

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

1. จุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (ดินตะกอน) สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตได้ และไนเตรทที่เติมลงในระบบไม่มีส่วนช่วยในการย่อยสลายและไม่มีผลในการยับยั้งการย่อยสลายของจุลินทรีย์
2. แบคทีเรีย SP-1 ที่แยกได้จากสารละลายดินตะกอนบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ หลังจากผ่านการทดสอบการย่อยสลายสารที่เป็นของเสีย สามารถเจริญได้บนอาหาร BT ที่มีแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตผสมอยู่ แต่ไม่สามารถย่อยสลายสารเหล่านั้นและไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเหลว แต่แบคทีเรีย SP-1 สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ในโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียได้ หลังจากตรวจสอบการย่อยสลายในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง และน้ำและดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้ง แต่ไม่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ในโตรเจน แบคทีเรีย SP-1 น่าจะเป็นแบคทีเรียกลุ่มแอมโมนิฟายอิง (ammonifying bacteria)
3. จุลินทรีย์ผสมในดินตะกอน (enriched consortiums derived from shrimp pond sediments) สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทได้ และสามารถแยกเชื้อได้ 3 ไอโซเลท คือ *Enterobacter* (2 ไอโซเลท) และ *Aeromonas* (1 ไอโซเลท)
4. กลุ่มแบคทีเรียผสมจากดินตะกอน (mixed cultures) (2 ไอโซเลทของ *Enterobacter* และ 1 ไอโซเลทของ *Aeromonas*) สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรทและฟอสเฟตได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทได้คล้าย แต่ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนกลุ่มแบคทีเรียจากดินตะกอนสามารถย่อยสลายไนไตรต์ได้ดีกว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทเล็กน้อย
5. ความสามารถในการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตด้วยจุลินทรีย์ผสมในดินตะกอนและจุลินทรีย์ผสมของ 2 ไอโซเลทของ *Enterobacter* และ 1 ไอโซเลทของ *Aeromonas* คล้ายคลึงกัน ดังนั้น อาจจะกล่าวได้ว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถทำงานประสานกันเทียบเท่ากับจุลินทรีย์ผสมในดินตะกอน

6. จุลินทรีย์ผสมทั้ง 2 แบบ มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายแอมโมเนีย ในเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตได้ดีกว่าแบคทีเรียเดี่ยว SP-1

7. จากการศึกษากการย่อยสลายแอมโมเนีย ในเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตของกลุ่มแบคทีเรียจากดินตะกอนในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีการสะสมของชีเลนอย่างมาก พบว่าการใช้กลุ่มแบคทีเรียในการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง เกิดการย่อยสลายและเกิดการสะสมของสารเหล่านั้นในปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรีย

8. การนำกลุ่มแบคทีเรียไปใช้เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ในกรณีที่มีการสะสมชีเลนสูงเกินไป จะทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนีย ในเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตสูงขึ้น เป็นเหตุให้คุณภาพน้ำไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

อภิปรายผลการทดลอง

คุณภาพน้ำโดยรวมของบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่นำเอาน้ำและดินตะกอนมาทำการศึกษาพบว่า ความเป็นกรดค่า อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลาย แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์ และฟอสเฟต อยู่ในเกณฑ์คุณภาพน้ำที่ดีและเหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ดังนั้น จึงนับว่าคุณภาพน้ำดังกล่าวมีความเหมาะสมต่อการทดลองในครั้งนี้

ดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ มีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายของเสียบางชนิด ได้แก่ แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตได้ ภายใต้อากาศที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท ซึ่งลักษณะทางกายภาพของการศึกษาภายใต้สภาวะทั้งสองจะเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยดินตะกอนจะเปลี่ยนสีจากน้ำตาลอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ ส่วนลักษณะทางกายภาพของชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 26 และภาพที่ 35)

จากการนำตัวอย่างน้ำและตัวอย่างดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำมาทำการศึกษาว่าในดินตะกอนมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต ภายใต้อากาศที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท ระยะเวลา 28 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อและชุดควบคุมแบบไม่ใส่ดินตะกอน พบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียของชุดทดลองทั้งสองสภาวะจะค่อย ๆ ลดลงจนมีค่าต่ำสุดในวันที่ 11 (0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากนั้นความเข้มข้นของแอมโมเนียจะคงที่เรื่อยไปตลอดการทดลองเช่นเดียวกัน ในชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อความเข้มข้นของแอมโมเนียจะลดลงได้ช้า แต่ในชุดควบคุมแบบไม่ใส่ดินตะกอน ความเข้มข้นของแอมโมเนียจะเพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดทดลอง และลดลงได้ช้ากว่า (ภาพที่ 29 และภาพที่ 36)

ความเข้มข้นของไนเตรทของชุดทดลองทั้งสองสภาวะ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน เป็นเพราะปริมาณไนเตรทที่เติมลงไปมีความเข้มข้นต่างกัน โดยที่ภายใต้สภาวะที่มี

ออกซิเจน ความเข้มข้นของไนเตรทจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุดในวันที่ 6 (14.80 มิลลิกรัมต่อลิตร) แล้วความเข้มข้นจะค่อย ๆ ลดลงในวันที่ 8 แต่ความเข้มข้นของไนเตรทภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทจะค่อย ๆ ลดลงจนมีค่าต่ำสุดในวันที่ 6 (6.59 มิลลิกรัมต่อลิตร) และความเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 8 จากการทดลองทั้งสองสภาวะ พบว่ามีไนเตรทสะสมอยู่ในระบบ ซึ่งความเข้มข้นที่สะสมอยู่นั้นมีค่ามากกว่าในวันที่เริ่มต้นทำการทดลอง (1.94 และ 15.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ส่วนความเข้มข้นในชุดควบคุมทั้งสองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 30 และภาพที่ 37)

การเปลี่ยนแปลงของไนไตรต์ภายใต้สภาวะทั้งสองมีทิศทางเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกัน โดยที่ความเข้มข้นของไนไตรต์จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ลดลงและคงที่เช่นเดียวกัน แต่ความเข้มข้นของไนไตรต์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทจะลดลงและคงที่ (ในวันที่ 11) ช้ากว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (ในวันที่ 8) สืบเนื่องมาจากไนเตรทที่เติมลงไปภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทเข้มข้นสูงกว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน จึงทำให้การเปลี่ยนแปลงของไนไตรต์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ช้า เปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นของไนไตรต์ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งสองสภาวะ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบไม่ใส่ดินตะกอน ความเข้มข้นของไนไตรต์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน จะเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าและลดลงได้ช้ากว่าชุดทดลองนั้น แต่ปริมาณของไนไตรต์จะเกิดการสะสมภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท (ภาพที่ 31 และภาพที่ 38)

ความเข้มข้นของฟอสเฟตทั้งสองสภาวะ จะมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นและลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเช่นเดียวกับชุดควบคุมแบบไม่ใส่ดินตะกอน แต่ปริมาณของฟอสเฟตในชุดควบคุมนี้จะมีค่าความเข้มข้นของฟอสเฟตสูงมากกว่า และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นของฟอสเฟตจะเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยความเข้มข้นจะค่อย ๆ ลดลง ทั้งนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของสารในระบบ (ภาพที่ 32 และภาพที่ 39)

เมื่อศึกษาการย่อยสลายสารที่เป็นของเสีย ได้แก่ แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทแล้ว แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนสามารถย่อยสลายสารเหล่านั้นได้ดีกว่าและเร็วกว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเท่านั้น และจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนยังสามารถทำงานได้ดีกว่าการปล่อยให้สารเหล่านั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี สืบเนื่องจากปริมาณของแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตที่ลดลงได้เร็วกว่า

ผลรวมของแก๊สที่เกิดการเปลี่ยนแปลงในชุดทดลองและชุดควบคุมแบบไม่ใส่ดินตะกอน เกิดจากการสร้างและการนำไปใช้ของจุลินทรีย์ ซึ่งปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นในชุดทดลอง

จะมีปริมาณมากกว่า แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนสามารถสร้างแก๊สได้มากกว่า (ในวันที่ 6) จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งเท่านั้น และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ พบว่าการเปลี่ยนแปลงในชุดควบคุมนี้ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของสารในระบบ ซึ่งปริมาณแก๊สที่มีสูงมากกว่าในชุดทดลองและชุดควบคุมแบบไม่ใส่ดินตะกอนทำให้เกิดการสะสมของแก๊สในระบบ (ภาพที่ 33 และภาพที่ 40) ซึ่งแก๊สที่เกิดขึ้นทั้งสองสภาวะ เกิดมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่สมบูรณ์ของเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (Alexander, 1961) ส่วนแก๊สที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท เกิดจากกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน ได้เป็นแก๊สไนโตรเจน รวมทั้งไนตรัสออกไซด์ (N_2O) (สมศักดิ์ วังใน, 2528)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตของชุดทดลอง ตลอดระยะเวลา 28 วัน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (ภาพที่ 41) พบว่า ปริมาณของแอมโมเนียที่ค่อย ๆ ลดลงนั้นจะเปลี่ยนรูปไปเป็นไนไตรต์และไนเตรทตามลำดับ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากกระบวนการไนตริฟิเคชัน ซึ่งเป็นการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนที่สามารถย่อยสลายแอมโมเนียเป็นไปไนเตรท (มันสิน ตันกุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา, 2539) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านั้นจะใช้แอมโมเนียและไนไตรต์เป็นแหล่งพลังงานและใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2525) จะเห็นได้ว่าขณะที่แอมโมเนียลดปริมาณลง ไนไตรต์จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของไนเตรทซึ่งจะมีค่าสูงสุดในวันที่ 6 สาเหตุที่ตรวจวัดวิเคราะห์ไนไตรต์ได้ในระดับที่ต่ำนั้น เป็นเพราะไนไตรต์ส่วนใหญ่จะพบอยู่ในน้ำปริมาณน้อย ไม่สะสมในสิ่งแวดล้อม และจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไนเตรท (Armstrong, 1975) ทำให้ไนเตรทที่ตรวจวัดได้มีปริมาณสูงกว่าไนไตรต์ แล้วความเข้มข้นของไนไตรต์และไนเตรทจะค่อย ๆ ลดลงในวันที่ 8 และคงที่เรื่อยไปตลอดการทดลองเช่นเดียวกัน ส่วนความเข้มข้นของไนเตรทที่ลดลง เกิดจากกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน (denitrification) ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนจะย่อยสลายไนเตรทให้กลายเป็นไนไตรต์และก๊าซไนโตรเจน (Atlas & Bartha, 1997) ปริมาณของไนเตรทจึงค่อย ๆ ลดลง สำหรับในช่วงท้ายของการศึกษามีปริมาณของไนเตรทสะสมอยู่ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของฟอสเฟตในการทดลองจะมีการเพิ่มขึ้นและลดลงตลอดการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกระบวนการเปลี่ยนอินทรีย์ฟอสเฟตให้เป็นอนินทรีย์ฟอสเฟต (Atlas & Bartha, 1997) เป็นผลให้ฟอสเฟตเพิ่มปริมาณขึ้น และสาเหตุที่ทำให้ฟอสเฟตลดลง อาจเกิดจากกระบวนการที่จุลินทรีย์นำเอาอนินทรีย์ฟอสเฟตไปใช้ในการเจริญและเพื่อเป็นองค์ประกอบของเซลล์ (สมศักดิ์ วังใน, 2528) ซึ่งจะให้ผลแตกต่างกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ ซึ่งความเข้มข้นของฟอสเฟตที่ลดลงอาจเนื่องมาจากการตกตะกอนและการดูดซับของอนุภาคของดินตะกอน (บรรจง เทียนส่งรัมย์, 2542) ก็ได้

ส่วนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตของชุดทดลอง ตลอดระยะเวลา 28 วัน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท (ภาพที่ 42) พบว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับแอมโมเนีย ไนไตรต์และฟอสเฟตนั้น ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับสภาวะที่มีออกซิเจน ต่างกันที่การเปลี่ยนแปลงของไนเตรท ซึ่งไนเตรทที่ลดลงภายใต้สภาวะนี้เกิดจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนสามารถเจริญอยู่ได้เมื่อมีทั้งออกซิเจนและไนเตรทรวมกัน (สมศักดิ์ วังใน, 2528) และสามารถสร้างเอนไซม์เพอร์พลาสไมคไนเตรรีดักเตส ออกมาจากเซลล์บริเวณไซโตพลาสซึม ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะนำไนเตรทเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ได้และจะไม่ถูกยับยั้งการทำงานด้วยออกซิเจน ทำให้ในสภาวะที่มีออกซิเจนจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถนำไนเตรทผ่านไซโตพลาสซึมเข้าไปในเซลล์เพื่อใช้เป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้เช่นเดียวกับออกซิเจน เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นจากการทำงานของจุลินทรีย์เหล่านี้ว่า aerobic nitrate respiration (Jon et al., 1995)

จากการศึกษาการย่อยสลายสารที่เป็นของเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ได้แก่ แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท มีทิศทางไปในทางเดียวกัน ซึ่งปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรต์และฟอสเฟตจะค่อย ๆ ลดลง แต่ไนเตรทจะเกิดการสะสมอยู่ในระบบ ทำให้สามารถสรุปได้ว่า (1) จุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยเฉพาะที่มีอยู่ในดินตะกอนสามารถย่อยสลายสารที่เป็นของเสียเหล่านั้นได้เร็วกว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำ ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท (2) จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนและในน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีส่วนช่วยทำให้เกิดการย่อยสลายสารเหล่านั้นได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ (3) ไนเตรทที่เติมลงไปไม่มีส่วนช่วยและยับยั้งการย่อยสลายสารเหล่านั้นของจุลินทรีย์

จากสารละลายดินตะกอนที่ผ่านการทดสอบการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต พบว่าการย่อยสลายสารเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้สามารถแยกแบคทีเรียได้หลายไอโซเลท ซึ่งจากจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรีย SP-1 เป็นแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารดังกล่าวได้ทั้งหมด จึงนำเอาแบคทีเรีย SP-1 มาทดสอบการย่อยสลายสารดังกล่าว

แบคทีเรีย SP-1 เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ดิคลีแกรมบวกที่สามารถเจริญได้บนอาหารแข็ง BT ที่มีการเติมแหล่งของแอมโมเนีย ไนเตรด ไนไตรต์และฟอสเฟต ซึ่งแยกได้จากสารละลายดินตะกอนหลังจากที่ทดสอบการย่อยสลายสารที่เป็นของเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำทั้งสองสภาวะ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของสมพร ธนวิริยะกุล (2535), ศิริโฉม เหลืองอ่อน (2536) และเปรมสุดา สมาน (2539) ได้ศึกษาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียจากน้ำและดินจากบ่อเลี้ยงกุ้ง พบแบคทีเรียรูปท่อนดิคลีแกรมบวก ซึ่งแบคทีเรียดิคลีแกรมบวกนี้ นับว่าเป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่มี

ความสำคัญเนื่องจากว่ามีปริมาณมาก และมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำและดิน โดยมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนได้ดีที่สุด รองลงมาคือไคติน แป้งและไขมัน (Alexander, 1971) จะเห็นได้ว่าแบคทีเรีย SP-1 น่าที่จะมีบทบาทในการย่อยสลายแอมโมเนีย ในไตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ ซึ่งสารดังกล่าวเป็นส่วนประกอบอยู่ในอาหารกุ้ง เศษอาหารกุ้งที่เหลือตกค้าง ซากสิ่งมีชีวิต เปลือกกุ้ง และสิ่งขับถ่ายจากกุ้ง (Kriengkrai, 1993 ; Macintorh & Phillips, 1992)

เมื่อนำแบคทีเรีย SP-1 มาตรวจสอบการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต โดยใช้อาหาร DMSM ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนและไนเตรท ระยะเวลา 10 วัน แบคทีเรีย SP-1 ไม่สามารถที่จะเจริญโดยใช้สารเหล่านี้เป็นแหล่งไนโตรเจน และเป็นแหล่งของฟอสเฟตได้ สังเกตจากไม่พบว่ามีมีการย่อยสลายรวมทั้งการเจริญมีค่า O.D. ลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากแบคทีเรีย SP-1 ไม่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ได้ โดยเฉพาะในระบบที่ทำการศึกษามีความเข้มข้นของสารที่ต้องการทดสอบการย่อยสลาย คือ แอมโมเนีย ไนไตรต์ ไนเตรทและฟอสเฟตมีความเข้มข้นสูง มีผลต่อการขนาดและการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย SP-1 เช่น ถ้ามีความเข้มข้นของแอมโมเนียที่สูงเกินไป จะไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย SP-1 โดยที่แอมโมเนียอิสระจะผ่านเข้าสู่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย SP-1 ทำให้การเจริญชะงัก (Anthonisen, 1974) หรือความเข้มข้นของไนไตรต์ที่มีค่าสูง จะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ของแบคทีเรีย SP-1 (สมศักดิ์ วังใน, 2528) หรือแบคทีเรีย SP-1 ต้องอาศัยแบคทีเรียอื่นในการทำงานร่วมกัน (ดวงพร คันธโชติ, 2545) เพื่อย่อยสลายสารเหล่านั้น สำหรับการย่อยสลายแอมโมเนียและไนเตรทของแบคทีเรีย SP-1 โดยใช้น้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่าแบคทีเรีย SP-1 สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ติดมากับน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งได้ โดยเปลี่ยนรูปของสารอินทรีย์ดังกล่าวเป็นแอมโมเนีย แต่แบคทีเรีย SP-1 ไม่สามารถที่จะเจริญโดยใช้แอมโมเนียและไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ สังเกตจากไม่พบการย่อยสลาย นอกจากนี้การเจริญของแบคทีเรีย SP-1 ยังมีค่า O.D. ลดลง และเมื่อนำแบคทีเรีย SP-1 ไปตรวจสอบการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรทและไนไตรต์อีกครั้ง โดยใช้น้ำและดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่า แบคทีเรีย SP-1 สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ติดมากับน้ำและดินตะกอนได้ โดยเปลี่ยนรูปไปเป็นแอมโมเนียเช่นเดียวกัน แต่แบคทีเรีย SP-1 ไม่สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรทและไนไตรต์ได้ จากการตรวจสอบความสามารถในการย่อยสลายทั้งสองการทดลองข้างต้น โดยใช้น้ำและดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ พบว่าแบคทีเรีย SP-1 ไม่สามารถนำแอมโมเนีย ไนเตรทและไนไตรต์ไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน สังเกตได้จากไม่เกิดการย่อยสลายสารดังกล่าวถึงแม้ในการทดลองของชุดที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อจะมีแหล่งของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติติดมากับน้ำและดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งเพิ่มขึ้น แต่การย่อยสลายสารเหล่านั้นก็ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ ส่วนแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้นทั้งสองการทดลอง อาจเกิดจาก

การย่อยสลายสารอินทรีย์ในโตรเจน ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรีย SP-1 น่าจะเป็นแบคทีเรียกลุ่มแอมโมนิฟายอิง (ammonifying bacteria)

จากการทดลองข้างต้น พบว่าเชื้อเดี่ยวหรือแบคทีเรีย SP-1 มีความสามารถในการย่อยสลายสารดังกล่าวได้ต่ำ จึงได้นำเอาดินตะกอนจากนาุ้งมาเป็นแหล่งจุลินทรีย์เพื่อใช้ศึกษาการย่อยสลายสารดังกล่าวต่อไป เพื่อให้ได้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารดังกล่าว ทำได้โดยการทำให้เชื้อได้รับความสมบูรณ์ (enrichment culture technique) วิธีนี้จะเติมสารดังกล่าวลงไป ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อไปกระตุ้นให้จุลินทรีย์ที่ต้องการเจริญ (ดวงพร คันธโชติ, 2545) จากนั้นจะทำการ subculture จนไม่มีดินตะกอนเหลืออยู่ แล้วนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสารละลายดังกล่าวที่ได้มาทดสอบการย่อยสลายต่อไป

จากการนำเอาตัวอย่างน้ำและตัวอย่างดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำมาทำการศึกษาว่ากลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอน (enriched consortiums derived from shrimp pond sediments) สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท ระยะเวลา 15 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อและชุดควบคุมแบบไม่ใส่ดินตะกอน พบว่า จุลินทรีย์จากดินตะกอนบ่อเลี้ยงกุ้ง สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท โดยที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียจะค่อย ๆ ลดลงจากในวันที่เริ่มต้นทำการทดลอง จนมีค่าต่ำสุดในวันที่ 14 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นของแอมโมเนียจะค่อย ๆ ลดลง ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและสารเคมีในระบบ

กลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถย่อยสลายไนเตรทได้ โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน กลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถย่อยสลายไนเตรท ทำให้ความเข้มข้นของไนเตรทเพิ่มขึ้นและลดลงตลอดการทดลอง ซึ่งในช่วงท้ายของการทดลองพบว่าปริมาณไนเตรทจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนทำให้เกิดการสะสม ส่วนการเปลี่ยนแปลงของไนเตรทภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท กลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถย่อยสลายไนเตรทได้จาก 15.15 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 8.81 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วความเข้มข้นของไนเตรทที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจนเกิดการสะสมในช่วงท้ายการทดลองเช่นเดียวกับสภาวะที่มีออกซิเจน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นของไนเตรทจะค่อย ๆ ลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของสารในระบบ

กลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถย่อยสลายไนไตรต์ได้เช่นเดียวกัน ซึ่งความเข้มข้นของไนไตรต์จะค่อย ๆ ลดลงจากในวันที่เริ่มต้นทำการทดลอง จนมีค่าต่ำสุดในวันที่ 14 ความแตกต่างระหว่างสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท คือ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ความเข้มข้นของไนไตรต์จะลดลงได้เร็วกว่าสภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท สังเกตจาก

ปริมาณไนไตรต์ที่ลดลงและคงที่ในวันที่ 9 แต่ความเข้มข้นของไนไตรต์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทจะลดลงได้ช้ากว่า ทั้งนี้เนื่องมาจากปริมาณไนเตรทที่เดิมลงไปมีความเข้มข้นต่างกัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นของไนไตรต์จะลดลงได้ช้ากว่าเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของสารในระบบ

กลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้เช่นเดียวกันภายใต้สภาวะทั้งสอง ฟอสเฟตที่ลดลงมีทิศทางไปในทางเดียวกัน คือฟอสเฟตจะค่อยๆ ลดลงจากในวันที่เริ่มต้นทำการทดลอง และมีค่าต่ำสุดในวันที่ 14 ซึ่งความเข้มข้นของฟอสเฟตที่ลดลงจะเร็วกว่าและเหลืออยู่ในระบบน้อยกว่าชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อ

เมื่อศึกษาการย่อยสลายสารที่เป็นของเสีย ได้แก่ แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทโดยมีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนแล้ว แสดงให้เห็นว่ากลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถย่อยสลายสารเหล่านั้นได้ ซึ่งกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถทำงานได้เร็วกว่าการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีที่เกิดขึ้นกับสารในระบบ และเมื่อเปรียบเทียบกับกรย่อยสลายของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนบ่อเลี้ยงกุ้ง ในระดับความเข้มข้นของสารที่ต่ำกว่าชุดทดลอง พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถย่อยสลายสารที่มีความเข้มข้นสูงกว่าสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติที่ติดมากับบ่อเลี้ยงกุ้งได้ดีกว่าจุลินทรีย์ในชุดควบคุมแบบที่ไม่มีการเติมสารและเติมกลุ่มจุลินทรีย์ แสดงว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เติมลงไปมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตดีกว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ

สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตของชุดทดลอง ตลอดระยะเวลา 15 วัน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท ดังที่ได้กล่าวไปแล้วว่าแอมโมเนีย ไนเตรทและไนไตรต์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบที่ทำการศึกษามาจากการทำงานของจุลินทรีย์ด้วยกระบวนการไนตริฟิเคชัน โดยสังเกตจากปริมาณแอมโมเนียและไนไตรต์ที่ลดลง แต่เกิดการสะสมของไนเตรท และการที่กระบวนการไนตริฟิเคชันเกิดขึ้นได้เร็วอาจเป็นเพราะมีปัจจัยต่าง ๆ ส่งเสริม ได้แก่ ปริมาณออกซิเจน อเลบาสเตอร์ และ ลอยด์ (Alabaster & Lloyd, 1980) พบว่าถ้ามีปริมาณออกซิเจนในน้ำมากเกินไปจะทำให้กระบวนการไนตริฟิเคชันเกิดขึ้นเร็ว, อุณหภูมิ บอร์ชาร์ด (Borchardt, 1966) รายงานว่าช่วงอุณหภูมิที่จะเกิดปฏิกิริยาได้จะอยู่ในช่วงระหว่าง 15-35 องศาเซลเซียส และพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันเกิดได้สูงสุด, ความเป็นกรด่าง ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันเกิดได้ดีในช่วง 7.5 ถึง 8.5 (Jones & Hood, 1980) เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับสภาวะที่ใช้ในการทดลอง ส่วนการเปลี่ยนแปลงของฟอสเฟตที่เกิดขึ้นของการศึกษาการย่อยสลายทั้งสองกลุ่มจุลินทรีย์ และทั้งสองสภาวะจะค่อย ๆ ลดปริมาณลง ซึ่งอาจเกิดจากการย่อยสลายอินทรีย์ฟอสเฟตไปใช้ในการสร้างเซลล์ หรืออาจ

เกิดจากฟอสเฟตตกตะกอนและถูกดูดซับอยู่ระหว่างอนุภาคของดินตะกอน สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในชุดควบคุมแบบฆ่าเชื้อทั้งแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของสารในระบบที่ทำการศึกษาศาสตร์การเปลี่ยนแปลงในชุดควบคุมแบบไม่ไคดินตะกอน เกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตะกอนบ่อเลี้ยงกุ้ง

จากการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตของกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนทั้งสองสภาวะ พบว่าการเจริญของจุลินทรีย์ในช่วงแรกเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยที่เป็นเช่นนี้เพราะจุลินทรีย์กำลังปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ จึงไม่มีการแบ่งเซลล์ทันทีทันใด ดังนั้นเซลล์ในระยะนี้จึงมีจำนวนเท่าเดิม (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) จากนั้นการเจริญจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น แต่ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท จำนวนเซลล์จะเพิ่มขึ้น ได้ช้ากว่า อาจเป็นเพราะปริมาณไนเตรทที่เติมลงไป ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทมีค่าสูงกว่า และการที่จำนวนเซลล์ของทั้งสองสภาวะมีค่าเพิ่มขึ้นทั้งนี้อาจเนื่องจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่เติมลงไป สามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำและดินตะกอนเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานเพื่อการเจริญ (Grega & Evan, 1994) หรือสามารถใช้แอมโมเนียและไนไตรต์เป็นแหล่งพลังงาน และนำพลังงานที่ได้ดึงแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้เพื่อการเจริญ สังเกตได้จากปริมาณแอมโมเนียและไนไตรต์ที่ลดลง ซึ่งช่วงนี้อาจเป็นช่วงที่จุลินทรีย์มีการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว แล้วการเจริญของจุลินทรีย์จะค่อยๆ ลดลงที่เป็นเช่นนี้น่าจะสันนิษฐานว่า จำนวนประชากรของแบคทีเรียที่น่าที่จะผ่านช่วงจำนวนสูงสุดและลงมาแล้ว นั่นคือช่วง stationary phase ซึ่งในช่วงนี้ของจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มเกิดขึ้นเร็ว ที่เป็นเช่นนี้เพราะจุลินทรีย์น่าจะมีช่วง stationary phase สั้น ซึ่งการเกิดสภาวะนี้ของจุลินทรีย์โดยทั่วไปอาจนานหลายชั่วโมง หลังจากนั้นจุลินทรีย์จะเริ่มเข้าสู่ระยะสุดท้ายในการเจริญ นั่นคือ death phase ซึ่งระยะนี้จำนวนเซลล์จะเริ่มตายลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการขาดแคลนสารอาหารและมีปริมาณสารพิษเพิ่มมากขึ้นจนจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ ระยะนี้อาจมีช่วงเวลานาน 2 ถึง 3 วัน (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2534) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมแบบไม่เติมสารที่ต้องการทดสอบและกลุ่มจุลินทรีย์ การเจริญของจุลินทรีย์ในชุดควบคุมนี้เกิดขึ้นเช่นเดียวกับชุดทดลอง แต่ปริมาณของจุลินทรีย์ที่ตรวจวัดได้มีค่าต่ำกว่ามาก

จากการทดลองทั้งสองสภาวะ ไม่พบว่ามีแก๊สเกิดขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดมาจากไม่เกิดการย่อยสลายที่สมบูรณ์ของจุลินทรีย์ต่าง ๆ จึงไม่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น หรือไม่เกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน จึงไม่มีแก๊สไนโตรเจนเกิดขึ้น สังเกตจากการสะสมของไนเตรทในระบบ

จากการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต โดยใช้น้ำและดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งกับสารที่ต้องการทดสอบของกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรท พบว่า (1) กลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนสามารถย่อยสลายสารเหล่านั้นได้ดีกว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ

(2) และสามารถย่อยสลายสารเหล่านั้นได้ไม่แตกต่างกัน สืบเนื่องจากปริมาณสารที่ลดลงและการเจริญของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น (3) และพบว่าไนเตรทที่เติมลงไปเพื่อให้กลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนที่เติมลงไปใช้เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเช่นเดียวกับออกซิเจน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไนเตรทไม่มีส่วนช่วยในการย่อยสลายสารเหล่านั้นเร็วขึ้นและไม่ยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

หลังจากนำกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนมาทดสอบการย่อยสลายสารแล้วทำการคัดแยกและจัดจำแนกจีโนส *Enterobacter* และ *Aeromonas* เป็นแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตได้ สาเหตุที่พบ *Enterobacter* อาจเนื่องมาจากแบคทีเรียชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไป ในดิน ในน้ำ ในน้ำเสียและสามารถเจริญได้ในสภาพที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศก็ได้ คุณสมบัติที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ สามารถรีดิวส์ไนเตรทไปเป็นไนไตรต์ได้ (นันทนา อรุณฤกษ์, 2537) เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน สอดคล้องกับการรายงานของ โบนิน (Bonin, 1996) พบว่าสามารถแยก *Enterobacter* จากตะกอนจากอ่าวทะเล ซึ่งสามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นแอมโมเนียได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่สำคัญที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันในน้ำเสียทั่วไป และสอดคล้องกับการรายงานของ พัททุเรีย และคณะ (Patureau et al., 2000) พบว่า *Enterobacter* เป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้ในไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในสภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มแอโรบิก ดีไนตริ-ฟายเออร์ (aerobic denitrifier bacteria) ความสามารถของแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae คือ ตรึงไนโตรเจนได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ (กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน, 2539) นอกจากนี้ *Enterobacter* ยังใช้เป็นแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำ ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ *Enterobacter* จะออกซิไดซ์สารประกอบคาร์โบไฮเดรตและสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบหรือโครงสร้างแบบง่าย ๆ เมื่อย่อยสลายแล้วผลผลิตที่ได้คือ คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ซึ่งจะกระจายตัวอยู่ในน้ำกลายเป็นแหล่งคาร์บอนไดออกไซด์ของพืชน้ำ ในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำหรือไม่มีออกซิเจน (Boyd, 1990 ; Ehrlich et al., 1989) *Enterobacter* เป็นส่วนประกอบอยู่ในผลิตภัณฑ์ย่อยสลายเซลลูโลส (อรพิน ภูมิภมร, 2526 อ้างถึง กรมพัฒนาที่ดิน, 2524) และเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่ประกอบอยู่ในผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปเพื่อกำจัดของเสียในนาุ้ง (ธนิต ผิวนิม, 2536)

สาเหตุที่พบ *Aeromonas* คือ สามารถแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ ทั้งในน้ำจืด น้ำเค็ม น้ำเสีย (Gracey et al., 1982) และในน้ำกร่อยที่มีความเค็มไม่เกิน 10 ส่วนในพัน (ชลอ ลิมสุวรรณ, 2528) อีกเหตุผลหนึ่งที่พบ *Aeromonas* จากการศึกษาค้นคว้าเนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้

เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในกุ้ง (Trust, 1986) ได้กล่าวไปแล้วข้างต้นว่าเชื้อชนิดนี้จะมียูแล้วตามธรรมชาติ แต่เมื่อใดก็ตามที่สภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม เกิดการสะสมของสารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่ทำให้คุณภาพน้ำเสื่อมลง ทำให้กุ้งหรือสัตว์น้ำต่าง ๆ เกิดความเครียด อ่อนแอ จึงเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ได้ง่าย (Halder et al., 1989) แบคทีเรียชนิดนี้มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับ *Enterobacter* คือสามารถเจริญได้ในสภาพที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศ (Post, 1993) เป็น chemoorganotroph จึงสามารถใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารและให้พลังงาน และสามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรต์ได้ (Liobre & Gacutan, 1987) นอกจากนี้ *Aeromonas* ยังเป็นแบคทีเรียพวก aerobic nitrate respiration ที่สามารถใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้เช่นเดียวกับออกซิเจน (Jon et al., 1995) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของศิริโสม เหลืองอ่อน (2536) ได้ศึกษาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำและตะกอนจากนาุ้งกุลาดำ พบแบคทีเรีย *Aeromonas* ซึ่งสามารถย่อยสลายโปรตีนและไขมันได้ และยังสอดคล้องกับการรายงานของ เปรมสุดา สมาน (2539) ได้ศึกษาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียจากน้ำและดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบแบคทีเรีย *Aeromonas* เช่นเดียวกัน

จากการคัดแยกและจำแนกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายแอมโมเนียไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตจากกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนพบ *Enterobacter* 2 ไอโซเลท และ *Aeromonas* 1 ไอโซเลท ซึ่งแบคทีเรียทั้งสามไอโซเลทนี้เป็นตัวแทนของกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารต่าง ๆ เหล่านั้น และในขั้นตอนการตรวจสอบความสามารถในการย่อยสลายในขั้นตอนต่อไป ได้นำแบคทีเรียที่แยกได้จากกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนมาผสมกันเป็นกลุ่มแบคทีเรีย (mixed cultures) ไปใช้ในการศึกษา ทั้งนี้เนื่องจากว่า แบคทีเรียดังกล่าวสามารถย่อยสลายสารเหล่านั้นได้ดีและเป็นแบคทีเรียที่ได้มาจากดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้ง ซึ่งแบคทีเรีนานี้จะคุ้นเคยกับสภาพที่จะทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไปได้

กระบวนการย่อยสลายในทางชีวภาพจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในกลุ่มจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่ปะปนกัน อัตราการเจริญและการย่อยสลายสารต่าง ๆ จะมีเปอร์เซ็นต์ความถี่สูงขึ้นเมื่อใช้จุลินทรีย์หลายชนิดผสมกัน จุลินทรีย์ชนิดแรกสามารถย่อยสลายสารตั้งต้นได้ ให้ผลผลิตเป็นสารที่ถูกย่อยเกิดขึ้น แล้วมีจุลินทรีย์ชนิดที่สองสามารถย่อยสลายสารที่เกิดขึ้นต่อไปได้ จึงเป็นการเกี่ยวข้องกันทางเมตาบอลิซึม ที่เรียกว่า โคเมตาบอลิซึม ทำให้การย่อยสลายสมบูรณ์ยิ่งขึ้น (Stoner, 1994) ในการย่อยสลายสารนั้นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ Autotrophic microorganism และ heterotrophic microorganism การที่จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์มาอยู่ร่วมกันนั้น จะมีการย่อยสลายสารต่างๆ แล้วสร้างเป็นกรดอะมิโน เปปไทด์ น้ำตาล โพลีแอลกอฮอล์ วิตามิน เอนไซม์ สารควบคุมการเจริญ (Growth factor) สารปฏิชีวนะและสารพิษ (Toxin) (Murakami &

Alexander, 1989) ซึ่งจะมีผลช่วยกระตุ้นให้การย่อยสลายเกิดได้ดีขึ้นหรือไม่ก็ยับยั้งการย่อยสลาย (Lewis et al., 1984)

ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมจะมีผลโดยตรงต่อปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นภายในกลุ่มของ จุลินทรีย์ เช่น อุณหภูมิ ความเข้มข้นอาหาร และการขนส่งมวลสาร (Wiggins & Alexander, 1988) ช่วงระยะเวลา lag phase ในการย่อยสลายสารต่าง ๆ จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร โคแฟกเตอร์ และสารอาหารที่จำเป็น เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (Lewis et al., 1984) ดังนั้นการเติมสาร อนินทรีย์บางชนิดลงไปจะทำให้เกิดการย่อยสลายได้ดีขึ้นซึ่งจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์จะมีความ ต้องการสารอนินทรีย์ในการย่อยสลายสารที่ย่อยได้ยาก (xenobiotic) แตกต่างกัน (Swindoll et al., 1988)

ในการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมักจะใช้จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ในการย่อยสลายเพราะ จุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการย่อยสลายสารได้ต่างกัน ดังนั้นการนำเอาจุลินทรีย์ หลายสายพันธุ์มาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย จะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายของเสียในน้ำดีขึ้น จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำจะย่อยสลายสารอินทรีย์โดยมันจะสร้างเอนไซม์แล้วปล่อยออกมาย่อยสลายสาร อินทรีย์ต่าง ๆ (Staley & Stanley, 1986) ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงนำเอาแบคทีเรียที่แยกได้จาก ดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาค่า *Enterobacter* 2 สายพันธุ์ และ *Aeromonas* 1 สายพันธุ์ มาผสมกัน เพื่อใช้ย่อยสลายแอมโมเนีย ไนโตรเจน ไนเตรตและฟอสเฟตซึ่งเป็นของเสียที่เกิดขึ้นในบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยคาดว่ากลุ่มแบคทีเรียนี้จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายของเสียเหล่านั้นได้ดีขึ้นเมื่อนำมา ตรวจสอบการย่อยสลายในห้องปฏิบัติการ

จากการนำตัวอย่างน้ำและตัวอย่างดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาค่ามาตรวจสอบการย่อย สลายแอมโมเนีย ไนเตรต ไนโตรเจนและฟอสเฟตของกลุ่มแบคทีเรียทั้งสองสภาวะดังกล่าว ระยะ เวลา 15 วัน ผลการทดลองสอดคล้องกับการใช้กลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอน โดยพบว่ากลุ่ม แบคทีเรียสามารถย่อยสลายสารแอมโมเนีย ไนเตรต ไนโตรเจนและฟอสเฟตได้ และเมื่อเปรียบเทียบ สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนและไนเตรตแล้ว พบว่ากลุ่มแบคทีเรียสามารถย่อย สลายสารเหล่านั้นได้ไม่แตกต่างกัน เว้นแต่การย่อยสลายไนโตรเจนภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (94.78 เปอร์เซ็นต์) ดีกว่าภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนและไนเตรต (81.06 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้อาจเนื่อง มาจากการเติมไนเตรตลงไปในระบบมีความแตกต่างกันและแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทที่แยกได้นั้น น่าที่จะเลือกใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนมากกว่าที่จะเลือกใช้ไนเตรต สังเกตได้จากปริมาณ ไนเตรตที่สะสมในช่วงท้ายของการทดลองในสภาวะที่มีออกซิเจนและในสภาวะที่มีออกซิเจนและ ไนเตรต ซึ่งไนเตรตที่เติมลงไปไม่มีส่วนช่วยในการย่อยสลายสารเหล่านั้นเร็วขึ้นและไม่มีผลไป ยับยั้งการย่อยสลายสารของแบคทีเรีย ดังนั้นสามารถที่จะสรุปได้ว่ากลุ่มแบคทีเรียที่แยกได้ เป็นกลุ่มแบคทีเรียตัวแทนของกลุ่มจุลินทรีย์จากดินตะกอนบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีความสามารถในการย่อย

สลายสารที่เป็นของเสีย ได้แก่ แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต จากการศึกษาของ เปรมสุตา สมาน (2539) พบว่า แบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ของ *Bacillus* สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* สายพันธุ์เดียว และจากการรายงานของ เพดโร และคณะ (Pedro et al., 1991) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์เดียว (pure culture) กับการใช้ลินทรีย์หลายสายพันธุ์ (mixed culture) ที่แยกได้จากน้ำมันและ phenol พบว่าการใช้จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์สามารถย่อยสลาย Benzene, Toluene และ Xylene ได้ดีกว่าการใช้จุลินทรีย์เพียงสายพันธุ์เดียว ซึ่งกระบวนการย่อยสลายในทางชีวภาพจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในกลุ่มจุลินทรีย์ต่างๆ ที่ปะปนกัน อัตราการเจริญและการย่อยสลายสารต่าง ๆ จะมีเปอร์เซ็นต์ความถี่สูงขึ้นเมื่อใช้จุลินทรีย์หลายชนิดผสมกัน จุลินทรีย์ชนิดแรกสามารถย่อยสลายสารตั้งต้นได้ ให้ผลผลิตเป็นสารที่ถูกย่อยเกิดขึ้น แล้วมีจุลินทรีย์ชนิดที่สองสามารถย่อยสลายสารที่เกิดขึ้นต่อไปได้ จึงเป็นการเกี่ยวข้องกันทางเมตาบอลิซึม ที่เรียกว่า โคเมตาบอลิซึม ทำให้การย่อยสลายสมบูรณ์ยิ่งขึ้น (Stoner, 1994) จากการศึกษาการย่อยสลายสารดังกล่าวข้างต้น ทำให้สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรียผสมทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถย่อยสลายสารที่เป็นของเสียดังกล่าวได้ดีกว่าแบคทีเรีย SP-1 และได้เลือกสภาวะออกซิเจนมาใช้ในการศึกษาการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนไตรต์ ไนเตรทและฟอสเฟตในบ่อเลี้ยงกุ้งจำลองต่อไป

หลังจากนำกลุ่มแบคทีเรีย (mixed cultures) มาทำการทดสอบความสามารถและวัดประสิทธิภาพในการย่อยสลายแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตในบ่อเลี้ยงกุ้งจำลอง พบว่าลักษณะทางกายภาพของบ่อเลี้ยงกุ้งจำลอง จากผลการทดลองพบว่าหลังจากที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียลงไปบ่อชุดทดลองทั้งสามครั้ง จะสังเกตได้ชัดเจนว่าบ่อชุดทดลองจะขุ่นมากกว่าบ่อชุดควบคุม แต่หลังจากที่เวลาผ่านไป 2 วัน น้ำในบ่อชุดทดลองจะใสขึ้นและใสมากกว่าบ่อชุดควบคุม ที่เป็นเช่นนี้น่าจะสันนิษฐานว่า กลุ่มแบคทีเรียที่เติมลงไปอาจจะไปช่วยย่อยสลายอาหารที่กุ้งกินไม่หมดและอาหารที่ละลายในน้ำ รวมไปถึงสิ่งปฏิกูลที่กุ้งขับถ่ายออกมา ซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้จะมีมากขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง ทำให้น้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งชุดทดลองใสขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

อุณหภูมิ, ความเป็นกรดด่างและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ทั้งชุดทดลองและชุดควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน และช่วงของอุณหภูมิ, ความเป็นกรดด่างและปริมาณออกซิเจนละลายที่ทำการตรวจวัดได้ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำจำลอง เป็นค่าที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงและการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ

แอมโมเนีย ที่สะสมอยู่ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ส่วนใหญ่เกิดจากการเน่าสลายของอินทรีย์ ซึ่งเป็นพวกเศษอาหารที่เหลือ ของเสียจากสัตว์น้ำ (ศิริ ทุกข์วิเศษ, 2527) ซึ่งอินทรีย์ไนโตรเจนเหล่านี้ประกอบด้วยกรดอะมิโน เพพไทด์ ยูเรีย เป็นต้น หลังจากเติมกลุ่มแบคทีเรียลงไปบ่อชุดทดลองครั้ง

ที่ 1 ความเข้มข้นของแอมโมเนียของชุดทดลองมีการผันแปรไม่แน่นอนแต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในสัปดาห์ที่ 1 ส่วนชุดควบคุมมีทิศทางการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับชุดทดลอง แต่ปริมาณแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้นมีค่าต่ำกว่า ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากกลุ่มแบคทีเรียและจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้งจำลองย่อยสลายกรดอะมิโนและเพปไทด์ได้แอมโมเนีย โดยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน หรืออาจเกิดจาก เมื่อเริ่มต้นเลี้ยงกุ้งนั้นน้ำที่ใช้มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่น้อยมากแอมโมเนียไม่สามารถเปลี่ยนเป็นไนไตรต์และไนเตรทตามปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันได้ ทำให้แอมโมเนียมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น (Moriarty et al., 1987) หรืออาจเกิดจากปริมาณสารอินทรีย์ (ดินตะกอน) ที่มีอยู่มากเกินไปก็จะยับยั้งการเกิดกระบวนการไนตริฟิเคชันของกลุ่มแบคทีเรียและจุลินทรีย์ต่าง ๆ แต่กลุ่มแบคทีเรียและจุลินทรีย์เหล่านั้นจะย่อยสลายสารอินทรีย์ แทนทำให้ปริมาณแอมโมเนียเพิ่มมากขึ้น และในภาวะนี้จะมีการสร้างสารที่เป็นพิษต่อการเจริญทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์ลด (Pahm & Alexander, 1993) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ มาร์ซเซน และวิกเซอร์ (Marxsen & Witzer, 1991) ได้พบว่าความเข้มข้นของซัสเตรทที่มากเกินไปสามารถยับยั้งการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำ ธรรมชาติ ทำให้อัตราการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำลดลงได้ และการที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียในชุดทดลองเพิ่มขึ้น ประกอบกับมีปริมาณแพลงตอนพืชน้อยในสัปดาห์แรก แอมโมเนียจึงไม่ถูกใช้ไป

หลังจากเติมกลุ่มแบคทีเรียครั้งที่ 2 ในชุดทดลอง ความเข้มข้นของแอมโมเนียในสัปดาห์ที่ 2 ค่อย ๆ ลดลงและความเข้มข้นของแอมโมเนียจะคงที่ในสัปดาห์ที่ 3 ผลการทดลองสอดคล้องกับการรายงานของ เออริค และคณะ (Ehrlich et al., 1991) อธิบายว่า แบคทีเรียเมื่อเริ่มเติมลงในบ่อจำเป็นต้องปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมและอาหารใหม่ จึงทำให้ปริมาณแอมโมเนียในสัปดาห์ที่ 1 สูงกว่าเริ่มต้นทำการทดลอง เมื่อแบคทีเรียสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ได้แล้ว จึงสามารถย่อยสลายแอมโมเนียได้ ทำให้ปริมาณแอมโมเนียในสัปดาห์ที่ 2 มีค่าลดลงจากสัปดาห์ที่ 1 และสอดคล้องกับการรายงานของชลิท โนระดี (2535) ที่กล่าวว่าเมื่อเติมแบคทีเรีย *Bacillus* ลงไปในบ่อซีเมนต์เลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีพื้นบ่อเป็นดินเหนียว แอมโมเนียในสัปดาห์แรกจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้น และจะลดลงในสัปดาห์ที่สอง หลังจากนั้นความเข้มข้นของแอมโมเนียจะเพิ่มขึ้นอีกในสัปดาห์ถัดไป แต่ความเข้มข้นของแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้นไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำ นอกจากเติมกลุ่มแบคทีเรียลงไป ในชุดทดลองแล้ว ยังมีการเติมน้ำที่มีการปรับความเค็มให้เหมาะสมลงไป ในชุดควบคุมและชุดทดลองด้วย เออริค (Ehrlich, 1988) พบว่าแอมโมเนียจะลดลงเมื่อมีการเติมแบคทีเรียลงไป ทั้งนี้ น่าจะมาจากการเติมน้ำลงไป ในบ่อด้วย ทำให้ปริมาณแอมโมเนียที่มีอยู่เจือจางลง

แต่หลังจากการเติมกลุ่มแบคทีเรียครั้งที่ 3 ในชุดทดลองสัปดาห์ที่ 4 ปริมาณแอมโมเนียของชุดทดลองจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม อาจมีสาเหตุมาจากการให้อาหารกุ้งที่เพิ่ม

มากขึ้น ขั้วถ่ายของเสียและส่วนหนึ่งมาจากการสลายตัวของสารอินทรีย์ใน ไตรเจนที่สะสมอยู่ บอยด์ (Boyd, 1989) ซึ่งเป็นไปตามผลการทดลองของ เรยส์ และ ลาวสัน (Reyes & Lawson, 1996) ที่กล่าวว่า การให้อาหารเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณแอมโมเนียสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ เมื่อในบ่อเลี้ยงสัตว์ น้ำเกิดสภาพขาดออกซิเจน จะเกิดกระบวนการ nitrate reduction คือ แบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการ ออกซิเจน ดึงออกซิเจนจากไนเตรทมารับอิเล็กตรอน ทำให้ไนเตรทเปลี่ยนสภาพเป็นแอมโมเนีย (Alexander, 1961) แอมโมเนียที่เกิดขึ้นแบคทีเรียจะนำมาสร้างโปรตีน (สรสิทธิ์ วัชรโรทยาน, 2511) แพลงตอนพืชนำแอมโมเนียไปใช้เป็นธาตุอาหารและถ้ามีออกซิเจนเพียงพอ จะเปลี่ยนสภาพเป็น ไนไตรต์และไนเตรท โดยกระบวนการไนตริฟิเคชัน เกิดจากกิจกรรมของไนตริฟายอิงแบคทีเรีย (Alexander, 1961) ที่อาจติดมากับน้ำและดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้ง หรืออาจเกิดจากการสะสมสาร อินทรีย์พวกเศษอาหารและสิ่งขั้วถ่ายของเสียจากกุ้งเพิ่มมากขึ้นทำให้กระบวนการไนตริฟิเคชันถูก ขยับยั้ง เป็นเหตุให้แอมโมเนียของชุดทดลองค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นมากกว่าชุดควบคุม แต่อย่างไรก็ตาม หลังจากเติมกลุ่มแบคทีเรียลงไป ในบ่อเลี้ยงกุ้งชุดทดลองทั้งสามครั้ง ปริมาณแอมโมเนียที่เพิ่มสูงขึ้น ทั้งในชุดทดลองและชุดควบคุมอยู่ในช่วงที่ปลอดภัยและเหมาะสมต่อการเจริญของกุ้งกุลาดำตัวเต็ม วัย ซึ่งความเข้มข้นของแอมโมเนียในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำไม่ควรมีความเข้มข้นมากกว่า 4.26 มิลลิกรัม ต่อลิตร (Chen et al., 1990)

ไนไตรต์ ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำของชุดทดลองและชุดควบคุมมีแนวโน้มของความเข้มข้น เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง โดยความเข้มข้นของไนไตรต์ของชุดทดลองมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ความเข้มข้นของไนไตรต์ที่เพิ่มขึ้นมีค่าสูงกว่าที่ ลิว (Liu, 1989) ได้รายงานไว้ในบ่อเลี้ยงกุ้ง ไม่ควรมีไนไตรต์เกิน 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งในบ่อเลี้ยงกุ้งจำลองมีไนไตรต์สูงถึง 3.26 มิลลิกรัมต่อ ลิตร แต่ที่ความเข้มข้นดังกล่าวกุ้งกุลาดำสามารถดำรงชีวิตได้อย่างปกติ ผลการทดลองนี้สอดคล้อง กับการรายงานของ วิคกินส์ (Wickins, 1976) ว่ากุ้งกุลาดำที่มีขนาด 9 ถึง 10 เซนติเมตร ปริมาณของ ไนไตรต์ในบ่อเลี้ยงไม่ควรสูงกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และการที่กุ้งสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในขณะที่ ความเข้มข้นของไนไตรต์เพิ่มสูงขึ้น อาจเป็นเพราะว่า พืชของไนไตรต์ต่อการดำรงชีวิตของกุ้งยังไม่ ทราบแน่ชัด เพราะเม็ดเลือดของกุ้งไม่มี haemoglobin มีแต่ haemocyanin ซึ่งมีทองแดงเป็นส่วน ประกอบ ซึ่งไม่ทำปฏิกิริยากับไนไตรต์ แต่ไนไตรต์อาจจะซึมเข้าไปในตัวกุ้งโดยผ่านทางผนังเซลล์ ของเหงือก แต่ก็เพียงยึดเกาะผนังเซลล์เม็ดเลือดไว้เฉย ๆ (Wolvekamp & Waterman, 1966) กุ้งสามารถขจัดไนไตรต์จากผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงได้ (บรรจง เทียนสงรัสมิ, 2542)

การเพิ่มขึ้นของไนไตรต์หลังจากเติมกลุ่มแบคทีเรียครั้งที่หนึ่งและครั้งที่สอง น่าจะ มาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์จำพวกโปรตีนในบ่อเลี้ยงสภาพที่มีออกซิเจนมาก ทำให้แอมโมเนีย เกิดกระบวนการออกซิไดซ์เปลี่ยนเป็นไนไตรต์ (Boyd, 1982) เมื่อพิจารณาพบว่าความ เข้มข้นของแอมโมเนียที่ลดลงในวันที่ 12 ของการทดลองน่าจะถูกแบคทีเรียแปรสภาพให้กลายเป็น

ไนไตรต์ หรืออาจเกิดจากในบางช่วงอาจเกิดสภาวะขาดออกซิเจนได้โดยเฉพาะในเวลากลางคืนซึ่งในสภาวะขาดออกซิเจนเป็นสาเหตุทำให้กระบวนการออกซิเดชันจากไนไตรต์เป็นไนเตรทเกิดไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน ซึ่งเปลี่ยนจากไนเตรทเป็นไนไตรต์ และ เมื่อให้อาหารแก่กุ้ง หรือเมื่อกุ้งถ่ายมูลออกมาจะมีสารอินทรีย์ในน้ำเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้จะถูกเปลี่ยนแปลงด้วยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชันเฉพาะช่วงที่เกิดไนไตรต์โดยเชื้อกลุ่ม

Nitrosomonas หรือ *Nitrosococcus* ที่ติดมากับน้ำและดินตะกอนจากบ่อกุ้ง ทำให้เกิดการสะสมของไนไตรต์ (Alexander, 1971) แต่โดยทั่วไปแล้ว การสะสมไนไตรต์ในน้ำ พบว่าไม่ได้เกิดจากกระบวนการ ไนตริฟิเคชัน แต่จะเกิดจากการรีดิวซ์สารไนเตรทโดยเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในสภาพไร้ออกซิเจนมากกว่า (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2524) ซึ่งสอดคล้องกับที่ อเล็กซานเดอร์ (Alexander, 1961) กล่าวว่าไนไตรต์ ที่เกิดขึ้นและสะสมในบ่อเลี้ยงนั้นน่าจะเกิดจากกระบวนการไนเตรท รีดักชัน กล่าวคือพื้นบ่อเกิดสภาพขาดอากาศ ทำให้แบคทีเรียไม่ต้องการออกซิเจนจากไนเตรทมารับอิเล็กตรอน ทำให้ไนเตรทแปรสภาพเป็นไนไตรต์

หลังจากเติมกลุ่มแบคทีเรียครั้งที่ 3 ความเข้มข้นของไนไตรต์เริ่มลดลง ซึ่งค่าที่ลดลงมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม อาจเป็นเพราะแบคทีเรียผสมที่เติมลงไป จะช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์โดยเฉพาะโปรตีนแล้วนำไปใช้สร้างเซลล์ส่วนหนึ่ง จึงทำให้ส่วนที่เหลือที่จะเปลี่ยนเป็นไนไตรต์นั้นน้อยลง ปริมาณไนไตรต์ในน้ำของชุดทดลองจึงน้อยกว่าชุดควบคุม ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของนิเวศน์ เรืองพานิช และคณะ (2534) ที่ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ พบว่าปริมาณไนไตรต์จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง ในบ่อที่มีการเติมแบคทีเรียและไม่เติมแบคทีเรีย หลังจากนั้นความเข้มข้นของไนไตรต์ของบ่อที่มีการเติมแบคทีเรียลงไปจะมีค่าลดลง ทั้งนี้จะเป็นเพราะบ่อที่มีการเติมแบคทีเรียลงไป มีการสะสมสารอินทรีย์ต่ำ ทำให้แบคทีเรียที่มีอยู่ในดินที่ใช้รองพื้นบ่อมีการเจริญเติบโตมากพอที่จะย่อยสลายสารอินทรีย์ แบคทีเรียที่เติมลงไปอาจเป็นส่วนที่มากเกินไป การเติมแบคทีเรียจะให้ผลแตกต่างกันเมื่อในบ่อมีการสะสมสารอินทรีย์มากขึ้น เช่น ในสัปดาห์ที่ 4 แบคทีเรียในดินที่ใช้รองพื้นบ่อแต่เดิมมีจำนวนเซลล์ไม่เพียงพอที่จะย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อเติมแบคทีเรียลงไปก็สามารถลดปริมาณไนไตรต์ให้ต่ำลงได้ และสอดคล้องกับผลการทดลองของ ชลิต โนระดี (2535) ที่ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ พบว่าไนไตรต์จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงในบ่อที่มีการเติมแบคทีเรียและจะมีค่าลดลงในช่วงท้ายของการทดลองเช่นเดียวกัน

ไนเตรท ในสัปดาห์แรกทั้งชุดควบคุมและชุดทดลองมีความผันแปรตลอดการทดลอง ซึ่งชุดทดลองมีปริมาณไนเตรทเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า โดยเฉพาะในวันที่เริ่มต้นทำการทดลอง น่าจะเกิดจากกระบวนการไนตริฟิเคชันภายในบ่อเลี้ยงกุ้งในสภาวะที่ใช้ออกซิเจนของแบคทีเรียเปลี่ยนแอมโมเนียและไนไตรต์เป็นไนเตรทได้ดีกว่าชุดควบคุม หลังจากนั้นความเข้มข้นของไนเตรทจะ

ลดลงอย่างรวดเร็วจนมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมในวันที่ 2 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทำงานของแบคทีเรียในสถานะไร้ออกซิเจนเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรต์ ทำให้เกิดการสะสมของไนไตรต์ หรืออาจเป็นเพราะแหล่งตอนพีชนำเอาไนเตรทไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต ทำให้ปริมาณไนเตรทลดลงอย่างรวดเร็ว หรืออาจเกิดจากไนเตรทอาจถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สไนโตรเจนด้วยกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน ซึ่งเป็นกิจกรรมของดีไนตริฟายอิง แบคทีเรีย (Alexander, 1961) ในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ความเข้มข้นของไนเตรทจะค่อย ๆ ลดลงจนมีค่าต่ำสุดเป็น 0.41 มิลลิกรัมต่อลิตร อาจเป็นเพราะไนเตรทบางส่วนตกตะกอนลงไปในดิน ทำให้มีการสะสมของไนเตรทในดินมากกว่าน้ำ (ชลิต โนระดี, 2535) และอาจเป็นเพราะเหตุผลเดียวกับในวันที่ 2 ที่ความเข้มข้นของไนเตรทลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ความเข้มข้นของไนเตรทจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง ซึ่งชุดทดลองมีปริมาณไนเตรทเพิ่มสูงมากกว่า สามารถอธิบายได้ว่า ไนเตรทที่เพิ่มขึ้นมาจากการทำงานของแบคทีเรียที่เปลี่ยนไนไตรต์เป็นไนเตรท ด้วยกระบวนการไนตริฟิเคชัน ทำให้ไนเตรทค่อย ๆ เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในขณะเดียวกันปริมาณไนไตรต์ลดลง ความเข้มข้นของไนเตรทที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 มีค่า 1.75 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีแนวโน้มว่าไนเตรทจะเกิดการสะสมอยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้งจำลอง ที่เป็นเช่นนี้แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรียที่เติมลงไปไม่สามารถเปลี่ยนรูปของไนเตรทเป็นแก๊สไนโตรเจนได้ และพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเท่านี้กุ้งสามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ

ฟอสเฟต พบว่าความเข้มข้นของฟอสเฟตจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง โดยที่ชุดทดลองมีปริมาณฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม ซึ่งความเข้มข้นที่เพิ่มสูงสุดมีค่าเป็น 0.16 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสัปดาห์ที่ 4 สำหรับคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งของสินีนาฏ ศิริวุฒินานนท์ (2535) จะต้องมีฟอสเฟตน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับผลการรายงานของแฟรดาซ์ มาเหล็ม (2537) ศึกษาปริมาณฟอสเฟตที่เกิดขึ้นในบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่า ฟอสเฟตจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงจาก 0.027 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 3.405 มิลลิกรัมต่อลิตร และยังสอดคล้องกับการรายงานของขงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตรและคณะ (2532) ที่กล่าวว่าความเข้มข้นของฟอสเฟตจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงจาก 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 3.05 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในการทดลองครั้งนี้ยังถือได้ว่าฟอสเฟตที่เกิดขึ้นไม่น่าที่จะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง ชิโรต้า (Shirota, 1966) รายงานโดยทั่วไปมีปริมาณฟอสเฟตในแหล่งธรรมชาติมีน้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แหล่งน้ำที่มีปริมาณฟอสเฟตสูงกว่า 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร จัดเป็นแหล่งน้ำที่เกิดปัญหามลภาวะ (ไมตรี คงแก้วและจารุวรรณ สมศิริ, 2528) ฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้น น่าจะเกิดจากเศษอาหารเหลือตกค้าง ซากของสิ่งมีชีวิต เปลือกกุ้งและสิ่งขับถ่ายของกุ้งล้วนแต่เป็นแหล่งที่ให้ฟอสเฟตกับบ่อเลี้ยงกุ้งทั้งสิ้น กลุ่มแบคทีเรียและจุลินทรีย์ตามธรรมชาติจะย่อยสลายอินทรีย์ฟอสเฟตเหล่านั้นให้กลายเป็นอนินทรีย์ฟอสเฟต ทำให้ปริมาณฟอสเฟตที่ตรวจวัดได้มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง ส่วนความเข้มข้นของฟอสเฟตในชุดควบคุม

คุณมีค่าลดลงในสัปดาห์ที่ 4 อาจเป็นเพราะในชุดควบคุมไม่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียลงไปช่วยย่อยสลายอินทรีย์ฟอสฟอรัสให้เป็นอนินทรีย์ฟอสฟอรัส จุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติอาจนำเอาอนินทรีย์ฟอสเฟตไปใช้เพื่อสร้างเซลล์ และอาจเกิดจากการเติมน้ำลงไปในบ่อ เป็นเหตุให้ฟอสฟอรัสในบ่อควบคุมมีค่าลดลง

การเจริญของแบคทีเรีย หลังจากเติมกลุ่มแบคทีเรียลงไปทั้งสามครั้งในชุดทดลองแบคทีเรียจะค่อยๆ เพิ่มจำนวนขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะแบคทีเรียสามารถย่อยสลายเศษอาหารที่เหลือตกค้าง และสิ่งขับถ่ายของกุ้งนำไปใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวน ทั้งในน้ำและดินตะกอน แต่แบคทีเรียที่ทำการตรวจนับจำนวนในดินตะกอนบ่อกุ้งมีปริมาณมากกว่าในน้ำ เนื่องจากดินก้นบ่อมีการสะสมตะกอนของสารอินทรีย์ต่าง ๆ เช่นอาหารที่เหลือตกค้าง แบคทีเรียจึงใช้สารอินทรีย์เหล่านั้นเป็นแหล่งอาหารเพื่อการเจริญ ซึ่งในน้ำจะมีปริมาณสารอินทรีย์น้อยกว่า จึงพบปริมาณแบคทีเรียในน้ำน้อยกว่าในดินตะกอน และการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียจะค่อย ๆ ลดลงหลังจากเวลาผ่านไป 2 วัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในบ่อชุดทดลองมีค่าสูง ซึ่งไนโตรเจนมีพิษต่อเซลล์แบคทีเรีย ส่งผลให้เกิดยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แต่การเจริญที่ลดลงยังพบว่ามีความสูงจำนวนเซลล์มากกว่าในชุดควบคุม สำหรับการเจริญในชุดควบคุมพบว่าการเจริญของจุลินทรีย์และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการศึกษา

สารอินทรีย์ ปรากฏว่าบ่อที่มีการเติมแบคทีเรียผสมลงไปปริมาณสารอินทรีย์ลดลงมากกว่าบ่อที่ไม่ได้เติมกลุ่มแบคทีเรีย จากร้อยละ 1.84 เหลือ 1.76 ในระยะเวลา 7 วัน และลดลงเหลือร้อยละ 1.43 ระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นและสะสมอยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้งจำลองของชุดควบคุมอาจถูกแบคทีเรียผสมย่อยสลายทำให้ลดปริมาณลง สอดคล้องกับการรายงานของ ชลิต โนระดี (2535) ทำการศึกษาปริมาณสารอินทรีย์ที่เปลี่ยนแปลงไปในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำเมื่อเติมแบคทีเรียลงไป พบว่าปริมาณสารอินทรีย์ในบ่อที่เติมแบคทีเรียจะลดลงมากกว่าบ่อที่ไม่ได้เติม ส่วนในชุดควบคุมปริมาณสารอินทรีย์จะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์แรก อาจเป็นเพราะในน้ำและดินตะกอนของชุดควบคุมมีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายน้อย ประกอบกับระยะเวลาในการเลี้ยงผ่านไปปริมาณอาหารที่เหลือตกค้างและสิ่งขับถ่ายของกุ้งเพิ่มมากขึ้น เป็นเหตุให้เกิดการสะสมของสารอินทรีย์ จากนั้นปริมาณสารอินทรีย์จะลดต่ำลงเป็นเพราะแบคทีเรียตามธรรมชาติสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์นั้นได้ ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ลดลง สอดคล้องกับการรายงานของ นิวุฒิ หวังชัย (2534) ที่ทำการศึกษากุ้งกุลาดำในชั้นผิวบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำบริเวณรอบ ๆ ป่าชายเลน อำเภอบางปะอิน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา มีแนวโน้มลดลงเช่นกันจาก 2.03 เปอร์เซ็นต์ เหลือ 1.79 เปอร์เซ็นต์ หลังจาก 4 เดือนผ่านไป

จากการควบคุมคุณภาพน้ำด้วยการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรีย พบว่า เมื่อทดสอบการย่อยสลายในสถานการณ์ที่มีชีเลนสะสมอยู่ในปริมาณที่สูงมาก กลุ่มแบคทีเรียที่เดิมลงไปจะย่อยสลายสารอินทรีย์ที่สะสมอยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้งจำลอง ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ลดลง แต่ในขณะเดียวกันผลที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ คือ ปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟตเพิ่มสูงขึ้นและเกิดการสะสมเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นผลให้คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำจำลองไม่ได้ดีขึ้น จากการศึกษาในส่วนนี้ จะเห็นได้ว่าการเติมชีเลนลงไปในระบบมากเกินไป อาจไปส่งเสริมให้กลุ่มแบคทีเรียย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในชีเลนมากกว่าจะไปย่อยแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรต์และฟอสเฟต เพื่อให้กลุ่มแบคทีเรียลดปริมาณของสารที่เป็นของเสียเหล่านั้น ได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น น่าที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในกรณีที่บ่อเลี้ยงกุ้งมีการบำบัดชีเลนแล้วหรือบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีการสะสมของชีเลนน้อย ดังนั้น การที่จะนำกลุ่มแบคทีเรียนี้ไปใช้เพื่อย่อยสลายสารที่เป็นของเสีย เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งให้ได้อยู่เสมอ จะต้องพิจารณาถึงสภาพกันบ่อเสียก่อนว่ามีการสะสมของชีเลนมากหรือไม่ เพื่อให้กลุ่มแบคทีเรียทำงานได้อย่างตรงจุดและไม่ก่อให้เกิดปัญหาน้ำในบ่อไม่เหมาะสมต่อการเจริญของกุ้งกุลาดำและไม่เกิดปัญหาน้ำเสียตามมา นอกจากนี้ กลุ่มแบคทีเรียนี้น่าจะนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดชีเลนจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรควบคุมปัจจัยพื้นฐานที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ เพื่อป้องกันปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการทดลอง เช่น ความเข้มแสง
2. ควรศึกษาถึงคุณสมบัติของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ เพื่อปรับปรุงสายพันธุ์และเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายให้ดียิ่งขึ้น
3. ควรศึกษาเกี่ยวกับวิธีการเก็บรักษาแบคทีเรีย เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการบำบัดน้ำเสียได้อย่างสะดวกและรวดเร็ว ทั้งนี้เพื่อให้สามารถนำแบคทีเรียที่พัฒนาได้ไปใช้ประโยชน์อย่างสมบูรณ์ในอนาคตต่อไป
4. ควรศึกษาการใช้แบคทีเรียผสมในการย่อยสลายร่วมกับวิธีการบำบัดน้ำเสียวิธีอื่นหรือการเลี้ยงกุ้งระบบอื่น เช่น การใช้แบคทีเรียผสมร่วมกับการใช้โคโคซาน การใช้แบคทีเรียผสมร่วมกับระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เป็นของเสีย
5. ควรศึกษาการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เป็นของเสียโดยใช้กลุ่มแบคทีเรียที่ได้จากดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์สำเร็จรูปเพื่อดูประสิทธิภาพในการย่อยสลายของกลุ่มแบคทีเรีย
6. ควรศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้กลุ่มแบคทีเรีย เพื่อให้ประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารที่เป็นของเสียดียิ่งขึ้น