้า (mS cm^{-1})*		ความเค็ม (ppt)*		ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (mg L^{-1})*		ความเป็นด่างรวม (mg L^{-1})*	
	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
0	8.09	8.23	30.17^{a}	30.10^{a}	10.28^{a}	10.21^{b}	5.20^{a}	5.20^{a}	9.47^{a}	9.53^{a}	85.00	102.00
	±0.00	±0.01	±0.06	±0.00	±0.01	±0.00	±0.00	±0.00	±0.06	±0.06	±4.36	±7.81
14	8.45	8.30	31.37^{b}	31.87^{a}	10.72^{a}	10.99^{a}	5.47^{a}	5.40^{a}	9.60^{a}	9.60^{a}	101.67	85.00
	±0.03	±0.02	±0.06	±0.12	±0.28	±0.03	±0.06	±0.00	±0.00	±0.10	±2.08	±2.00
28	8.25	8.28	30.07^{b}	30.20^{a}	9.52^{a}	9.66^{a}	4.77^{b}	4.90^{a}	6.45^{a}	5.97^{b}	83.67	97.00
	±0.03	±0.03	±0.06	±0.00	±0.11	±0.01	±0.06	±0.00	±0.06	±0.00	±4.62	±3.61
42	8.18	8.56	29.83^{b}	30.57^{a}	9.00^{b}	9.48^{a}	4.53^{b}	4.77^{a}	8.67^{b}	9.63^{a}	97.67	94.67
	±0.04	±0.01	±0.06	±0.06	±0.83	±0.08	±0.12	±0.06	±0.06	±0.21	±2.31	±11.72
56	8.46	8.15	30.73^{b}	31.40^{a}	8.05^{b}	8.46^{a}	3.97^{a}	4.13^{a}	8.30^{a}	9.20^{a}	90.00	86.33
	±0.09	±0.03	±0.06	±0.00	±0.02	±0.22	±0.06	±0.12	±0.00	±0.79	±0.00	±0.58

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

พารามิเตอร์ / เวลา (วัน)	พีเอชของน้ำ*		อุณหภูมิน้ำ (°C)*		ค่าการนำไฟฟ้า ($mS\ cm^{-1}$)*		ความเค็ม (ppt)*		ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ($mg\ L^{-1}$)*		ความเป็นด่างรวม ($mg\ L^{-1}$)*	
	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	กลุ่มควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
70	8.39 ±0.02	8.10 ±0.02	30.83^{a} ±0.06	30.73^{a} ±0.06	7.35^{b} ±0.03	8.25^{a} ±0.02	4.00^{b} ±0.00	4.50^{a} ±0.00	8.38^{b} ±0.06	8.79^{a} ±0.10	101.33 ±7.64	78.33 ±0.58
84	8.78 ±0.05	8.87 ±0.11	32.33^{b} ±0.06	32.70^{a} ±0.10	9.17^{b} ±0.14	9.87^{a} ±0.24	4.40^{b} ±0.10	4.73^{a} ±0.12	7.92^{a} ±0.61	8.06^{a} ±0.65	104.67 ±5.69	103.00 ±3.61
98	7.33 ±0.40	8.47 ±0.05	32.57^{a} ±0.21	32.50^{a} ±0.17	6.16^{b} ±0.03	7.53^{a} ±0.04	2.90^{b} ±0.00	3.57^{a} ±0.06	6.25^{b} ±0.12	8.74^{a} ±0.25	83.00 ±0.00	100.00 ±2.00
ค่าเฉลี่ย	8.24^{a} ±0.42	8.37^{a} ±0.25	30.99^{b} ±1.03	31.29^{a} ±1.02	8.78^{b} ±1.52	9.30^{a} ±1.14	4.40^{b} ±0.80	4.65^{a} ±0.59	8.13^{b} ±1.24	8.68^{a} ±1.25	93.38^{a} ±8.96	93.29^{a} ±9.04

*ค่าเฉลี่ย±SD (n=3)

ตัวอักษรยกที่ต่างกันระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรียของแต่ละองค์ประกอบ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

พารามิเตอร์ / เวลา (วัน)	บีโอดี (mg L^{-1}) *		ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณไนไตรท์ (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณไนเตรท (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณออโธฟอสเฟต (mg-P L^{-1}) **		ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน (%) ***	
	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
0	9.70^{a}	8.80^{b}	0.0467^{a}	0.0313^{b}	0.0166^{a}	0.0114^{b}	0.0270^{a}	0.0126^{b}	0.0511^{a}	0.0404^{b}	11.88^{a}	12.98^{a}
	±0.46	±0.17	±0.0165	±0.0046	±0.0029	±0.0010	±0.0026	±0.0013	±0.0127	±0.0035	±1.39	±3.13
14	12.20^{a}	12.60^{a}	0.0439^{a}	0.0407^{b}	0.0151^{a}	0.0148^{a}	0.0154^{b}	0.0167^{a}	0.0578^{a}	0.0542^{b}	12.30^{a}	13.72^{a}
	±2.20	±1.40	±0.0034	±0.0023	±0.0003	±0.0004	±0.0007	±0.0005	±0.0017	±0.0026	±0.62	±1.60
28	24.40^{a}	21.50^{a}	0.0513^{a}	0.0308^{b}	0.0150^{a}	0.0114^{b}	0.0190^{a}	0.0131^{b}	0.0586^{a}	0.0504^{b}	10.24^{a}	11.88^{a}
	±0.17	±2.50	±0.0104	±0.0051	±0.0000	±0.0005	±0.0011	±0.0003	±0.0019	±0.0011	±2.06	±1.11
42	27.17^{a}	18.17^{b}	0.0282^{b}	0.0434^{a}	0.0089^{b}	0.0150^{a}	0.0157^{a}	0.0161^{a}	0.0572^{a}	0.0596^{a}	12.28^{a}	11.34^{a}
	±3.06	±1.15	±0.0019	±0.0011	±0.0022	±0.0000	±0.0009	±0.0003	±0.0016	±0.0037	±1.06	±2.79
56	33.03^{a}	30.53^{b}	0.0162^{b}	0.0352^{a}	0.0101^{b}	0.0118^{a}	0.0140^{b}	0.0192^{a}	0.0559^{a}	0.0457^{b}	12.90^{a}	9.84^{b}
	±0.76	±0.29	±0.0016	±0.0029	±0.0003	±0.0007	±0.0007	±0.0004	±0.0012	±0.0016	±2.12	±0.48

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.11 (ต่อ)

พารามิเตอร์ / เวลา (วัน)	บีโอดี (mg L^{-1}) *		ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณไนไตรท์ (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณไนเตรท (mg-N L^{-1}) **		ปริมาณออโธฟอสเฟต (mg-P L^{-1}) **		ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน (%)***	
	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
70	61.80^{a}	45.30^{b}	0.0364^{b}	0.0601^{a}	0.0108^{b}	0.0126^{a}	0.0161^{b}	0.0178^{a}	0.0251^{a}	0.0186^{b}	12.44^{a}	10.56^{b}
	±1.00	±1.50	±0.0055	±0.0027	±0.0004	±0.0009	±0.0008	±0.0008	±0.0028	±0.0031	±0.61	±0.67
84	41.67^{a}	30.00^{b}	0.0739^{a}	0.0456^{b}	0.0156^{a}	0.0117^{b}	0.0889^{a}	0.0570^{b}	0.0663^{b}	0.0858^{a}	14.00^{a}	9.86^{b}
	±1.53	±1.73	±0.0024	±0.0043	±0.0017	±0.0009	±0.0044	±0.0062	±0.0097	±0.0063	±0.93	±0.97
98	105.00^{a}	36.00^{b}	1.3400^{a}	0.0592^{b}	0.0223^{a}	0.0047^{b}	0.1209^{a}	0.0420^{b}	0.0584^{a}	0.0398^{b}	14.22^{a}	9.84^{b}
	±1.50	±3.61	±0.0616	±0.0104	±0.0005	±0.0005	±0.0156	±0.0088	±0.0011	±0.0085	±0.89	±1.48
ค่าเฉลี่ย	39.37^{a}	25.36^{b}	0.2046^{a}	0.0433^{b}	0.0143^{a}	0.0117^{b}	0.0396^{a}	0.0243^{b}	0.0538^{a}	0.0493^{b}	12.53^{a}	11.25^{b}
	±29.92	±11.88	±0.4330	±0.0118	±0.0043	±0.0031	±0.0394	±0.0157	±0.0129	±0.0186	±1.69	±2.15

*ค่าเฉลี่ย±SD (n=3), **ค่าเฉลี่ย±SD (n=9), ***ค่าเฉลี่ย±SD (n=5)

ตัวอักษรยกที่ต่างกันระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรียของแต่ละองค์ประกอบ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.12 อัตราการเติบโตและจำนวนจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

พารามิเตอร์ / เวลา (วัน)	ความยาวกุ้ง (cm) *		น้ำหนักกุ้ง (g) *		Log total counts ในน้ำ (CFU ml^{-1}) **		Log total counts ในตะกอนดิน (CFU g^{-1}) **		Log total counts ของ Vibrio spp. (CFU ml^{-1}) **		Log total counts ของ Vibrio spp. (CFU g^{-1}) **	
	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
0	-	-	-	-	3.47 ±0.09	4.95 ±0.17	6.33 ±0.07	6.57 ±0.37	0.87 ±0.81	1.25 ±1.08	0.77 ±1.33	2.36 ±0.39
14	-	-	-	-	3.40 ±0.09	3.59 ±0.11	6.36 ±0.08	6.24 ±0.16	1.42 ±0.10	0.67 ±0.58	3.11 ±0.13	2.39 ±0.21
28	5.95^{b} ±0.92	6.83^{a} ±0.90	1.76^{b} ±0.77	2.55^{a} ±0.96	3.46 ±0.07	3.90 ±0.24	6.55 ±0.23	6.68 ±0.28	1.36 ±0.16	1.09 ±0.10	3.44 ±0.37	3.08 ±0.16
42	7.12^{b} ±0.94	8.31^{a} ±0.90	3.03^{b} ±1.21	4.85^{a} ±1.91	3.65 ±0.17	3.64 ±0.07	6.37 ±0.25	6.43 ±0.11	1.64 ±0.06	0.97 ±0.85	3.67 ±0.33	4.32 ±0.41
56	7.76^{b} ±0.84	9.51^{a} ±1.03	3.97^{b} ±1.50	7.56^{a} ±2.71	3.00 ±0.22	3.26 ±0.09	6.26 ±0.07	6.23 ±0.17	1.53 ±0.52	1.58 ±0.17	3.83 ±0.31	4.15 ±0.16

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.12 **(ต่อ)**

พารามิเตอร์ / เวลา (วัน)	ความยาวกุ้ง (cm) *		น้ำหนักกุ้ง (g) *		Log total counts ในน้ำ (CFU ml^{-1}) **		Log total counts ในตะกอนดิน (CFU g^{-1}) **		Log total counts ของ Vibrio spp. (CFU ml^{-1}) **		Log total counts ของ Vibrio spp. (CFU g^{-1}) **	
	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย	บ่อควบคุม	บ่อเติมแบคทีเรีย
70	8.67^{b}	10.08^{a}	5.72^{b}	8.34^{a}	3.30	2.93	6.41	6.30	0.67	1.13	3.69	2.50
	±0.99	±1.01	±2.08	±2.61	±0.07	±0.10	±0.25	±0.10	±0.58	±0.23	±1.05	±2.18
84	10.16^{b}	11.73^{a}	10.04^{b}	14.56^{a}	2.88	2.96	6.31	6.14	1.82	0.83	4.29	3.84
	±1.30	±0.86	±3.94	±3.18	±0.27	±0.84	±0.09	±0.08	±0.14	±0.76	±0.14	±0.78
98	10.60^{b}	12.85^{a}	10.65^{b}	18.12^{a}	4.20	3.81	6.54	6.21	1.56	1.72	3.66	3.82
	±1.18	±0.56	±3.16	±2.49	±0.08	±0.05	±0.05	±0.04	±0.15	±0.12	±0.08	±0.44
ค่าเฉลี่ย	8.38^{b}	9.88^{a}	5.86^{b}	9.33^{a}	3.42^{a}	3.63^{a}	6.39^{a}	6.35^{a}	1.36^{a}	1.15^{a}	3.31^{a}	3.31^{a}
	±1.94	±2.20	±4.14	±5.91	±0.41	±0.67	±0.17	±0.24	±0.39	±0.36	±1.08	±0.82

*ค่าเฉลี่ย±SD (n=50)

**ค่าเฉลี่ย±SD (n=9)

ตัวอักษรยกที่ต่างกันระหว่างบ่อควบคุมและบ่อเติมแบคทีเรียของแต่ละองค์ประกอบ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

อภิปรายผลการศึกษา

โพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 เป็นแบคทีเรียซึ่งได้รับการศึกษาแล้วว่ามีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดี โดย วรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) สามารถช่วยเพิ่มอัตรารอด อัตราการเติบโตของกุ้งกุลาดำ และเสริมภูมิคุ้มกันซึ่งทำให้กุ้งสามารถทนต่อเชื้อก่อโรคได้ (Rengpipat และคณะ, 1998a; Rengpipat และคณะ, 2000) และแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* และ *B. firmus* เป็นสายพันธุ์ที่แยกและคัดเลือกจากตะกอนดินและน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งที่ให้ผลผลิตสูง และได้รับการศึกษาแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ เนื่องจากสามารถผลิตเอนไซม์โปรตีเอส อะไมเลสและไลเปส ได้ในปริมาณที่สูง (เปรมสุดา สมาน, 2539)

ในการตรวจสอบจำนวนของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus* S11, *B. subtilis* และ *B. firmus* พบว่า มีจำนวนเท่ากับ $1.2x10^{9}$, $3.9x10^{8}$ และ $1.1x10^{9}$ CFU ml^{-1} ตามลำดับ และจากการตรวจสอบลักษณะการเจริญและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าว พบว่า สอดคล้องกับการศึกษาของวรรนิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) และเปรมสุดา สมาน (2539)

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในครั้งที่ 1 พบว่า ในน้ำเลี้ยงกุ้งกลุ่มควบคุมตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.49x10^{4}$-$1.23x10^{5}$ CFU ml^{-1} และพบปริมาณ *Vibrio* spp. $7.37x10^{2}$-$3.03x10^{3}$ CFU ml^{-1} กลุ่มเติมแบคทีเรียตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.11x10^{4}$-$1.31x10^{5}$ CFU ml^{-1} และพบปริมาณ *Vibrio* spp. $5.82x10^{2}$-$4.28x10^{3}$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในกลุ่มเติมแบคทีเรียอยู่ในช่วง $3.48x10^{3}$-$8.71x10^{3}$ CFU ml^{-1} ส่วนกลุ่มควบคุมตรวจไม่พบแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าว ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 4 พบว่าในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำบ่อควบคุมตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $8.57x10^{2}$ – $1.60x10^{4}$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $0.67x10^{1}$ – $6.83x10^{1}$ CFU ml^{-1} ในบ่อเติมแบคทีเรียตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $8.67x10^{2}$ – $9.33x10^{4}$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $0.67x10^{1}$ – $5.33x10^{1}$ CFU ml^{-1} และตรวจพบ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในบ่อเติมแบคทีเรียอยู่ในช่วง $1.09x10^{2}$ – $9.0x10^{4}$ CFU ml^{-1} ส่วนบ่อควบคุมตรวจไม่พบแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าว

ตะกอนดินในบ่อควบคุมตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด อยู่ในช่วง $1.83x10^6$–$3.93x10^6$ CFU g^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $6.67x10^1$ – $2.03x10^4$ CFU g^{-1} ในบ่อเติมแบคทีเรียตรวจพบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.40x10^6$- $5.53x10^6$ CFU g^{-1} และตรวจพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $3.00x10^2$ – $2.71x10^4$ CFU g^{-1} ตรวจพบ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในบ่อเติมแบคทีเรียอยู่ในช่วง $1.70x10^5$ – $3.63x10^6$ CFU g^{-1} ส่วนบ่อควบคุมตรวจไม่พบแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าว โดยผลการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับ สมพร ธนวิริยะกุล (2535) ที่ตรวจพบปริมาณแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงกุ้งอยู่ในช่วง $1.5x10^3$-$5.6x10^6$ cells ml^{-1} และตะกอนดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งพบปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง $2.7x10^5$-$8.4x10^7$ cells g^{-1} นอกจากนี้ ยังสอดคล้องกับ Lavilla-Pitogo, Leano และ Paner (1998) ที่รายงานว่ามีจุลินทรีย์ในน้ำอยู่ในช่วง 10^2-10^4 CFU ml^{-1} และ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง 10^1-10^3 CFU ml^{-1} ส่วนตะกอนดินจากบ่อเลี้ยงกุ้ง พบปริมาณแบคทีเรีย $4.3x10^4$-$3.7x10^5$ CFU g^{-1} และ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $5.0x10^2$-$9.5x10^3$ CFU g^{-1} และสอดคล้องกับ Rengpipat และคณะ (2000) ที่ตรวจพบว่าแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงกุ้ง มีปริมาณ $1.6x10^4$-$2.5x10^5$ CFU ml^{-1} และพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $1.0x10^2$-$1.39x10^4$ CFU ml^{-1}

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงกุ้งและเติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ ปริมาณจุลินทรีย์ ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน รวมทั้งอัตรารอดและอัตราการเติบโตของกุ้งกุลาดำ พบว่าในการเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลา 30 วัน ในถังพลาสติก (ครั้งที่ 1) จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี พบว่า พีเอช อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำและค่าความเป็นด่างรวมของน้ำทั้งสองกลุ่มการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้ หลังจากเริ่มต้นการทดลองพีเอชเฉลี่ยของน้ำทั้งสองกลุ่มการทดลองต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมต่อการเติบโตของกุ้ง พรเลิศ จันทร์รัชชกูล, เจ เอฟ เทอร์นบอล และชลอ ลิ้มสุวรรณ (2537) รายงานว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งควรอยู่ในช่วง 7.5-8.5 เนื่องจากค่าพีเอชของน้ำจะขึ้นอยู่กับปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเกิดจากกระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิต และ การย่อยสลายของจุลินทรีย์ทำให้น้ำมีฤทธิ์เป็นกรด (Boyd, 1979; 1990) พบว่าในวันที่ 14 ของการเลี้ยงกุ้งกลุ่มควบคุมและวันที่ 21 ของการเลี้ยงกุ้งกลุ่มเติมแบคทีเรีย พีเอชของน้ำลดลงต่ำกว่า 7 ส่งผลให้อัตรารอดของกุ้งกลุ่มควบคุมลดลงอย่างรวดเร็วในขณะที่กุ้งกลุ่มเติมแบคทีเรียมีอัตรารอดลดลงคงที่และสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งจากการวิเคราะห์ค่าความเป็นด่างรวมของน้ำ พบว่า ค่าความเป็นด่างรวมของน้ำ ในแต่ละกลุ่มการทดลองซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นบัฟเฟอร์ในน้ำอยู่ในระดับต่ำ ส่งผลทำให้ค่า พีเอชของน้ำมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงกว้าง ซึ่งสอดคล้องกับ Hargreaves (1998) ที่รายงานว่า น้ำที่มีค่าความเป็นด่างต่ำส่งผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำสูงซึ่งมีผลต่อปริมาณแอมโมเนียอิสระ (NH_3) ในน้ำ และชลอ ลิ้มสุวรรณ (2543) รายงานว่า ค่าความเป็นด่างของน้ำ

ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำควรอยู่ในช่วง 80-100 mg L^{-1} ของ $CaCO_3$ จากการตรวจวัดอุณหภูมิของน้ำทั้งสองกลุ่มการทดลอง พบว่า อยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งการเลี้ยงครั้งนี้จำเป็นต้องใช้ขดลวดความร้อนควบคุมอุณหภูมิช่วยในการเพิ่มอุณหภูมิของน้ำในแต่ละกลุ่มการทดลอง เนื่องจาก เป็นการทดลองในช่วงฤดูหนาวอุณหภูมิภายนอกมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 19-24 °ซ. ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง โดยอุณหภูมิของน้ำจะสัมพันธ์กับอัตราการเติบโตและอัตรารอดของ กุ้งกุลาดำ Lester และ Pante (1992) รายงานว่า อุณหภูมิของน้ำที่ 27-33 °ซ. จะทำให้กุ้งกุลาดำมีอัตราการเติบโตสูงสุด สำหรับค่าการนำไฟฟ้าของน้ำ พบว่า มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง พบว่า กลุ่มควบคุมมีค่าการนำไฟฟ้าและความเค็มของน้ำ ต่ำกว่ากลุ่มเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากในกลุ่มเติมแบคทีเรียมีความเค็มของน้ำสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งพบว่าในกลุ่มเติมแบคทีเรียมีการระเหยของน้ำมากกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องมาจากชุดการทดลองของกลุ่มเติมแบคทีเรียตั้งอยู่สูงและใกล้กับหลังคาของสถานที่ทดลองเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจะเห็นได้ว่าส่วนใหญ่ของช่วงเวลาการเลี้ยงกุ้งกลุ่มเติมแบคทีเรียมีอุณหภูมิสูงกว่ากลุ่มควบคุม จึงทำให้มีอัตราการระเหยของน้ำสูง สอดคล้องกับ Funge-Smith และ Briggs (1998) ที่รายงานว่า การระเหยของน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำทำให้ความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้น และพบว่าหลังจากเริ่มต้นการเลี้ยง ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้นตลอดช่วงเวลาการทดลอง สำหรับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ พบว่า ตลอดการทดลอง กลุ่มควบคุมและกลุ่มเติมแบคทีเรียมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเติบโตของกุ้งและการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์

ผลของการเติมแบคทีเรียและติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ พบว่า ค่าบีโอดีและปริมาณไนไตรท์ของทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันและมีแนวโน้มการสะสมเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ทั้งนี้เนื่องจากในถังพลาสติกไม่มีดินซึ่งเป็นวัสดุรองรับการตกตะกอนและสามารถดูดซับสารต่างๆที่เกิดจากการย่อยสลาย ทำให้ตะกอนและสารอินทรีย์ทั้งหมดแขวนลอยอยู่ในน้ำส่งผลให้น้ำมีค่าบีโอดีสูง สำหรับปริมาณแอมโมเนียในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งเกิดจากการขับถ่ายของกุ้งและการย่อยสลายสารอินทรีย์ Dall และคณะ (1990) รายงานว่า การขับถ่ายของเสียในรูปของแอมโมเนียจะผันแปรตามน้ำหนักของกุ้งกุลาดำ ดังนั้นจึงพบว่าในกลุ่มเติมแบคทีเรียที่มีอัตรารอดและอัตราการเติบโตสูง มีปริมาณแอมโมเนียสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งมีอัตรารอดและอัตราการเติบโตต่ำกว่า โดยแอมโมเนียในกลุ่มควบคุมมีการสะสมเพิ่มขึ้นและ มีปริมาณมากที่สุดในวันที่ 7 และลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 14 ของการเลี้ยง ทั้งนี้ปริมาณแอมโมเนียจะสัมพันธ์กับอัตรารอดของกุ้ง ซึ่งพบว่าอัตรารอดของกุ้งในกลุ่มควบคุมลดลงอย่างรวดเร็ว (จาก 85% เหลือ 51.7%) ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเช่นกัน ในขณะที่การสะสม

ปริมาณแอมโมเนียในกลุ่มเติมแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและมีปริมาณมากสุดในวันที่ 14 แต่มีอัตรารอดของกุ้งสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งชี้ให้เห็นว่า แม้ว่าน้ำจะมีการสะสมแอมโมเนียสูง แต่กุ้งที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียอย่างต่อเนื่องจะสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมได้ดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกแบคทีเรีย ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Smith และ Piper (1975); Andrews และคณะ (1971) อ้างถึงใน Boyd (1979) ซึ่งพบว่าปลาที่เลี้ยงในถังจะมีการเติบโตที่ช้าเนื่องมาจากการสะสมของปริมาณแอมโมเนียในน้ำ อีกทั้งยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Hargreaves และ Kucuk (2001) ซึ่งพบว่า ปลา hybrid striped bass มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณแอมโมเนียอิสระ (NH_3) เพิ่มขึ้นถึง 0.91 mg L^{-1} และ Tchobanoglous (1978) อ้างถึงใน Hargreaves (1998) รายงานว่า อัตราการเติบโตของปลา channel catfish ลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อน้ำมีปริมาณแอมโมเนีย 0.05-1.0 mg L^{-1}

