

## บทที่ 4 บทวิจารณ์

จากผลการศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพและปริมาณของแบคทีเรียในแต่ละกลุ่มในวัฏจักรไนโตรเจนของตะกอนดินบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนา แล้วนำผลการวิเคราะห์มาหาความสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยทางเคมี-กายภาพและทางจุลชีววิทยาของตะกอนดินบ่อเลี้ยงกุ้ง ซึ่งจากผลการศึกษามีรายละเอียด โดยจำแนกไว้เป็นหัวข้อประเด็นสำคัญดังนี้

**1. การศึกษาตะกอนดินบ่อเลี้ยงกุ้งขาว** เป็นการศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพและจุลชีววิทยา โดยพารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ได้แก่ pH, electrical conductivity, organic matter, Total Kjeldahl Nitrogen (TKN), C/N ratio, ammonium, nitrite, nitrate, Total bacterial count (TBC), ammonifiers, ammonia oxidizing bacteria (AOB), nitrite oxidizing bacteria (NOB), denitrifiers และ azotobacteraceae จากผลการศึกษามีสาระสำคัญดังนี้

### 1.1 สมบัติทางเคมี-กายภาพของตะกอนดินบ่อเลี้ยงกุ้งขาว

#### 1.1.1 ความเป็นกรดและด่าง (pH)

จากผลการศึกษาดังภาพประกอบที่ 5 พบว่าดินชุดควบคุมมีค่า pH เป็นกรดจัดมากโดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.64 – 4.43 (เฉลี่ย 4.00) จัดว่าเป็นดินกรดจัด (กรมพัฒนาที่ดิน, 2536) ซึ่งลักษณะทั่วไปของดินกรดจัดดินชั้นบนลึกตั้งแต่ 20 – 40 เซนติเมตร มี pH ประมาณน้อยกว่า 4 – 5.5 ดินเปรี้ยวเกิดจากการทับถมของตะกอนน้ำทะเลและน้ำกร่อยซึ่งบริเวณพื้นที่น้ำกร่อยมักจะมีพืชพวกแสม โกงกาง ขึ้นอยู่ทั่วไปเมื่อพืชพวกนี้ตายก็จะกลายเป็นอินทรีย์วัตถุสะสมอยู่ในดิน แล้วจุลินทรีย์พวกที่เจริญเติบโตได้ดีในอินทรีย์วัตถุเหล่านี้จะเปลี่ยนสารประกอบซัลเฟตที่มีอยู่ในดินให้กลายเป็นสารประกอบไพไรต์ (pyrite :  $FeSO_4$ ) ในสภาพที่ขาดออกซิเจน เช่น มีน้ำแช่ขัง สารประกอบไพไรต์จะไม่แสดงปฏิกิริยาใดๆ แต่ถ้ามีการระบายน้ำออกไปหรือมีการทำให้ดินแห้งเป็นระยะเวลานานๆ (สภาวะมีออกซิเจน) สารประกอบไพไรต์จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ผนวกกับการได้รับพลังงานจากจุลินทรีย์ในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุทำให้ดินนั้นปลดปล่อยกรดกำมะถัน ( $H_2SO_4$ ) ออกมาเป็นเหตุให้ทั้งน้ำและดินเป็นกรดอย่างรุนแรง ค่า pH มักน้อยกว่า 4.0 (พิสุทธิ, 2536)

ดังนั้นในการเลี้ยงกุ้งจึงต้องปรับ pH ของน้ำให้เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งโดยการเติมปูนขาว ซึ่งในการศึกษานี้พบว่าบ่อกุ้งทั้งอายุ 3 ปีและ 5 ปี ต่างมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) กับดินชุดควบคุม (ภาพประกอบที่ 5 และตารางภาคผนวกที่ 1, 2) โดยพบว่ากิจกรรมการเลี้ยงกุ้งส่งผลให้ pH ของดินบ่อกุ้งสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบ pH ของตะกอนดินบ่อกุ้งที่

ทำการศึกษาในครั้งนี้ซึ่งพบว่ามีความเป็นกรดปานกลางถึงเป็นด่างอย่างอ่อนขณะที่ pH ของดินที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำซึ่งต้องเป็นกลางถึงด่างอย่างอ่อน (Adhikari, 2003) เห็นได้ว่าตะกอนดินของบ่อกุ้งที่ทำการศึกษามี pH โดยภาพรวมค่อนข้างต่ำ (เป็นผลจากดินเดิมมีสภาพเป็นกรดจัดมาก) กว่าค่าที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งคือผลการศึกษา pH อยู่ระหว่าง 5.66 – 7.57 โดยเฉพาะค่าต่ำสุดที่วัดได้เท่ากับ 5.66 ซึ่งเป็นค่า pH ในช่วงท้ายของการเลี้ยงกุ้งของบ่อ 3A การที่พบ pH ของตะกอนดินมีค่าต่ำในช่วงท้ายของการเลี้ยงกุ้งนี้น่าจะมาจากการลดลงของแอมโมเนียมที่สะสมแต่มีการสะสมของไนไตรท์ (ภาพประกอบที่ 10 และ 11) เพราะ NOB ถูกกวดการเจริญเติบโตในสภาพ pH ต่ำ ซึ่งตรงกับผลการศึกษานี้

#### 1.1.2 ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity)

เมื่อระยะเวลาผ่านไป พบว่าการเลี้ยงกุ้งมีแนวโน้มทำให้ค่าการนำไฟฟ้าของตะกอนดินในทุกบ่อเพิ่มขึ้น (ภาพประกอบที่ 6) เป็นผลมาจากการเลี้ยงกุ้งในฤดูฝนและในช่วงท้ายของการเลี้ยงเป็นต้นฤดูร้อน อันเป็นอิทธิพลหลักที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเค็มของตะกอนดินและส่งผลกระทบต่อค่าการนำไฟฟ้าของตะกอนดินพื้นบ่อ จากการศึกษาพบว่าบ่อกุ้งที่มีอายุการใช้งาน 3 ปี และ 5 ปี มีค่าการนำไฟฟ้าของตะกอนดินไม่ต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และค่าการนำไฟฟ้าของบ่อ 2 กลุ่มดังกล่าวไม่แตกต่างจากค่าการนำไฟฟ้าของดินชุดควบคุมเช่นกัน

