สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดินและน้ำบริเวณบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำในเขตอำเภอระโนด จังหวัดสงขลา และอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี ตัวอย่างดินมี pH อยู่ระหว่าง 7.9-9.2 ตัวอย่างน้ำมี pH อยู่ระหว่าง 7.9-8.6 ความเค็ม 21-32 ppt และ อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 30-34 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 1) จะเห็นได้ว่าค่า pH ความเค็ม และอุณหภูมิที่ตรวจได้ในบ่อเลี้ยงกุ้งนี้เป็นค่าปกติที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงและเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำซึ่งจากการตรวจเอกสารพบว่า pH ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งอยู่ระหว่าง 7.8-8.5 (หัสนัย, 2531) ถ้า pH ต่ำกว่า 5 หรือสูงกว่า 10 จะทำให้กุ้งตายเร็ว (บรรจง, 2521) การเปลี่ยนแปลงของ pH ในบ่อเลี้ยงกุ้งจะถูกควบคุมโดยปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และปริมาณอิออนที่มีอยู่ในน้ำโดยธรรมชาติในบ่อเลี้ยงกุ้ง ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกใช้ไปในกระบวนการสังเคราะห์แสง และมีการสร้างขึ้นในกระบวนการหายใจ จึงทำให้ pH สูงขึ้นในตอนเช้า เนื่องจากมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาก และ pH ต่ำในตอนบ่ายเนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ถูกใช้ไปในการสังเคราะห์แสงทำให้ปริมาณแพลงค์ตอนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง pH ด้วย ถ้ามีปริมาณมากจะทำให้เกิดความแตกต่างของค่า pH ต่ำสุดและสูงสุดของน้ำในบ่อ ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของกุ้งด้วย (Boyd, 1987)

กุ้งกุลาดำเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 15- 30 ppt (บรรจง, 2529 หัสนัย, 2531) น้ำที่มีความเค็มสูงจะทำลายพวกแพลงก์ตอน และในน้ำที่มีความเค็มต่ำทำให้มีแบคทีเรียและโปรโตซัวเจริญทำให้กุ้งเป็นโรคได้ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ สำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในน้ำซึ่งจำเป็นต้องให้ปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 4.0มิลลิกรัม/ลิตร แต่ไม่เกิน 7.0 มิลลิกรัม/ลิตร และรักษาความเร็วในการไหลเวียนของน้ำให้อยู่ประมาณ 0.1-0.13 เมตร/นาที ไปในทิศทางเดียวกัน และให้รบกวนหน้าดินน้อยที่สุด

ค่า Biochemical Oxygen Demand (BOD) ของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งอยู่ระหว่าง 110-280 มิลลิกรัม/ลิตร และค่า BOD ของน้ำในบ่อพักน้ำมีค่าเท่ากับ 110 และ 160 มิลลิกรัม/ลิตร (เสาวนีย์, 2535) ค่า BOD จะเพิ่มขึ้นตามอายุของกุ้งเนื่องจากปริมาณอาหารที่ตกค้างและของเสียจากการขับถ่ายของกุ้งมีปริมาณเพิ่มขึ้น (ยนต์ และคณะ, 2531) ส่วนสารอินทรีย์ที่ใส่ลงไปในบ่อกุ้งคืออาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้ง ซึ่งพบว่ามีโปรตีน 35-45 % ที่เหลือเป็นคาร์โบไฮเดรท ไขมัน และเส้น

ใย(มะลิ, 2531)สารอินทรีย์เหล่านี้จะถูกย่อยสลายต่อไปเป็นแอมโมเนีย (NH_3) แอมโมเนียม (NH_4^+) ไนไตรท์ (NO_2^-) ไนเตรท (NO_3^-) ไนโตรเจน (N) และอินทรีย์ไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้ (soluble organic nitrogen) ได้แก่ กรดอะมิโน โปรตีน เปปไทด์ ยูเรีย เป็นต้น ในบ่อเลี้ยงกุ้งพบว่าแอมโมเนีย และไนไตรท์ที่สะสมอยู่มีพิษต่อกุ้ง ถ้า pH ภายนอกสูงกว่าภายในเซลล์ แอมโมเนียจากภายนอกเซลล์จะถูกดึงเข้ามาในเซลล์ซึ่งมี H^+ มากกุ้งจะตายถ้ามีปริมาณแอมโมเนียในเลือดสูงกว่าปริมาณที่ต้องขับออก มีผลต่อปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์และเนื้อเยื่อจะต้องใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น เนื่องจากไปลดความสามารถของเลือดในการขนส่งออกซิเจน ทำลายเหงือกทำให้ติดโรคง่าย (สมพร, 2535) การพ่นอากาศและการมีกังหันน้ำทำให้น้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งมีการเคลื่อนไหวซึ่งช่วยขับไล่แอมโมเนีย ส่วนกากอาหารที่มีกรดอะมิโน methionine, cystine และ cystein ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งเมื่อถูกย่อยสลายแล้วจะเกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งจะเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำที่ระดับความเข้มข้น 0.01-0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และถ้าพบว่ามีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายอยู่ในปริมาณ 1.3 มิลลิกรัม/ลิตร จะทำให้กุ้งช็อคเป็นอัมพาต และตายได้ (สมพร, 2535)

จากการนับจำนวนแบคทีเรียจากดินและน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง พบว่ามีแบคทีเรียอยู่ระหว่าง 5.0 x 10^2 - 2.1 x 10^4 CFU/g (ตารางที่ 2) จำนวนแบคทีเรียของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำนั้นจะแตกต่างกันตามสถานที่และแหล่งเพาะเลี้ยง ซึ่งมีค่าระหว่าง 3.9 x 10^2 - 5.9 x 10^3 CFU/ml (ภัทราพรและคณะ, 2533) 3.3x10^3 - 3.2x10^6 CFU/ml (กุลวรา, 2534) และ 3.0 x 10^2-8.3 x 10^2 CFU/ml (เสาวนีย์, 2535) แบคทีเรียที่ตรวจพบในบ่อเลี้ยงกุ้งได้แก่สกุล *Aeromonas Klebsiella Vibrio* (ภัทราพรและคณะ, 2533) *Pseudomonas Flavobacterium Achromobacter* (สว่าง, 2532) *Micrococcus Bacillus Clostridium* และ *Corynebacterium* (Colwell และคณะ , 1974) การแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างดินและน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งและบ่อน้ำทิ้งจำนวน 36 ตัวอย่างได้แบคทีเรีย 36 สายพันธุ์ เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งสร้างสปอร์ 20 สายพันธุ์ คิดเป็น 55.55% แบคทีเรียรูปแท่งแกรมบวกไม่สร้างสปอร์ 2 สายพันธุ์คิดเป็น 5.55 % แบคทีเรียรูปกลมติดสีแกรมบวก 9 สายพันธุ์คิดเป็น 25% และแบคทีเรียรูปแท่งติดสีแกรมลบ 5 สายพันธุ์คิดเป็น 13.9 % (ตารางที่ 2)

เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 36 สายพันธุ์ไปทดสอบการย่อยโปรตีนบนอาหารแข็ง พบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้มี 31 สายพันธุ์คิดเป็น 86 เปอร์เซนต์ และเป็นแบคทีเรียรูปแท่งแกรมบวกสร้างสปอร์ 20 สายพันธุ์ คิดเป็น 55 เปอร์เซนต์ แบคทีเรียรูปแท่งแกรมบวกไม่

สร้างสปอร์ 2 สายพันธุ์ คิดเป็น 5.56 เปอร์เซนต์ แบคทีเรียรูปกลมแกรมบวก 9 สายพันธุ์คิดเป็น 25 เปอร์เซนต์ ส่วนเชื้อที่ไม่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนมี 5 สายพันธุ์ คิดเป็น 14 เปอร์เซนต์ซึ่งเป็นแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบ (ตารางที่ 4 และตารางที่ 5) แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้สูงที่สุดคือ แบคทีเรียรหัส S1, S25 และ W4 (ตารางที่ 6) ทั้ง 3 สายพันธุ์เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งสร้างสปอร์ และได้นำแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์มาทดสอบการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในอาหารเหลว พบว่าแบคทีเรีย รหัส S1 เป็นแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้ดีที่สุด (รูปที่ 1) จึงทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการนำแบคทีเรียทั้ง 36 สายพันธุ์ไปทดสอบการย่อยแป้งในอาหารแข็ง พบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้ 14 สายพันธุ์ คิดเป็น 38.9% (ตารางที่ 2 และตารางที่ 6) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งสร้างสปอร์ 11 สายพันธุ์ และแกรมบวกรูปกลม 3 สายพันธุ์ แบคทีเรียกลุ่มที่นับว่ามีบทบาทสำคัญในการสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งและพบปริมาณมากเมื่อเทียบเป็นเปอร์เซนต์ของที่พบทั้งหมดคือแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวกรูปแท่งสร้างสปอร์ เพราะแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และทนต่อความเค็มได้ดี เมื่อนำแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยแป้งในอาหารแข็ง starch agar 3 สายพันธุ์ คือแบคทีเรีย รหัส S2, S5 และ S18 ไปทดสอบการสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งในอาหารเหลวพบว่าแบคทีเรีย รหัส S5 เป็นแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้ดีที่สุด (รูปที่ 2) จึงทำการคัดเลือกแบคทีเรีย รหัส S5 ไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างเอนไซม์ย่อยแป้ง

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 คือปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 0 เปอร์เซนต์ (รูปที่ 4) pH 6 (รูปที่ 5 และรูปที่ 6) และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (รูปที่ 7 และรูปที่ 8) สำหรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งของเชื้อแบคทีเรีย รหัส S5 คือ pH 6 (รูปที่ 9) ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 0 เปอร์เซนต์ (รูปที่ 10) และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (รูปที่ 11)