จากการทดลองดังกล่าวที่ไม่มีดินซึ่งเป็นวัสดุดูดซับสาร Hargreaves (1998) รายงานว่าตะกอนดินสามารถดูดซับและลดปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในน้ำได้ รวมทั้งในถังทดลองไม่มีแพลงค์ตอนพืชที่สามารถนำไนเตรทและออโธฟอสเฟตไปใช้ในการเจริญเติบโต จึงทำให้มีปริมาณไนไตรท์ ไนเตรทและออโธฟอสเฟตของทั้งสองกลุ่มการทดลองสะสมเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการทดลอง ซึ่งพบว่าในกลุ่มควบคุมมีปริมาณไนไตรท์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 14 ของการเลี้ยง ส่งผลทำให้อัตรารอดของกุ้งลดลงและสัมพันธ์กับปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดที่ลดลงเช่นกัน ซึ่งไนไตรท์มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ โดยฮีโมโกลบินในเลือดของสัตว์น้ำไม่สามารถจับออกซิเจนได้ทำให้สัตว์น้ำตาย เรียกโรคนี้ว่า brown blood disease หรือ Methemoglobinemia (Parker, 1995) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่า แบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำที่เติมลงไปในกลุ่มเติมแบคทีเรียไม่สามารถเจริญและมีกิจกรรมตามคุณสมบัติดังที่ได้ทำการทดสอบข้างต้น อาจเนื่องมาจากคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งอยู่ในระดับที่ไม่เหมาะสม ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวมีคุณสมบัติในการย่อยสลายสารอินทรีย์และเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ แต่จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ในกลุ่มเติมแบคทีเรียยังคงมีค่าบีโอดีและปริมาณไนเตรทเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง โดยจากการวัดความยาวและน้ำหนักของกุ้งกุลาดำและวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยตลอดการทดลอง พบว่าความยาวและน้ำหนักของกุ้งกุลาดำทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีผลมาจากคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ Funge-Smith และ Briggs (1998) รายงานว่ากุ้งจะมีการเติบโตช้า กินอาหารน้อยลง ลอกคราบช้าเมื่อมีคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสม อย่างไรก็ดีอัตรารอดของกุ้งในกลุ่มที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียในอาหารสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อรุณ ธัญญนันท์ (2544); Rengpipat และคณะ (1998a) รายงานว่ากุ้งที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 ในอาหารจะมีอัตรารอดสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการเสริมแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าว

ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2 พบว่า ในวันที่ 68 ของการเลี้ยง ประสบปัญหาแพลงค์ตอนตายอย่างรวดเร็วในบ่อควบคุมส่งผลทำให้กุ้งมีอาการลอยบริเวณขอบบ่อและเริ่มตายบางส่วน ทั้งนี้การตายของแพลงค์ตอนนั้นสาเหตุเกิดจากการเติมน้ำเค็มซึ่งทำให้น้ำมีความเค็มเพิ่มขึ้นจาก 2 ส่วนในพันส่วนเป็น 4 ส่วนในพันส่วน ในระยะเวลาสั้น ซึ่งสอดคล้องกับ ชลอ ลิ้มสุวรรณ (2543) ที่รายงานว่า การเติมน้ำใหม่ไม่ว่าจะเป็นน้ำจืดหรือน้ำเค็มในปริมาณมาก จะทำให้แพลงค์ตอนตาย หรืออาจเกิดจากการให้อาหารในปริมาณมากเนื่องจากพบว่ากุ้งในบ่อควบคุมมีอัตราการเติบโตสูงกว่าบ่อเติมแบคทีเรียแต่จากการสุ่มวัดอัตรารอดพบว่าบ่อควบคุมมีอัตรารอดต่ำกว่าบ่อเติมแบคทีเรีย จึงทำให้เกิดการสะสมของเศษอาหารตกค้างและมีธาตุอาหารที่เหมาะสำหรับการเจริญของแพลงค์ตอนทำให้แพลงค์ตอนเจริญอย่างรวดเร็ว เมื่อธาตุอาหารลดลงแพลงค์ตอนพืชก็จะตาย เช่นเดียวกับการเกิด Eutrophication ในแหล่งน้ำผิวดินหรือการเกิด ขี้ปลาวาฬ (red tide) ในทะเล Funge-Smith และ Briggs (1998) รายงานว่า การตายของแพลงค์ตอนพืชจะมีการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมาปริมาณมากและจากการย่อยสลายบริเวณพื้นบ่อซึ่งแอมโมเนียจะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำโดยเป็นสาเหตุให้สัตว์น้ำเกิดความเครียดและตาย

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อดินขนาด 900 ตร.ม. เป็นระยะเวลา 100 วัน ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน พบว่าจากการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมี ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ ค่าการนำไฟฟ้า ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำและค่าความเป็นด่างรวม ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในระดับเหมาะสมที่ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของกุ้งทั้งสองชุดการทดลอง ทั้งนี้ค่าพีเอชของน้ำในวันที่ 84 ของการเลี้ยงทั้งสองบ่อมีค่าเกิน 8.5 โดยการเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำมีผลมาจากอัตราการสังเคราะห์แสงของแพลงค์ตอนพืช ซึ่งสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำโดยพบว่าอุณหภูมิน้ำของ ทั้งสองบ่อในช่วงเวลาดังกล่าวสูงถึง 32 °ซ. สอดคล้องกับ Hudson และ Lester (1992) ที่รายงานว่า หากอุณหภูมิของน้ำเพิ่มสูงขึ้นจะมีผลทำให้กิจกรรมด้านชีวะในแหล่งน้ำสูงขึ้นและทำให้มีปริมาณแพลงค์ตอนพืชเพิ่มขึ้น ส่งผลให้พีเอชของน้ำเพิ่มสูงขึ้นในช่วงกลางวัน (Funge-Smith และ Briggs, 1998) ทั้งนี้ค่าพีเอชของน้ำช่วงเวลาดังกล่าวสัมพันธ์กับค่าความเป็นด่างรวมซึ่งพบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน เนื่องจากพีเอชและอุณหภูมิของน้ำมีผลต่อการแตกตัวเป็นอิออนของสารประกอบในน้ำ ซึ่งพบว่าค่าการนำไฟฟ้าของน้ำมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับความเค็มของน้ำ เป็นผลมาจากปริมาณอิออนของเกลือที่ละลายในน้ำส่งผลต่อความสามารถของน้ำในการเป็นสื่อนำกระแสไฟฟ้า (Boyd, 1979) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความเค็มในบ่อเลี้ยงกุ้งขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำจืดที่เติมลงไป ปริมาณน้ำฝน รวมทั้งอัตราการระเหยของน้ำซึ่งทำให้ ความเค็มเพิ่มสูงขึ้น (Funge-Smith และ Briggs, 1998) โดยจะพบว่าน้ำของทั้งสองบ่อมีความเค็มลดลงต่ำสุดในวันที่ 98 ของการเลี้ยง ซึ่งเกิดจากฝนที่ตกลงมาอย่างหนักก่อนการตรวจวัด 5 วัน ทำให้

ระดับน้ำเพิ่มสูงขึ้น สำหรับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ยในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่างของทั้งสองชุดการทดลองมีค่าสูงกว่า 4 mg L^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับ Parker (1995) ที่รายงานว่า ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำควรรักษาปริมาณออกซิเจนละลายน้ำให้มีไม่ต่ำกว่า 4 mg L^{-1} ทั้งนี้เพื่อไม่ทำให้สัตว์น้ำเกิดความเครียดและเพียงพอต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน (Boyd, 1979)

จากการทดลองโดยการเติมแบคทีเรียลงในน้ำและควบคุมให้มีจำนวนไม่ต่ำกว่า 10^3 CFU ml^{-1} พบว่าค่าบีโอดีของแต่ละช่วงเวลาการทดลองของบ่อเติมแบคทีเรียมีค่าต่ำกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งการสะสมของค่าบีโอดีของบ่อควบคุมเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดในวันที่ 98 ของการเลี้ยง โดยพบว่าแพลงค์ตอนพืชในน้ำตายอย่างรวดเร็วซึ่งสังเกตุน้ำเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลใสและมีฟองบริเวณผิวน้ำมาก สัมพันธ์กับปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด ที่เพิ่มสูงถึง 1.34 mg L^{-1} สอดคล้องกับ Funge-Smith และ Briggs (1998); Hargreaves (1998) ที่รายงานว่า ความเข้มข้นของแอมโมเนียและสารอินทรีย์ในน้ำจะเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำลดลง เมื่อแพลงค์ตอนพืชตายอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ปริมาณไนไตรท์ทั้งสองบ่อมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้ง โดยพบว่าบ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วงแคบกว่าและมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีแนวโน้มลดลงและต่ำสุดในวันที่ 98 ของการเลี้ยง ในขณะที่บ่อควบคุม มีแนวโน้มการสะสมปริมาณไนไตรท์เพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 42 ของการเลี้ยงและสูงสุดในวันที่ 98 ของการเลี้ยงเช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ สมพร ธนวิริยะกุล (2535) พบว่า การเติมแบคทีเรียชนิด *Bacillus subtilis* ประมาณ 10^7 cells ml^{-1} ทำให้บ่อที่ใส่เชื้อมีปริมาณไนไตรท์และค่าบีโอดี ต่ำกว่าบ่อที่ไม่ใส่เชื้อ สำหรับปริมาณไนเตรท พบว่าบ่อเติมแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงแคบกว่าและมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งนี้การสะสมของปริมาณไนเตรทในบ่อควบคุมเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 56 ของการเลี้ยงและสูงสุดในวันที่ 98 ของการเลี้ยง เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดและปริมาณไนไตรท์ สอดคล้องกับ ชลิต โนระดี (2535) ที่พบว่าการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus subtilis* ทุก 2 สัปดาห์ทำให้ปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรทและค่าบีโอดีต่ำกว่าการทดลองที่ไม่เติมแบคทีเรีย ซึ่งจากการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus subtilis* พบว่า มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ ทั้งนี้ส่งผลในทางเชิงบวกที่จะสามารถควบคุมปริมาณแพลงค์ตอนพืชในบ่อเลี้ยงกุ้งไม่ให้มีการเจริญมากเกินไป รวมถึงปริมาณออโธฟอสเฟตซึ่งพบว่าในบ่อเติมแบคทีเรียมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ Fushs และคณะ (1972) ที่รายงานว่าแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Bacillus* sp. สามารถดูดซับฟอสฟอรัสได้ และ สอดคล้องกับการศึกษาของ

Ehrlich, Cantin และ Horsfall (1989) ที่พบว่าการใช้แบคทีเรีย 1% ในบ่อเลี้ยงปลาเทราท์สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสลงได้ 85%

ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินบริเวณพื้นบ่อ พบว่าในช่วง 28 วันแรกของการเลี้ยงกุ้งกุ้งลาดำนั้น ในบ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินสูงกว่าบ่อควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากบ่อเติมแบคทีเรียเป็นบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำเดิมและสามารถเลี้ยงจนครบกำหนดการจับ จึงทำให้มีการสะสมของเศษอาหารกุ้ง ขี้กุ้งและสิ่งมีชีวิตต่างๆที่ตายและทบถมบริเวณพื้นบ่อ หลังจากวันที่ 28 ของการเลี้ยงกุ้งเป็นต้นไปจะพบว่าการเติมแบคทีเรียลงไปในบ่อโดยควบคุมจำนวนให้มี 10^3 CFU ml^{-1} และตรวจพบจำนวนแบคทีเรียชนิดที่เติมลงไปในตะกอนดินอยู่ในช่วง $1.70x10^5$-$3.63x10^6$ CFU g^{-1} ส่งผลให้ปริมารสารอินทรีย์ในตะกอนดินพื้นบ่อของบ่อเติมแบคทีเรียมีปริมาณลดลงต่ำกว่าบ่อควบคุมตลอดช่วงเวลาการเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ชลิต โนระดี (2535) พบว่า การใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* ย่อยสลายสารอินทรีย์จากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ สามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ได้ 69%

จากการวัดความยาวและน้ำหนักของกุ้งกุลาดำ พบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 ในอาหาร มีความยาวและน้ำหนักสูงกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ อรุณ ธัญญนันท์(2544) ที่พบว่า การเสริม *Bacillus* S11 ในกุ้งกุลาดำส่งผลให้กุ้งมีน้ำหนักสูงกว่ากลุ่มควบคุม อีกทั้งยังสอดคล้องกับ Rengpipat และคณะ (1998a) ที่พบว่า กุ้งกุลาดำมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นแตกต่างกับชุดควบคุมเมื่อเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 ในอาหาร ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 100 วัน โดยการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในครั้งนี้เป็นการเลี้ยงในช่วงฤดูฝนซึ่งมีฝนตกตลอด ประกอบกับมีพายุฝนในช่วง 30 วันสุดท้ายของการเลี้ยง ทำให้เกิดปัญหาน้ำล้นบ่อ และนำไข่ปลาหรือลูกปลาวัยอ่อนลอยมากับน้ำและลงไปในบ่อซึ่งสามารถเจริญร่วมกับกุ้งได้ จากการจับกุ้งครั้งสุดท้ายพบว่า ในบ่อเติมแบคทีเรียมีปลาจำนวนมากโดยเฉพาะจำพวกปลากินพืช (Herbivorous fish) และปลาช่อนซึ่งจัดเป็นปลากินเนื้อ (Carnivorous fish) ซึ่งสามารถแย่งการกินอาหารของกุ้งและกินกุ้งได้ ส่งผลทำให้ในบ่อเติมแบคทีเรียมีอัตรารอดของกุ้งต่ำกว่าบ่อควบคุม แต่อย่างไรก็ดีพบว่าบ่อเติมแบคทีเรียมีผลผลิตของกุ้งกุลาดำสูงกว่าบ่อควบคุม ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากกุ้งกุลาดำในบ่อเติมแบคทีเรียมีอัตราการเติบโตสูงกว่ากุ้งกุลาดำในบ่อควบคุม

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

1. การทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำในถังขนาดความจุ 130 ลิตร เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า ทั้งสองกลุ่มการทดลองมีคุณภาพน้ำไม่แตกต่างกัน ยกเว้นปริมาณออโธฟอสเฟตที่พบว่า ในกลุ่มเติมแบคทีเรียมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 มีอัตรารอดสูงกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

2. การเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* และ *B. firmus* ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระบบปิดในบ่อดิน พบว่า คุณภาพน้ำ ได้แก่ ค่าบีโอดี แอมโมเนียทั้งหมด ไนไตรท์ ไนเตรท และออโธฟอสเฟต มีค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองต่ำกว่าการทดลองที่ไม่ได้เติมแบคทีเรีย อีกทั้งสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน ส่งผลให้สารอินทรีย์ในตะกอนดินมีแนวโน้มลดลงหลังจากการเติมแบคทีเรีย ดังนั้นการใช้แบคทีเรียในการจัดการคุณภาพน้ำและการสะสมสารอินทรีย์บริเวณพื้นบ่อเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถนำไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

3. การเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* S11 ในอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อดิน พบว่า กุ้งที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียมีอัตราการเติบโตสูงกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้ผลผลิตของกุ้งกุลาดำในบ่อที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรียสูงกว่าบ่อควบคุม

4. การใช้แบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำร่วมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระบบปิด ส่งผลให้น้ำมีคุณภาพเหมาะสมต่อการเติบโตของกุ้งและน้ำเลี้ยงกุ้งที่ผ่านการบำบัดสามารถนำกลับมาใช้ในการเลี้ยงกุ้งได้ใหม่โดยไม่ปล่อยน้ำทิ้งออกสู่ภายนอกพื้นที่การเลี้ยงและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

5. *Bacillus* S11, *B. subtilis* และ *B. firmus* สามารถใช้ร่วมกันในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยไม่ส่งผลกระทบในเชิงลบต่อกุ้ง อีกทั้งสามารถอาศัยและดำรงชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมในบ่อกุ้งและสามารถนำแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ไปขยายเพิ่มจำนวนในอาหารดัดแปลง ซึ่งใช้วัตถุดิบที่หาได้ภายในประเทศและมีราคาถูก ในระดับอุตสาหกรรมได้

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองใช้แบคทีเรียเพื่อจัดการคุณภาพน้ำและปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระบบปิด มีข้อเสนอแนะว่าควรทำการศึกษาเพิ่มเติมดังนี้

1. ศึกษาระยะเวลาการบำบัดน้ำที่ผ่านการเลี้ยงกุ้งกุลาดำร่วมกับการใช้แบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำ เพื่อให้มีระยะเวลาเหมาะสมที่จะสามารถนำน้ำที่ผ่านการบำบัดกลับมาใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งต่อไปได้ทันตามช่วงเวลาการเลี้ยง

2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำที่อาจส่งผลต่อจำนวนและกิจกรรมของแบคทีเรียที่เติมลงไปในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของแพลงค์ตอนพืช ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่เติมแบคทีเรียควบคุมคุณภาพน้ำ

4. ศึกษาคุณภาพน้ำที่มีการเปลี่ยนแปลงในรอบวัน ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่เติมแบคทีเรีย เช่น การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ในช่วงเช้าและช่วงบ่าย เพื่อจัดการให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมโดยไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำ อีกทั้งเพื่อให้แบคทีเรียสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5. การเติมแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ควรมีการศึกษาถึงปริมาณที่แน่นอนและต่ำที่สุดที่มีผลในการลดปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินและทำให้คุณภาพน้ำอยู่ในระดับที่เหมาะสม

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมประมง. 2543. สถิติการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลปี 2540. กองเศรษฐกิจการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมศุลกากร. 2545. การส่งออกกุ้งของไทย ปี 2544. **วารสารเครือเจริญโภคภัณฑ์ ข่าวกุ้ง** 163: 4.

ชลิต โนระดี. 2535. **ผลของแบคทีเรียต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อซีเมนต์เลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีพื้นเป็นดินเหนียว**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2543. **กุ้งไทย 2000: สู่ความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม**. กรุงเทพมหานคร: เจริญรัฐการพิมพ์.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และ วิบูลย์ลักษณ์ วิสุทธิ์ศักดิ์. 2540. **คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย.

ธนิต ผิวนิ่ม. 2536. คุณประโยชน์ของจุลินทรีย์ชนิดน้ำและจุลินทรีย์ชนิดผงในการเพาะเลี้ยงกุ้ง. **สัตว์น้ำ** 42: 94-99.

นันทริกา ชันซื่อ. 2540. ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ. ใน ศุภชัย นิลวานิช (ผู้รวบรวม), **กุ้งกุลาดำ ทางเลือก-ทางรอด**, หน้า 15-24. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มติชน.

ประจวบ หลำอุบล. 2531. การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ใน **การทำนากุ้งกุลาดำ**. หน้า 71-77. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประจวบ หลำอุบล. 2543. อดีต-อนาคตกุ้งไทย. ใน **เสวนาวิชาการเรื่องกุ้ง**. หน้า 1-66. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต. 2536. **แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ**. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เปรมสุดา สมาน. 2539. **จุลินทรีย์สำหรับบำบัดน้ำเสียจากการเลี้ยงกุ้งทะเล**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พยุง ภัทรกุลชัย และ วิชัย ลาภจตุพร. 2543. **ทฤษฎีใหม่กุ้งกุลาดำในพื้นที่น้ำจืด**. กรุงเทพมหานคร. ฝ่ายวิชาการแลบ อินเตอร์และ อินเทคค์ ฟีด.

พุทธ ส่องแสงจินดา, ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, ศุภโยค สุวรรณมณี และวิชาญ ชูสุวรรณ. 2533. **ข้อสังเกตเกี่ยวกับคุณภาพดินบางประการในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 12/2533. สถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง.

พรเลิศ จันทร์รัชชกูล, เจ เอฟ เทอร์นบอล และชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2537. **คู่มือการเลี้ยงและการป้องกันโรคกุ้งกุลาดำ**. กรุงเทพมหานคร. สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง.

ลิลา เรืองแป้น. 2534. วิธีใช้ยาในการเพาะเลี้ยงกุ้งอย่างมีประสิทธิภาพ. **วารสารการประมง** 1: 27-29.

วัลลภ คงเพิ่มพูน. 2534. **กุ้งกุลาดำ**. กรุงเทพมหานคร: โครงการหนังสือเกษตรชุมชน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิชัย ลาภจตุพร. 2535. เจาะลึกจุลินทรีย์ในสถานการณ์มลพิษ. **สัตว์น้ำ** 29: 18-35.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. **โภชนาการสัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ**. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วรรนิภา เพี้ยนภักตร์. 2539. **การใช้แบคทีเรียเป็นโพรไบโอติกเสริมในอาหารกุ้ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมพร ธนวิริยะกุล. 2535. **การคัดเลือกแบคทีเรียเฮตเทอโรโทรปจากธรรมชาติและความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนันต์ ตันสุตะพานิช. 2536. **แนวทางปฏิบัติการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระบบปิด และระบบหมุนเวียนน้ำกลับมาใช้ใหม่**. เพชรบุรี:กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อรุณ ธัญญนันท์. 2544. **การเสริม *Bacillus* S11 ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระดับทดลองภาคสนาม**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

แอลเอ็มอาร์ ชริ้ม มาร์เกต รีพอต. 2545. เศรษฐกิจอเมริกากับการบริโภคกุ้ง. **วารสารเครือเจริญโภคภัณฑ์ ข่าวกุ้ง** 162:4.

<u>ภาษาอังกฤษ</u>

Allan, G. L., Moriarty, D. J. W. and Maguire, G. B. 1995. Effects of pond preparation and feeding rate on production of *Penaeus monodon* Fabricius, water quality, bacteria and benthos in model farming ponds. **Aquaculture** 130: 329-349.

APHA,1992. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**.18th ed. Arnold, E. G., Lenore, S. C. and Andrew, D. E. (eds.). American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control

Federation. Washington, DC.

Austin, B. 1988. **Marine microbiology**. New York: Cambridge University Press.

Avnimelech, Y. 1996. Shrimp pond bottom soils: Processes and management. *In* **Book of Abstracts, 1996 Annual Meeting of the World Aquaculture Society**. Bangkok: Thailand.

Barnabé, G. (ed.). 1994. **Aquaculture: biology and ecology of culture species**. New York: Ellis Horwood.

Biro, P. 1995. Management of pond ecosystem and trophic webs. **Aquaculture** 129: 378-386.

Blackburn, T. H., Lund, B. A. and Krom, M. D. 1988. C-and N-mineralization in the sediments of earthen marine fish ponds. **Mar. Ecol. Prog. Ser**. 44: 221-227.

Boyd, C. E. 1979. **Water quality in warmwater fish ponds**. Alabama: Craftmaster Printers.

Boyd, C. E. 1990. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama: Birmingham Publishing.

Boyd, C. E. and Fast, A. W. 1992. Pond monitoring and management. *In* A. W. Fast and L. J. Lester (eds), **Marine shrimp culture: principles and practices**, pp. 497-514. Amsterdam: Elsevier Science Publishers.

Bratvold, D. and Browdy, C. L. 2001. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats^{TM}) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. **Aquaculture** 195: 81-94.

Briggs, M.R.P. and Funge-Smith, S. J. 1994. A nutrient budget of some intensive marine

shrimp pond in Thailand. **Aquacult. Fisheries Manage.** 25: 789-811.