#### 1.1.3 อินทรีย์วัตถุ (Organic Matter)

จากผลการศึกษาในบ่ออายุ 3 ปี (บ่อ 3A และ 3B) ซึ่งมีอายุการเลี้ยงกุ้งใกล้เคียงกันแต่มีอัตราหนาแน่นของกุ้งต่างกันนั้น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณอินทรีย์วัตถุในช่วงอายุกุ้งที่ใกล้เคียงกัน พบว่าบ่อ 3B มีอินทรีย์วัตถุมากกว่าบ่อ 3A เล็กน้อย (ภาพประกอบที่ 7) ทั้งนี้เป็นเพราะในบ่อ 3B มีการปล่อยกุ้งในอัตราหนาแน่นที่สูงกว่าบ่อ 3A ซึ่งนอกจากเศษอาหารที่อาจเหลือตกค้างมากกว่าแล้วยังรวมถึงของเสีย สิ่งขับถ่ายจากกุ้งและซากกุ้งมากกว่าอีกด้วย ปริมาณอินทรีย์วัตถุในตะกอนดินแต่ละบ่อมีค่าเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบๆ ตลอดระยะเวลาเลี้ยง ยกเว้นในบ่อ 5B ที่พบว่าปริมาณร้อยละของอินทรีย์วัตถุมีแนวโน้มการสะสมตัวเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงอย่างชัดเจน โดยในช่วงแรกของการเลี้ยงมีปริมาณอินทรีย์วัตถุเท่าๆ กับบ่ออื่นแต่ในช่วงกลาง (วันที่ 61) ของการเลี้ยงพบว่าปริมาณอินทรีย์วัตถุเพิ่มขึ้นสูงมากแสดงถึงการตกค้างของสารอินทรีย์สูงมาก (ประมาณ 15%) ซึ่งแสดงถึงความผิดปกติแต่โดยภาพรวมไม่พบที่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ระหว่างดินชุดควบคุมและบ่ออายุ 3 ปี และ 5 ปี และในกรณีของดินชุดควบคุมในการเก็บครั้งที่ 2 มีค่าสูงมากนั้นเป็นเพราะว่าก่อนวันไปเก็บตัวอย่าง ฝนตกหนักมีการทับถมของกิ่ง ก้านและใบไม้แล้วเกิดการย่อยสลายอย่างรวดเร็ว

#### 1.1.4 ไนโตรเจนรวม (Total Kjeldahl Nitrogen : TKN)

ค่าปริมาณ TKN เป็นค่าของไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของสารอินทรีย์ ไนโตรเจนรวมกับอนินทรีย์ไนโตรเจนในดิน ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นถึงการสะสมของของเสียในบ่อกึ่งได้ดี จากการศึกษาปริมาณ TKN ในตะกอนดินบ่อเลี้ยงกุ้งที่ทำการศึกษาพบว่ามีค่าเปลี่ยนแปลงไม่มากนักระหว่างเลี้ยง (ภาพประกอบที่ 8) ดังนั้นพบว่าค่า TKN ของบ่ออายุ 3 ปี กับ 5 ปี ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และภาพประกอบที่ 8 และ 10 แสดงให้เห็นว่า TKN ของดินชุดควบคุมอยู่ในรูปอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นหลักแต่ในบ่อกึ่งอยู่ในรูปแอมโมเนียมเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นค่า TKN ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างดินชุดควบคุมและดินบ่อกึ่ง และในกรณีที่ดินชุดควบคุมสำหรับการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 มีค่าสูงมากนั้นก็ด้วยเหตุผลเช่นเดียวกับกรณีของอินทรีย์วัตถุ

#### 1.1.5 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน (C/N ratio)

C/N ratio ของดินมีอิทธิพลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินอย่างมาก นั่นคือมีผลต่ออัตราการปลดปล่อยสารอาหารจากการย่อยสลายอินทรีย์สาร อัตราการเปลี่ยนแปลงจากอินทรีย์สารไปเป็นอนินทรีย์สารจะเกิดขึ้นเร็วมากในสถานะที่ C/N ratio มีค่าต่ำกว่า 10 จะเกิดขึ้นเร็วปานกลางหาก C/N ratio เท่ากับ 10 – 20 และเกิดขึ้นได้ช้าถ้า C/N ratio สูงกว่า 20 และอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือ 10-15 (Adhikari, 2003) จากการศึกษาตะกอนดินในบ่อเลี้ยงกุ้งขาว พบว่าค่า C/N ratio ของตะกอนดินในบ่อ 3A 3B 5A และ 5B พบว่ามีค่าเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 24 – 30 19 – 28 21 – 26 และ 18 – 51 ตามลำดับ (ภาพประกอบที่ 9) ซึ่งเป็นค่าอัตราส่วนที่ไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งเลย ในบรรดาธาตุต่างๆ ที่เป็นอาหารของจุลินทรีย์นั้น ไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีความสำคัญมากที่สุดสำหรับการสลายตัวของอินทรีย์คาร์บอนเพราะไนโตรเจนมักมีปริมาณจำกัดในดิน และจากผลการศึกษาพบว่าตะกอนดินมี C/N ratio สูงเกินค่าที่เหมาะสมหมายความว่าในตะกอนดินมีปริมาณคาร์บอนที่สูงเกินปริมาณไนโตรเจนซึ่งมีอยู่ (บ่งชี้สภาพดินเดิมมีไนโตรเจนอย่างจำกัด) ทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ไม่ดีเท่าที่ควรจึงส่งผลให้อัตราการสลายตัวของอินทรีย์วัตถุเกิดขึ้นได้ไม่ดีเท่าที่ควรต้องใช้เวลายาวและพบว่าค่า C/N ratio ภายในบ่อกึ่งและดินชุดควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

#### 1.1.6 แอมโมเนียม

จากผลการศึกษาแอมโมเนียมในตะกอนดินของบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนา พบว่ามีค่าพิสัยอยู่ระหว่าง 6.569 - 44.031 mg-N/kg dry weight (ภาพประกอบที่ 10) แอมโมเนียมในตะกอนดินบ่อกึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจนที่หลุดตกค้างอยู่ในดิน จากผลการทดสอบความแตกต่างของแอมโมเนียมของตะกอนดินบ่อเลี้ยงกุ้งระหว่างบ่อเลี้ยงที่มีอายุ 3 ปี และ 5 ปี (ภาพประกอบที่ 10 และตารางผนวกที่ 25, 26) พบว่าบ่อกึ่งที่มีอายุการใช้งาน 3 ปี และ 5 ปี

มีค่าแอมโมเนียมของตะกอนดินระหว่างเลี้ยงกุ้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่ค่าเฉลี่ยแอมโมเนียมของตะกอนดินในบ่อที่มีอายุ 3 ปีจะสูงกว่าในบ่อที่มีอายุ 5 ปี ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้สาเหตุหลักน่าจะมาจากอายุของกุ้งช่วงที่ศึกษาของบ่ออายุ 3 ปีทั้งสองบ่อ เป็นช่วงที่กุ้งมีอายุ 13 และ 14 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่กุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตสูงทำให้มีแอมโมเนียมสูงมากกว่าจะเป็นการสะสมแอมโมเนียมตามอายุของบ่อกุ้งและพบว่าแอมโมเนียมของตะกอนดินบ่อกุ้งอายุ 3 ปี และ 5 ปี มีความแตกต่างกันทางสถิติกับดินชุดควบคุมแสดงว่ากิจกรรมการเลี้ยงกุ้งส่งเสริมให้มีแอมโมเนียมเหลือสะสมอยู่ซึ่งง่ายต่อการนำไปใช้โดยจุลินทรีย์ดิน (ดวงพร, 2545) ทำให้ดินบ่อกุ้งมีกิจกรรมการย่อยสลายได้รวดเร็วและผลจากการที่มีแอมโมเนียมสะสมอยู่ในบ่อกุ้งส่งผลให้ตะกอนดินบ่อกุ้งมีค่า pH สูงกว่าดินชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ดังที่กล่าวมาแล้ว

#### 1.1.7 ไนโตร

จากการศึกษาปริมาณไนโตร พบว่าบ่อกุ้งที่มีอายุการใช้งาน 3 ปี และ 5 ปี มีไนโตรของตะกอนดินระหว่างเลี้ยงกุ้งไม่ต่างกัน (ภาพประกอบที่ 11) แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าในบางช่วงของการเลี้ยงกุ้ง ตะกอนดินมีความเข้มข้นของไนโตรสูง ( $> 0.5 \text{ mg/kg dry weight}$ ) ซึ่งโดยทั่วไปนั้นไนโตรจะไม่มีการสะสมอยู่ในแหล่งน้ำเพราะไนโตรจะเปลี่ยนไปเป็นไนเตรทอย่างรวดเร็ว แต่ในบางสภาวะหากอัตราการออกซิไดซ์แอมโมเนียสูงกว่าอัตราการออกซิไดซ์ไนโตรก็จะเกิดการสะสมของไนโตรที่ขึ้นได้ การออกซิไดซ์ไนโตรที่เป็นไนเตรทนั้นมีแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง เช่น *Nitrobacter winogradskyi* และ *Nitrobacter agilis* ในดินทั่วไปพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในปริมาณน้อย การผลิตไนโตรที่จากดินก้นบ่อที่มีมากเกินไปนี้อาจจะมาจากการที่ตะกอนดินมีอินทรีย์วัตถุมากทำให้จุลินทรีย์บางจำพวกที่ย่อยสลายอินทรีย์สารแย่งออกซิเจนไป ทำให้เกิดการเจริญของแบคทีเรียกลุ่ม NOB (ดวงพร, 2545) ซึ่งต้องการออกซิเจนในการเจริญสูงมาก จึงเกิดการสะสมไนโตรที่ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองเพราะแทบไม่พบแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวในการศึกษาครั้งนี้

#### 1.1.8 ไนเตรท

ปริมาณไนเตรทในตะกอนดินมีการแกว่งตัวขึ้นลงในระหว่างการเลี้ยง ไนเตรทนั้นส่วนใหญ่ได้จากผลผลิตขั้นสุดท้ายของกระบวนการไนตริฟิเคชัน ภาพประกอบที่ 11 และ 12 พบว่าโดยทั่วไปปริมาณไนโตรและไนเตรทสอดคล้องกันคือ ในบ่อกุ้งช่วงเวลาที่มีไนโตรที่น้อยพบว่ามีไนเตรทมาก บ่อกุ้งมีการสะสมไนโตรที่ขณะที่ชุดดินควบคุมไม่มีซึ่งสาเหตุมาจากแอมโมเนียมในดินชุดควบคุมมีค่าต่ำมาก (ภาพประกอบที่ 10) ดังนั้นแสดงว่า AOB และ NOB ของบ่อกุ้งมีปัญหาโดยเฉพาะ NOB จึงเกิดการสะสมไนโตรที่ตามทีกล่าวมาแล้ว

## 1.2 ปริมาณแบคทีเรียในวัฏจักรไนโตรเจน

### 1.2.1 Total bacterial count

ผลการตรวจวิเคราะห์ TBC ในตะกอนดินชั้นบนและชั้นล่าง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $1.2 \times 10^6$  และ  $2.5 \times 10^6$  CFU/g dry weight ตามลำดับ (ภาพประกอบที่ 13 และ 14) ใกล้เคียงกับที่ Abraham, *et al.* (2004) ศึกษาพบว่า TBC ในตะกอนดินบ่อกึ่งทางอินเดียตะวันตกมีปริมาณเฉลี่ย  $10^6$  CFU/g weight แต่ Lila, *et al.* (1996) พบ TBC ในตะกอนดินบ่อกึ่งภูลาดำ จังหวัดจันทบุรีของประเทศไทยมีปริมาณสูงมาก คือพบว่ามีปริมาณ  $8.2 \times 10^7 - 1.6 \times 10^9$  CFU/g weight สำหรับการศึกษาระยะกึ่งดินครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของ TBC ระหว่างตะกอนดินชั้นบนและชั้นล่าง ไม่ว่าจะ เป็นของบ่ออายุ 3 ปีและ 5 ปี แต่ Jun, *et al.* (2000) ที่ศึกษาแบคทีเรียในตะกอนดินบ่อปลาพบว่า ในตะกอนดินชั้นบน (0 – 1.5 เซนติเมตร) และชั้นล่าง (1.5 – 3.5 เซนติเมตร) มีปริมาณ TBC ต่างกัน อย่างไรก็ตามปริมาณ TBC มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเลี้ยงซึ่งเป็นผลมาจากการเจริญเติบโตของกุ้ง จึงมีผลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย

### 1.2.2 Ammonifiers

Ammonifiers เป็นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการแปรสภาพของอินทรีย์ในโตรเจนเป็นอนินทรีย์ในโตรเจนและผลที่เกิดจากกระบวนการนี้ส่วนใหญ่เป็นแอมโมเนีย ammonifiers มีอยู่ในดินทั่วไปประมาณ  $10^5 - 10^7$  MPN/g dry weight (สมศักดิ์, 2528) ส่วนผลการตรวจวิเคราะห์ ammonifiers ในการศึกษาระยะกึ่งดินบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนาครั้งนี้ พบว่ามีปริมาณอยู่ในช่วงปกติที่พบในดินทั่วไปคือ ในตะกอนดินชั้นบนพบเฉลี่ย  $1.2 \times 10^5$  MPN/g dry weight (ภาพประกอบที่ 15) ในตะกอนดินชั้นล่างพบเฉลี่ย  $6.6 \times 10^4$  MPN/g dry weight (ภาพประกอบที่ 16) จากการทดสอบความแตกต่างพบว่าไม่มีความแตกต่างของ ammonifiers ในตะกอนดินระหว่างดินชั้นบนและชั้นล่าง ไม่ว่าจะ เป็นในบ่ออายุ 3 ปี 5 ปี และดินชุดควบคุม โดยพบว่าในส่วนของดินชุดควบคุมพบ ammonifiers ใกล้เคียงกับในตะกอนดินบ่อเลี้ยง กุ้ง กล่าวคือในดินชั้นบนมีปริมาณเฉลี่ย  $3.7 \times 10^5$  MPN/g dry weight ในดินชั้นล่างมีปริมาณเฉลี่ย  $2.1 \times 10^4$  MPN/g dry weight แต่ในดินชุดควบคุมไม่พบการสะสมแอมโมเนียม จะกล่าวถึงสาเหตุภายหลัง

### 1.2.3 Ammonium oxidizing bacteria

Ammonium oxidizing bacteria (AOB) เป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการแปรสภาพของไนโตรเจนในกระบวนการไนตริฟิเคชัน โดยเป็นจำพวกที่ออกซิไดซ์แอมโมเนียมเป็นไนไตรท์ ผลการตรวจวิเคราะห์ AOB ในการศึกษาระยะกึ่งดินบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนาครั้งนี้ พบ AOB ปริมาณที่ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น โดยพบว่าในตะกอนดินชั้นบน (0-5 เซนติเมตร) มี AOB เฉลี่ย 53.44 MPN/g dry weight ในตะกอนดินชั้นล่าง (5-10 เซนติเมตร) มี

AOB เฉลี่ย 24.69 MPN/g dry weight (ภาพประกอบที่ 17, 18) ในขณะที่ Devaraja (2002) พบ AOB ในตะกอนดินบ่อกึ่งแบบพัฒนาในมาเลเซีย  $3.02 \times 10^5$  / g Jun, *et al.* (2000) ศึกษาพบว่าในตะกอนดินชั้นบน (0-1.5 เซนติเมตร) มี AOB อยู่ในช่วง  $1.5 \times 10^5$  -  $110 \times 10^5$  / g ขณะที่ตะกอนดินชั้นล่าง (1.5 - 3.5 เซนติเมตร) มีในปริมาณน้อยกว่า คือ มีอยู่ในช่วง  $0.025 \times 10^5$  -  $8.3 \times 10^5$  / g อย่างไรก็ตามปริมาณที่สูงมากอาจเป็นเพราะมีการเติม AOB ก็เป็นไปได้เพราะในดินทั่วไปมี AOB ประมาณ  $10 - 10^3$  เท่านั้น (ศิริรัตน์, 2539) สำหรับสาเหตุที่ปริมาณ AOB ของบ่อกึ่งที่ศึกษาในครั้งนี้มีค่าต่ำสาเหตุหลักเนื่องมาจาก pH ของดินบ่อกึ่ง

เนื่องจากโดยทั่วไป pH ที่เหมาะสมที่ AOB เจริญเติบโตได้ดีคือในช่วงแคบระหว่าง 7.5-8.0 (ค่าอย่างอ่อน - ค่าปานกลาง) แต่ในการศึกษานี้ พบว่าตะกอนดินในระหว่างเลี้ยงกึ่ง มี pH ผันแปรอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า pH ที่เหมาะสม คือ มี pH เท่ากับ 5.66 - 7.59 (กรดปานกลาง - ค่าอย่างอ่อน) ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่พบว่ามี AOB ปริมาณน้อยเนื่องจากอยู่ในสภาวะที่ pH ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตเพราะ nitrifying bacteria จะไวมากต่อภาวะเป็นกรด เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของสุทธิณีและคณะ (2545) ที่ศึกษาตะกอนดินในบ่อกึ่งกลาดำในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พบ AOB ปริมาณอยู่ในช่วง  $3.5 \times 10^3$  -  $6.1 \times 10^5$  CFU/g ที่ pH ในช่วง 6.5 - 8.05 (เป็นกลาง-ค่าปานกลาง)

ในส่วนของคุณสมบัติความชื้นแฉะมีแอมโมเนียมน้อยและสภาวะดินเป็นกรดจัดจึงพบ AOB น้อยเช่นกัน แต่เมื่อพิจารณาจาก ammonifiers พบว่ามีปริมาณไม่แตกต่างจากบ่อกึ่ง (ภาพประกอบที่ 15 และ 16) แต่ไม่พบการสะสมแอมโมเนียมนิในดินขุดควบคุม แสดงว่าแอมโมเนียมนี่เกิดขึ้นถูกนำไปใช้อย่างรวดเร็วโดย TBC (ภาพประกอบที่ 13 และ 14) แสดงว่าชนิดของแบคทีเรียใน TBC ของดินขุดควบคุมอาจแตกต่างจากดินของบ่อกึ่งหรืออาจเป็นเพราะว่าแอมโมเนียมนี่เกิดในบ่อกึ่งมีมากจน TBC นำไปใช้ไม่ทันจึงเหลือสะสม (ภาพประกอบที่ 10)

#### 1.2.4 Nitrite oxidizing bacteria (NOB)

Nitrite oxidizing bacteria (NOB) เป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการแปรสภาพของไนโตรเจนในกระบวนการ nitrification โดยเป็นจำพวกที่ออกซิไดซ์ไนไตรท์เป็นไนเตรต ในการศึกษาตะกอนดินบ่อเลี้ยงกึ่งแบบพัฒนาครั้งนี้ พบ NOB ปริมาณที่ต่ำมาก โดยพบในตะกอนดินชั้นบน 0 - 2.9 MPN/g dry weight (ภาพประกอบที่ 19) และไม่พบเลยในตะกอนดินชั้นล่าง ดินขุดควบคุมก็ไม่พบ NOB ขณะที่ Abraham (2004) พบ NOB ในบ่อเลี้ยงกึ่งแบบพัฒนาถึง 30 - 3,750 MPN/g สาเหตุที่ทำให้พบว่าในตะกอนดินมี NOB ปริมาณต่ำมาก อาจเนื่องมาจากปกติในดินมี NOB ในปริมาณที่ต่ำและสำหรับการศึกษานี้ อาจเนื่องจาก

1. pH ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต NOB เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH สูง โดย pH ที่เหมาะสมควรจะอยู่ระหว่าง 6.5 – 8.0 ถ้าต่ำกว่า 6 NOB จะลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งจากผลการศึกษารั้งนี้พบว่า pH ของตะกอนดินมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงที่กว้างในขณะเลี้ยงกุ้ง เช่น ที่เห็นได้ชัดในบ่อ 3A ที่อายุกุ้ง 69 วัน ตะกอนดินมี pH เท่ากับ 7.46 แต่เมื่ออายุกุ้ง 85 วัน พบว่าตะกอนดินมี pH ลดลงจากเดิม เหลือ 5.66 หรือในบ่อ 5B ขณะที่กุ้งมีอายุ 42 วัน ตะกอนดินมี pH ลดลงเหลือ 5.91 (ภาพประกอบที่ 5) ซึ่งดินที่มักพบว่ามี NOB ในปริมาณที่ต่ำหรือไม่มีเลยนั้น ส่วนใหญ่เป็นดินที่เป็นกรด pH ต่ำกว่า 6.0 และการศึกษาพบว่าในระหว่างเลี้ยงการเปลี่ยนแปลงของ pH ในตะกอนดินที่ลดลงจนต่ำกว่าค่าที่เชื้อจะเจริญได้ เป็นผลทำให้ NOB ลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว และการที่ NOB เป็นแบคทีเรียที่โตช้า ดังนั้นการที่จะเจริญเติบโตฟื้นตัวขึ้นมาจึงเป็นไปได้ได้น้อยมาก

2. ตะกอนดินมีอินทรีย์วัตถุสูง (ภาพประกอบที่ 7) ดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูง พบว่ามีแบคทีเรียกลุ่ม NOB อยู่ในปริมาณต่ำ ทั้งนี้ไม่ได้หมายความว่าอินทรีย์วัตถุเหล่านี้เป็นพิษต่อแบคทีเรียโดยตรง แต่อาจจะมีผลในทางอ้อมว่าถ้ามีอินทรีย์วัตถุอยู่มากจะทำให้จุลินทรีย์บางจำพวกที่ย่อยสลายอินทรีย์สารแก่งแย่งเอาไนโตรเจนไป ทำให้กิจกรรมของแบคทีเรียในกลุ่มนี้ลดลง (สมศักดิ์, 2528) การมีอินทรีย์วัตถุสูงหมายถึงมีอินทรีย์คาร์บอนสูงด้วย ในสิ่งแวดล้อมที่มีอินทรีย์คาร์บอนสูง heterotrophic bacteria จะเป็นตัวการสำคัญที่จำกัดปริมาณไนโตรเจนเนื่องจากมีปริมาณมากและเจริญเติบโตเร็วกว่า NOB จึงแย่งใช้ในโตรเจนในรูปไนเตรต ดังนั้น ในสภาวะแวดล้อมที่มีอินทรีย์คาร์บอนสูง แต่มีไนโตรเจนจำกัด จึงพบ NOB ต่ำเพราะถูก heterotrophic bacteria แย่งอินทรีย์ไนโตรเจนไป (Eric and Gary, 2000) ซึ่งจากการศึกษารั้งนี้พบว่าตะกอนดินมีอินทรีย์คาร์บอนเฉลี่ยในระหว่างเลี้ยงกุ้งสูงถึง 4.0 % ซึ่งไม่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Adhikari, 2003) เพราะจะทำให้มีจุลินทรีย์พวก heterotroph เพิ่มขึ้นมาก แต่บางช่วงของการเลี้ยงพบว่ามีการสะสมไนเตรตมาก (ภาพประกอบที่ 11) แสดงว่าไม่ได้ขาด

3. ปริมาณออกซิเจน NOB เป็นแบคทีเรียพวกที่ต้องการออกซิเจนอย่างมากต่อการดำรงชีพ (strictly aerobes) NOB จะลดจำนวนลงหากเกิดภาวะที่มีสารอินทรีย์มากดังที่กล่าวมาในข้อ 2 ที่นำมาซึ่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มอื่นที่จะมาแย่งใช้ออกซิเจนกับ NOB จากการศึกษาตะกอนดินในครั้งนี้นอกจากจะพบ NOB ในจำนวนที่ต่ำมากแล้ว ยังเป็นที่น่าสังเกตว่า การตรวจวิเคราะห์ NOB นั้น พบแต่ในตะกอนดินชั้นบน (0-5 เซนติเมตร) แต่ในตะกอนดินชั้นล่าง (>5 - 10 เซนติเมตร) นั้น ตรวจไม่พบ NOB เลย ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะว่าในตะกอนดินชั้นล่างมีปริมาณออกซิเจนน้อยมาก ทำให้ NOB ที่ต้องการออกซิเจนอย่างมากไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้

ส่วนในดินชุดควบคุมซึ่งมีสถานะเป็นกรดจัดตรวจไม่พบ NOB เช่นกัน ซึ่งจากผลการศึกษาครั้งนี้สามารถระบุได้ว่าสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ nitrifiers มีปริมาณต่ำคือสถานะที่เป็นกรด แต่ในกรณีของบ่อเลี้ยงในบางช่วงของการเลี้ยงค่า pH เป็นกลางถึงด่างเล็กน้อยแต่ก็ยังพบแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวต่ำ ดังนั้นอาจมีสาเหตุมาจากปริมาณออกซิเจนแต่ก็มีการให้อากาศอย่างเต็มที่ และพบว่าไม่ได้ขาดไนโตรเจนดังกล่าวมาแล้วในข้อ 2 ดังนั้นสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ซึ่งจำเป็นต้องใช้เพื่อการเพาะเลี้ยงกุ้งในครั้งนี้ได้แก่ วัสดูปูน (ปูนยิปซัม, ปูนขาว, โดโลไมท์) สารเคมีปรับสภาพน้ำ (ซีโอไลท์) สารกำจัดศัตรูกุ้ง (กากชา) และยาปฏิชีวนะ (oxytetracycline, sulfanilamide, norfloxacin) ซึ่งเป็นข้อมูลจากการสัมภาษณ์จึงน่าเป็นสาเหตุหลักที่ส่งผลกระทบต่อ nitrifiers ทำให้พบในปริมาณที่ต่ำซึ่งการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงกุ้งนั้นเป็นสิ่งที่ควรระมัดระวังอย่างยิ่งเนื่องจากหากปฏิบัติไม่ถูกต้องอาจมีการปนเปื้อนสารในกุ้งได้ เช่น ในกรณีพบการปนเปื้อนยาปฏิชีวนะที่เป็นตัวยาที่อันตรายเมื่อบริโภคเข้าไปจะสะสมและตกค้างก่อให้เกิดการดื้อยาและเป็นสารก่อมะเร็งในเม็ดเลือด (ไทยฟาร์ม โชน, 2548)

ในเบื้องต้นเราอาจใช้ประโยชน์จากการศึกษาปริมาณของแบคทีเรียกลุ่มนี้ในการที่จะประเมินถึงความเสี่ยงการปนเปื้อนสารอันตรายจากกระบวนการผลิตสินค้าสัตว์น้ำได้เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ไวต่อสภาวะแวดล้อมเป็นพิษมาก เมื่อผลจากการศึกษาบ่งชี้ว่าอาจเกิดมลพิษทางดินเนื่องจากการใช้ยาและสารเคมีมากเกินไปจนทำให้สมดุลธรรมชาติเปลี่ยนไปในทางที่เลวลง แนวทางการตรวจ/ปฏิบัติ เพื่อให้ผู้เลี้ยงกุ้งลดหรืองดใช้สารเคมีที่ไม่มีความจำเป็น คือทำอย่างไรให้ผู้เลี้ยงกุ้งเข้าใจว่ากุ้งที่อาศัยในทะเลตามธรรมชาติอยู่ได้โดยไม่ต้องใช้สารเคมีจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น หากผู้เลี้ยงสามารถจัดสมดุลของสิ่งแวดล้อมให้เหมาะสมได้โดยการเลี้ยงกุ้งแบบเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีหรือยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงกุ้งหรือใช้ในปริมาณที่จำเป็นเท่านั้นและจัดการสภาพแวดล้อมภายในบ่อกุ้งให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นมิตรต่อกุ้งจะเป็นการสร้างภูมิคุ้มกันและป้องกันไม่ให้กุ้งเกิดโรคแทนการรักษาด้วยยาหรือสารเคมีเมื่อกุ้งเกิดอาการแล้ว การทำให้กุ้งแข็งแรงอยู่เสมอมีความต้านทานต่อเชื้อโรคทำได้โดยการรักษาสภาพแวดล้อมที่กุ้งอาศัยอยู่ให้เหมาะสม จุดที่ควรให้ความสำคัญที่สุดคือพื้กันบ่อต้องสะอาด ลดปริมาณอินทรีย์สารที่ใส่ในบ่อลงให้อยู่ในระดับที่ธรรมชาติบำบัดภายในได้โดยการลดอัตราการปล่อยกุ้งซึ่งมีผลให้ลดปริมาณอาหารที่ต้องให้และบริหารจัดการช่วยให้ระบบธรรมชาติบำบัดมีประสิทธิภาพสูงขึ้น เช่น มีออกซิเจนเพียงพอต่อการหายใจของกุ้งและจุลินทรีย์และคงความเป็นธรรมชาติของตะกอนดินโดยให้มีการรบกวนจากยาและสารเคมีให้น้อยที่สุด

ตะกอนดินจะมีส่วนช่วยให้คุณภาพน้ำและกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารประกอบไนโตรเจนในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำดีขึ้น พุทธและคณะ (2543) ได้รายงานถึงผลการเลี้ยงกุ้งในบ่อ



เลี้ยงกุ้งระบบปิดหมุนเวียนที่ไม่มีการใช้สารเคมีและจัดการให้มีปริมาณออกซิเจนละลายต่ำสุดในตอนเช้าของบ่อเลี้ยงสูงกว่า 4 mg/L ตลอดระยะเวลาเลี้ยง พบว่าเมื่อเลี้ยงกุ้งไปได้ 90 วัน ปริมาณแอมโมเนียและไนโตรที่ในบ่อเลี้ยงจะมีการสะสมถึงระดับ 1.5-2.6 และ 0.3-0.5 mg-N/L ตามลำดับ จากนั้นจะลดลงมาจนถึงระดับต่ำสุดได้เอง ซึ่งให้เห็นถึงกระบวนการบำบัดของเสียประเภทอนินทรีย์ไนโตรเจนหรือกระบวนการ nitrification สามารถเกิดขึ้นได้เองในบ่อเลี้ยง ซึ่งสถานะเช่นนี้เป็นสิ่งที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ของเสียจากการเลี้ยงไม่มีการสะสมค้างอยู่ในบ่อเลี้ยงกุ้งในระดับที่เป็นอันตรายต่อกุ้งที่เลี้ยง การจัดการตะกอนดินไม่ให้มีปัญหาจะช่วยแก้ปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมและปัญหาโรคกุ้ง ส่งผลให้ลดการใช้ยารักษาโรคกุ้ง ลดสารตกค้างในเนื้อกุ้งเองด้วย สอดคล้องกับสาระการประชุมระหว่างกระทรวงต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับอาหารในเรื่อง “ระบบความปลอดภัยด้านอาหารแห่งชาติ” เมื่อวันที่ 17 กันยายน 2544 ที่เห็นว่า มาตรฐานอาหารที่คนไทยบริโภคต้องเป็นมาตรฐานเดียวกับที่นานาชาติใช้ วิธีการทำงานต้องมุ่งป้องกันและแก้ไขปัญหาคือความปลอดภัยของอาหารที่เกิดขึ้นในทุกๆ ช่วงให้ครบวงจรตลอดทั้งห่วงโซ่อาหาร (food chain)

การดูแลตลอดทั้งห่วงโซ่อาหารมากกว่าที่จะตรวจสอบเพียงผลิตภัณฑ์สำเร็จที่ปลายทางนี้เป็นแนวทางที่หลายประเทศนำมาใช้ในปัจจุบันเนื่องจากอันตรายในอาหารหลายๆ อย่างไม่สามารถกำจัดจากอาหารได้ในขั้นท้ายของห่วงโซ่แต่จะต้องป้องกันไม่ให้เกิดขึ้นตั้งแต่ต้นเท่านั้น (กรมประมง, 2547) เช่น กลุ่ม EU ซึ่งเป็นกลุ่มผู้ซื้อผลิตภัณฑ์กุ้งรายใหญ่ของไทยได้กำหนดกฎเกณฑ์มาตรฐานสินค้าไว้สูงและหลากหลาย ตั้งแต่ในเรื่องของสุขลักษณะของอาหารซึ่งมีมาตรฐานระบบการตรวจสอบหลายระบบ เช่น HACCP (Hazard Analysis of Critical Control Point) ไปจนถึงคุณภาพ ตลอดจนการบรรจุหีบห่อและการปิดป้ายฉลากเพื่อบอกคุณสมบัติและแหล่งผลิตที่มาของสินค้า ดังนั้นการรณรงค์เผยแพร่ให้ผู้เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตตั้งแต่ขั้นตอนการเลี้ยงที่ฟาร์มทราบและเข้าใจเพื่อปฏิบัติให้ถูกต้อง ตามนโยบายที่มีการเรียกกันว่า “Pond to Plate Control” หรือแปลแบบชาวบ้านๆ ได้ว่า “จากบ่อเลี้ยงสู่จาน (อาหารของผู้บริโภค)” จึงเป็นสิ่งที่ควรปฏิบัติอย่างยิ่ง

#### 1.2.5 Denitrifiers

จากการศึกษาพบว่าดินซุดควบคุมและตะกอนดินบ่อเลี้ยงแทบไม่พบ denitrifiers (ภาพประกอบที่ 20 และ 21) จึงส่งเสริมให้มีการสะสมไนเตรทในระดับหนึ่ง (ภาพประกอบที่ 12) สาเหตุหลักน่าจะมาจากการมีปริมาณออกซิเจนเพียงพอ จุลินทรีย์จึงเลือกใช้ออกซิเจนแทนไนเตรทในกระบวนการหายใจ (ดวงพร, 2545)

#### 1.2.6 Azotobacteraceae

ผลการศึกษาพบ azotobacteraceae ในตะกอนดินบ่อกึ่งในปริมาณปกติ (ภาพประกอบที่ 22 และ 23) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก azotobacteraceae พบอยู่ในดินโดยทั่วไปเป็นจำนวนมากและสามารถใช้ไนโตรเจนได้แทบทุกรูปแบบ เช่น ก๊าซไนโตรเจน แอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท ยูเรีย และบางครั้งใช้อินทรีย์ไนโตรเจนด้วย แต่ในดินชุดควบคุมซึ่งมี pH เป็นกรด (ภาพประกอบที่ 5) จึงพบ azotobacteraceae ในปริมาณน้อย (ภาพประกอบที่ 22 และ 23) เพราะแบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญได้ดีในช่วง pH 7.0 – 7.5 (Holf, *et al.*, 1994) และผลการศึกษากลับมาแสดงว่าการเลี้ยงกึ่งไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณของแบคทีเรียกลุ่มนี้ แต่อาจมีผลกระทบต่อกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนเพราะแบคทีเรียเหล่านี้ใช้แหล่งไนโตรเจนอื่นๆ เช่น แอมโมเนียม เป็นต้น

## 2. ความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในตะกอนดินบ่อเลี้ยงกึ่งข้าวแบบพัฒนา

ผลการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าปริมาณ total bacterial count (TBC) ในตะกอนดินชั้นบนมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับปริมาณ azotobacteraceae ในตะกอนดินชั้นบน (ตารางที่ 5) และเช่นเดียวกันในตะกอนดินชั้นล่างที่ TBC มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน คือเมื่อ TBC มากขึ้นปริมาณ azotobacteraceae ก็จะเพิ่มตามไปด้วย (ตารางที่ 6) แสดงว่าสมาชิกใน TBC ส่วนหนึ่งเป็น azotobacteraceae ซึ่ง azotobacteraceae เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในดินโดยทั่วไปเป็นจำนวนมาก (Holf, *et al.*, 1994) และพบว่า TBC ในตะกอนดินชั้นบนมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับปริมาณไนไตรท์ เช่นเดียวกับที่พบว่า TBC ในตะกอนดินชั้นล่างมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับปริมาณไนไตรท์ กล่าวคือ เมื่อมี TBC สูงขึ้น ปริมาณไนไตรท์ในตะกอนดินก็สูงตามไปด้วย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าใน TBC อาจจะมีจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตไนไตรท์จากแอมโมเนียและสารอินทรีย์ไนโตรเจนในปริมาณที่มาก ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้พลังงานจากการเพิ่มออกซิเจนให้กับอินทรีย์สารแต่ไม่ได้พลังงานจากแอมโมเนียและสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน ผลที่ได้จากกระบวนการเช่นนี้คือไนไตรท์ที่สะสมเพิ่มขึ้น (สมศักดิ์, 2528) ปริมาณ ammonium oxidizing bacteria (AOB) ในตะกอนดินชั้นบนมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับปริมาณ nitrite oxidizing bacteria (NOB) ในดินชั้นบน กล่าวคือเมื่อ AOB มากขึ้นปริมาณของ NOB ก็มากขึ้นด้วย ทั้งนี้ สอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าดินที่มี AOB อาศัยอยู่มักพบแบคทีเรียพวก NOB เสมอ (สมศักดิ์, 2528; ดวงพร, 2545) และยังพบว่า AOB มีความสัมพันธ์กับ denitrifiers (ตารางที่ 5) ทั้งนี้เพราะ AOB ทำให้เกิดไนไตรท์และไนไตรท์ถูกออกซิไดซ์ต่อเป็นไนเตรทโดยที่ไนเตรทถูกใช้โดย denitrifiers แทนการใช้ออกซิเจนในการหายใจ (ดวงพร, 2545) นอกจากนี้ยังพบว่า ammonifiers ในดินชั้นบนมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงข้ามกับค่า pH เพราะแบคทีเรียกลุ่มนี้สลายอินทรีย์ไนโตรเจนได้แอมโมเนียซึ่งทำให้ pH ของดินเพิ่มขึ้น แต่ในกรณีนี้แสดงว่าการมี ammonifiers เพิ่มขึ้น pH ลดลง

จึงนำมาจากสาเหตุที่แอมโมเนียถูกใช้อย่างรวดเร็วเพื่อสลายสารอินทรีย์โดยเฉพาะคาร์บอนของจุลินทรีย์พวก heterotroph ทำให้เกิดกรดอินทรีย์และคาร์บอนไดออกไซด์ ส่งผลให้ pH ขณะนั้นมีค่าลดลง และการที่ TBC ในดินชั้นล่างมีความสัมพันธ์ทางบวกกับไนโตรเจน (ตารางที่ 6) ก็ด้วยเหตุผลเดียวกับที่กล่าวมาแล้วในดินชั้นบน

ดินชั้นล่างพบว่า TBC และ azotobacteraceae มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับปริมาณ denitrifiers กล่าวคือในตะกอนดินชั้นล่างนั้นถ้ามี TBC หรือ azotobacteraceae มาก จะพบ denitrifiers น้อยหรือไม่พบเลย ข้อนี้อาจเป็นเพราะว่าปกติทั่วไปตะกอนดินชั้นล่างที่ลึกกลงไปเมื่อมี TBC ในปริมาณที่มาก แบคทีเรียเหล่านี้จะไปแย่งใช้สารอินทรีย์และสารอาหารอื่นๆ กับ denitrifiers ซึ่งต่างก็เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ต้องการสารอาหารเหมือนกันและบางกลุ่มของ denitrifiers ยังต้องการไนโตรเจนเพื่อการเจริญอีกด้วย

นอกจากนี้พบว่าบ่อกึ่งที่มีอายุ 3 ปี และ 5 ปี ปริมาณอินทรีย์วัตถุมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับปริมาณไนโตรเจนรวม (TKN) (ดังตารางที่ 7 และ 8) แสดงว่าสารอินทรีย์ในตะกอนดินบ่อกึ่งส่วนใหญ่เป็นอินทรีย์ไนโตรเจน และพบว่าสำหรับบ่ออายุ 5 ปี ปริมาณอินทรีย์วัตถุมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับ C/N ratio นั้นเป็นเพราะอินทรีย์วัตถุประกอบด้วยทั้งอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจน โดยทั่วไปอินทรีย์วัตถุมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบประมาณ 58% (จำเป็น, 2547) แต่ในบ่อกึ่งปริมาณอินทรีย์คาร์บอนอาจน้อยกว่านี้เพราะมีอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลัก