บทที่ 3

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดที่ใช้สำหรับงานทดลอง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์

3.1 แผนการทดลอง

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับการสะสมของสารประกอบไนโตรเจนในตู้ทดลองเลี้ยงกุ้งเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ใช้และไม่ใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ ระบบที่ไม่ใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายใต้ 3 สภาวะการทดลอง คือ สภาวะที่หนึ่งเป็นชุดควบคุมซึ่งไม่มีทั้งกุ้งและไม่ใส่อาหารสดแทนสภาวะนี้ด้วยอักษร C สภาวะที่สองใส่เพียงอาหารสดลงไปโดยไม่มีกุ้งเพื่อประเมินผลจากการแพร่ของสารอาหารออกมาในน้ำแทนสภาวะนี้ด้วยอักษร F และสภาวะที่สามเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยให้เนื้อกุ้งสดเป็นอาหารแทนสภาวะนี้ด้วยอักษร S แต่ละสภาวะทำการทดลอง 3 ซ้ำ ในระบบที่ใช้ซากปะการังเพื่อตรึงจุลินทรีย์ก็ศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายใต้ 3 สภาวะการทดลองดังที่กล่าวข้างต้นเช่นเดียวกันแทนแต่ละสภาวะด้วยอักษร CI, FI และ SI ตามลำดับ โดยวางตำแหน่งของตู้และสัตว์ทดลองในห้องปฏิบัติการแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ดังรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สภาวะการทดลองของแต่ละชุดทดลอง ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระบบปิดที่ใช้สำหรับงานทดลอง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์

ชุดทดลอง	สภาวะการทดลอง		
	การใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (ซากปะการัง)	การให้อาหาร (เนื้อกุ้งสด)	การเลี้ยงกุ้งทดลอง (กุ้งกุลาดำ)
C	-	-	-
F	-	ใช้	-
S	-	ใช้	เลี้ยง
CI	ใช้	-	-
FI	ใช้	ใช้	-
SI	ใช้	ใช้	เลี้ยง

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมน้ำทะเลและซากปะการัง

เพื่อลดโอกาสการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่จุดเริ่มต้น เตรียมน้ำทะเลโดยกรองผ่านทรายละเอียด ปรับความเค็มเป็น 15 ppt ใส่ในถังพลาสติกขนาด 500 ลิตร ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามวิธีที่แนะนำโดย Boyd (1982) หลังการเติมคลอรีนปิดปากถังให้สนิทด้วยแผ่นพลาสติกพร้อมทั้งอัดอากาศระหว่างการพักน้ำตลอดระยะเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ ทำการทดสอบคลอรีนตกค้างก่อนนำไปใช้โดยดูดตัวอย่างน้ำทะเล 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี potassium iodide ปริมาณเล็กน้อย ถ้าน้ำทะเลเกิดสีเหลืองน้ำตาล แสดงว่ามี chlorine ตกค้างในน้ำทะเล ในกรณีที่ตรวจพบการตกค้างทำการกำจัดโดยค่อยๆเติม sodium thiosulfate pentahydrate จนไม่เกิดสีเมื่อทดสอบกับ potassium iodide

ซากปะการังที่ใช้ในการทดลองนี้เตรียมโดยล้างด้วยน้ำประปาจนสะอาดแล้วแช่ไว้อีก 1 วัน เพื่อให้สิ่งตกค้างในรูพรุนแพร่ออกมา ตักเอาซากปะการังไปตากแดดให้แห้งสนิท การทำลายจุลินทรีย์เริ่มต้นในซากปะการังดำเนินการโดยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในตู้อบความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทั้งนี้เพื่อลดโอกาสการตกค้างของคลอรีนในรูพรุนซึ่งอาจมีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระหว่างการทดลอง

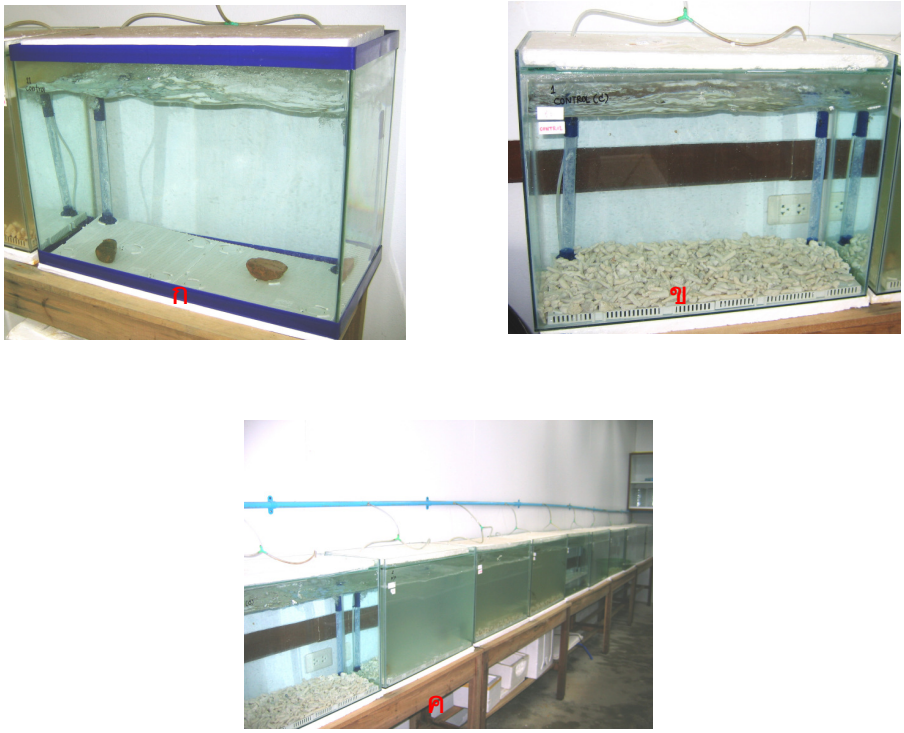
3.2.2 การเก็บและการปรับสภาพตัวอย่างกุ้งทดลอง

การทดลองนี้ใช้กุ้งกุลาดำขนาด 5-10 กรัม (อายุประมาณ 2 เดือน) จากฟาร์มเลี้ยงกุ้งเอกชน (ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท ซีคิงส์ฟาร์ม จำกัด อ. หัวไทร จ. นครศรีธรรมราช) นำมาปรับสภาพให้คุ้นเคยในห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 500 ลิตร ซึ่งบรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการกรองด้วยทรายละเอียดปริมาตร 300 ลิตร และปรับความเค็มเป็น 15 ppt แต่ละถังใส่กุ้งไม่เกิน 50 ตัว ในระยะนี้กุ้งได้รับอาหารอัดเม็ดสำเร็จรูป (บริษัท เจริญโภคภัณฑ์ จำกัด มหาชน) วันละ 2 ครั้ง (เช้า และ เย็น) โดยใส่ในถาดอาหารเพื่อความสะดวกในการกำจัดเศษเหลือและประเมินความเหมาะสมของปริมาณที่ให้ต่อครั้งต่อวัน อัดอากาศเพื่อรักษาระดับออกซิเจนให้เพียงพอตลอดเวลาและเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณ 50% ทุกวัน

3.2.3 การเตรียมตู้ทดลอง

ตลอดการทดลองนี้ใช้ตู้กระจกขนาด 30×60×45 เซนติเมตร จำนวน 18 ตู้ หลังจากวางเรียงในห้องปฏิบัติการกำหนดหมายเลขตู้แบบสุ่มตำแหน่งโดยการจับฉลาก ติดตั้งชุดกรองใต้กรวด (sub-sand filter) ทุกตู้ให้เหมือนกัน ใส่น้ำทะเลที่เตรียมไว้ (ความเค็ม 15 ppt) ตู้ละ 70 ลิตร ฆ่าเชื้ออีกครั้งโดยเติม chlorine ให้มีความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร พักน้ำไว้ 1 สัปดาห์พร้อมเติม

อากาศตลอดเวลา ก่อนปล่อยสัตว์ทดลองลงเลี้ยงทำการทดสอบ chlorine ตกค้างและกำจัดตามวิธีที่กล่าวในข้อ 3.2.1 ในกรณีการเตรียมตู้ทดลองเป็นระบบที่มีการตรึงจุลินทรีย์ด้วยซากปะการังก็ดำเนินการโดยวิธีการเดียวกัน แต่เติมซากปะการังที่เตรียมไว้ (ตามข้อ 3.2.1) ลงบนชุดกรองใต้กรวดให้สูงประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของระดับความสูงของน้ำ ดังภาพที่ 4 ก. ข. และ ค.



ภาพที่ 4 การเตรียมตู้ทดลองเลี้ยงสัตว์ทะเล

(ก) ตู้ที่ไม่มีซากปะการังเพื่อตรึงจุลินทรีย์และชุดกรองใต้กรวด

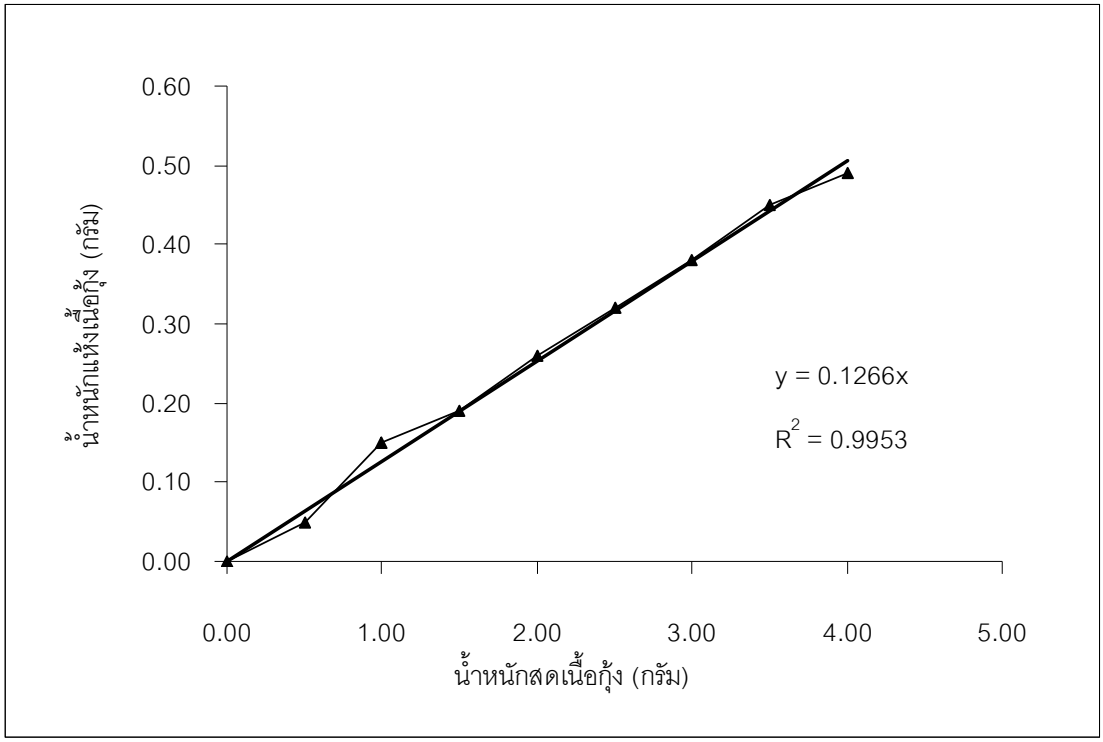
(ข) ตู้ที่มีการตรึงจุลินทรีย์ด้วยซากปะการังและชุดกรองใต้กรวด

(ค) การจัดวางตู้เลี้ยงกุ้งทดลองในห้องเพาะเลี้ยงแบบสุ่มตำแหน่ง

3.2.4 การประเมินปริมาณอาหารที่กุ้งได้รับ

เพื่อลดความคลาดเคลื่อนจากการประเมินปริมาณอาหารที่กุ้งได้รับ ตลอดการทดลองนี้จึงใช้เนื้อกุ้งสดเป็นอาหารแทนอาหารอัดเม็ดสำเร็จรูป อย่างไรก็ตามวิธีประเมินปริมาณอาหารที่กุ้งได้รับจริงจากผลต่างน้ำหนักเปียกของอาหารเริ่มต้นกับน้ำหนักเปียกของเศษอาหารที่เหลือจากการให้แต่ละครั้งนับว่ายังไม่ถูกต้อง เนื่องจากมีปัจจัยหลายประการที่อาจเกิดขึ้นเมื่อใส่เนื้อกุ้งสดลงในตู้ทดลอง เช่น การแพร่ของสารอาหารออกมาในน้ำ การย่อยสลายเนื้อเยื่อโดย

เอนไซม์และจุลินทรีย์ รวมทั้งการออสโมซิสของน้ำและเกลือเข้าสู่เนื้อเยื่อ เป็นต้น การทดลองนี้จึงลดปัญหาดังกล่าวโดยตัดเนื้อกุ้งสดให้ใกล้เคียงกับขนาดที่ใช้จริงในการทดลอง (ประมาณ 1-1.5 กรัมต่อชิ้น) แบ่งเป็นส่วนๆให้ได้น้ำหนักแน่นอนคือ 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50 และ 4.00 กรัม นำแต่ละส่วนใส่ลงในน้ำทะเลที่ใช้ทดลองเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งเท่ากับระยะเวลาการให้อาหารกุ้งแต่ละครั้ง จากนั้นจึงใช้ปากคีบจับเอาชิ้นเนื้อแต่ละส่วนออกมาวางบนกระดาษซับ นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักแห้งที่ได้ เขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเนื้อกุ้งสดเริ่มต้นกับน้ำหนักแห้งหลังการแช่น้ำ ดังภาพที่ 5 กราฟมาตรฐานที่ได้นำมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณอาหารที่เหลือในรูปเนื้อกุ้งสดหลังจากการให้อาหารแต่ละครั้ง โดยนำเศษอาหารที่เหลือจากการกินของกุ้งแต่ละครั้งไปอบลมร้อนเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น แล้วนำค่าน้ำหนักแห้งที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อปรับให้เป็นน้ำหนักเนื้อกุ้งสด



ภาพที่ 5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเริ่มต้นของเนื้อกุ้งสดกับน้ำหนักแห้งหลังการแช่น้ำ

3.2.5 การเลี้ยงและการให้อาหารกุ้งทดลอง

แต่ละตู้ทดลองปล่อยกุ้งกุลาดำแบบคละเพศซึ่งทราบน้ำหนักแต่ละตัวลงไปจำนวน 6 ตัวต่อตู้ เมื่อสิ้นสุดการทดลองชั่งน้ำหนักแต่ละตัวอีกครั้งเพื่อคำนวณหาน้ำหนักรวมที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละตู้

กุ้งทดลองได้รับเนื้อกุ้งหัวแข็งที่จับจากธรรมชาติเป็นอาหารในระหว่างการทดลอง ทั้งนี้เพื่อลดโอกาสการติดเชื้อและสามารถประเมินปริมาณอาหารที่กุ้งได้รับจริงในแต่ละครั้ง เนื้อกุ้งสดจะถูกตัดเป็นชิ้นเล็กๆประมาณ 1-1.5 กรัม บรรจุชิ้นอาหารสดในถุงพลาสติกให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 3.5 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการให้อาหารต่อครั้งต่อตู้ทดลอง นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -4 $^{\circ}$C ในระหว่างการเก็บรักษา กุ้งจะได้รับอาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 8.00 และ 20.00 นาฬิกา ก่อนให้แต่ละครั้งจะเก็บเศษอาหารที่เหลือจากครั้งก่อนออกทั้งหมดออกจากถาดให้อาหารด้วย forceps วางบนกระดาษซับ แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 $^{\circ}$C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักแห้งเพื่อประเมินเป็นน้ำหนักอาหารสดที่กุ้งได้รับในครั้งนั้นๆ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างน้ำหนักแห้งกับน้ำหนักสดเนื้อกุ้งตามวิธีการในข้อ 3.2.4

3.2.6 การตรวจสอบคุณภาพน้ำในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเล

ดัชนีที่ใช้ประเมินคุณภาพน้ำในการทดลองนี้คือ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระดับแอมโมเนีย ไนไตรท์ และ ไนเตรท วัดความเป็นกรด-ด่าง ด้วย pH meter สำหรับระดับของสารประกอบไนโตรเจนทำการวิเคราะห์โดยวิธีเทียบสี (colorimetric methods) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีที่แนะนำโดย Strickland และ Parsons (1972) เพื่อลดความแปรปรวนจากเงื่อนไขเวลาจึงเก็บตัวอย่างน้ำทะเลจากแต่ละตู้เวลา 8.00 นาฬิกา ทุกๆ 2 วัน ซึ่งดำเนินการทดลองเป็นระยะเวลา 18 วัน ระดับที่ตรวจพบก่อนปล่อยกุ้งทดลองลงเลี้ยงในวันเดียวกันนับเป็นจุดเริ่มต้น (วันที่ 0)

3.2.7 การศึกษาประสิทธิภาพการเลี้ยง

ประสิทธิภาพการเลี้ยงกุ้งภายใต้ระบบต่างๆในการทดลองนี้ประเมินจาก อัตราการเพิ่มน้ำหนัก (weight gain) อัตราการแลกเนื้อ (feed conversion ratio: FCR) และ อัตราการรอดตาย (survival rate)

น้ำหนักของกุ้งที่เพิ่มขึ้นในแต่ละชุดการทดลองคำนวณจากผลต่างน้ำหนักกุ้งก่อนและหลังการทดลองซึ่งแสดงผลเป็นเปอร์เซ็นต์ดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการเพิ่มน้ำหนัก (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักกุ้งที่เปลี่ยนแปลง} \times 100}{\text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น}}$$

อัตราการแลกเนื้อของกุ้งแต่ละชุดประเมินจากปริมาณอาหารรวมที่กุ้งได้รับจริงตลอดระยะเวลาการทดลองเทียบกับน้ำหนักกุ้งที่เปลี่ยนแปลงดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการแลกเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารรวมที่กุ้งได้รับจริง}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เปลี่ยนแปลง}}$$

อัตราการรอดตายคิดจากจำนวนกุ้งที่รอดตายหลังสิ้นสุดการทดลองเปรียบเทียบกับจำนวนเริ่มต้นที่ปล่อยลงเลี้ยง แสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่รอด} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งที่ปล่อยลงเลี้ยง}}$$

3.2.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การเปลี่ยนแปลงระดับ แอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท pH และออกซิเจนในตู้ทดลองภายใต้สภาวะการทดลองต่างๆ เปรียบเทียบทางสถิติโดยวิธี One – way Analysis of Variance; ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญของความแตกต่าง 0.05 โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) สำหรับประสิทธิภาพการเลี้ยงกุ้งภายใต้สภาวะการทดลองต่างๆซึ่งวิเคราะห์เปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดตาย วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี Paired-Sample T-Test โดยเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 11.0

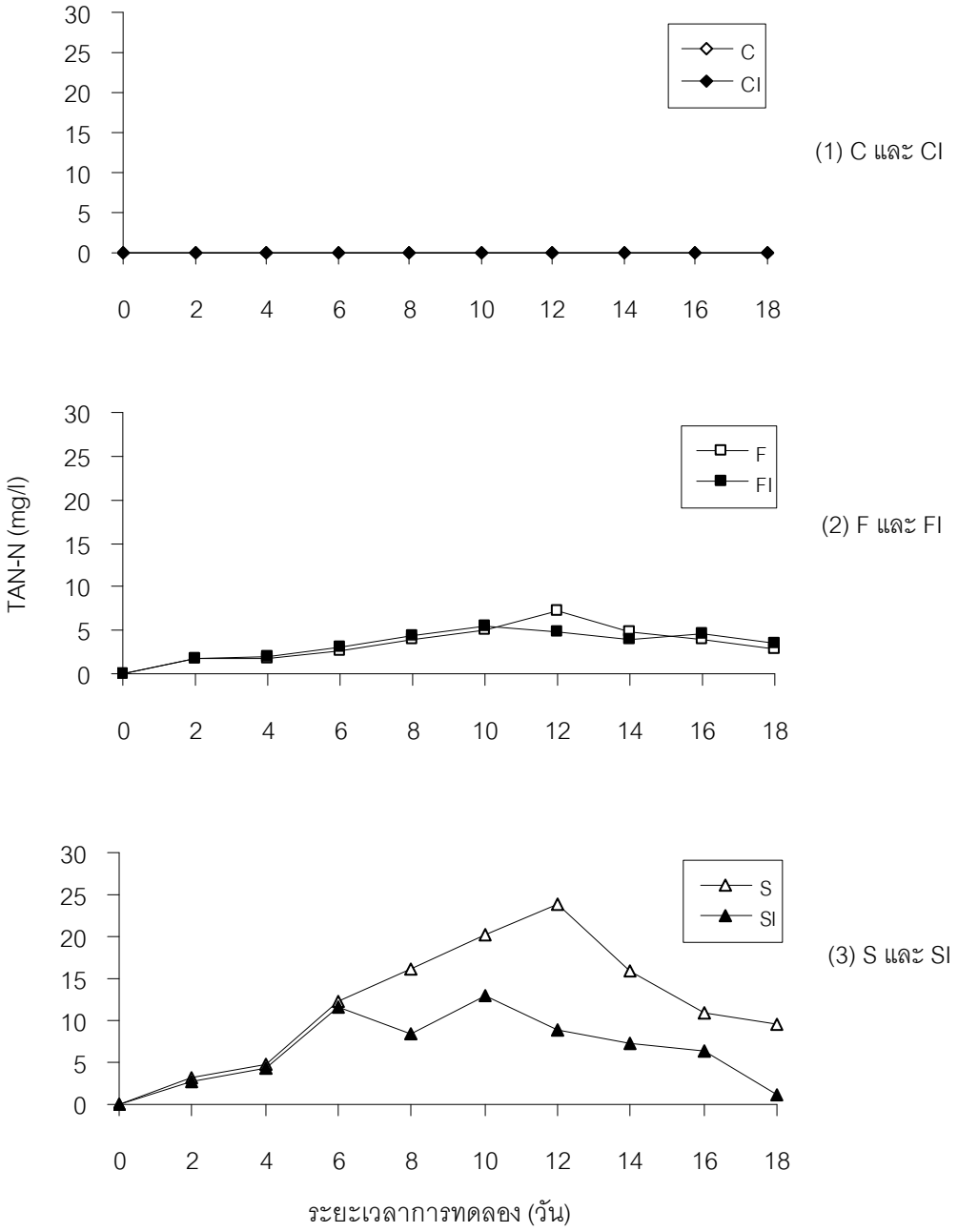
3.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

3.3.1 คุณภาพน้ำ

1. แอมโมเนีย

ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียรวม (total ammonia nitrogen; TAN) ในชุดควบคุมเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI) ตลอดระยะเวลา 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 6 (1) จะเห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ตรวจพบที่ระดับความเข้มข้นเพียง 0.01-0.05 และ 0.02-0.11 mg/l ตามลำดับ โดยระดับสูงสุดปรากฏในวันที่ 4 ของชุดทดลอง C (0.05±0.01 mg/l) และ วันที่ 6 ของชุดทดลอง CI (0.11±0.06 mg/l) (ตารางที่ 9)

ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียรวมเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (F) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (FI) เมื่อใส่เพียงอาหารกุ้งสดลงในตู้ทดลอง ตลอดระยะเวลา 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 6 (2) จะเห็นว่ามีความเข้มข้นแปรเปลี่ยนอยู่ในช่วง 0.01-7.28 และ 0.02-5.54 mg/l ตามลำดับ โดยรูปแบบการเปลี่ยนแปลงที่เวลาต่างๆส่วนใหญ่เป็นไปในทิศทางที่คล้ายกันและไม่พบความแตกต่างระหว่างระบบอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ยกเว้นในวันที่ 12 และ 18 ของการทดลอง (ตารางที่ 9)



ภาพที 6 การเปลียนแปลงของระดับแอมโมเนียรวม (TAN) ในแต่ละชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้ง (F) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลอง (S) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI และ SI) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

ผลการเปลี่ยนแปลงของระดับแอมโมเนียรวมในตู้ทดลองเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (S) และ ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI) เมื่อเลี้ยงกุ้งโดยใช้กุ้งสดเป็นอาหาร ตลอดระยะเวลา 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 6 (3) จะเห็นว่ามีความเข้มข้นแปรเปลี่ยนในช่วง 0.01-23.84

และ 0.02-12.99 mg/l ตามลำดับ ในระยะ 6 วันแรกของการทดลองมีอัตราการเพิ่มขึ้นด้วยระดับที่ใกล้เคียงกัน แต่ระดับแอมโมเนียรวมในตู้ทดลองที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S) จะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงจุดสูงสุดในวันที่ 12 จากนั้นจึงค่อยๆ ลดลงมาถึง 9.36±0.48 mg/l เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ตู้ทดลองซึ่งใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI) มีความเข้มข้นอยู่ในระดับต่ำกว่าตลอดเวลา ระดับแอมโมเนียรวมเพิ่มจนถึงจุดสูงสุดในวันที่ 10 จากนั้นจึงค่อยๆ ลดลงจนเมื่อสิ้นสุดการทดลองระดับแอมโมเนียลดลงมาเป็น 1.13±0.11 mg/l

เมื่อเทียบกับชุดทดลองอื่นๆจะเห็นว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมในชุดควบคุมทั้ง 2 ระบบซึ่งไม่ใส่ทั้งอาหารและกุ้งลงเลี้ยงตรวจพบในระดับต่ำที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีแหล่งสารอินทรีย์ ที่จะทำให้เกิดกระบวนการ ammonification ปริมาณที่ตรวจพบเพียงเล็กน้อยอาจมาจากส่วนที่ละลายอยู่ในน้ำทะเล เมื่อทดสอบทางสถิติก็ไม่พบความแตกต่างระหว่างระบบทั้งสอง ($p>0.05$) จึงแสดงให้เห็นว่าซากปะการังที่ใช้เป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับแอมโมเนียในน้ำ

สำหรับการเพิ่มขึ้นของระดับแอมโมเนียในตู้ทดลองซึ่งใส่เพียงอาหารสดลงไป (F และ FI) ชี้ให้เห็นว่ามีการละลายของสารอินทรีย์จากอาหารสดและถูกย่อยสลายให้กลายเป็นแอมโมเนียอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการทดลอง อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ระยะเวลาเดียวกันจะเห็นว่าตู้ทดลองซึ่งเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสด (S และ SI) ทั้งสองชุดมีระดับแอมโมเนียสูงกว่าชุดทดลองที่ใส่อาหารสดเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยเสริมที่มาจากของเสียซึ่งสัตว์ทดลองขับถ่ายออกมา

ภาพที่ 6 ทั้ง (2) และ (3) ยังแสดงให้เห็นว่าหลังจากระดับแอมโมเนียในตู้ทดลองเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดก็จะลดระดับลงซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Emmens (1995) ที่รายงานว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียในตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลที่ปรับให้ใกล้เคียงธรรมชาติจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเริ่มต้นแต่ต่อมาจะค่อยๆลดลง ปรากฏการณ์นี้น่าจะเป็นผลมาจากกระบวนการ nitrification และ immobilization of inorganic nitrogen โดยกิจกรรมของแบคทีเรียเป็นหลักเพราะเติมอากาศในตู้ทดลองเต็มที่ตลอดเวลา

เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการลดระดับแอมโมเนียจะเห็นว่าในตู้ทดลองที่ใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (FI และ SI) สามารถตรวจวัดได้ก่อนตู้ที่ไม่ใช้ซากปะการัง (F และ S) คือ 10-12 และ 12-14 วัน ตามลำดับ แสดงว่าแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ nitrification และ immobilization of inorganic nitrogen ต้องใช้เวลาในการบ่มฟักระยะหนึ่ง และอัตราการเจริญเติบโตจะถูกเร่งให้เร็วขึ้นเมื่อใส่ซากปะการังเพื่อตรึงแบคทีเรียไว้ในรูพรุนซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wijffels และ Tramper (1995) และการที่ในตู้เลี้ยงกุ้งทดลองที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์มี

ความเข้มข้นแอมโมเนียรวมอยู่ในระดับต่ำกว่าตู้เลี้ยงกุ้งทดลองที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ตลอดเวลา ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Thomson และ คณะ (2002) เนื่องจากการตรึงจุลินทรีย์ช่วยเร่งอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษด้วยชีวภาพ และช่วยรักษาจำนวนจุลินทรีย์ในระบบให้คงที่ แอมโมเนียจึงถูกใช้ในการหายใจแบบใช้ออกซิเจนของ nitrifying bacteria การสังเคราะห์โปรตีน กรดนิวคลีอิก และสารประกอบอื่นๆสำหรับเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น (Burford *et al.,* 2003) ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าวัสดุตรึงจุลินทรีย์ (ซากปะการัง) ที่เติมลงในตู้ทดลองเลี้ยงกุ้งสามารถลดความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ

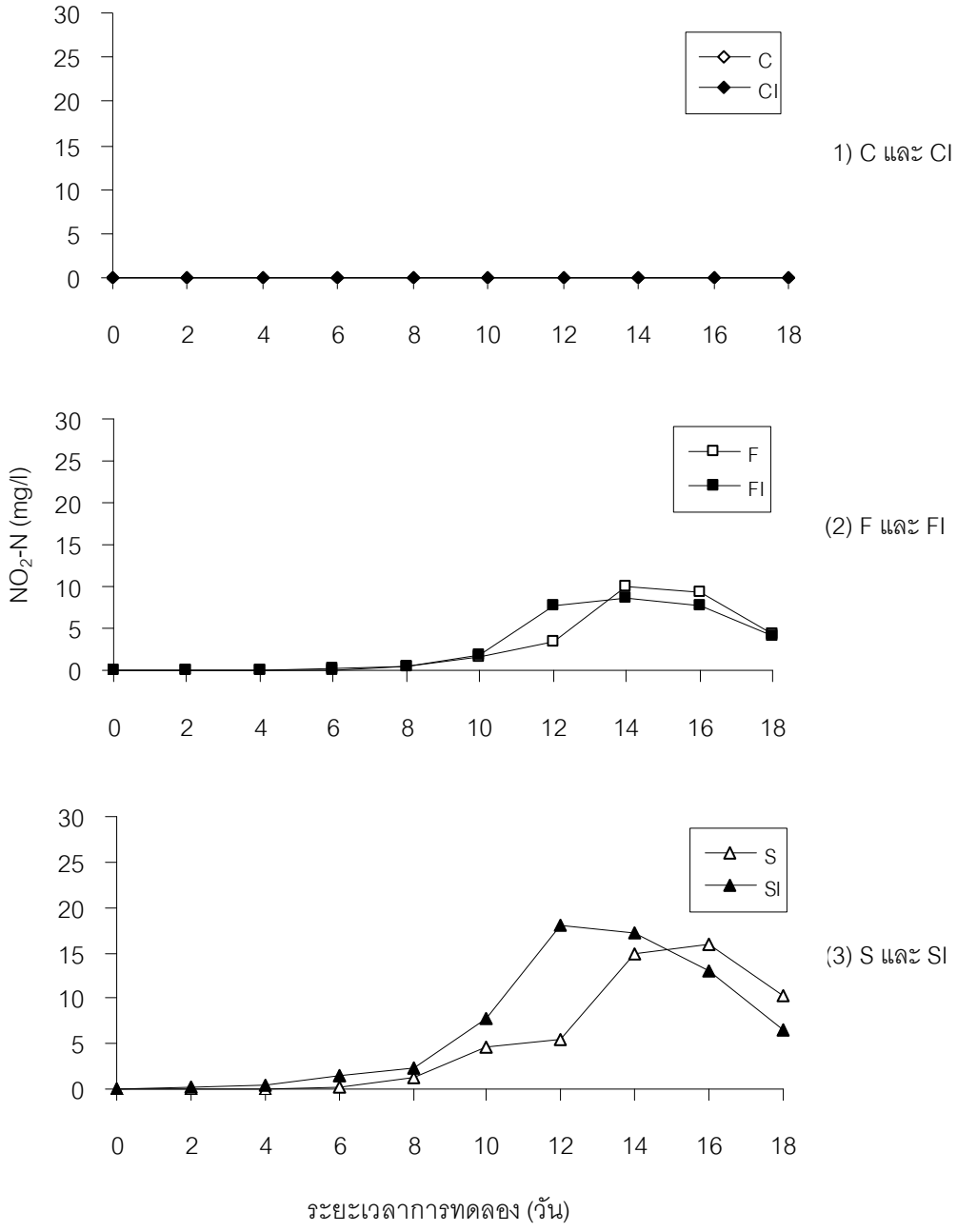
2. ไนไตรท์

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนไตรท์ (nitrite nitrogen; NO_2-N) ในชุดควบคุมเปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI) ตลอด ระยะเวลา 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 7 (1) จะเห็นว่าตรวจพบได้เล็กน้อยเพียง 0.00-0.04 และ 0.01-0.03 mg/l ตามลำดับ ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงระดับไนไตรท์ ในระบบทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 10) จึงกล่าวได้ว่าซากปะการังซึ่งใช้เป็นวัสดุตรึง จุลินทรีย์ไม่มีผลต่อระดับความเข้มข้นของไนไตรท์ในตู้ทดลอง

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนไตรท์ที่ในตู้ทดลองที่ไม่ใช้ (F) และใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (FI) เมื่อใส่เพียงอาหารสดลงในตู้ทดลอง ระยะเวลา 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 7 (2) พบว่าความเข้มข้นของไนไตรท์แปรเปลี่ยนที่ระดับ 0.01-9.89 และ 0.01-8.55 mg/l ตามลำดับ ระดับไนไตรท์ส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ยกเว้นวันที่ 2 วันที่ 6 และวันที่ 12 ของการทดลอง เป็นที่น่าสังเกตว่าระหว่าง 10 วันแรกของการทดลองระดับไนไตรท์ในตู้ทดลองทั้งสองระบบเกิดขึ้นน้อยมาก แต่หลังจากนั้นจะค่อยๆเพิ่มขึ้นด้วยรูปแบบที่คล้ายกัน โดยระหว่างวันที่ 12-14 ของการทดลองสามารถตรวจวัดได้สูงสุดที่ระดับ 9.89±0.82 และ 8.55±0.64 mg/l ตามลำดับ จากนั้นจะค่อยๆลดลงจนถึงระดับใกล้เคียงกันในวันสิ้นสุดการทดลอง (4.23±0.27 และ 4.08±0.27 mg/l ตามลำดับ) (ตารางที่ 10)

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนไตรท์ที่ในตู้ทดลองที่ไม่ใช้ (S) และใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (SI) เมื่อเลี้ยงกุ้งโดยให้เนื้อกุ้งสดเป็นอาหาร ดังแสดงในภาพที่ 7 (3) จากการทดสอบทางสถิติปรากฏความแตกต่างของระดับไนไตรท์ระหว่างชุดการทดลองทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ตั้งแต่วันที่ 2 ของการทดลอง จะเห็นว่าตู้ที่ไม่ใช้ซากปะการังนอกจากจะสามารถตรวจวัดไนไตรท์ได้ช้ากว่าในตู้ที่ใช้ซากปะการังแล้ว ยังมีอัตราการเพิ่มความเข้มข้นจนถึงจุดสูงสุดได้ช้ากว่าด้วย คือปรากฏที่ 16 วัน และ 12 วัน ของการทดลองตามลำดับ นอกจากนั้นผลการทดลองยัง

ชี้ให้เห็นว่าความเข้มข้นสูงสุดของไนไตรท์ในตู้ทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการังมีระดับต่ำกว่าตู้ที่ใช้ซากปะการังคือ 15.93±0.52 และ 18.01±1.47 mg/l ตามลำดับ แต่ลดระดับลงมาเป็น 10.20±0.37 และ 6.56±0.57 mg/l ตามลำดับ ในวันสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 10)



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของระดับไนไตรท์ (NO_2-N) ในแต่ละชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้ง (F) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลอง (S) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI และ SI) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

เหตุที่ความเข้มข้นของไนไตรท์ในตู้ทดลองชุดควบคุมทั้ง 2 ระบบเกิดขึ้นน้อยมาก และสอดคล้องกับระดับแอมโมเนียน่าจะเป็นผลมาจากชุดทดลองนี้มีแหล่งของสารอินทรีย์ต่ำ ในขณะที่ตู้ทดลองซึ่งใส่เพียงอาหารสดลงไป (F และ FI) เกิดการเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนไตรท์อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับตู้ทดลองซึ่งเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสด (S และ SI) จะเห็นว่าทั้งสองชุดหลังนี้เกิดแอมโมเนียและไนไตรท์สูงที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากสารอินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในระบบจากของเสียที่ขับถ่ายจากสัตว์ทดลอง แต่หลังจากนั้นระดับไนไตรท์ลดลงซึ่งคาดว่าส่วนใหญ่น่าจะเป็นผลมาจากกิจกรรมของ aerobic bacteria ที่ทำให้เกิดกระบวนการ nitrification เนื่องจากมีการเติมอากาศเข้าไปในระบบอย่างเต็มที่ตลอดเวลา ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่ารูพรุนในซากปะการังสามารถช่วยตรึงจุลินทรีย์ในกลุ่มดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

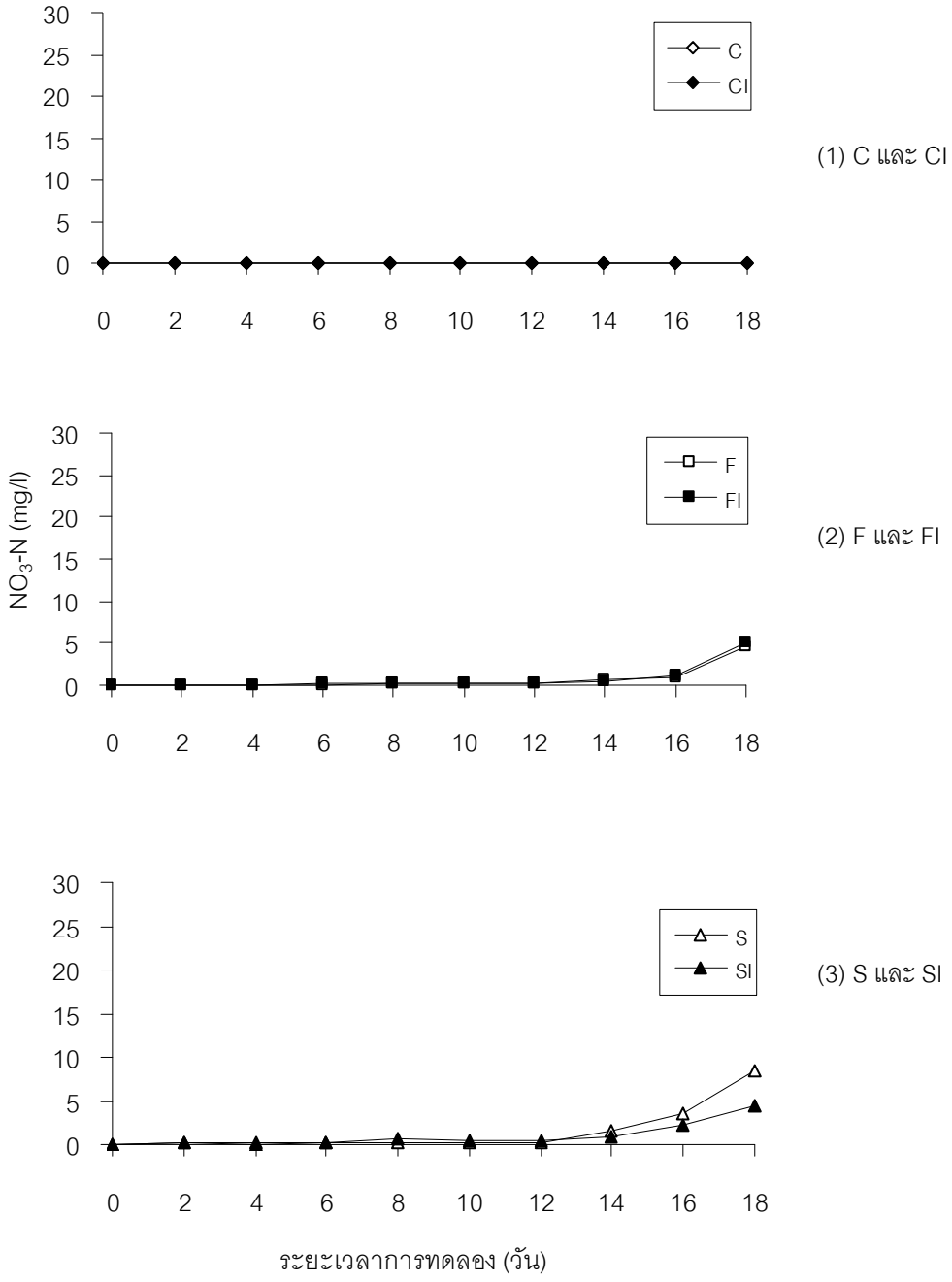
3. ไนเตรท

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรท (nitrate nitrogen; NO_3-N) ในชุดควบคุมของระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (CI) ตลอดระยะเวลา 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 8 (1) จะเห็นว่าไนเตรทเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยโดยตรวจพบที่ระดับความเข้มข้น 0.08-0.10 และ 0.02-0.08 mg/l ตามลำดับ และจากการทดสอบทางสถิติก็ไม่พบความแตกต่างระหว่างระบบทั้งสอง ($p>0.05$) (ตารางที่ 11) จึงสรุปได้ว่าซากปะการังไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของไนเตรท

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรทในตู้ทดลองที่ไม่ใช้ (F) และใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (FI) เมื่อใส่เพียงอาหารสดลงไปด้วยปริมาณและเวลาเดียวกับชุดที่เลี้ยงกุ้งทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 8 (2) พบว่าความเข้มข้นของไนเตรทแปรเปลี่ยนที่ระดับ 0.07-4.63 และ 0.07-2.46 mg NO_3-N/l ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบความแตกต่างระหว่างสองระบบนี้ ($P<0.05$) หลังระยะเวลาการทดลอง 14 วัน จะเห็นว่าในระหว่าง 12 วันแรกของการทดลองไนเตรทเกิดขึ้นในตู้ทดลองน้อยมาก (0.07-0.25 และ 0.07-0.20 mg/l ตามลำดับ) (ตารางที่ 11) แต่หลังจากนั้นความเข้มข้นในระบบทั้งสองจะค่อยๆเพิ่มขึ้นด้วยรูปแบบที่คล้ายกันโดยสามารถตรวจวัดได้ชัดเจนในวันที่ 14 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรทในตู้ทดลองที่ไม่ใช้ (S) และใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (SI) เมื่อเลี้ยงกุ้งโดยให้เนื้อกุ้งสดเป็นอาหาร ดังแสดงในภาพที่ 8 (3) พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับไนเตรทในระบบทั้งสองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) หลังระยะเวลาการทดลอง 8 วัน เป็นที่น่าสังเกตว่ารูปแบบการเปลี่ยนแปลงคล้ายกับชุดทดลอง F และ FI คือเกิดขึ้นเล็กน้อยในระยะ 12 วันแรกของการทดลอง (อยู่ในช่วง 0.07-0.33 และ 0.07-0.51

mg/l ตามลำดับ) แต่จะเพิ่มขึ้นชัดเจนหลังจาก 14 วัน และจากนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยตู้ทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการังไนเตรทมีระดับสูงกว่าตู้ที่ใช้ซากปะการังซึ่งตรวจวัดในวันสิ้นสุดการทดลองได้ที่ระดับ 8.58±0.73 และ 4.36±0.32 mg/l ตามลำดับ (ตารางที่ 11)



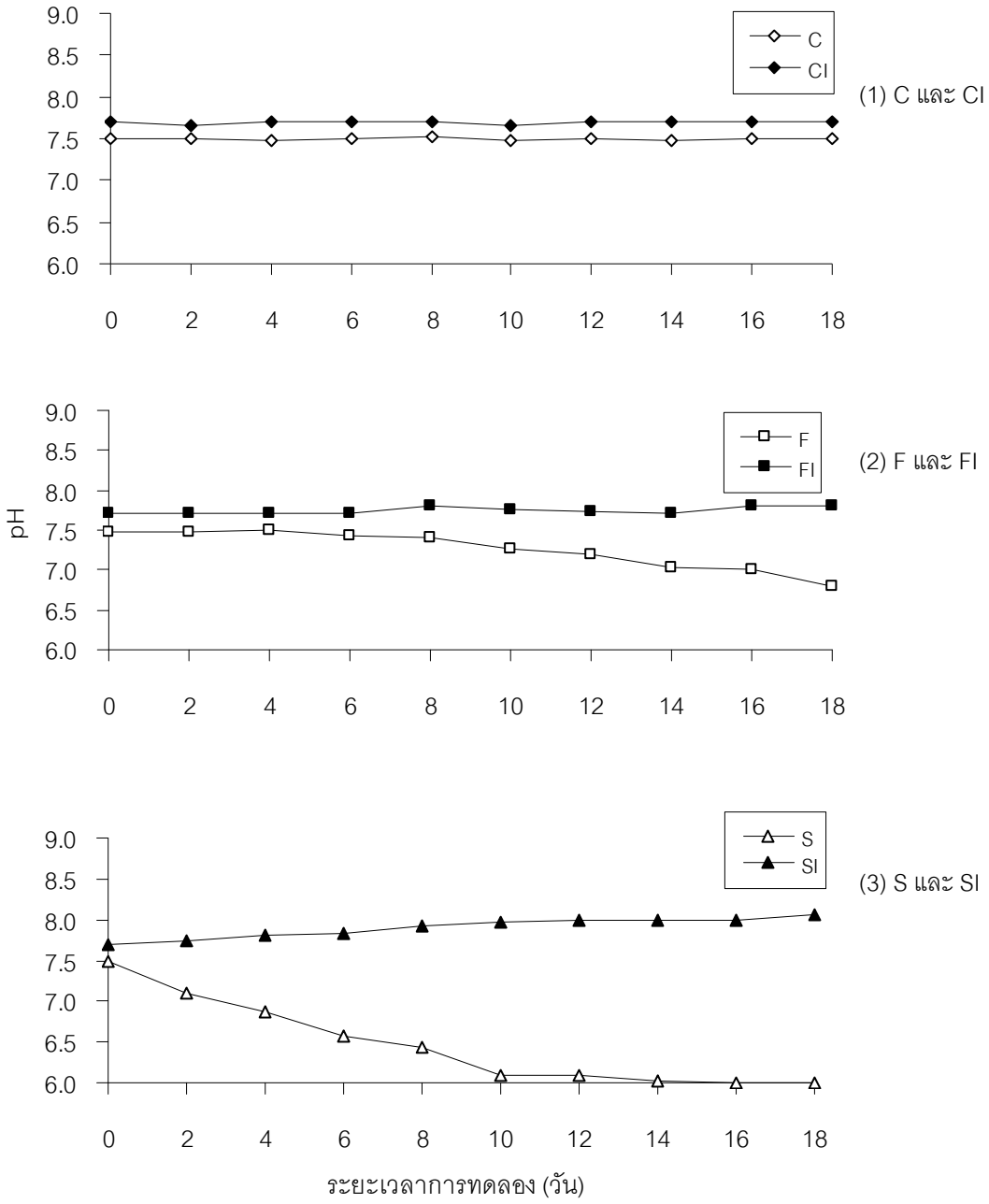
ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของระดับไนเตรท (NO_3-N) ในแต่ละชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้ง (F) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลอง (S) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI และ SI) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

การตรวจพบไนเตรทได้เพียงเล็กน้อยในตู้ทดลองชุดควบคุม (C และ CI) ในขณะที่ในชุดทดลองที่ใส่เพียงอาหารสด (F และ FI) และเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสด (S และ SI) ตรวจพบในระดับที่สูงขึ้นน่าจะสามารถอธิบายด้วยเหตุผลเดียวกับการเปลี่ยนแปลงระดับของแอมโมเนียและไนไตรท์ดังที่ได้กล่าวไปแล้ว อย่างไรก็ตามเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ตู้ทดลองซึ่งเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสด ที่ใช้การตรึงจุลินทรีย์ ตรวจวัดระดับไนเตรทได้น้อยกว่าตู้ทดลองซึ่งเลี้ยงกุ้ง ที่ไม่ใช้การตรึงจุลินทรีย์ แสดงให้เห็นว่าซากปะการังสามารถตรึงจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกระบวนการ denitrification และ immobilization of inorganic nitrogen ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เนื่องจากเป็นระบบที่มีการอัดออกซิเจนตลอดเวลา ดังนั้นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องจึงน่าจะเป็นกลุ่ม facultative bacteria เช่น *Bacillus* หรือ *Pseudomonas* (Herbert, 1999) มากกว่ากลุ่ม anaerobic bacteria

เป็นที่น่าสังเกตว่าการเพิ่มขึ้นของระดับไนเตรทจะเกิดขึ้นหลังจากการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียและไนไตรท์ ตามลำดับ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Heales (1985) ในระบบตู้เลี้ยงสัตว์ทะเลระดับไนเตรทเพิ่มขึ้นและลดลงเนื่องจากกระบวนการ nitrification และ denitrification ตามลำดับ กระบวนการ denitrification เป็นการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นแก๊สไนโตรเจนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน โดยมีไนเตรททำหน้าที่รับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายและต้องการสารอินทรีย์คาร์บอนจากภายนอก เป็นตัวให้อิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic respiration) ของ denitrifying bacteria (Khin and Annachhatre, 2004) การทำให้จุลินทรีย์อยู่ในสภาพที่ถูกตรึงอยู่บนตัวกลางของแข็งที่เต็มไปด้วยรูพรุน เป็นการเพิ่มพื้นที่ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ nitrification มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วขึ้นและอัตราเร็วของปฏิกิริยา nitrification เพิ่มขึ้นแล้ว ตัวกลางของแข็งที่เต็มไปด้วยรูพรุนที่ใช้เป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ยังช่วยเพิ่มส่วนที่มีสภาวะไร้ออกซิเจนซึ่งจำเป็นต่อกระบวนการ denitrification (Arbiv and van Rijn, 1995) ทำให้ตู้ทดลองที่ใช้ซากปะการังจึงมีการเพิ่มขึ้นของระดับไนเตรทน้อยกว่าตู้ทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการัง

4. pH

ผลการเปลี่ยนแปลงระดับ pH ในชุดควบคุมของระบบที่ไม่ใช้ (C) และใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (CI) ตลอดระยะเวลา 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 9 (1) พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำทะเลทั้งในชุดทดลอง C และชุดทดลอง CI มีค่า 7.5 และ 7.7 ตามลำดับ แม้ว่า pH ของทั้งสองชุดทดลองมีความแตกต่างที่ไม่มากนัก แต่ผลจากการทดสอบทางสถิติชี้ให้เห็นว่าระบบทั้งสองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 12) ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากคุณสมบัติความเป็นด่างของแคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของซากปะการัง



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงของระดับ pH ในแต่ชุดทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม (C) ชุดทดลองที่เติมเพียงอาหารกุ้ง (F) และชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลอง (S) เปรียบเทียบกับชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (CI, FI และ SI) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน

ผลการเปลี่ยนแปลง pH ในตู้ทดลองของระบบที่ไม่ใช้ (F) และ ใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (FI) เมื่อใส่เพียงอาหารสดลงไปด้วยปริมาณและเวลาเดียวกับชุดทดลองเลี้ยงกุ้ง ตลอด

ระยะเวลาการทดลอง 18 วัน ดังแสดงในภาพที่ 9 (2) พบว่า pH ในตู้ทดลองที่ไม่ใช้ปะการังจะค่อยๆลดลงจาก 7.5 ถึง 6.8 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในขณะตู้ที่มีซากปะการังมีการเปลี่ยนแปลง pH เพียงเล็กน้อยอยู่ในช่วง 7.7-7.8 จากการทดสอบทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลง pH ระหว่างตู้ทดลองสองระบบนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ตารางที่ 12)

ผลการเปลี่ยนแปลง pH ในตู้ทดลองของระบบที่ไม่ใช้ (S) และ ใช้ซากปะการังตรึงจุลินทรีย์ (SI) เมื่อเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารสด ดังแสดงในภาพที่ 9 (3) พบว่าระหว่าง 18 วันของการทดลอง pH ในตู้ที่ไม่ใช้ปะการังลดลงตลอดเวลาคือเปลี่ยนจาก 7.5 ถึง 6.0 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในขณะที่ในตู้ที่มีซากปะการังเกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยและมีทิศทางตรงกันข้ามคือเปลี่ยนจาก 7.7 ถึง 8.1 และผลการทดสอบทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในตู้ทดลองสองระบบนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) (ตารางที่ 12)

จากผลการศึกษาระดับแอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท พบว่ามีการลดลงของค่าแอมโมเนียและไนไตรท์ และมีการเพิ่มขึ้นของค่าไนเตรท ในตู้ทดลองที่เติมเพียงอาหารที่เป็นเนื้อกุ้งสด (F และ FI) และตู้ทดลองเลี้ยงกุ้งทดลองโดยให้อาหารเป็นเนื้อกุ้งสด (S และ SI) แสดงให้เห็นว่ามีกระบวนการ nitrification เกิดขึ้นทั้งในระบบที่ใช้และไม่ใช้การตรึงจุลินทรีย์ กระบวนการ nitrification จะปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ และ H^+ ออกมาทำให้ pH ในน้ำลดลง (Boyd, 1990) ตู้ทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการัง ระดับ pH จึงลดลงตลอดระยะเวลาการทดลอง แต่ตู้ทดลองที่ใช้ซากปะการังโดยเฉพาะตู้ทดลองเลี้ยงกุ้งทดลองโดยให้อาหารเป็นเนื้อกุ้งสด ระดับ pH ไม่ลดลงแต่กลับเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน น่าจะมีผลมาจากซากปะการังซึ่งมีส่วนประกอบเป็นคาร์บอเนต ช่วยเพิ่มความเป็นด่างในน้ำ ทำให้ระบบทนต่อการเปลี่ยนแปลง pH (Menasveta *et al.,* 2001; Birkeland, 1997) และเนื่องจากระบบตู้เลี้ยงสัตว์น้ำที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มพื้นที่ที่มีสภาวะกึ่งไร้ออกซิเจน จึงช่วยเพิ่มอัตรา denitrification ซึ่งเป็นกระบวนการที่ให้ความเป็นด่างกลับมาด้วย

เมื่อ pH สูงขึ้นจะเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียรูปไม่แตกตัว (NH_3) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่างและสามารถแพร่จากน้ำไปสู่บรรยากาศได้ (ammonia stripping) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบว่าชุดทดลองระบบที่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ ระดับแอมโมเนียลดลงเร็วกว่าชุดทดลองระบบที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ ดังที่ได้กล่าวแล้ว

3.3.2 ประสิทธิภาพการเลี้ยง

1. อัตราการเพิ่มน้ำหนัก

หลังจากเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักของกุ้งกุลาดำในชุดทดลองที่ใช้การตรึงจุลินทรีย์ (SI) สูงกว่าในชุดทดลองที่ไม่ใช้การตรึงจุลินทรีย์ (S) มีค่า

เท่ากับ 10.28±0.65 % และ 9.21±0.71 % ตามลำดับ แต่อัตราการเพิ่มน้ำหนักทั้ง 2 ชุดทดลองไม่มีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 อัตราการเพิ่มน้ำหนัก อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดตาย ที่เปลี่ยนแปลงในชุดทดลองที่เลี้ยงกุ้งทดลอง เปรียบเทียบระหว่างระบบที่ไม่ใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S) และใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI) ระยะเวลาทดลอง 18 วัน แสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Mean±SD)

ชุดทดลอง	อัตราการเพิ่มน้ำหนัก (%)	อัตราการแลกเนื้อ	อัตราการรอดตาย (%)
S	9.21±0.71[a]	12.80±1.27[a]	72.22±9.62[a]
SI	10.28±0.65[a]	12.55±0.53[a]	88.89±9.62[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรในแนวตั้งเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Chen และคณะ (1990) รายงานว่า ความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำวัยรุ่นเท่ากับ 4.26 mg/l และความเข้มข้นของไนไตรท์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำวัยรุ่นเท่ากับ 10.60 mg/l เมื่อใช้เกณฑ์ดังกล่าวเปรียบเทียบกับผลการทดลองนี้ พบว่าในชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่ไม่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S) และชุดทดลองเลี้ยงกุ้งที่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI) ความเข้มข้นแอมโมเนียอยู่ในระดับที่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำตั้งแต่วันที่ 4 ของการทดลอง ความเข้มข้นไนไตรท์ในชุดทดลอง S อยู่ในระดับที่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลองและชุดทดลอง SI ความเข้มข้นไนไตรท์อยู่ในระดับที่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำตั้งแต่วันที่ 12 ของการทดลอง

แม้ว่าชุดทดลอง SI จะมีความเข้มข้นไนไตรท์จะอยู่ในระดับที่เป็นอันตรายสูงกว่าในชุดทดลอง S แต่เนื่องจากแอมโมเนียมีความเป็นพิษต่อกุ้งกุลาดำสูงกว่าไนไตรท์และการสะสมของแอมโมเนียจนมีระดับเป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำชุดทดลอง S เกิดขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของระบบการเลี้ยง ส่วนการสะสมของไนไตรท์จนมีระดับเป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำในชุดทดลอง SI เกิดขึ้นหลังวันที่ 10 ของระบบการเลี้ยง โดยชุดทดลอง S มีความเข้มข้นแอมโมเนียอยู่ในระดับที่สูงกว่าในชุดทดลอง SI ทำให้อัตราการเพิ่มน้ำหนักของชุดทดลอง S น้อยกว่าชุดทดลอง SI แต่ระยะเวลาการ

ทดลองเพียง 18 วัน อาจทำให้อัตราการเพิ่มน้ำหนักของทั้ง 2 ชุดทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

2. อัตราการแลกเนื้อ

หลังจากเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าอัตราการแลกเนื้อของกุ้งกุลาดำในชุดทดลองที่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S) น้อยกว่าในชุดทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI) มีค่าเท่ากับ 12.55±0.53 และ 12.80±1.27 ตามลำดับ โดยอัตราการแลกเนื้อทั้ง 2 ชุดการทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในภาวะที่มีแอมโมเนียและไนไตรท์สูง กุ้งกุลาดำจะมีความเครียด อัตราการเผาพลังงานในร่างกายสูงขึ้น แม้กินอาหารในปริมาณมากแต่การแลกเป็นเนื้อจะน้อย (Chen and Kou, 1992) การที่ชุดทดลอง SI อัตราการแลกเนื้อมีค่าน้อยกว่าชุดทดลอง S แสดงว่าให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำในชุดทดลองที่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ ให้ผลผลิตสูงกว่ากุ้งกุลาดำในชุดทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ แต่ระยะเวลาการทดลองเพียง 18 วัน อาจทำให้อัตราการแลกเนื้อของทั้ง 2 ชุดทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลของอัตราการเพิ่มน้ำหนัก

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบหนาแน่นในประเทศไทยที่ความเค็ม 1.5-2.0 ppt มีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 1.35 (Tookwinas, 1993) และการเลี้ยงกุ้งกุลาดำขนาด 4.0 กรัมในตู้น้ำทะเลที่ความหนาแน่น 30 ตัวต่อตารางเมตร มีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 1.20 (Akiyama, 1990) แต่อย่างไรก็ตามอัตราการแลกเนื้อกุ้งกุลาดำขึ้นอยู่กับคุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงด้วย ในการทดลองนี้ใช้อาหารที่เป็นเนื้อกุ้งสดซึ่งมีส่วนประกอบของน้ำมากกว่าอาหารสำเร็จรูปจึงทำให้อัตราแลกเนื้อในการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ใช้อาหารสำเร็จรูปทั่วไป

3. อัตราการรอดตาย

หลังจากเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งกุลาดำในชุดทดลองที่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ (SI) สูงกว่าในชุดทดลองที่ไม่ใช้ซากปะการังเป็นวัสดุตรึงจุลินทรีย์ (S) มีค่าเท่ากับ 88.89±9.62 % และ 72.99±9.62 % ตามลำดับ โดยอัตราการรอดตายทั้ง 2 ชุดการทดลองไม่มีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5

จากการศึกษาของ Cavalli และคณะ (1996) พบว่าที่ความเค็ม 32 ppt ค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมงของแอมโมเนียรวม และแอมโมเนียรูปไม่แตกตัว ในกุ้ง *P. paulensis* เท่ากับ 34.36 และ 0.83 mg/l ตามลำดับ พิษเฉียบพลันของไนไตรท์ต่อกุ้งกุลาดำวัยรุ่นที่ 240 ชั่วโมงเท่ากับ 106

mg /l (Chen *et al.*, 1990) เมื่อใช้เกณฑ์ดังกล่าวเปรียบเทียบกับผลการทดลองนี้ พบว่าระยะเวลาการทดลอง 18 วัน การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นแอมโมเนียและไนไตรท์ในชุดการทดลองที่ 3 และ 6 ไม่อยู่ในระดับที่เป็นพิษเฉียบพลันต่อกุ้งกุลาดำ อัตราการรอดตายทั้ง 2 ชุดการทดลองจึงไม่แตกต่างกัน