Burford, M. A. and Williams, K. C. 2001. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding. **Aquaculture** 198: 79-93.

Chuan, L.L. and Sugahara, I. 1984. **A manual on Chemical Analysis of Coastal Water and Bottom Sediment**. Primary Production Department and Marine Fishries Research Department, SEAFDEC, Singapore.

Cole, J. J., Findlay, S. and Pace, M. L. 1988. Bacterial production in fresh and salt water ecosystems : A cross-system overview. **Mar. Ecol. Progr. Ser**. 43: 1-10.

Dall, W., Hill, B. J., Rothlisberg, P. C. and Staples, D. J. 1990. **The Biology of Penaeidae, Advances in Marine Biology vol. 27**. New York: Academic Press.

Degain, G. and Gallagher, M. L. 1985. The relationship between growth, food conversion and oxygen consumption in developed and undeveloped American eels (*Arguilla rostrata* L.). **J. Fish Biol**. 27: 635-641.

Demphey, A. C. 1987. Characteristics of bacteria isolated from Penaeid shrimp. **Crustaceana**. 52: 90-94.

Ducklow, H. W. and Carlson, C. A. 1992. Oceanic bacterial production. **Adv. Microbiol. Ecol**. 12: 113-181.

Ederer, G. M., Chu, J. H. and Blazeric, D. J. 1971. Rapid test for urease and phenylalanine deaminase production. **Appl. Microbio**. 21: 545-550.

Ehrlich, K. F., Cantin, M. C. and Horsfall, F. L. 1989. **Inst. Chem. Eng. U.K. Symp**. 1: 329-341.

Fast, A. W. and Menasveta, P. 1998. Some recent innovations in marine shrimp pond recycling systems. *In* T. W. Flegel (ed.), **Advances in shrimp biotechnology**, pp. 87-92. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.

Fast, A. W. and Menasveta, P. 2000. Some recent issue and innovations in marine shrimp pond culture. **Reviews in fisheries science** 8: 151-233.

Ferchel, T. and Harrison, P. 1976. The significance of bacterial grazing and mineral cycling for the decomposition of particulate detritus. *In* J. M. Anderson and A. Macfadyen (eds.), **The role of terrestrial and aquatic organisms in decomposition processes**. Oxford: Blackwell. pp. 286-299.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. **J. Appl. Bacteriol**. 66: 365-378.

Funge-Smith, S.J. and Briggs, M.R.P. 1998. Nutrient budgets in intensive shrimp ponds: implication for sustainability. **Aquaculture** 164: 117-133.

Fushs, G. W., Demmerle, S. D., Canelli, E. and Chen, E. 1972. Nutrients and eutrophication. **Limnol. Oceanogr**. 11: 505-514.

Gatesoupe, F. J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture** 180: 147-165.

Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Costilow, R. N., Nester, E. W., Wood, W. A., Krieg, N. R. and Phillps, G. B. 1981. **Manual of Methods for General Bacteriology**. Washington: American Society For Microbiology.

Hargreaves, J. A.1997. A simulation model of ammonia dynamics in commercial catfish ponds in the southeastern United States. **Aquacultural Eng**. 16: 27-43.

Hargreaves, J. A . 1998. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. **Aquaculture** 166: 181-212.

Hargreaves, J. A. and Kucuk. S. 2001. Effects of un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish, and blue tilapia. **Aquaculture** 195: 163-181.

Heath, C. W., Smalls, I. C. and Cannon, D. 1980. Some factors involved in the occurrence and limitation of algal blooms in an Australian estuary. **Prog. Water Technol**. 12: 421-443.

Hopkins, J. S., Paul, A. S. and Browdy, C. L. 1994. Sludge Management in Intensive Pond Culture of Shrimp : Effect of Management Regime on Water Quality, Sludge Characteristics, Nitrogen Extinction, and Shrimp Production. **Aquacultural Eng**. 13(1): 11-30.

Hudson, D. A. and Lester, R. J. G. 1992. Relationships between water quality parameters and ectocommensal ciliates on prawns (*Penaeus japonicus* Bate) in aquaculture. **Aquaculture** 105: 269-280.

Kautsky, N., Rönnbäck, P., Tedengren, M. and Troell, M. 2000. Ecosystem perspectives

on management of disease in shrimp pond farming. **Aquaculture** 191: 145-161.

Kodota, H., Yoshida, Y. and Mitsuhashi, K. 1983. Microbial removal of nitrogen from wastewater using intermittent aeration techniques. *In* T. A. Oxley and S. Barry (eds.), **Biodeterioration 5**. Chichester: John Wiley and Sons.

Lavilla-Pitogo, C. R., Leanno, E. M. and Paner, M. G. 1998. Mortalities of pond-cultured juvennile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent *Vibrio* in the rearing environment. **Aquaculture** 164: 337-349.

Lee, D. O' C. and Wickins, J. F. 1992. Crustacean farming. London: Blackwell Scientific Publications.

Lee, J. J. 1980. A conceptual model of marine detrimental decomposition and the organisms associated with the process. *In* M. R. Droop and H. W. Jannasch (eds.), **Advances in aquatic microbiology**. Vol. 2. London: Academic Press. pp. 257-291.

Lee, Y. K., Nomoto, K., Salminen, S. and Gorbach, S. L. 1999. **Handbook of probiotics**. New York: John Wiley & Sons.

Lester, L. J. and Pante, M. J. R. 1992. Penaeid Temperature and Salinity Response. *In* A. W. Fast and L. J. Lester (eds.), **Marine shrimp culture: principles and practices**, pp. 515-534. Amsterdam: Elsevier Science Publishers.

Liao, I. C. 1992. Penaeid larviculture: Taiwanese method. *In* A. W. Fast and L. J. Lester (eds.), **Marine shrimp culture: principles and practices**, pp. 193-215. Amsterdam: Elsevier Science Publishers.

Lin, C. K. 1989. Prawn culture in Taiwan. What went wrong?. **World Aquaculture** 20(2): 19-20.

Limsuwan, C. and Chanratchakool, P. 1998. A closed recycle system for sustainable black tiger shrimp culture in freshwater areas. *In* T. W. Flegal (ed.), **Advances in shrimp biotechnology**, p125. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.

Lorenzen, K., Struve, J. and Cowan, V.J. 1997. Impact of farming intensity and water management on nitrogen dynamics in intensive pond culture: a mathematical model applied to Thai commercial shrimp farms. **Aquaculture Res**. 28: 493-507.

Madenjian, C. P., Rogers, G. L. and Fast, A. W. 1987. Predicting might time dissolved oxygen loss in prawn pond of Hawii: Part I Evaluation of traditional method. **Aquacultural Eng**. 6: 191-208.

Moriarty, D. J. W. 1986. Bacteria productivity in ponds used for culture of penaeid prawns. **Microb. Ecol.** 12: 259-269.

Moriarty, D. J. W . 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. **Aquaculture** 164: 351-358.

Parker, R. 1995. **Aquaculture Science**. Albany: Delmar Publishers.

Parsons, T.R., Yoshiaki, M. and Carol, M. L. 1984. **A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis**. Oxford: Pergamon Press.

Pedro, J. J., Alvaraz and Timothy, M. V. 1991. Substrates interactions of benzene toluene and *para*-xylene during microbial degradation by pure culture and mixed culture aquifer slurries. **Appl. Environ. Microbiol**. 57: 2981-2985.

Phianphak, W., Rengpipat, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 1999. Probiotic use of *Lactobacillus* spp. for Black tiger shrimp, *Penaeus monodon* . **J. Sci. Res. Chula. Univ**. 24: 41-51.

Pruder, G. P. 1986. Aquaculture and controlled Eutrophication: Photoautotrophic/ Heterotrophic Interaction and Water Quality. **Aquacultural Eng**. 5: 115-121.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 1998a. Effect of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. **Aquaculture** 167: 301-313.

Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 1998b. Probiotics in aquaculture: a case study of probiotics for larvae of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *In* T. W. Flegal (ed.), **Advances in shrimp biotechnology**, pp. 177-181. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.

Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by probiont bacterium (*Bacillus* S11). **Aquaculture** 191: 271-288.

Rosenberry, B. (ed.). 1998. Wolrd shrimp farming 1998. **Shrimp news international** vol.12 .

Schroeder, G. L. 1978. Autotrophic and heterotrophic production of microorganisms in intensively manured fish ponds and related fish yield. **Aquaculture** 14: 303-325.

Schroeder, G. L., Alkon, A. and Laher, M. 1991. Nutrient flow in pond aquaculture system. *In* Brune, D. E. and Tomasso, J. R. (eds.), **Aquaculture and Water Quality, World Aquaculture Society**, pp. 489-505. LA: Baton Rouge.

SEAFDEC. 1988. **Biology and Culture of *Penaeus monodon***. Iioilo: Brackishwater Aquaculture Information System, Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, Tigbauan.

Shepherd, C. J. and Bromage, N. R. 1988. **Intensive Fish Farming**. London: BSP Professional Books.

Staley, J. T. and Stanley, P. M. 1986. Potential commercial applications in aquatic microbiology. **Microb. Ecol**. 12: 79-100.

Stickney, R. R. 1979. **Principles of warmwater aquaculture**. New York: John Wiley & Sons.

Stumm, W. and Morgan, J. J. 1996. **Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters**. 3 rd (ed). New York: A Wiley-Interscience publication.

Taiganides, E. P. 1967. The Animal Waste Disposal Problem. *In* Nyle C. Brady (ed.) **Agriculture and the quality of our environment**. Washington D.C. : American Association for the Advancement of Science. pp. 385-394.

Valiela, I. 1995. **Marine ecological processes**. 2nd ed. New York: Springer-Verlege. 686: 275-287.

Varikul, V. 1985. **Shrimp Culture**. SAFIS manual NO. 19. SEAFDEC, Thailand.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. **Microbiol. Mol. Biol. Rev**. 64(4): 655-671.

Wang, J. K. 1990. Managing shrimp pond water to reduce discharge problems. **Aquacultural Eng**. 9: 61-73.

Wang X. –H., Ji W. –S. and Xu H. –S. 1999. Application of probiotic in aquaculture. **Aiken Murray Corp**. (Internet)

Wetzel, R. G. 1975. Limnology. Philadelphia: Saunders.

Wiesmann, D., Scheid, H. and Pfeffer, E. 1988. Water pollution with phosphorus of dietary origin by intensively fed rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.). Aquaculture 69: 263-270.

Wiggins, B. A. and Alexander, M. 1988. Role of chemical concentration and secondary carbon source in acclimation of microbial communities of biodegradation. **Appl. Environ. Microbiol**. 54: 2803-2807.

Willium O' Learly. 1989. **Practical handbook of Microbiology**. 2nd ed. CRC Press.

Wyban, J. A. and Sweeney, J. N. 1989. Intensive shrimp growout trials in a round pond. **Aquaculture** 76: 215-225.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

1. อาหารแข็งทริปติกซอย (Tryptic soy agar)

ทริปโตน (Tryptone)	17.0	กรัม
ผงสกัดถั่งเหลือง (Soytone)	3.0	กรัม
เด็กโตรส (Dextrose)	2.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2.5	กรัม
วุ้น (Agar)	15.0	กรัม

2. อาหารเหลวทริปติกซอย (Tryptic soy broth)

ทริปโตน (Tryptone)	17.0	กรัม
ผงสกัดถั่งเหลือง (Soytone)	3.0	กรัม
เด็กโตรส (Dextrose)	2.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
ไดโปตัสเซียมฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2.5	กรัม

3. อาหารแข็งไทโอซัลเฟตซิเตรทบายซอลล์ซูโครส (Thiosulphate citrate bile salt sucrose agar)

ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	5.0	กรัม
โปรติโอสเปปโตนเบอร์ 3 (Proteose peptone No.3)	10.0	กรัม
โซเดียมซิเตรต ($HOC(COONa)CH_2COONa)_2$)	10.0	กรัม
โซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$)	10.0	กรัม
ออกกอล (Oxgall)	8.0	กรัม
แซคคาโรส (Saccharose)	20.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	10.0	กรัม
เฟอริกซิเตรต ($FeC_6H_5O_7$)	1.0	กรัม
บรอมไธมอลบลู (Bromthymol blue)	0.04	กรัม
ไธมอลบลู (Thymol blue)	0.04	กรัม
วุ้น (Agar)	15.0	กรัม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. อาหารแข็งแป้ง (Starch agar)

แป้ง (Soluble starch)	2.0	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	3.0	กรัม
เปปโตน (Peptone)	5.0	กรัม
วุ้นผง (Agar)	15.0	กรัม
ปรับพีเอชให้เป็น 7.0		

5. อาหารแข็งนมผงพร่องไขมัน (Skim milk agar)

นมผงพร่องไขมัน (Skim milk)	2.0	กรัม
กลูโคส	1.0	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.6H_2O$)	0.2	กรัม
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)	เล็กน้อย	
วุ้นผง (Agar)	15.0	กรัม

ผสมส่วนประกอบต่างๆลงในน้ำ 900 มล. เข้าด้วยกัน ยกเว้นนมผงพร่องไขมัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ทิ้งไว้ให้เย็นจนอุณหภูมิ 50 °ซ. จึงนำมาผสมกับนมผงพร่องไขมัน 2% ปริมาตร 100 มล. ที่แยกฆ่าเชื้อต่างหากที่อุณหภูมิ 110 °ซ. นาน 10 นาที

6. อาหารแข็งทวีน 80 (Tween 80 agar)

เปปโตน (Peptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.1	กรัม
ทวีน 80 (Tween 80)	10.0	มิลลิลิตร
วุ้นผง (Agar)	15.0	กรัม

7. อาหารคริสเตนส์ยูเรีย (Christen's urea)

เปปโตน (Peptone)	1.0	กรัม
กลูโคส	1.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	2.0	กรัม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฟีนอลเรด (Phenol red)	0.012	กรัม
วุ้นผง	20.0	กรัม

8. อาหารเหลวไนเตรท (Nitrate broth)

ผงสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	5.0	กรัม
เปปโตน (Peptone)	5.0	กรัม
โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3)	1.0	กรัม

ปรับพีเอชให้เป็น 7.0±0.2

<u>หมายเหตุ</u> สูตรอาหารเลี้ยงแบคทีเรียเหล่านี้ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งอบฆ่าเชื้อด้วยความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (121 °ซ.) เป็นเวลา 15 นาที ยกเว้นอาหารเลี้ยงเชื้อบางสูตรที่ระบุไว้โดยเฉพาะ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

สีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

1. สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram's iodine solution)

ไอโอดีนคริสตอล	1.0	กรัม
โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300	มล.

ละลายไอโอดีนและโพแทสเซียมไอโอไดด์ในน้ำกลั่นปริมาณน้อยๆก่อน แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ เก็บไว้ในขวดสีชา

2. สารละลายแอมโมเนียมออกซาเลตคริสตอลไวโอเล็ต (Ammonium oxalate crystal violet solution)

สารละลาย ก

คริสตอลไวโอเลต (Crystal violet)	3.0	กรัม
เอธิลแอลกอฮอล 95%	20.0	มล.

สารละลาย ข

แอมโมเนียมออกซาเลต (Ammonium oxlate)	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มล.

ผสมสารละลาย ก และ ข เข้าด้วยกัน กรองก่อนนำไปใช้

3. สารละลายอะซีโตนแอลกอฮอลล์ (Acetone alcohol solution)

เอธิลแอลกอฮอลล์ 95%	400.0	มล.
อะซิโตน (Acetone)	300.0	มล.

4. สารละลายซาฟรานิน (Safranin solution)

ซาฟรานิน (Safranin)	0.25	กรัม
เอธิลแอลกอฮอลล์ 95%	10.0	มล.
น้ำกลั่น	100.0	มล.

ละลายซาฟรานินด้วยเอธิลแอลกอฮอลล์ เติมน้ำกลั่นลงไปผสมให้เข้ากัน กรองก่อนนำไปใช้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. สารละลายทดสอบไนเตรท (Nitrate reagent)

สารละลาย ก

กรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid)	8.0	กรัม
กรดอะซิติก (Acetic acid)	285.0	มล.
น้ำกลั่น	715.0	มล.

ละลายกรดซัลฟานิลิกในกรดอะซิติก เติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ.

สารละลาย ข

ไดแนพทิลลามีน (N,N-dimethyl-1-napthylamide)	6.0	มล.
กรดอะซิติก (Acetic acid)	285.0	มล.
น้ำกลั่น	715.0	มล.

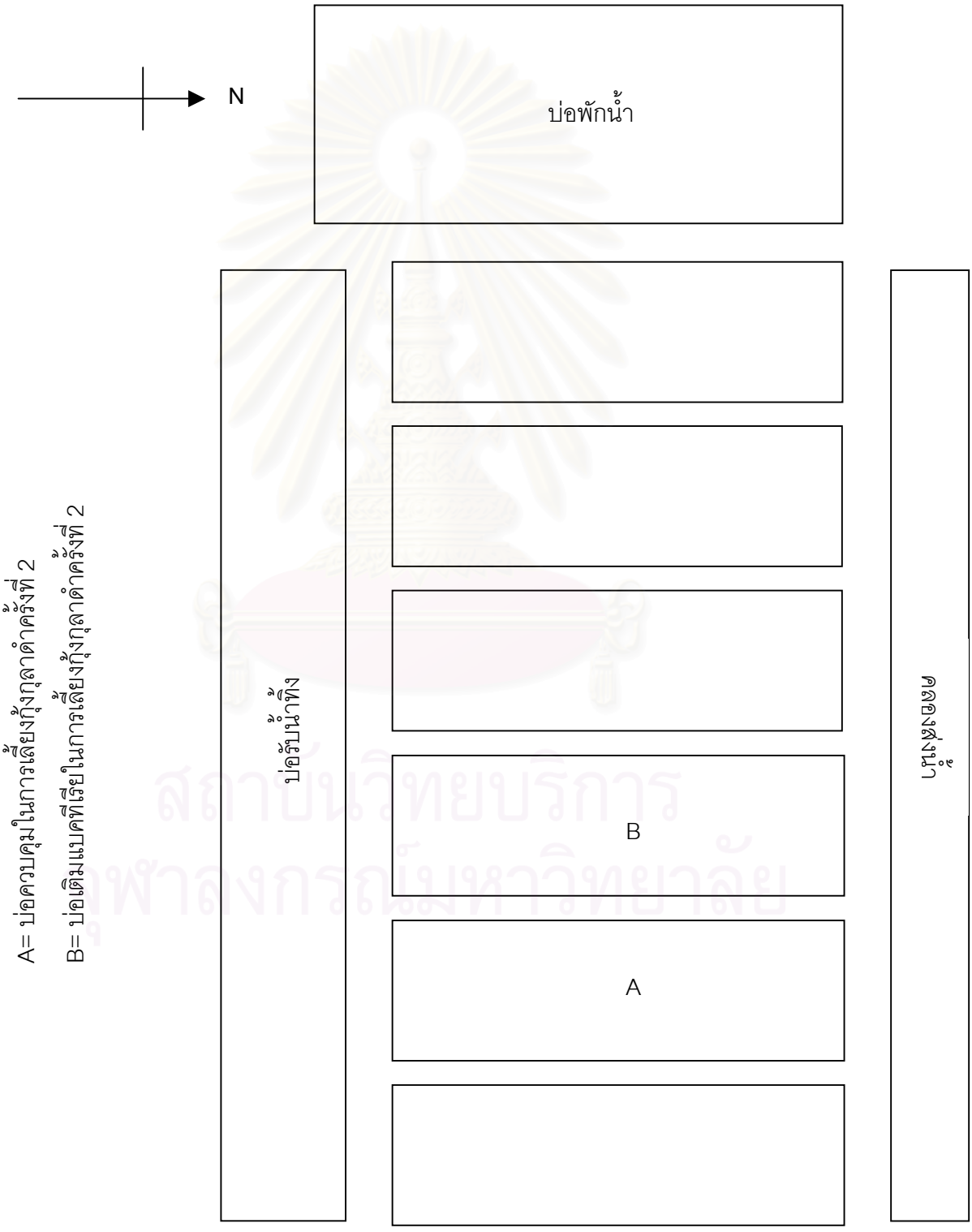
ผสมสารทั้งสองชนิด เติมน้ำกลั่นจนครบปริมาตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

แผนภาพแสดงที่ตั้งของบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

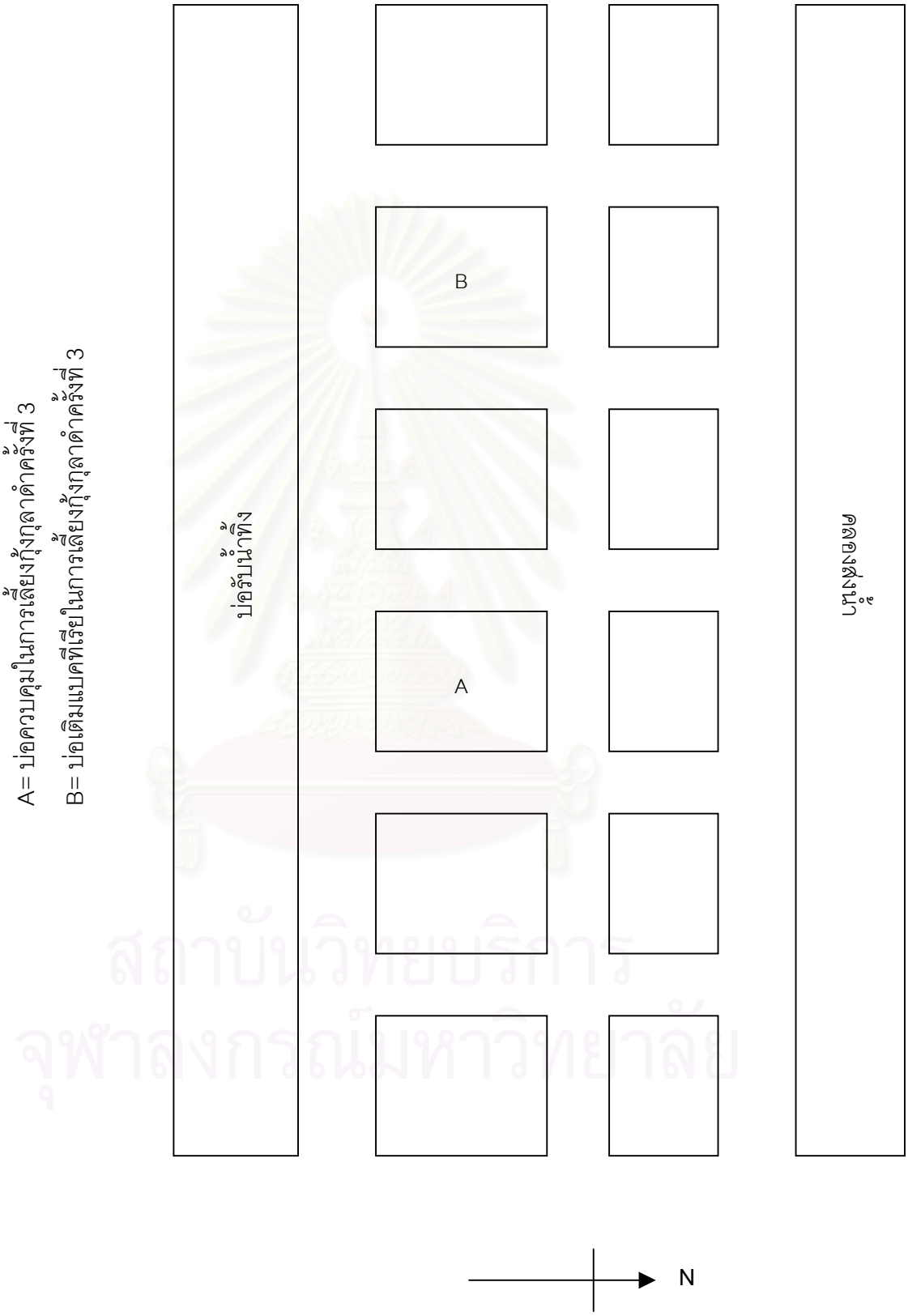
1. **แผนภาพแสดงที่ตั้งของบ่อเลี้ยงกุ้งในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2**



หมายเหตุ แผนภาพไม่ได้เทียบอัตราส่วน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. **แผนภาพแสดงที่ตั้งของบ่อเลี้ยงกุ้งในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3**



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หมายเหตุ แผนภาพไม่ได้เทียบอัตราส่วน

ภาคผนวก ง

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

1. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ความเป็นด่าง

1.1 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) 0.05 N

อบ Na_2CO_3 ประมาณ 3-5 กรัม ในตู้อบที่ 250 °ซ. นาน 4 ชม. ทำให้เย็นใน desiccator ชั่งสารที่ได้ 2.5 ± 0.2 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร เก็บรักษา สารละลายที่ได้ประมาณ 1 อาทิตย์

1.2 Standard sulfuric acid หรือ Hydrochloric acid ความเข้มข้น 0.1 N

เจือจาง 3.0 มล. ของกรด H_2SO_4 เข้มข้น หรือ 8.3 มล. ของกรด HCl เข้มข้น ด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร เทียบมาตรฐานความเข้มข้นของกรดดังนี้

การเทียบมาตรฐานความเข้มข้นของกรด (Standardize) กับ 40.0 มล. 0.05 N Na_2CO_3 โดยรินกรดลงในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต จนสารละลายมี pH ประมาณ 5 (วัดด้วย pH meter) ต้มสารละลายที่ได้ประมาณ 3-5 นาที (โดยใช้ Cover glass ครอบสารละลายขณะต้ม) ปล่อยทิ้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง รินสารละลายที่อยู่บน Cover glass ลงในบีกเกอร์ซึ่งบรรจุสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ไตเตรตด้วยกรดต่อจน pH ของสารละลายถึงจุด inflection point (pH=4.5) และสีของสารละลายเปลี่ยนไป คำนวณความเข้มข้นของกรด (Normality) ดังนี้

$$N = \frac{AxB}{53.00 \times C}$$

เมื่อ A = น้ำหนักของ Na_2CO_3 ในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.05 N (เท่ากับ 2.50 กรัม (ตามวิธีข้อ 1)

B = มล.ของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (เท่ากับ 40.0 มล.)

C = มล.ของกรด

สำหรับสารละลายกรดเข้มข้น 0.1 N, ปริมาณ 1 มล. เท่ากับ 5.0 มิลลิกรัมของ $CaCO_3$

1.3 กรดเข้มข้น 0.02 N (อาจจะใช้กรด H_2SO_4 หรือ HCl ก็ได้)

เจือจาง 200.0 มล.ของ 0.1 N Standard acid ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร โดย 1 มล.ของ 0.02 N ของกรด เท่ากับ 1.00 มก.ของ $CaCO_3$

1.4 สารละลาย Methyl orange indicator

ละลาย 500 มก. ของ Methyl orange powder ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

1.5 สารละลาย Phenolphthalein indicator

ละลาย 5 กรัม ของ Phenolphthalein disodium salt ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

2. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ค่าบีโอดี

2.1 สารละลายแมงกานีสซัลเฟต

ละลาย $MnSO_4.4H_2O$ 480 กรัม ในน้ำกลั่น กรอง และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

2.2 สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์

ละลาย NaOH 500 กรัม และ KI 150 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1 ลิตร และเติมโซเดียมแอไซด์ (NaN_3) 10 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่น 40 มล. ลงในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้น

2.3 กรดซัลฟุริกเข้มข้น (H_2SO_4)

2.4 น้ำแป้ง

ละลายแป้ง (Soluble starch) 2 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มร้อง 100 มล. ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้

2.5 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 N

ละลาย $Na_2S_2O_3.5H_2O$ 6.205 กรัม ในน้ำกลั่น เติม NaOH 0.4 กรัม แล้วทำให้เจือจางเป็น 1 ลิตร สารละลายนี้ก่อนนำมาใช้จะต้องปรับความเข้มข้นให้แน่นอน (Standardization) ด้วยสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดทเสียก่อน

2.6 สารละลายมาตรฐานไบไอโอเดท 0.025 N

ชั่ง $KH(IO_3)_2$ ที่ผ่านการอบที่ 110 °ซ. และทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น 812.4 มก. ละลายในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1 ลิตร

<u>การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต</u>

ละลาย KI ประมาณ 2 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 100-500 มล. ใน erlenmeyer flask เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 2-3 หยด และสารละลายไบไอโอเดท 10 มล. แล้วทำให้เจือจางเป็น 200 มล. ไตเตรทไอโอดีนที่ถูกปล่อยออกมาด้วยสารละลายมาตรฐานไทโอซัลเฟตที่เตรียมไว้ โดยเติมน้ำแป้งเมื่อใกล้ถึงจุดยุติ สังเกตจากสารละลายมีสีเหลืองอ่อน จะได้สารละลายสีน้ำเงิน และไตเตรทต่อจน สารละลายใส

ทำการปรับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตให้มีความเข้มข้น 0.025 N โดยปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรทจะเท่ากับ 10 มล.

3. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย

3.1 น้ำกลั่นปราศจากแอมโมเนีย (Ammonia-free water)

กรองน้ำกลั่นผ่าน ion exchange resin (ยาว 30 ซม. กว้าง 1-2 ซม.) ควรเตรียมใหม่ทันทีที่จะใช้และควรเก็บในขวดแก้วมีฝาปิดสนิท

3.2 สารละลายฟีนอล (Phenol solution)

ละลาย 20 กรัม ของ Phenol, C_6H_5OH ใน 95% v/v ethyl alcohol 200 มล.

3.3 สารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (Sodium nitroprusside solution)

ละลาย 1 กรัม ของ Sodium nitroprusside, $Na_2Fe(CN)_5NO.2H_2O$ ในน้ำกลั่น de-ionized 200 มล. เก็บรักษาในขวดแก้วสีน้ำตาล

3.4 อัลคาไลน์รีเอเจนท์ (Alkaline reagent)

ละลาย 100 กรัม ของ Sodium citrate, $C_3H_4OH(COONa)_3.2H_2O$ และ 5 กรัม ของ Sodium hydroxide, NaOH ในน้ำกลั่น de-ionized 500 มล.

3.5 สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (Sodium hypochlorite solution)

โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (5.5% available chlorine) อาทิ เช่น คลอร็อก 1.5 N เก็บในขวดทึบแสง ปิดฝาให้แน่น

3.6 สารละลายออกซิไดซ์ซิง (Oxidizing solution)

ผสม 100 มล. ของอัลคาไลน์รีเอเจนท์ และ 25 มล. ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ควรเตรียมสำหรับการวิเคราะห์แต่ละครั้ง

4. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์

4.1 สารละลายซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide solution)

ละลาย 5 กรัม ของ Sulfanilamide, $C_6H_8N_2O_2S$ ในส่วนผสมของ Concentrated Hydrochloric acid 50 มล.และน้ำกลั่น 300 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มล. สารละลายนี้สามารถเก็บรักษาไว้ได้หลายเดือน

4.2 สารละลายเอ็นอีดีไดไฮโดรคลอไรด์ (NED dihydrochloride solution)

ละลาย 0.5 กรัม ของ N-(1-naphthyl)-ethylnediamine dihydrochloride, $C_{12}H_{14}N_2.2H_2O$ ในน้ำกลั่น 500 มล. เก็บในขวดสีน้ำตาล ควรแช่ตู้เย็นและเตรียมใหม่เมื่อสารละลายเป็นสีน้ำตาล

5. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไนเตรต

5.1 สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น (Concentrated ammonium chloride solution)

ละลาย 125 กรัม ของ Ammonium chloride, NH_4Cl ในน้ำกลั่น 500 มล. เก็บรักษาในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก

5.2 สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เจือจาง (Dilute ammonium chloride solution)

เจือจางสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น 50 มล. ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 2,000 มล. เก็บรักษาในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก

5.3 Cadmium-copper filings

ใช้โลหะ Cadmium powder ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 มิลลิเมตร

5.4 สารละลายคิวปริกซัลเฟต (Cupric sulphate solution)

ละลาย 20 กรัม ของ $CuSO_4.5H_2O$ ในน้ำกลั่น 1000 มล.

5.5 2 N HCl

ริน 85 มล. ของ Concentrated Hydrochloric acid ลงในน้ำกลั่น 200 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มล.

5.6 สารละลายซัลฟานิลาไมด์

เตรียมเช่นเดียวกับการหาปริมาณไนไตรท์ในน้ำ

5.7 สารละลายเอ็นอีดีไดไฮโดรคลอไรด์

เตรียมเช่นเดียวกับการหาปริมาณไนไตรท์ในน้ำ

6. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ออโธฟอสเฟต

6.1 สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium molybdate solution)

ละลาย 15 กรัม ของ Ammonium molybdate, $(NH_4)6Mo_7O_{24}.4H_2O$ ในน้ำกลั่น 500 มล. เก็บในขวดพลาสติกและไว้ในที่ไม่ถูกแสง

6.2 สารละลายกรดซัลฟุริก (Sulfuric acid solution)

ริน 140 มล. ของ Concentrated Sulfuric acid ลงในน้ำกลั่น 500 มล. เก็บในขวดแก้ว

6.3 สารละลายกรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid solution)

ละลาย 27 กรัม ของ Ascorbic acid, $C_6H_8O_6$ ในน้ำกลั่น 500 มล. เก็บในขวดพลาสติกและแช่แข็งในตู้เย็น

6.4 สารละลายโปตัสเซียมแอนติโมนิลตาร์เตรท (Potassium antimonyl-tartrate solution)

ละลาย 0.34 กรัม ของ Potassium antimonyl-tartrate, $K(SbO)C_4H_4O_6.1/2H_2O$ ในน้ำกลั่น 250 มล. อุ่นถ้าจำเป็น เก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก

6.5 สารผสมรีเอเจนท์ (Mixed reagent)

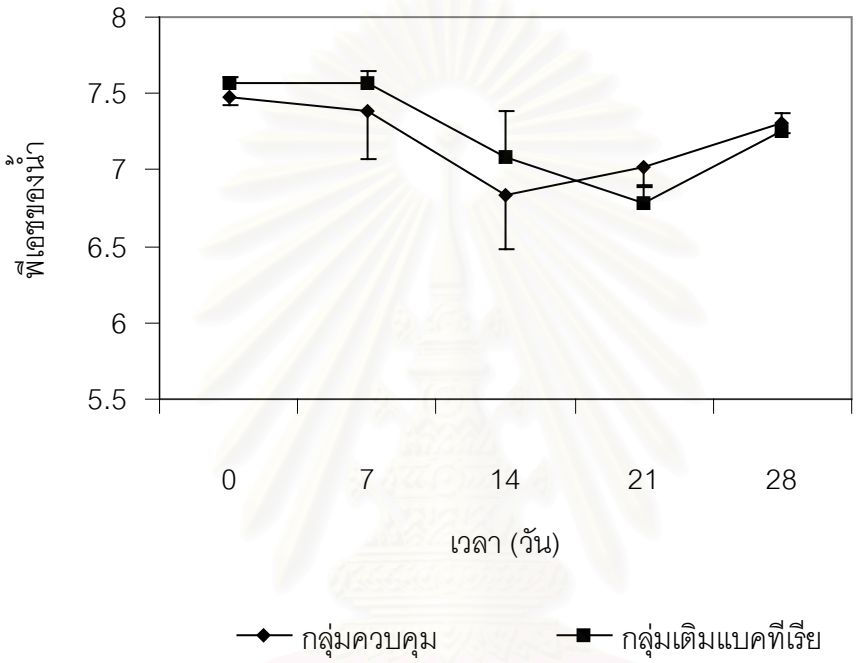
ผสมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 100 มล. สารละลายกรดซัลฟุริก 250 มล. สารละลายกรดแอสคอร์บิค 100 มล. และสารละลายโปตัสเซียมแอนติโมนิลตาร์เตรต 50 มล. ควรผสมรีเอเจนท์ นี้เมื่อจะทำการวิเคราะห์ในทันทีและไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 6 ชม.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

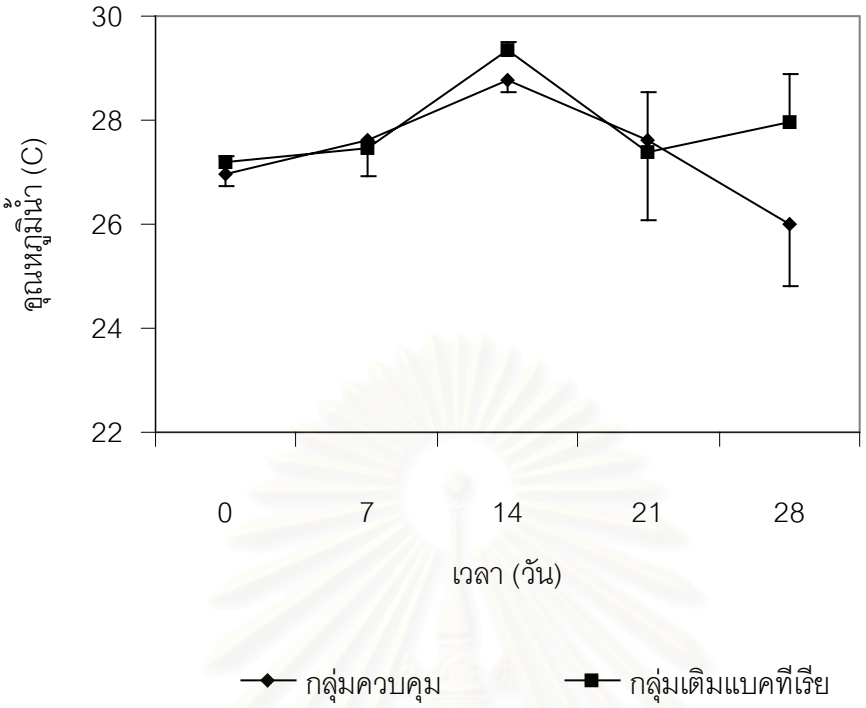
รูปแสดงผลการศึกษา

1. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

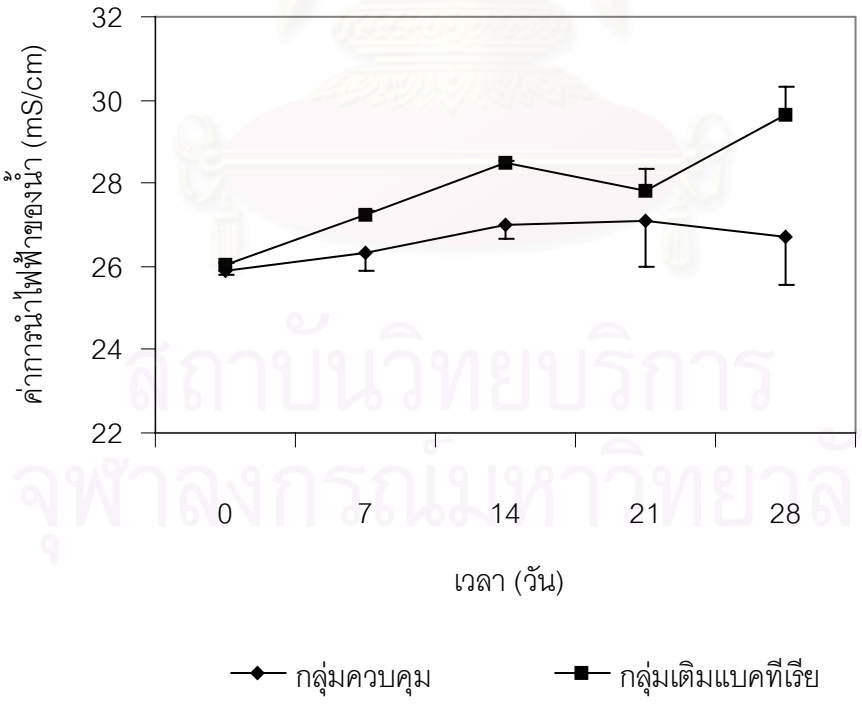


รูปที่ 1.1 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

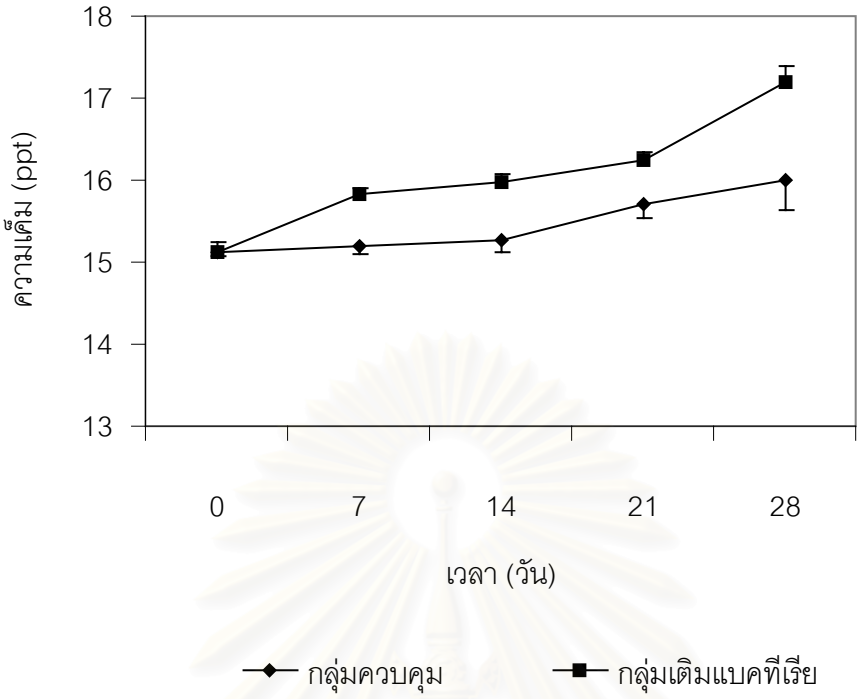


รูปที่ 1.2 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

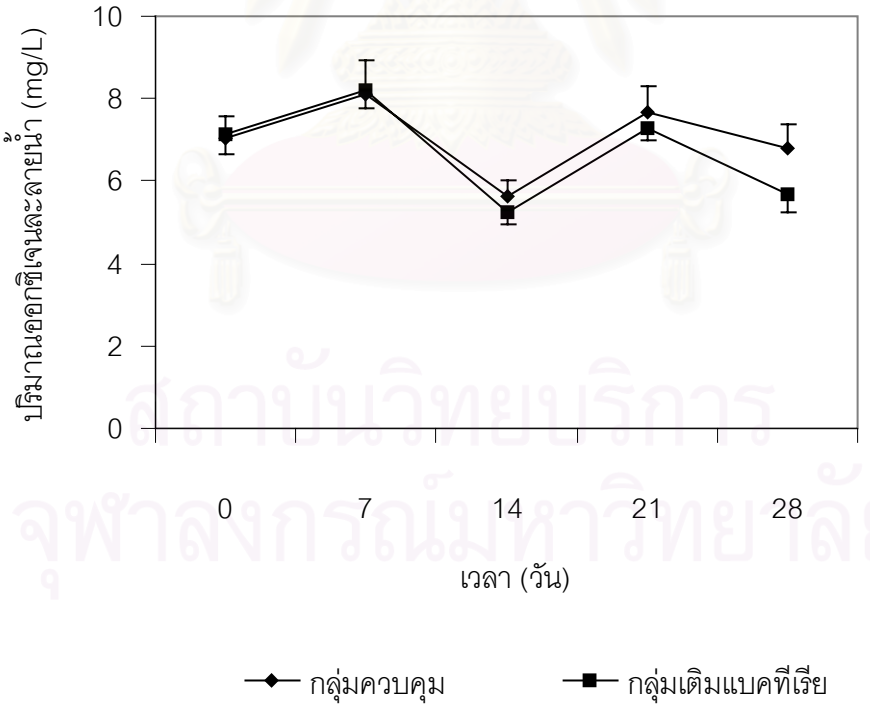


รูปที่ 1.3 การเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

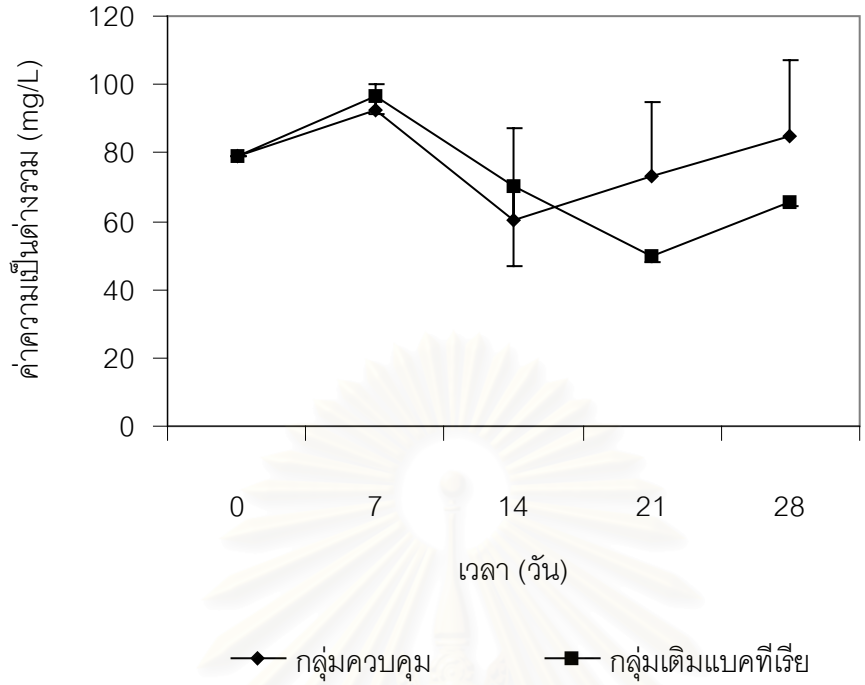
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



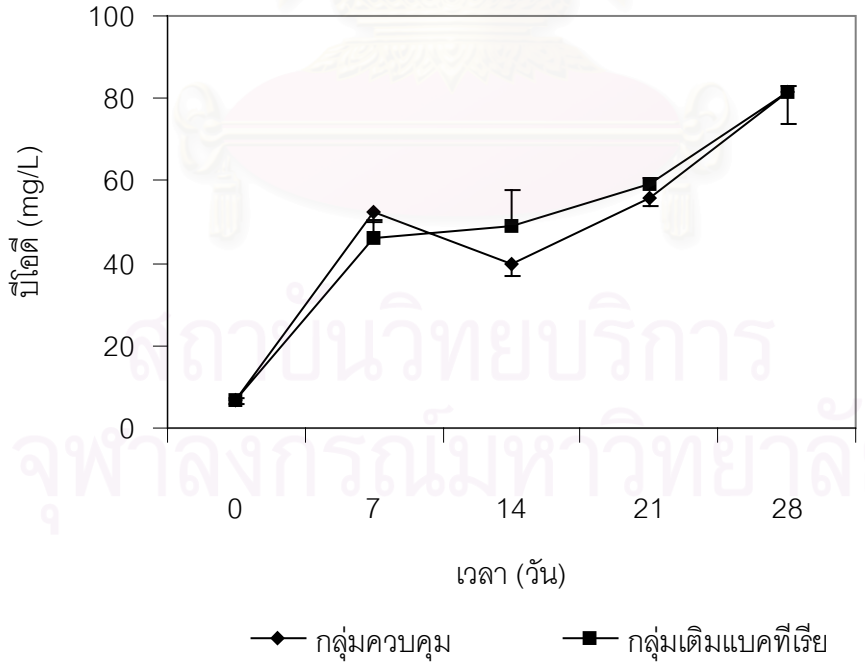
รูปที่ 1.4 การเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



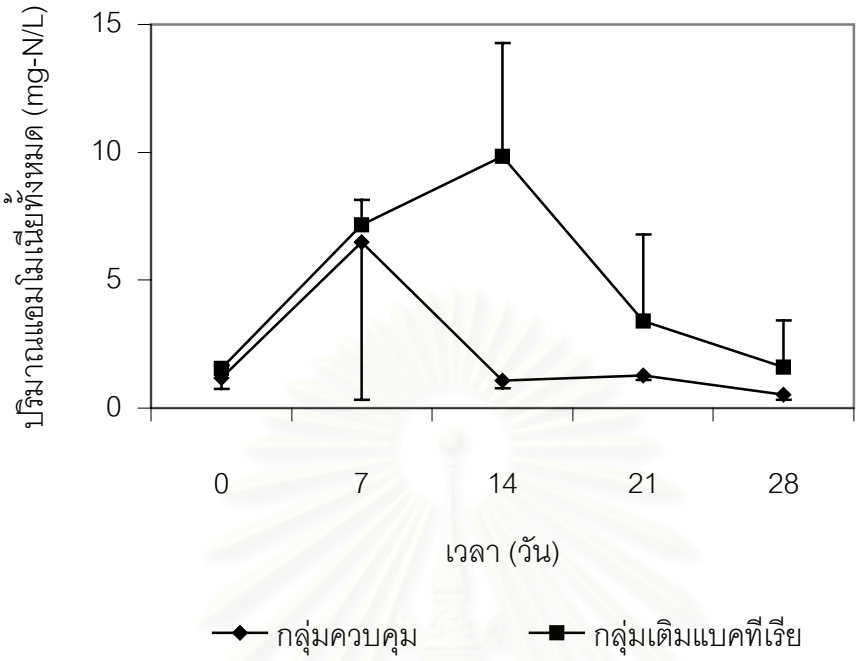
รูปที่ 1.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



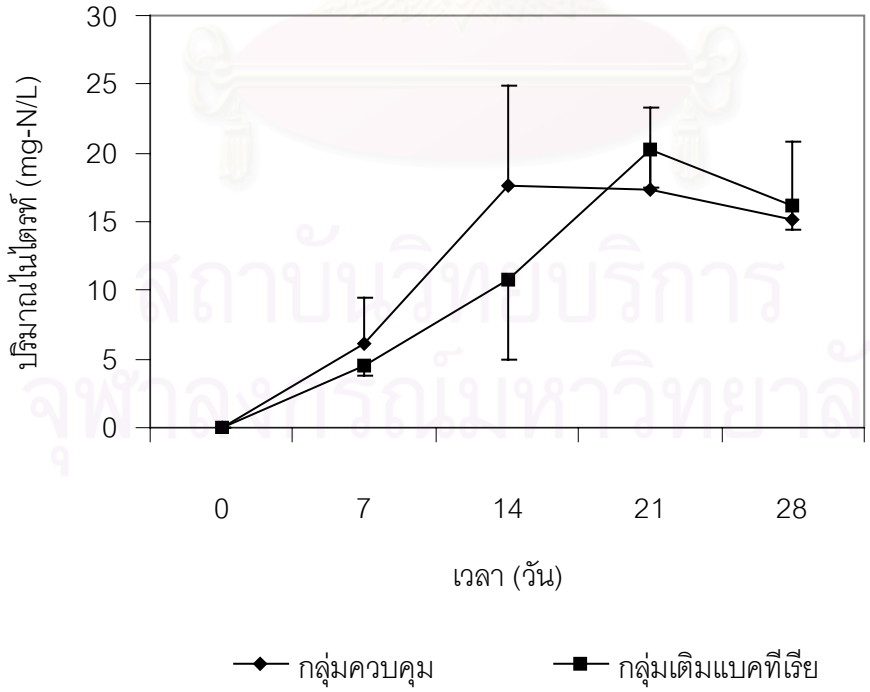
รูปที่ 1.6 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



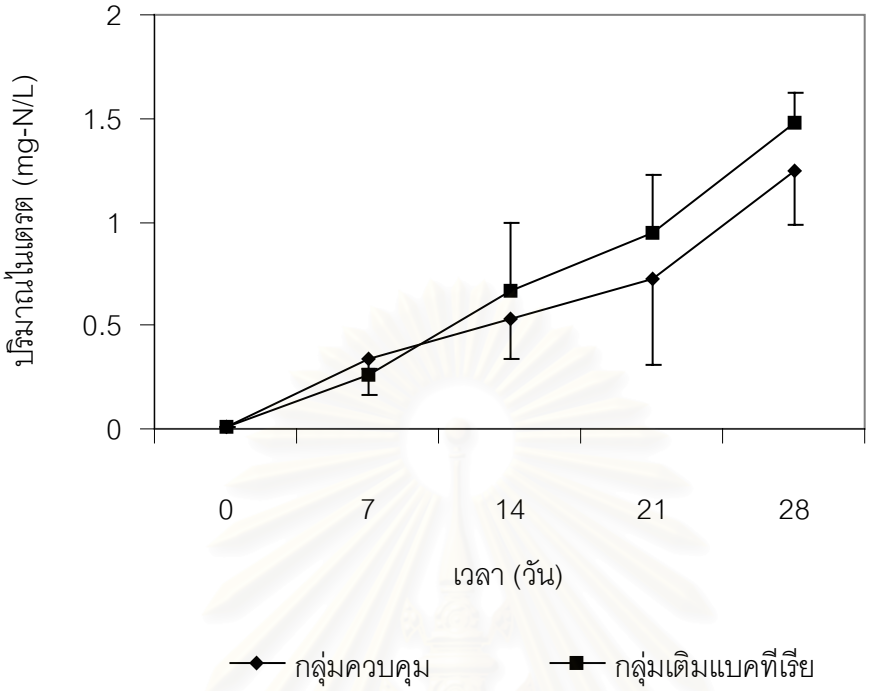
รูปที่ 1.7 การเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



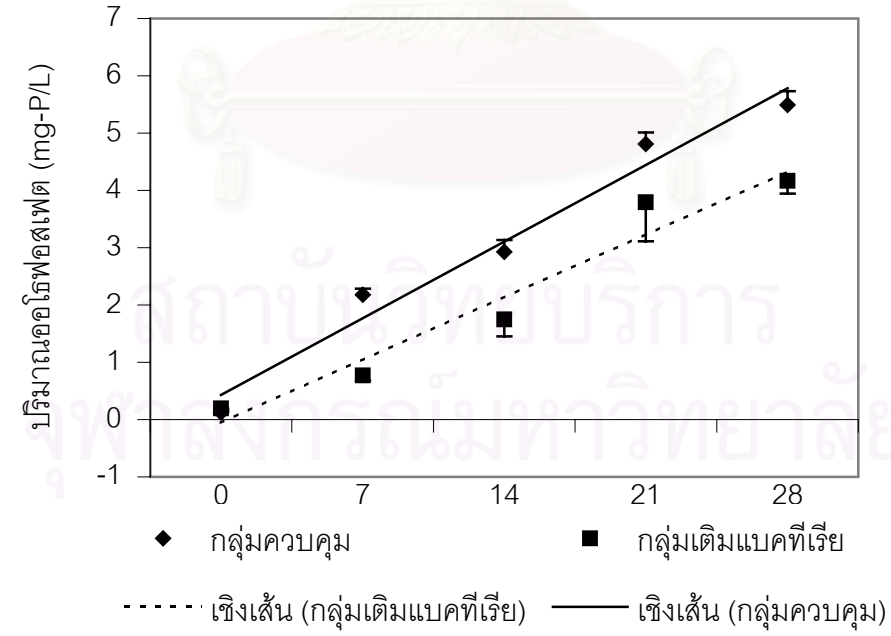
รูปที่ 1.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



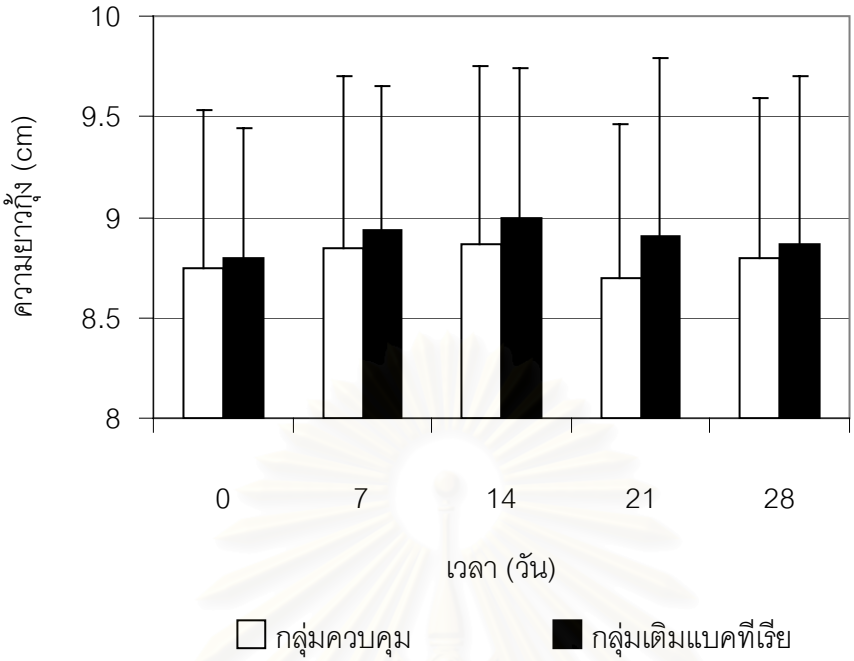
รูปที่ 1.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์เฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



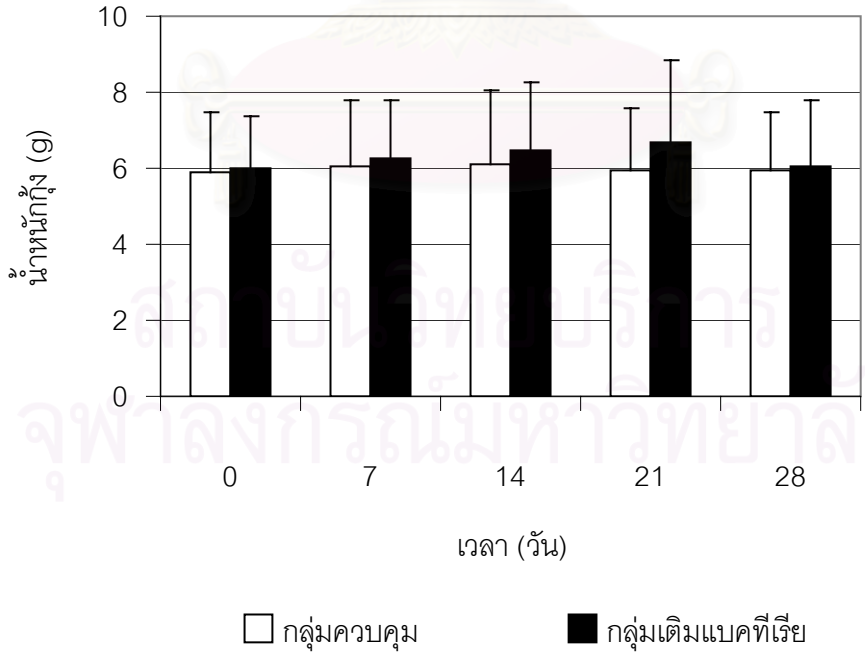
รูปที่ 1.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



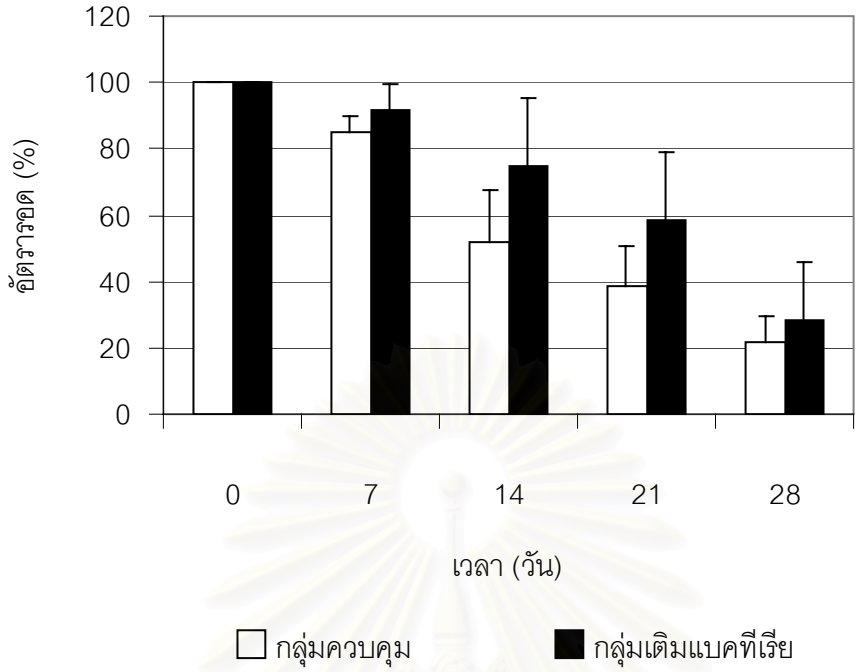
รูปที่ 1.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



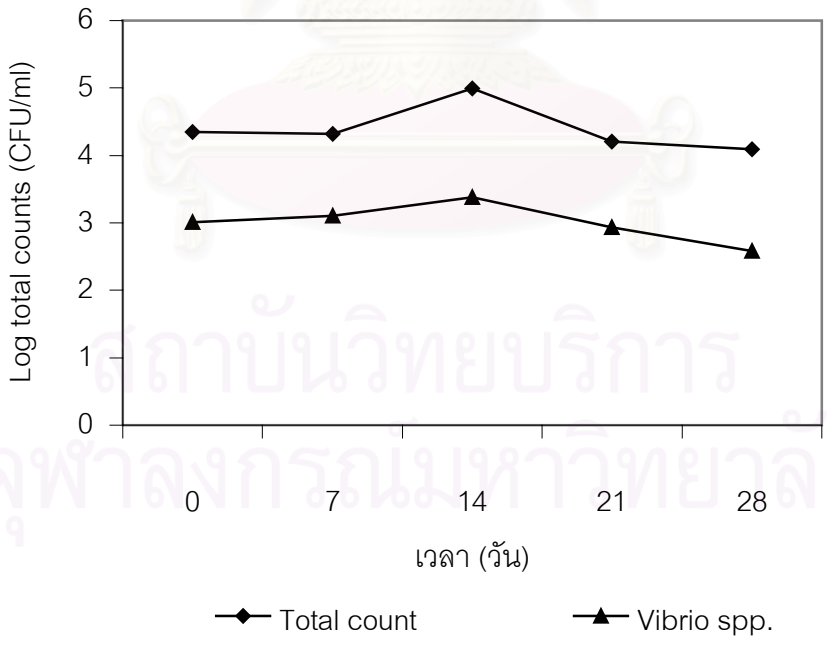
รูปที่ 1.12 ความยาวของกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



รูปที่ 1.13 น้ำหนักของกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

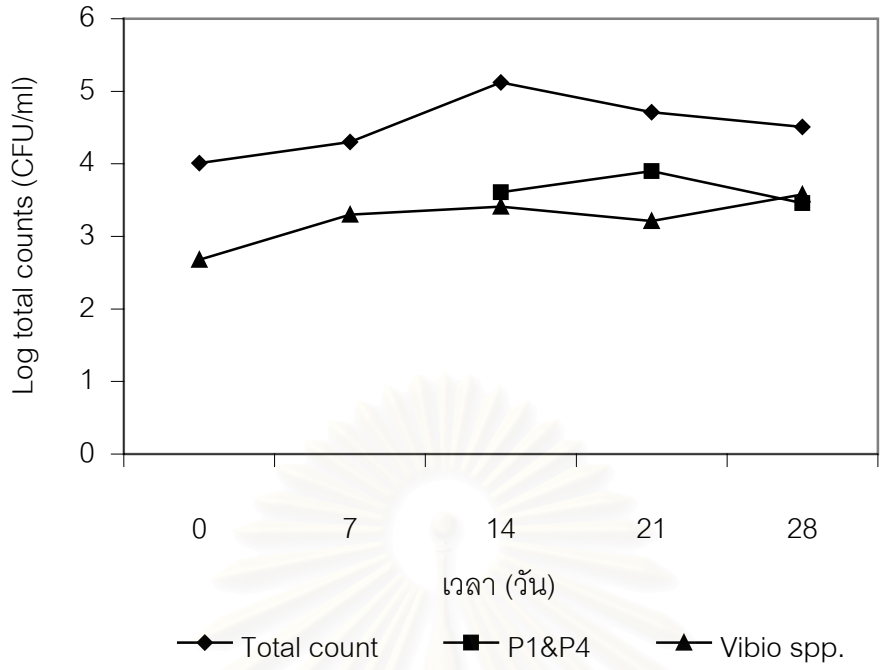


รูปที่ 1.14 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1



รูปที่ 1.15 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด และแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกลุ่มควบคุม ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

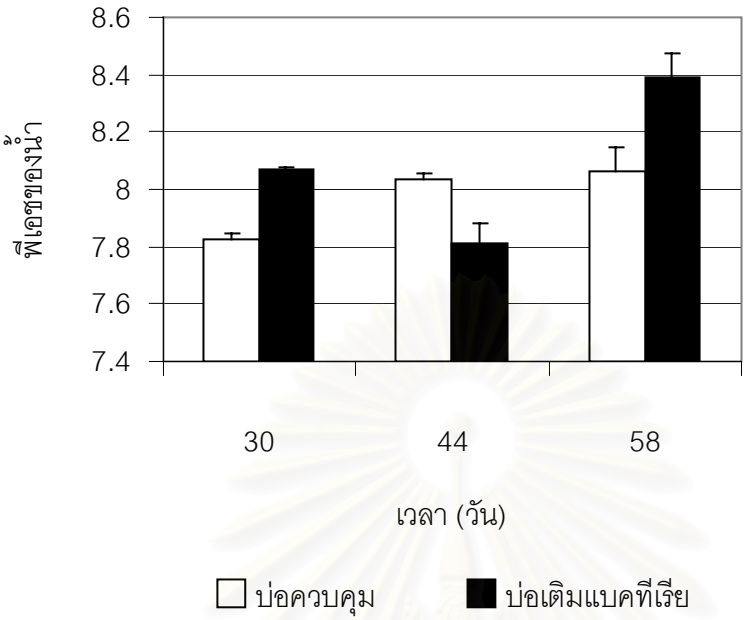
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



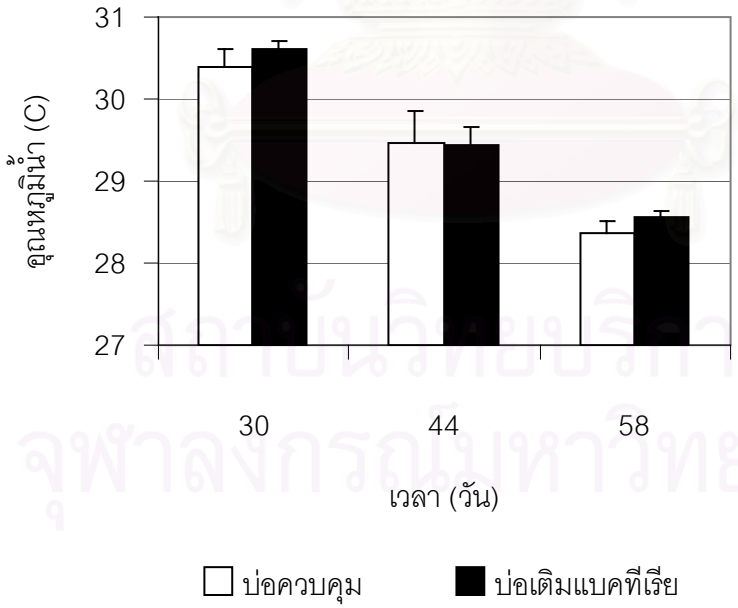
รูปที่ 1.16 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด P1&P4 และ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกลุ่มเติมแบคทีเรีย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

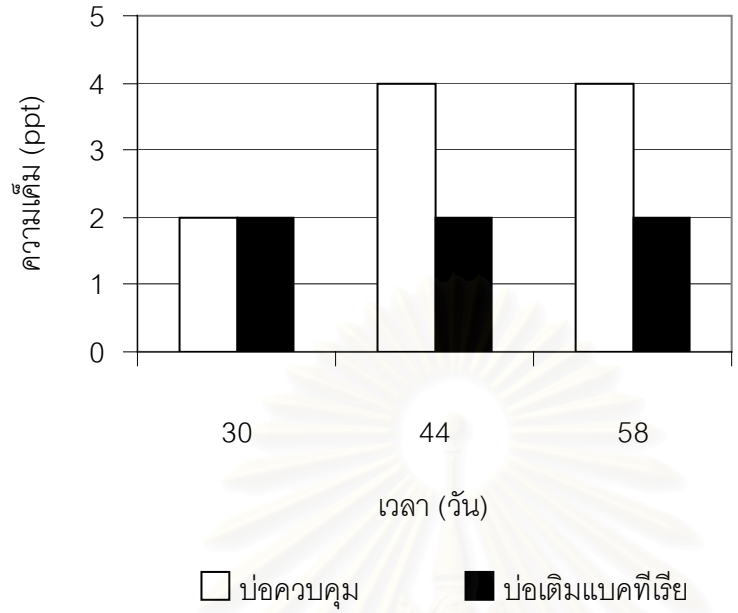
2. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



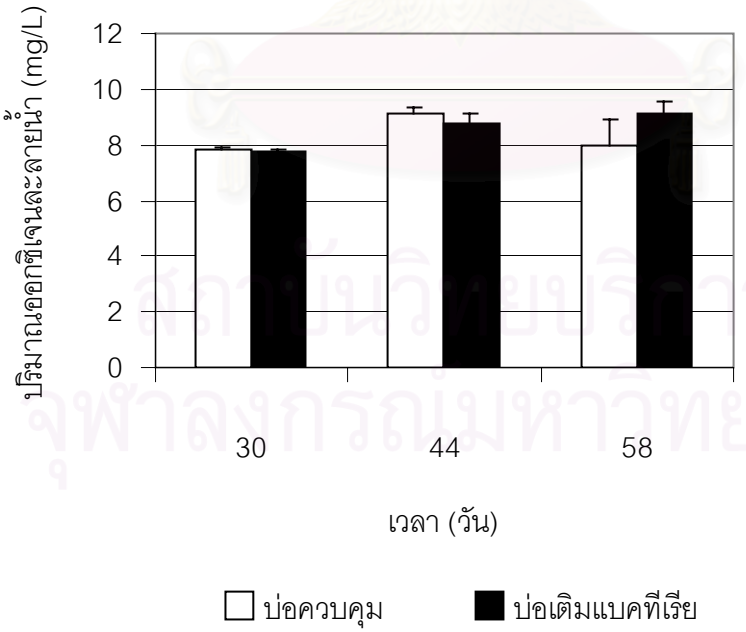
รูปที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



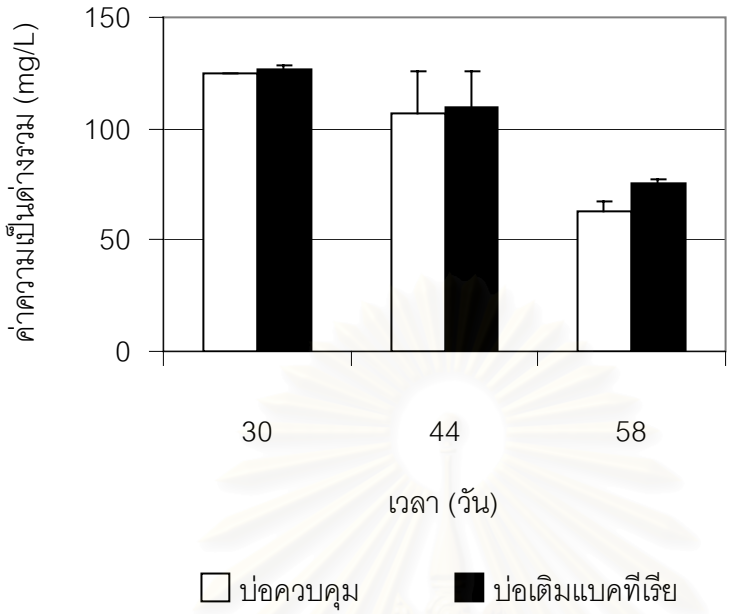
รูปที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



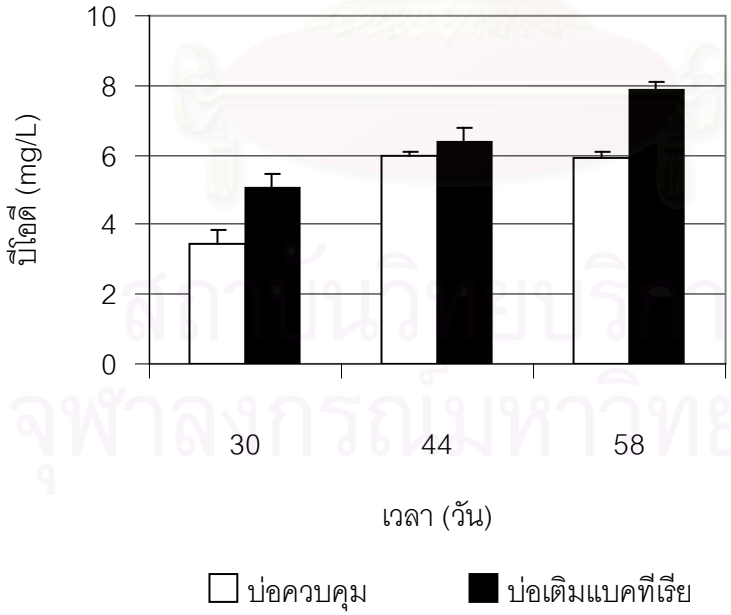
รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



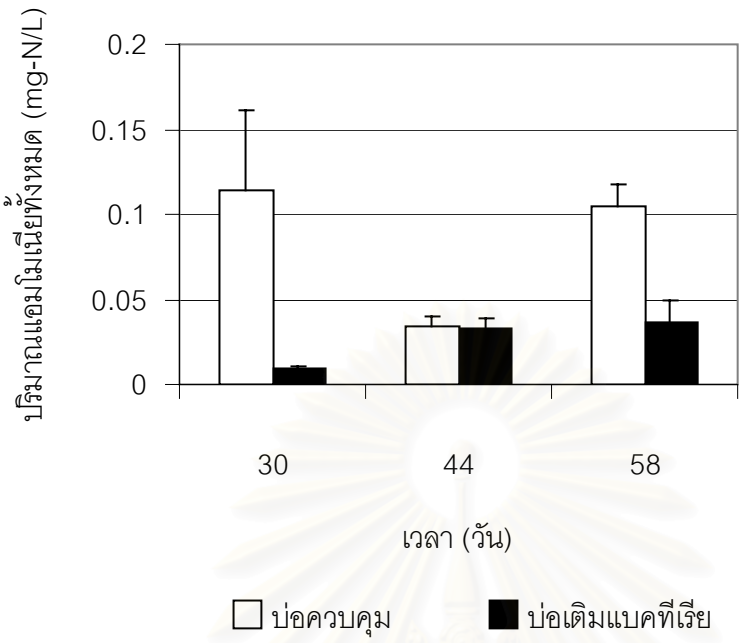
รูปที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



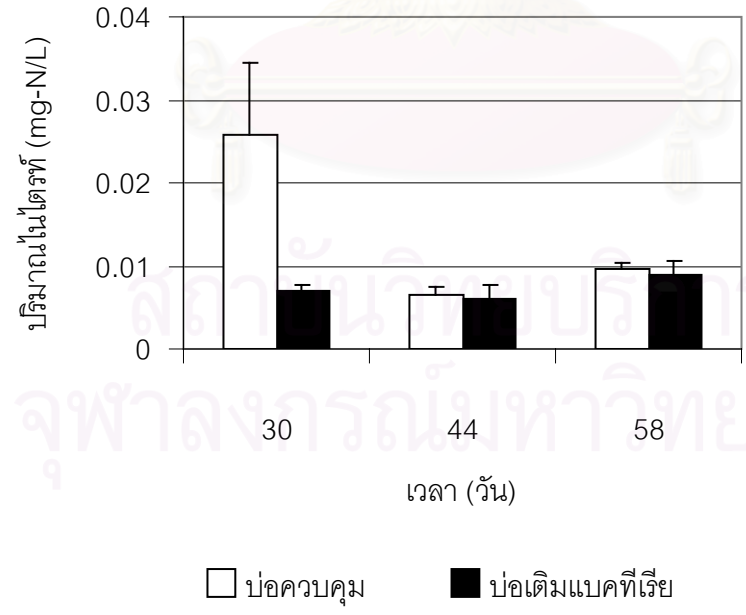
รูปที่ 2.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



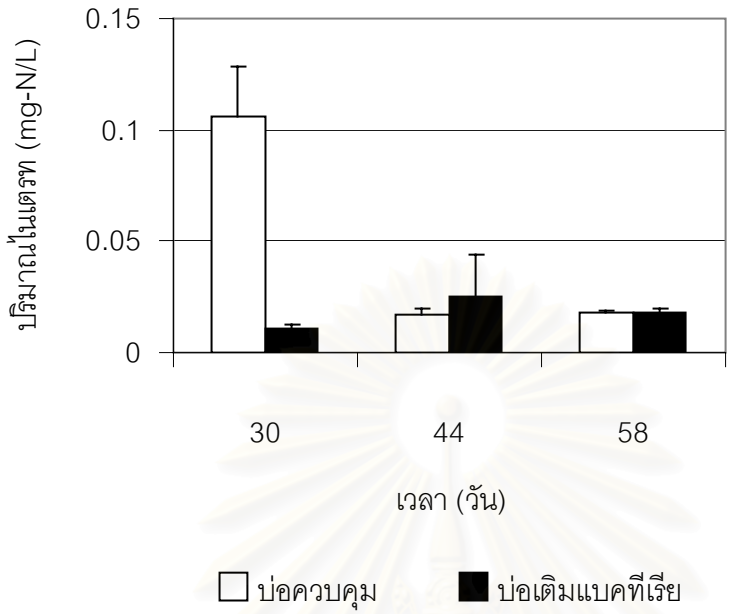
รูปที่ 2.6 การเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



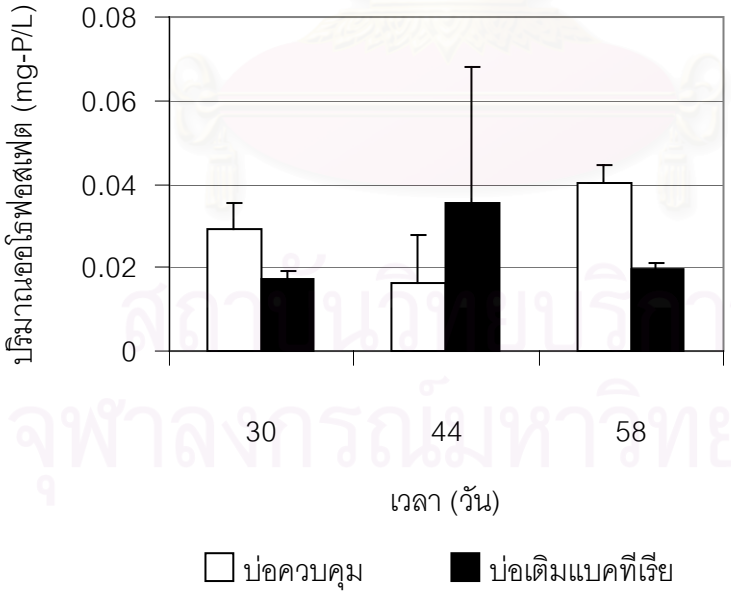
รูปที่ 2.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



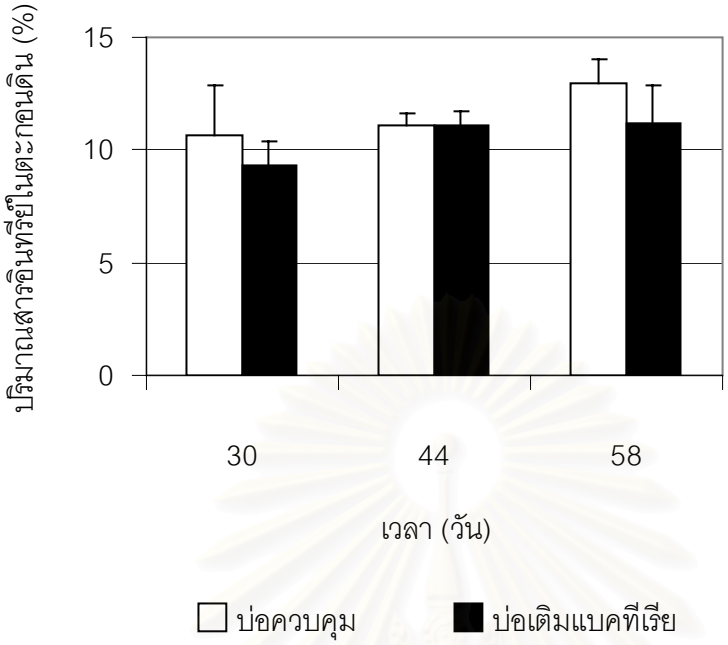
รูปที่ 2.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์เฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



รูปที่ 2.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2

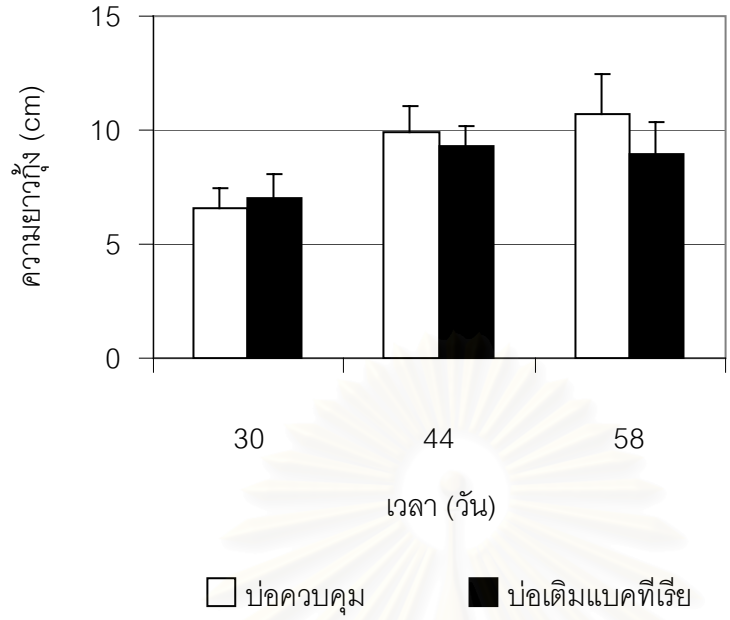


รูปที่ 2.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2

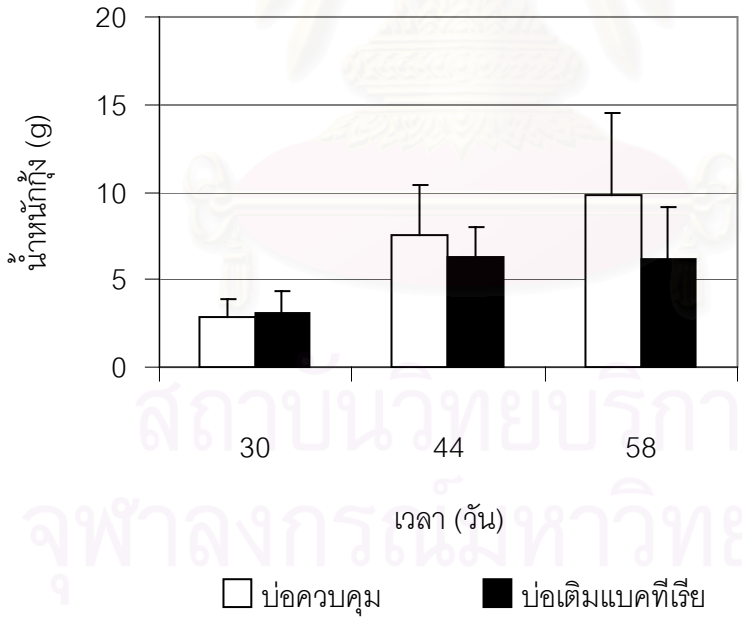


รูปที่ 2.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินเฉลี่ย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



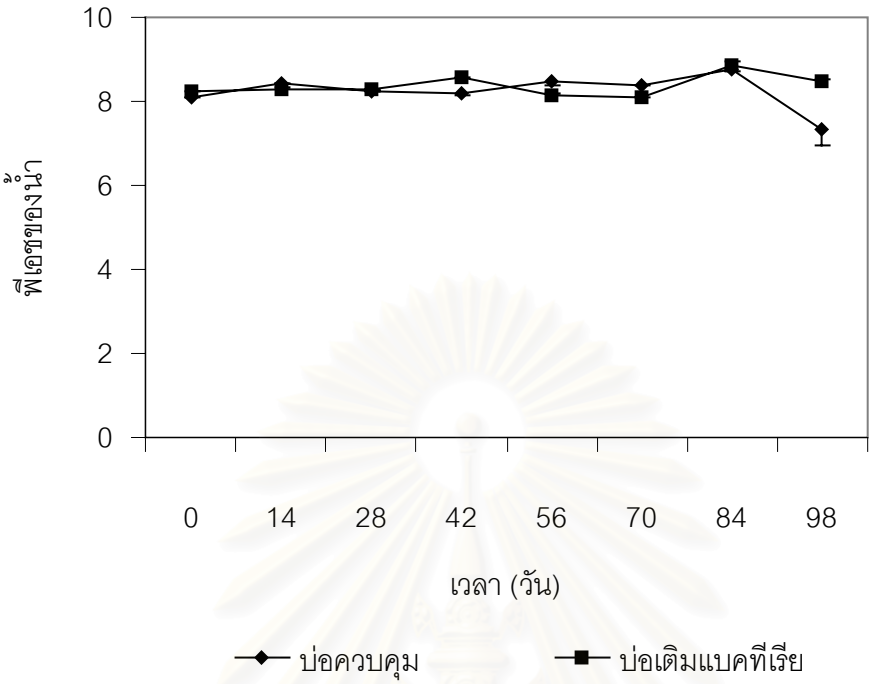
รูปที่ 2.12 ความยาวของกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2



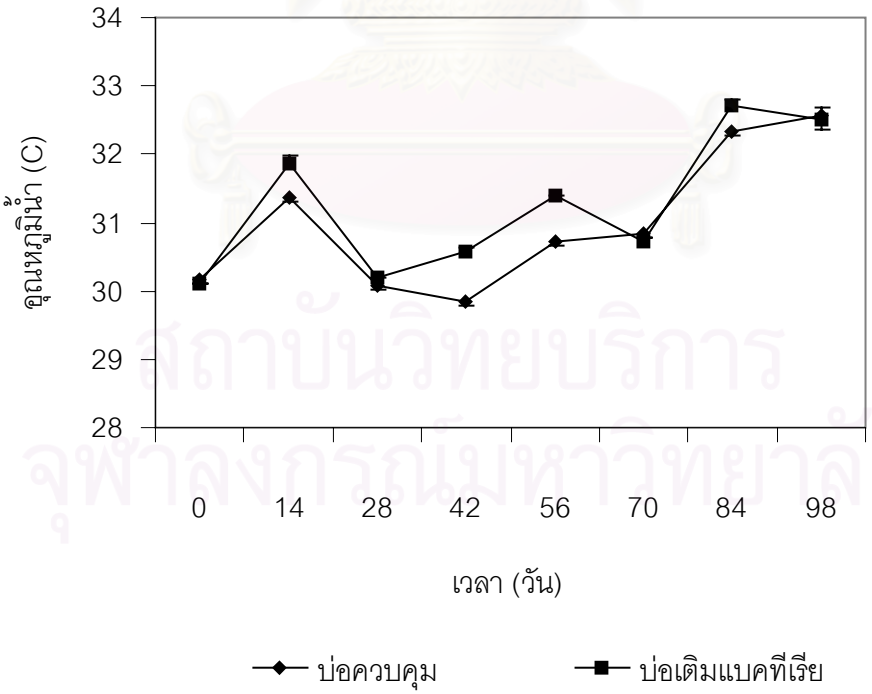
รูปที่ 2.13 น้ำหนักของกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

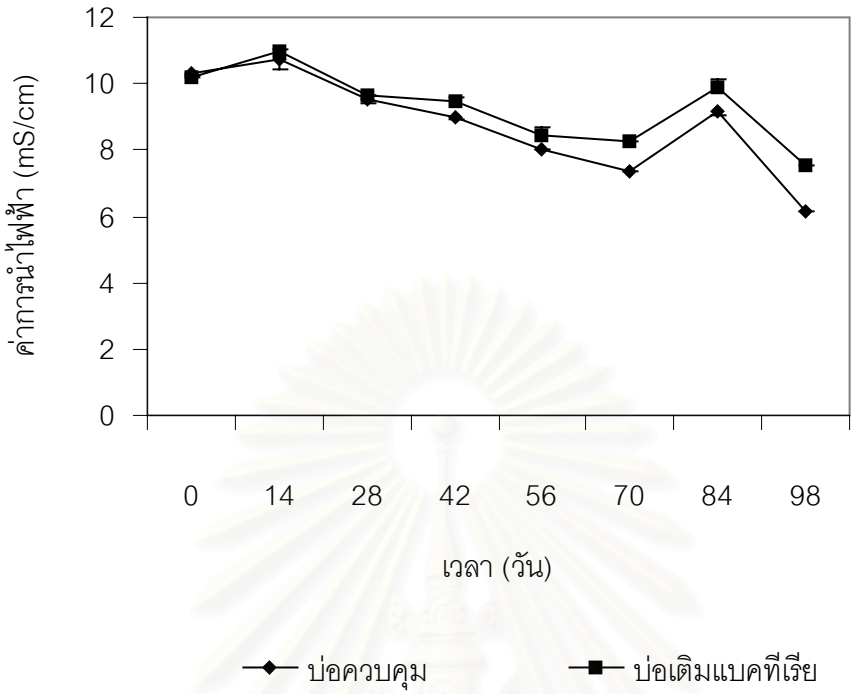
3. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



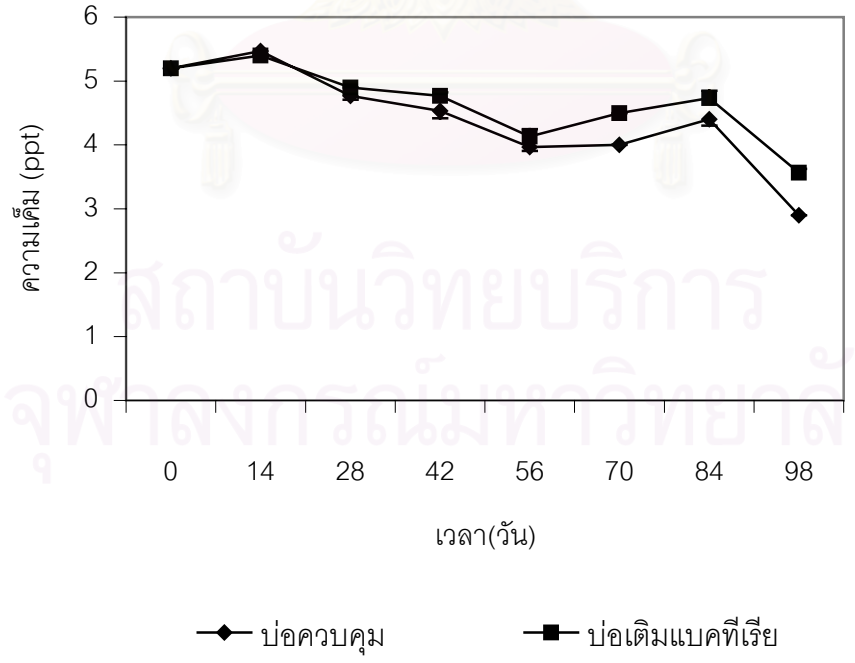
รูปที่ 3.1 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



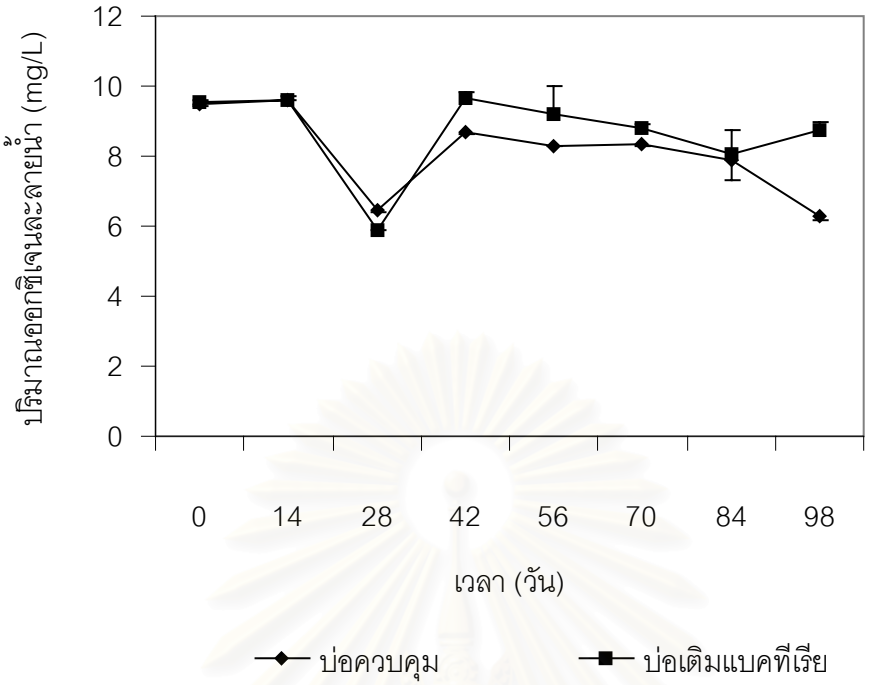
รูปที่ 3.2 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



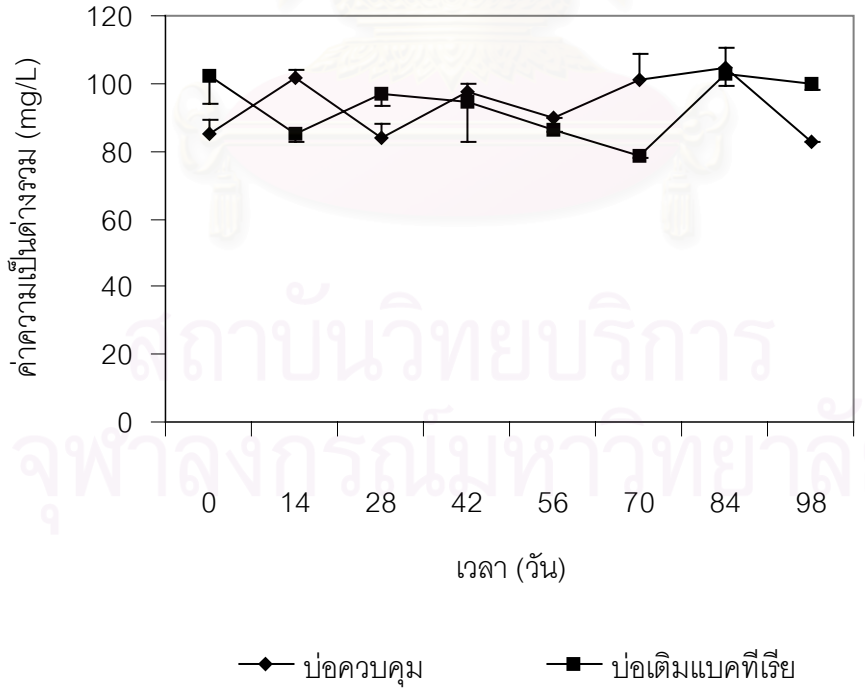
รูปที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



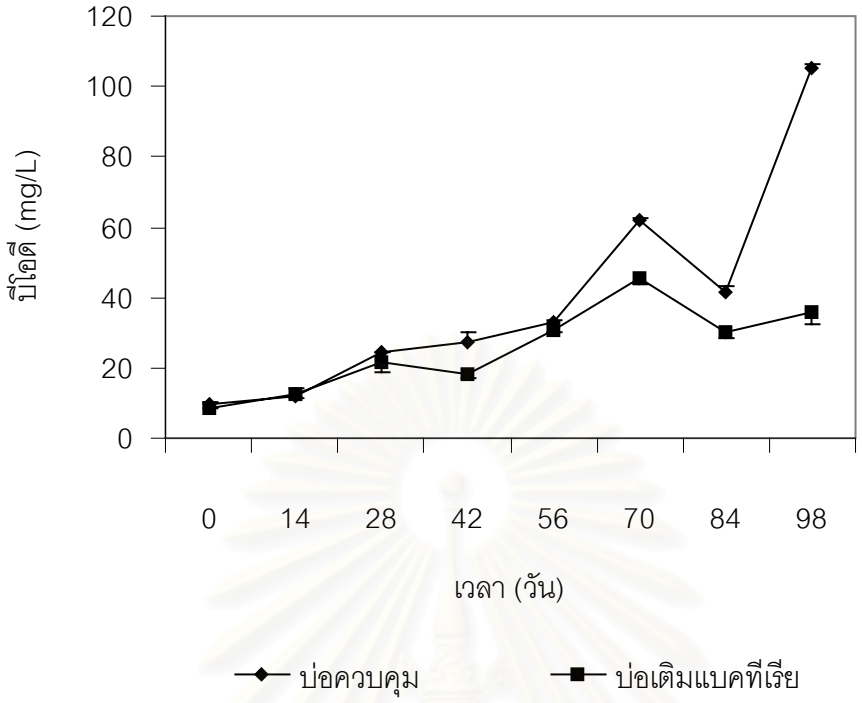
รูปที่ 3.4 การเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



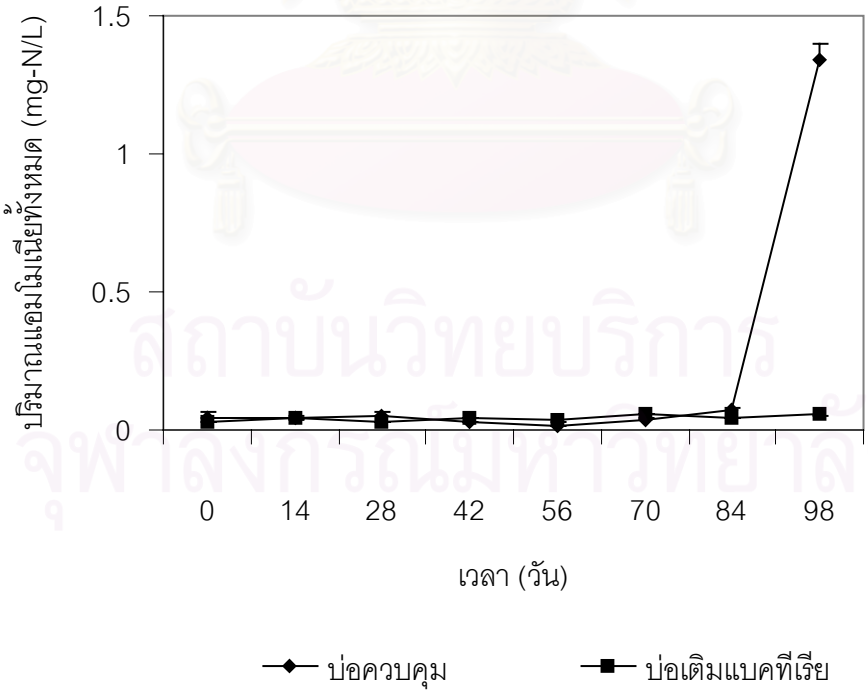
รูปที่ 3.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



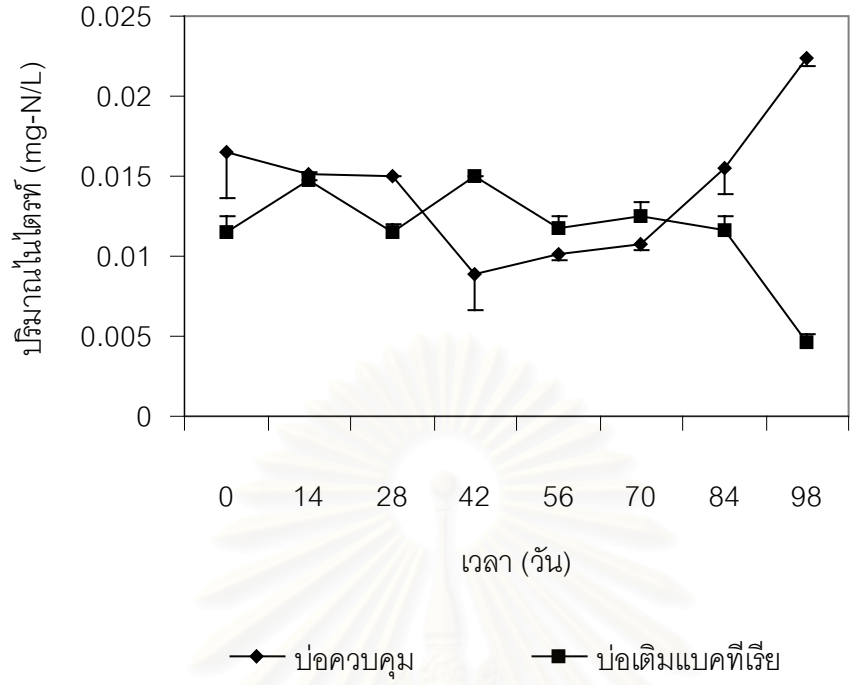
รูปที่ 3.6 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นด่างรวมเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



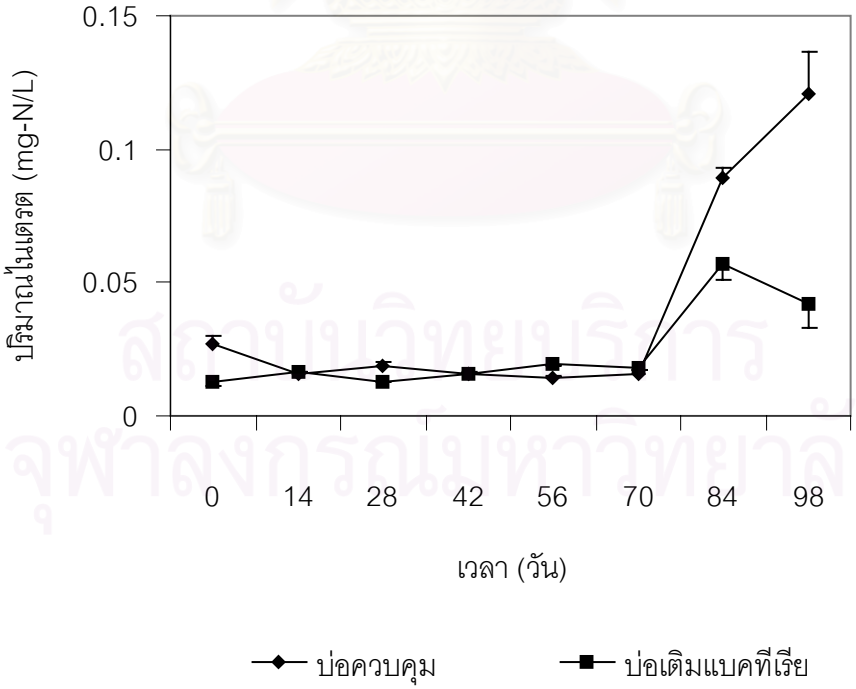
รูปที่ 3.7 การเปลี่ยนแปลงค่าบีโอดีเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



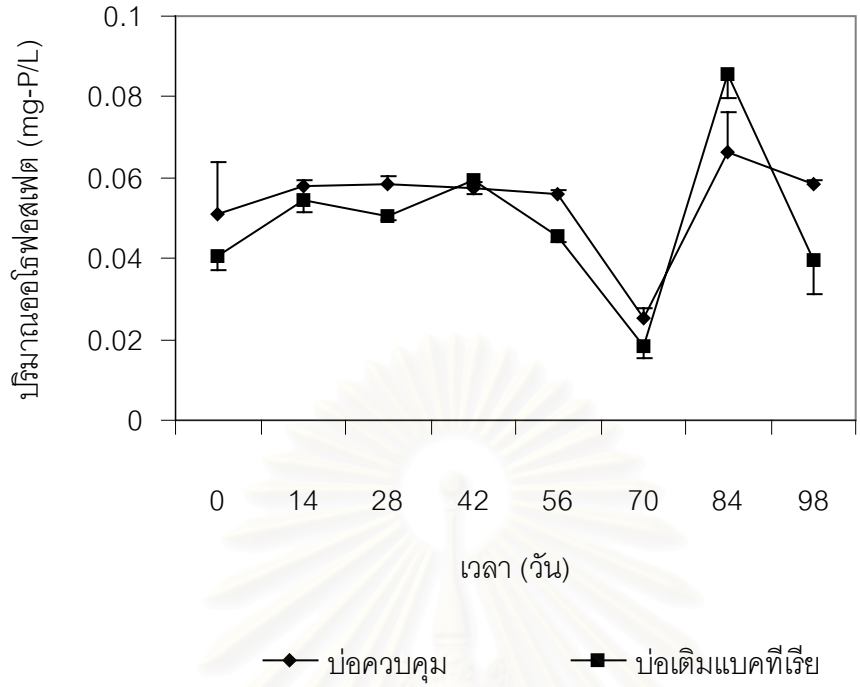
รูปที่ 3.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียทั้งหมดเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



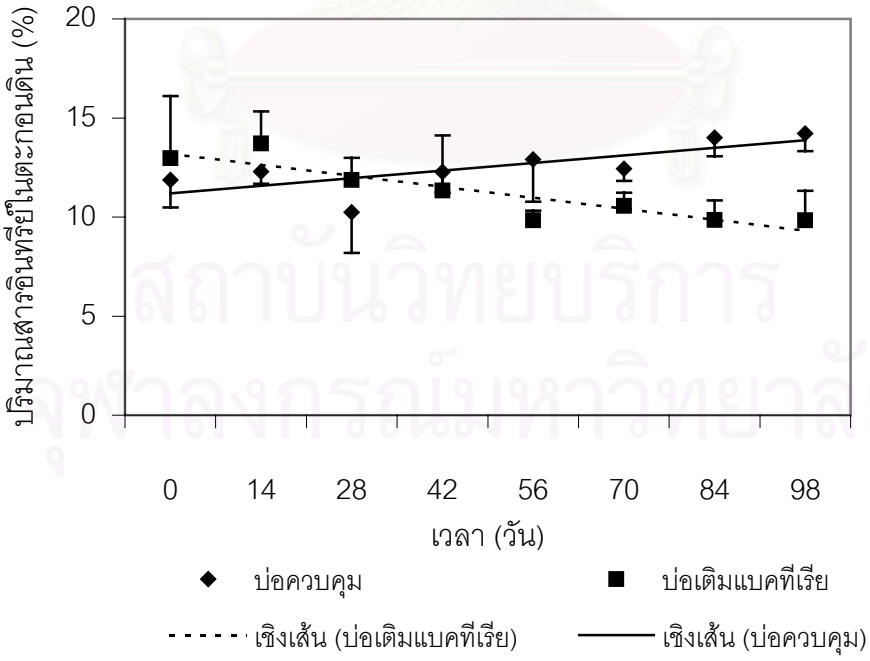
รูปที่ 3.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์เฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



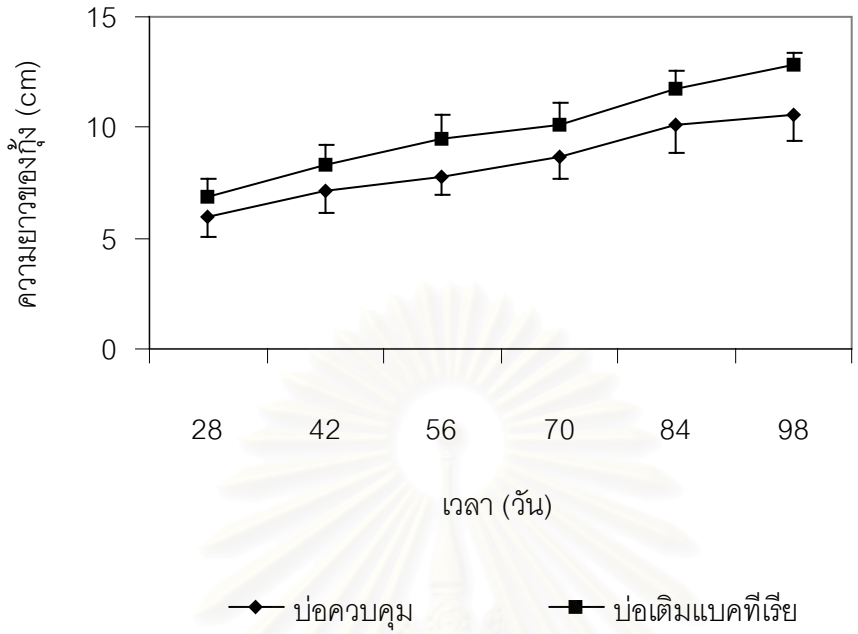
รูปที่ 3.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนเตรทเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



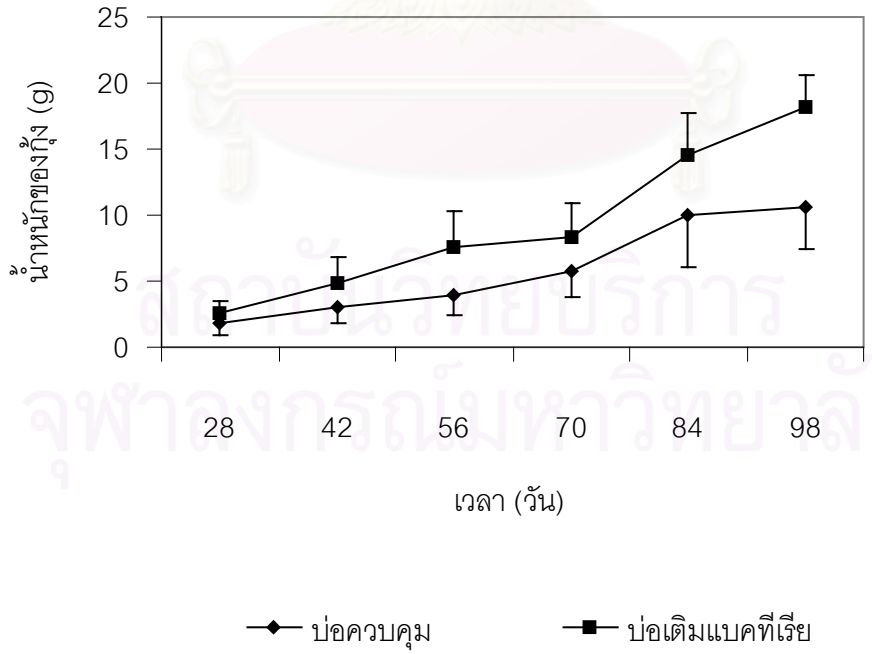
รูปที่ 3.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออโธฟอสเฟตเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



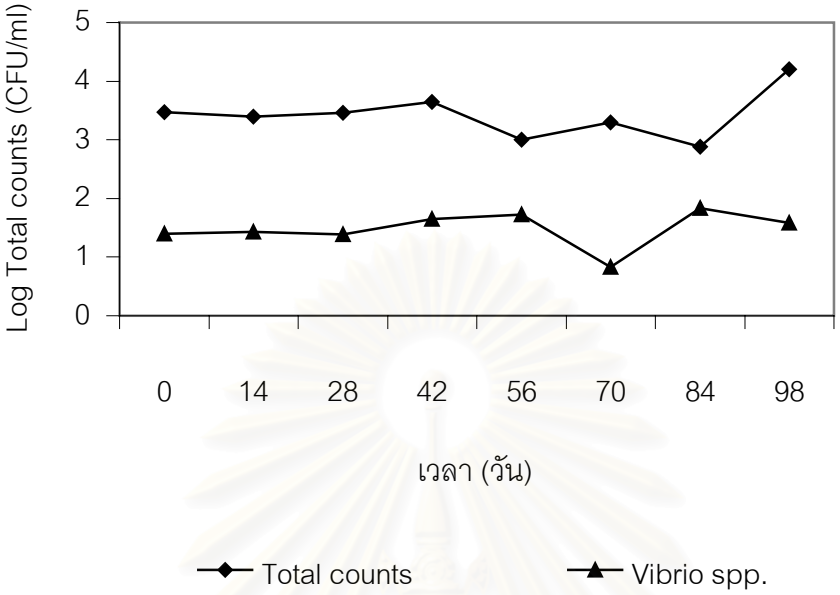
รูปที่ 3.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดินเฉลี่ยในบ่อเลี้ยงกุ้ง ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



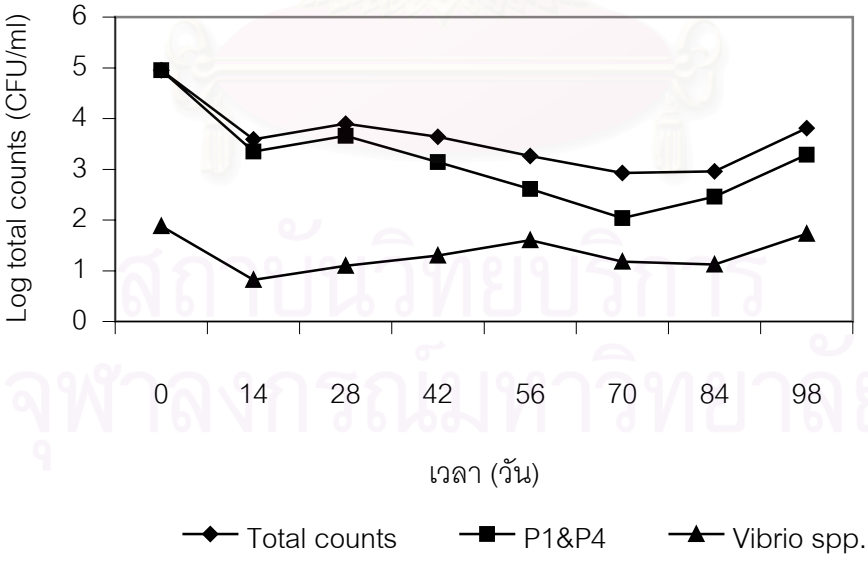
รูปที่ 3.13 ความยาวของกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



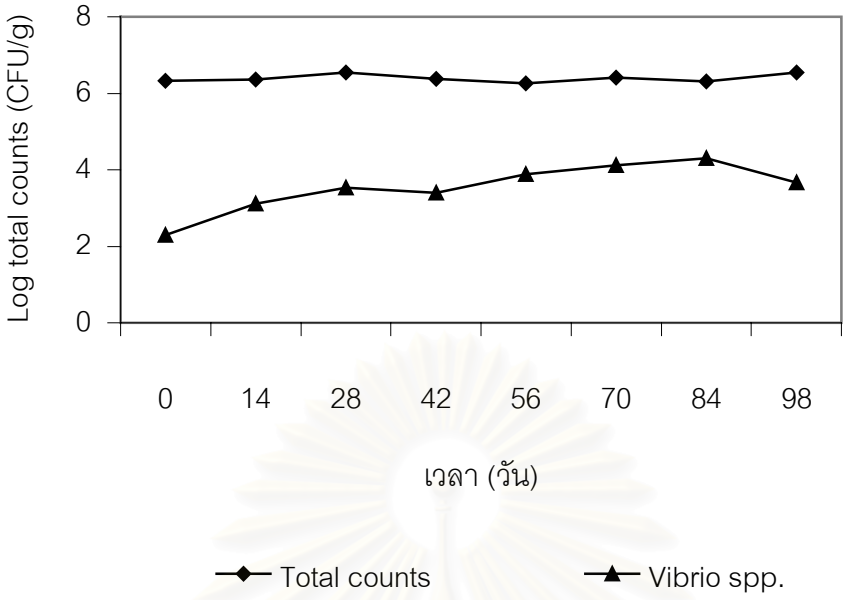
รูปที่ 3.14 น้ำหนักของกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



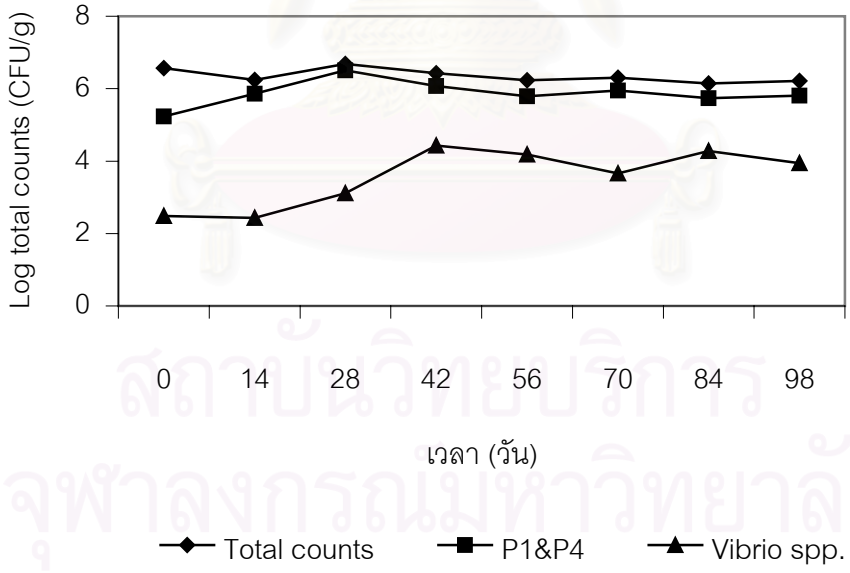
รูปที่ 3.15 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด และแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งบ่อควบคุมระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



รูปที่ 3.16 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด P1&P4 และ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งบ่อเติมแบคทีเรีย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



รูปที่ 3.17 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด และแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในตะกอนดินบ่อควบคุม ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3



รูปที่ 3.18 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด P1&P4 และ *Vibrio* spp. ในตะกอนดินบ่อเติมแบคทีเรีย ระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

ภาคผนวก ฉ

ปริมาตรแบคทีเรียที่เติมลงในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

1. **การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่** 1

สัปดาห์ที่	ปริมาตรแบคทีเรีย (มล.)
เริ่มต้น	5
2	10
3	30
4	30
5	30

2. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

สัปดาห์ที่	ปริมาตรแบคทีเรีย (ลิตร)	ระดับน้ำ (เมตร)
เริ่มต้น	40	0.6
2	30	0.6
3	15	0.7
4	10	0.8
5	15	1
6	20	1.1
7	20	1.1
8	20	1.2
9	50	1.3
10	100	1.3
11	100	1.2
12	100	1.2
13	100	1.3
14	100	1.4
15	120	1.4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ซ

ปริมาณอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำ

1. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

สัปดาห์ที่	กลุ่มควบคุม (กรัมต่อวัน)*	กลุ่มเติมแบคทีเรีย(กรัมต่อวัน)*
1	5.9	6.0
2	3.6	3.8
3	1.9	2.9
4	1.4	2.4

*ค่าเฉลี่ย (n=3)

2. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

อายุของกุ้ง	บ่อควบคุม (กก.ต่อวัน)	บ่อเติมแบคทีเรีย(กก.ต่อวัน)
เริ่มต้น - 1 เดือน	1.2	1.2
1 เดือน - 2 เดือน	3.4	3.4
2 เดือนถึงจับกุ้ง	6.7	6.7

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ซ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1

General Linear Models Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRT	2	C T
DAY	5	0 7 14 21 28

Number of observations in data set = 30

Dependent Variable: **พีเอชของน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1.99976333	0.39995267	9.97	0.0001
Error	24	0.96253333	0.04010556		
Corrected Total	29	2.96229667			

R-Square	C.V.	Root MSE	pH Mean
0.675072	2.770027	0.20026372	7.22966667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.01875000	0.01875000	0.47	0.5007
DAY	4	1.98101333	0.49525333	12.35	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.01875000	0.01875000	0.47	0.5007
DAY	4	1.98101333	0.49525333	12.35	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **พีเอชของน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.040106

Number of Means 2

Critical Range .1509

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	7.25467	15	T
A			
A	7.20467	15	C

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Dependent Variable: **อุณหภูมิน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	18.19500000	3.63900000	4.85	0.0033
Error	24	18.01466667	0.75061111		
Corrected Total	29	36.20966667			

R-Square	C.V.	Root MSE	TEMP Mean
0.502490	3.134887	0.86637816	27.63666667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	1.68033333	1.68033333	2.24	0.1476
DAY	4	16.51466667	4.12866667	5.50	0.0027

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	1.68033333	1.68033333	2.24	0.1476
DAY	4	16.51466667	4.12866667	5.50	0.0027

Duncan's Multiple Range Test for variable: **อุณหภูมิน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.750611

Number of Means 2

Critical Range .6529

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	27.8733	15	T
A			
A	27.4000	15	C

Dependent Variable: **ค่าการนำไฟฟ้า**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	29.53666667	5.90733333	10.01	0.0001
Error	24	14.16432000	0.59018000		
Corrected Total	29	43.70098667			

R-Square	C.V.	Root MSE	CONDUC Mean
0.675881	2.821546	0.76823174	27.22733333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	11.38368000	11.38368000	19.29	0.0002
DAY	4	18.15298667	4.53824667	7.69	0.0004

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	11.38368000	11.38368000	19.29	0.0002
DAY	4	18.15298667	4.53824667	7.69	0.0004

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ค่าการนำไฟฟ้า**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.59018

Number of Means 2

Critical Range .5790

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	27.8433	15	T
B	26.6113	15	C

Dependent Variable: **ความเค็มของน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	10.14466667	2.02893333	29.30	0.0001
Error	24	1.66200000	0.06925000		
Corrected Total	29	11.80666667			

R-Square	C.V.	Root MSE	SALT Mean
0.859232	1.669053	0.26315395	15.76666667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	2.82133333	2.82133333	40.74	0.0001
DAY	4	7.32333333	1.83083333	26.44	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	2.82133333	2.82133333	40.74	0.0001
DAY	4	7.32333333	1.83083333	26.44	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ความเค็มของน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.06925

Number of Means 2

Critical Range .1983

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	16.07333	15	T
B	15.46000	15	C

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Dependent Variable: **ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	28.51786667	5.70357333	20.13	0.0001
Error	24	6.79905333	0.28329389		
Corrected Total	29	35.31692000			

R-Square	C.V.	Root MSE	DO Mean
0.807485	7.729503	0.53225359	6.88600000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.87381333	0.87381333	3.08	0.0918
DAY	4	27.64405333	6.91101333	24.40	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.87381333	0.87381333	3.08	0.0918
DAY	4	27.64405333	6.91101333	24.40	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 0.283294

Number of Means 2

Critical Range .4011

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	7.0567	15	C
A			
A	6.7153	15	T

Dependent Variable: **ค่าความเป็นด่างรวม**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	4300.03333333	860.00666667	3.45	0.0172
Error	24	5978.66666667	249.11111111		
Corrected Total	29	10278.70000000			

R-Square	C.V.	Root MSE	ALK Mean
0.418344	21.01632	15.78325414	75.10000000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	240.83333333	240.83333333	0.97	0.3353
DAY	4	4059.20000000	1014.80000000	4.07	0.0117

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	240.83333333	240.83333333	0.97	0.3353
DAY	4	4059.20000000	1014.80000000	4.07	0.0117

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ค่าความเป็นด่างรวม**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 249.1111

Number of Means 2

Critical Range 11.89

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	77.933	15	C
A			
A	72.267	15	T

Dependent Variable: **ค่าบีโอดี**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	17452.28700000	3490.45740000	157.58	0.0001
Error	24	531.61466667	22.15061111		
Corrected Total	29	17983.90166667			

R-Square	C.V.	Root MSE	BOD Mean
0.970439	9.808497	4.70644357	47.98333333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	10.92033333	10.92033333	0.49	0.4893
DAY	4	17441.36666667	4360.34166667	196.85	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	10.92033333	10.92033333	0.49	0.4893
DAY	4	17441.36666667	4360.34166667	196.85	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ค่าบีโอดี**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 22.15061

Number of Means 2

Critical Range 3.547

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	48.587	15	T
A			
A	47.380	15	C

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Dependent Variable: **ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	631.03486669	126.20697334	13.09	0.0001
Error	84	810.14082393	9.64453362		
Corrected Total	89	1441.17569062			

R-Square	C.V.	Root MSE	NH_3 Mean
0.437861	91.1055	3.10556494	3.40875556

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	152.24043240	152.24043240	15.79	0.0001
DAY	4	478.79443429	119.69860857	12.41	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	152.24043240	152.24043240	15.79	0.0001
DAY	4	478.79443429	119.69860857	12.41	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 84 MSE= 9.644534

Number of Means 2

Critical Range 1.302

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	4.7094	45	T
B	2.1082	45	C

Dependent Variable: **ปริมาณไนไตรท์**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	4412.60921539	882.52184308	44.60	0.0001
Error	84	1662.06450827	19.78648224		
Corrected To	89	6074.67372366			

R-Square	C.V.	Root MSE	NO_2 Mean
0.726394	41.23332	4.44819989	10.78787778

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	16.97027290	16.97027290	0.86	0.3570
DAY	4	4395.63894249	1098.90973562	55.54	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	16.97027290	16.97027290	0.86	0.3570
DAY	4	4395.63894249	1098.90973562	55.54	0.0001

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณไนไตรท์**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 84 MSE= 19.78648

Number of Means 2

Critical Range 1.865

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	11.2221	45	C
A			
A	10.3536	45	T

Dependent Variable: **ปริมาณไนเตรท**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	19.49977886	3.89995577	74.41	0.0001
Error	84	4.40255804	0.05241141		
Corrected Total	89	23.90233690			

R-Square	C.V.	Root MSE	NO_3 Mean
0.815811	36.84385	0.22893537	0.62136667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.23726268	0.23726268	4.53	0.0363
DAY	4	19.26251618	4.81562904	91.88	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.23726268	0.23726268	4.53	0.0363
DAY	4	19.26251618	4.81562904	91.88	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณไนเตรท**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 84 MSE= 0.052411

Number of Means 2

Critical Range .09598

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	0.67271	45	T
B	0.57002	45	C

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Dependent Variable: **ปริมาณออโธฟอสเฟต**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	293.78918350	58.75783670	390.09	0.0001
Error	84	12.65264562	0.15062673		
Corrected Total	89	306.44182912			

R-Square	C.V.	Root MSE	PO_4 Mean
0.958711	14.80613	0.38810660	2.62125556

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	21.18674321	21.18674321	140.66	0.0001
DAY	4	272.60244029	68.15061007	452.45	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	21.18674321	21.18674321	140.66	0.0001
DAY	4	272.60244029	68.15061007	452.45	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณออโธฟอสเฟต**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 84 MSE= 0.150627

Number of Means 2

Critical Range .1627

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	3.10644	45	C
B	2.13607	45	T

Dependent Variable: **ความยาวกุ้ง**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	2.67338647	0.53467729	0.87	0.5043
Error	334	206.26223118	0.61755159		
Corrected Total	339	208.93561765			

R-Square	C.V.	Root MSE	LENGTH Mean
0.012795	8.856934	0.78584451	8.87264706

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.38523792	0.38523792	0.62	0.4302
DAY	4	2.28814855	0.57203714	0.93	0.4487

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.33663089	0.33663089	0.55	0.4608
DAY	4	2.28814855	0.57203714	0.93	0.4487

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ความยาวกุ้ง**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 334 MSE= 0.617552

Harmonic Mean of cell sizes= 169.0059

Number of Means 2

Critical Range .1682

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	8.90383	183	T
A			
A	8.83631	157	C

Dependent Variable: **น้ำหนักกุ้ง**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	14.34815407	2.86963081	1.00	0.4200
Error	334	962.11122828	2.88057254		
Corrected Total	339	976.45938235			

R-Square	C.V.	Root MSE	WEIGHT Mean
0.014694	27.39929	1.69722495	6.19441176

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	5.43093294	5.43093294	1.89	0.1706
DAY	4	8.91722113	2.22930528	0.77	0.5428

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	4.38785888	4.38785888	1.52	0.2180
DAY	4	8.91722113	2.22930528	0.77	0.5428

Duncan's Multiple Range Test for variable: **น้ำหนักกุ้ง**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 334 MSE= 2.880573

Harmonic Mean of cell sizes= 169.0059

Number of Means 2

Critical Range .3632

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	6.3115	183	T
A			
A	6.0580	157	C

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Dependent Variable: **อัตรารอดของกุ้ง**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	22863.33333333	4572.66666667	27.53	0.0001
Error	24	3986.66666667	166.11111111		
Corrected Total	29	26850.00000000			

R-Square	C.V.	Root MSE	Survival Mean
0.851521	19.82832	12.88840995	65.00000000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	963.33333333	963.33333333	5.80	0.0241
DAY	4	21900.00000000	5475.00000000	32.96	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	963.33333333	963.33333333	5.80	0.0241
DAY	4	21900.00000000	5475.00000000	32.96	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **อัตรารอดของกุ้ง**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 24 MSE= 166.1111

Number of Means 2

Critical Range 9.713

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	70.667	15	T
B	59.333	15	C

Dependent Variable: **ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	9.03465556	1.80693111	21.34	0.0001
Error	84	7.11407333	0.08469135		
Corrected Total	89	16.14872889			

R-Square	C.V.	Root MSE	TPC Mean
0.559465	6.526363	0.29101778	4.45911111

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.45227111	0.45227111	5.34	0.0233
DAY	4	8.58238444	2.14559611	25.33	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.45227111	0.45227111	5.34	0.0233
DAY	4	8.58238444	2.14559611	25.33	0.0001

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 84 MSE= 0.084691

Number of Means 2

Critical Range .1220

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	4.53000	45	T
B	4.38822	45	C

Dependent Variable: **ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp.**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	4.10038667	0.82007733	4.76	0.0007
Error	84	14.46326222	0.17218169		
Corrected Total	89	18.56364889			

R-Square	C.V.	Root MSE	VIBRIO Mean
0.220883	13.31194	0.41494782	3.11711111

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	1.25316000	1.25316000	7.28	0.0084
DAY	4	2.84722667	0.71180667	4.13	0.0042

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	1.25316000	1.25316000	7.28	0.0084
DAY	4	2.84722667	0.71180667	4.13	0.0042

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp.**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 84 MSE= 0.172182

Number of Means 2

Critical Range .1740

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	3.23511	45	T
B	2.99911	45	C

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3

General Linear Models Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
TRT	2	C T
DAY	8	0 14 28 42 56 70 84 98

Number of observations in data set = 48

Dependent Variable: **พีเอชของน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	2.99152500	0.37394063	5.42	0.0001
Error	39	2.69146667	0.06901197		
Corrected Total	47	5.68299167			

R-Square	C.V.	Root MSE	pH Mean
0.526400	3.163012	0.26270129	8.30541667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.19763333	0.19763333	2.86	0.0986
DAY	7	2.79389167	0.39912738	5.78	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.19763333	0.19763333	2.86	0.0986
DAY	7	2.79389167	0.39912738	5.78	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **พีเอชของน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.069012

Number of Means 2

Critical Range .1534

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	8.36958	24	T
A			
A	8.24125	24	C

Dependent Variable: **อุณหภูมิน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr> F
Model	8	43.50666667	5.43833333	143.49	0.0001
Error	39	1.47812500	0.03790064		
Corrected Total	47	44.98479167			

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

R-Square	C.V.	Root MSE	TEMP Mean
0.96714	0.625523	0.19468087	31.12291667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.88020833	0.88020833	23.22	0.0001
DAY	7	42.62645833	6.08949405	160.67	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.88020833	0.88020833	23.22	0.0001
DAY	7	42.62645833	6.08949405	160.67	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **อุณหภูมิน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.037901

Number of Means 2

Critical Range .1137

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	31.25833	24	T
B	30.98750	24	C

Dependent Variable: **ค่าการนำไฟฟ้า**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	77.09950000	9.63743750	140.51	0.0001
Error	39	2.67493125	0.06858798		
Corrected Total	47	79.77443125			

R-Square	C.V.	Root MSE	CONDUC Mean
0.966469	2.896046	0.26189307	9.04312500

Source	DF	Type I S	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	3.27085208	3.27085208	47.69	0.0001
DAY	7	73.82864792	10.54694970	153.77	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	3.27085208	3.27085208	47.69	0.0001
DAY	7	73.82864792	10.54694970	153.77	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ค่าการนำไฟฟ้า**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.068588

Number of Means 2

Critical Range .1529

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	9.30417	24	T
B	8.78208	24	C

Dependent Variable: **ความเค็มของน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	20.90166667	2.61270833	131.80	0.0001
Error	39	0.77312500	0.01982372		
Corrected Total	47	21.67479167			

R-Square	C.V.	Root MSE	SALINITY Mean
0.964331	3.110098	0.14079673	4.52708333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.72520833	0.72520833	36.58	0.0001
DAY	7	20.17645833	2.88235119	145.40	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.72520833	0.72520833	36.58	0.0001
DAY	7	20.17645833	2.88235119	145.40	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ความเค็มของน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.019824

Number of Means 2

Critical Range .08221

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	4.65000	24	T
B	4.40417	24	C

Dependent Variable: **ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	59.98688333	7.49836042	23.66	0.0001
Error	39	12.36131458	0.31695678		
Corrected Total	47	72.34819792			

R-Square	C.V.	Root MSE	DO Mean
0.829141	6.698431	0.56298915	8.40479167

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	3.63550208	3.63550208	11.47	0.0016
DAY	7	56.35138125	8.05019732	25.40	0.0001

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	3.63550208	3.63550208	11.47	0.0016
DAY	7	56.35138125	8.05019732	25.40	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.316957

Number of Means 2

Critical Range .3287

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	8.6800	24	T
B	8.1296	24	C

Dependent Variable: **ค่าความเป็นด่างรวม**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	1017.75000000	127.21875000	1.59	0.1608
Error	39	3128.91666667	80.22863248		
Corrected Total	47	4146.66666667			

R-Square	C.V.	Root MSE	ALK Mean
0.245438	9.596833	8.95704374	93.33333333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.08333333	0.08333333	0.00	0.9745
DAY	7	1017.66666667	145.38095238	1.81	0.1124

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.08333333	0.08333333	0.00	0.9745
DAY	7	1017.66666667	145.38095238	1.81	0.1124

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ค่าความเป็นด่างรวม**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 80.22863

Number of Means 2

Critical Range 5.230

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	93.375	24	C
A			
A	93.292	24	T

Dependent Variable: **ค่าบีโอดี**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	20541.12750000	2567.64093750	17.75	0.0001
Error	39	5641.13916667	144.64459402		
Corrected Total	47	26182.26666667			

R-Square	C.V.	Root MSE	BOD Mean
0.784544	37.15807	12.02682809	32.36666667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	2354.80083333	2354.80083333	16.28	0.0002
DAY	7	18186.32666667	2598.04666667	17.96	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	2354.80083333	2354.80083333	16.28	0.0002
DAY	7	18186.32666667	2598.04666667	17.96	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ค่าบีโอดี**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 144.6446

Number of Means 2

Critical Range 7.022

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	39.371	24	C
B	25.363	24	T

Dependent Variable: **ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	7.76556722	0.97069590	20.18	0.0001
Error	135	6.49265033	0.04809371		
Corrected Total	143	14.25821756			

R-Square	C.V.	Root MSE	NH_3 Mean
0.544638	176.9363	0.21930277	0.12394444

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.93637878	0.93637878	19.47	0.0001
DAY	7	6.82918844	0.97559835	20.29	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.93637878	0.93637878	19.47	0.0001
DAY	7	6.82918844	0.97559835	20.29	0.0001

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 135 MSE= 0.048094

Number of Means 2

Critical Range .07229

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	0.20458	72	C
B	0.04331	72	T

Dependent Variable: **ปริมาณไนไตรท์**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	0.00047428	0.00005928	4.55	0.0001
Error	135	0.00176066	0.00001304		
Corrected Total	143	0.00223494			

R-Square	C.V.	Root MSE	NO_2 Mean
0.212211	27.82429	0.00361136	0.01297917

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.00024806	0.00024806	19.02	0.0001
DAY	7	0.00022622	0.00003232	2.48	0.0201

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.00024806	0.00024806	19.02	0.0001
DAY	7	0.00022622	0.00003232	2.48	0.0201

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณไนไตรท์**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 135 MSE= 0.000013

Number of Means 2

Critical Range .001190

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	0.0142917	72	C
B	0.0116667	72	T

Dependent Variable: **ปริมาณไนเตรท**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	0.10748611	0.01343576	63.62	0.0001
Error	135	0.02850872	0.00021118		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Corrected Total	143	0.13599483		

R-Square	C.V.	Root MSE	NO_3 Mean
0.790369	45.46147	0.01453188	0.03196528

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.00844867	0.00844867	40.01	0.0001
DAY	7	0.09903744	0.01414821	67.00	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.00844867	0.00844867	40.01	0.0001
DAY	7	0.09903744	0.01414821	67.00	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณไนเตรท**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 135 MSE= 0.000211

Number of Means 2

Critical Range .004790

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	0.039625	72	C
B	0.024306	72	T

Dependent Variable: **ปริมาณออโธฟอสเฟต**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	0.02950633	0.00368829	65.80	0.0001
Error	135	0.00756722	0.00005605		
Corrected Total	143	0.03707356			

R-Square	C.V.	Root MSE	PO_4 Mean
0.795886	14.52198	0.00748689	0.05155556

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.00072900	0.00072900	13.01	0.0004
DAY	7	0.02877733	0.00411105	73.34	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.00072900	0.00072900	13.01	0.0004
DAY	7	0.02877733	0.00411105	73.34	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณออโธฟอสเฟต**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 135 MSE= 0.000056

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Number of Means 2

Critical Range .002468

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	0.053806	72	C
B	0.049306	72	T

Dependent Variable: **ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	59.47656000	7.43457000	1.99	0.0597
Error	71	264.88159500	3.73072669		
Corrected Total	79	324.35815500			

R-Square	C.V.	Root MSE	ORGANIC Mean
0.183367	16.24243	1.93150892	11.89175000

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	32.69124500	32.69124500	8.76	0.0042
DAY	7	26.78531500	3.82647357	1.03	0.4210

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	32.69124500	32.69124500	8.76	0.0042
DAY	7	26.78531500	3.82647357	1.03	0.4210

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ปริมาณสารอินทรีย์ในตะกอนดิน**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 71 MSE= 3.730727

Number of Means 2

Critical Range .8612

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	12.5310	40	C
B	11.2525	40	T

Dependent Variable: **ความยาวกุ้ง**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	2323.05643333	387.17607222	396.85	0.0001
Error	593	578.55075000	0.97563364		
Corrected Total	599	2901.60718333			

R-Square	C.V.	Root MSE	LENGTH Mean
0.800610	10.81726	0.98774169	9.13116667

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	339.75375000	339.75375000	348.24	0.0001
DAY	5	1983.30268333	396.66053667	406.57	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	339.75375000	339.75375000	348.24	0.0001
DAY	5	1983.30268333	396.66053667	406.57	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **ความยาวกุ้ง**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 593 MSE= 0.975634

Number of Means 2

Critical Range .1584

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	9.88367	300	T
B	8.37867	300	C

Dependent Variable: **น้ำหนักกุ้ง**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	6	13294.35900000	2215.72650000	323.38	0.0001
Error	593	4063.04973333	6.85168589		
Corrected Total	599	17357.40873333			

R-Square	C.V.	Root MSE	WEIGHT Mean
0.765918	34.46139	2.61757252	7.59566667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	1802.66666667	1802.66666667	263.10	0.0001
DAY	5	11491.69233333	2298.33846667	335.44	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	1802.66666667	1802.66666667	263.10	0.0001
DAY	5	11491.69233333	2298.33846667	335.44	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **น้ำหนักกุ้ง**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 593 MSE= 6.851686

Number of Means 2

Critical Range .4198

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	9.3290	300	T
B	5.8623	300	C

Dependent Variable: **จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	9.06836667	1.13354583	7.80	0.0001
Error	39	5.67103125	0.14541106		
Corrected Total	47	14.73939792			

R-Square	C.V.	Root MSE	WATER Mean
0.615247	10.81718	0.38132802	3.52520833

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.52291875	0.52291875	3.60	0.0653
DAY	7	8.54544792	1.22077827	8.40	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.52291875	0.52291875	3.60	0.0653
DAY	7	8.54544792	1.22077827	8.40	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.145411

Number of Means 2

Critical Range .2227

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	3.6296	24	T
A			
A	3.4208	24	C

Dependent Variable: **จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในดิน**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	0.68720000	0.08590000	2.48	0.0279
Error	39	1.34976667	0.03460940		
Corrected Total	47	2.03696667			

R-Square	C.V.	Root MSE	SOIL Mean
0.337364	2.920121	0.18603602	6.37083333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.01920000	0.01920000	0.55	0.4608
DAY	7	0.66800000	0.09542857	2.76	0.0199

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.01920000	0.01920000	0.55	0.4608
DAY	7	0.66800000	0.09542857	2.76	0.0199

Duncan's Multiple Range Test for variable: **จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในดิน**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.034609

Number of Means 2

Critical Range .1086

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	6.39083	24	C
A			
A	6.35083	24	T

Dependent Variable: **จำนวนแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในน้ำ**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	3.23547500	0.40443437	1.35	0.2497
Error	39	11.70159167	0.30004081		
Corrected Total	47	14.93706667			

R-Square	C.V.	Root MSE	*Vibrio* Mean
0.216607	43.58831	0.54775981	1.25666667

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.50020833	0.50020833	1.67	0.2042
DAY	7	2.73526667	0.39075238	1.30	0.2750

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.50020833	0.50020833	1.67	0.2042
DAY	7	2.73526667	0.39075238	1.30	0.2750

Duncan's Multiple Range Test for variable: **จำนวนแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในน้ำ**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.300041

Number of Means 2

Critical Range .3198

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	1.3588	24	C
A			
A	1.1546	24	T

Dependent Variable: **จำนวนแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในตะกอนดิน**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	8	30.62836667	3.82854583	5.64	0.0001
Error	39	26.48690000	0.67915128		
Corrected Total	47	57.11526667			

R-Square	C.V.	Root MSE	*Vibrio* Mean
0.536255	24.91002	0.82410635	3.30833333

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.00003333	0.00003333	0.00	0.9944
DAY	7	30.62833333	4.37547619	6.44	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
TRT	1	0.00003333	0.00003333	0.00	0.9944
DAY	7	30.62833333	4.37547619	6.44	0.0001

Duncan's Multiple Range Test for variable: **จำนวนแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในตะกอนดิน**

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 39 MSE= 0.679151

Number of Means 2

Critical Range .4812

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TRT
A	3.3092	24	T
A			
A	3.3075	24	C

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ว่าที่ร้อยตรีจันทสิงห์ ดวงบ้านเซ่า เกิดเมื่อวันจันทร์ที่ 8 สิงหาคม พ.ศ. 2520 ที่จังหวัดลพบุรี สำเร็จการศึกษา ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปีการศึกษา 2541 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2542

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย