ผลของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ *Bacillus* spp. ที่แตกต่างกัน 2 กลุ่ม ต่อคุณภาพน้ำและปริมาณแบคทีเรียวิบริโอในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

Effect of Two Different Groups of *Bacillus* on the Water Quality in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Rearing Ponds and Population of *Vibrio* spp.

มนฑกานต์ สมบูรณ์[1] ชลอ ลิ้มสุวรรณ[1] นิติ ชูเชิด[1] และ พรเลิศ จันทร์รัชชกูล[2]

[1]ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ 10900

Corresponding author e-mail: ultrabism_78@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์ *Bacillus* spp. 2 ผลิตภัณฑ์ในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 3 บ่อ แต่ละบ่อมีขนาด 6 ไร่ โดยกลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์) กลุ่มทดลองที่ 2 ใช้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่มีชื่อทางการค้า คือ PondPlus ประกอบด้วย *Bacillus* 5 ชนิด กลุ่มทดลองที่ 3 ใช้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่มีชื่อทางการค้า คือ PondPlusE ประกอบด้วย *Bacillus* 7 ชนิด โดยกลุ่มที่ 2 และ 3 ใส่ผลิตภัณฑ์ในอัตราส่วน 250 มิลลิกรัมต่อไร่ เมื่ออายุกุ้ง 1 เดือน และใส่ทุกเดือนจนครบ 4 เดือน ทำการวัดปริมาณแบคทีเรียวิบริโอในน้ำและคุณภาพน้ำในวันที่ 3, 5 และ 7 ของทุกเดือนหลังจากใส่ผลิตภัณฑ์ไปแล้ว ผลการทดลองพบว่าหลังจากใส่ผลิตภัณฑ์ PondPlus และ PondPlusE ไปแล้ว 3 วันของเดือนที่ 1, 2, 3 และ 4 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียวิบริโอในน้ำของกลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ผลของคุณภาพน้ำพบว่า ปริมาณไนไตรท์ของกุ้งอายุ 4 เดือน ในกลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และปริมาณคลอโรฟิลล์เอหลังจากใส่ผลิตภัณฑ์ไปแล้ว 3 วันของกลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมเช่นเดียวกัน

คำสำคัญ: จุลินทรีย์ *Bacillus*, แบคทีเรียวิบริโอ, คุณภาพน้ำ, กุ้งขาวแวนนาไม

Abstract

Study on the effects of two different products of *Bacillus* in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) ponds. The experiment was divided into 3 groups. Each groups comprised of 3 ponds (6 rais/pond). Group 1, control, without *Bacillus* spp. product, group 2, PondPlus consisted of 5 strains of *Bacillus* spp. and group 3, PondPlusE consisted of 7 strains of *Bacillus* spp. The products were used at 250 mg/rai in treatment group 2 and 3 when shrimp reared 1 month old and every month during 4-month culture period. The number of *Vibrio* spp. and water quality were analyzed at 3, 5 and 7 days after adding the products. The results found that number of *Vibrio* spp. after adding the product 3 days at month 1, 2, 3 and 4 in both treatment groups were significantly lower than the control group

(P<0.05). Nitrite in the fourth month from both treatment groups were significantly lower than the control group (P<0.05). Chlorophyll a after adding the product 3 days every month of two treatment groups were significantly lower than the control group (P<0.05) as well.

Keywords: *Bacillus* spp., *Vibrio* spp., Water quality, Pacific White Shrimp.

คำนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลของประเทศไทยส่วนใหญ่จะเป็นแบบพัฒนา สามารถทำเงินเข้าประเทศปีละหลายหมื่นล้านบาท เกษตรกรจะปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูง มีการให้อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนสูง จึงทำให้มีของเสียสะสมในบ่อเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการเลี้ยง ส่งผลทำให้คุณสมบัติของน้ำเปลี่ยนไปในทางที่เลวลง กุ้งบางส่วนจะอ่อนแอ ถ้าเกษตรกรรายใดมีการจัดการด้านการเลี้ยงไม่ดีพอก็จะประสบปัญหากุ้งบางส่วนป่วยและตายทำให้ผลผลิตต่ำกว่าเป้าหมาย โรคที่สำคัญซึ่งมีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมในบ่อไม่เหมาะสม ส่วนใหญ่เกิดจาก โรคติดเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียวิบริโอ (*Vibrio* spp.) (Nash *et al*., 1992; Lightner, 1996) โดยกุ้งที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในลักษณะดังกล่าวส่วนมากไม่สามารถทำการรักษาได้โดยใช้ยาปฏิชีวนะ ถ้าสภาพแวดล้อมในบ่อยังไม่ดีขึ้น อีกทั้งการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาอาจจะส่งผลทำให้เกิดปัญหายาตกค้างในเนื้อกุ้งได้ ซึ่งจะมีผลกระทบอย่างรุนแรงต่อการส่งออก โดยเฉพาะการตกค้างของยาบางกลุ่ม ได้แก่ คลอแรมฟินิคอลและกลุ่มไนโตรฟิลแรนต์ ดังนั้นแนวทางหนึ่งในการป้องกันโรค คือการควบคุมคุณสมบัติของน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งแล้วยังจำเป็นต้องควบคุมไม่ให้เกิดปัญหาพื้นบ่อเน่าเสียโดยการใช้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์ ซึ่งในปัจจุบันที่นิยมนำมาใช้ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ *Bacillus* sp. ซึ่งมีหลายชนิดที่ช่วยในการบำบัดพื้นบ่อและควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (van Rijn *et al*., 1995., van Rijn and Nussinovitch, 1997 ; Queiroz and Boyd, 1998)

สำหรับการศึกษาครั้งนี้เพื่อต้องการเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. โดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วยแบคทีเรียสกุล *Bacillus* สายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 2 ผลิตภัณฑ์ (PondPlus และ PondPlusE) เปรียบเทียบกับบ่อที่ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้ ควบคู่ไปกับการศึกษาปริมาณแพลงก์ตอนและคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เลือกบ่อที่ทำการศึกษาทั้งหมด 9 บ่อ แต่ละบ่อมีพื้นที่ประมาณ 6 ไร่ แบ่งบ่อการทดลอง 6 บ่อ และบ่อควบคุม 3 บ่อ ซึ่งแต่ละบ่อจะมีอัตราความหนาแน่นของการปล่อยกุ้งลงเลี้ยง 120,000 ตัวต่อไร่ และมีสภาพแวดล้อมใกล้เคียงกัน มีเครื่องให้อากาศเพียงพอต่อการเลี้ยงกุ้ง ทดลองใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในช่วงปล่อยกุ้งลงเลี้ยงไปแล้วในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ ใส่ผลิตภัณฑ์ 1 ครั้งต่อ

เดือนและติดตามผลปริมาณแบคทีเรียวิบริโอและคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงทุกวันที่ 3, 5 และ 7 หลังจากใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ไปแล้ว

2. การเตรียมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์

ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ต้นแบบที่ทำการทดลอง 2 กลุ่ม คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีชื่อการค้า PondPlus ซึ่งประกอบด้วย *Bacillus* 5 ชนิด (*Bacillus subtilis, B. licheniformis, B. amyloliquefaciens, B. megaterium* และ *B. pumilus*) ซึ่งมีจำนวนไม่ต่ำกว่า 1 พันล้าน (10^9) CFU/g ที่บรรจุอยู่ในถุงที่สามารถละลายน้ำได้ โดยมีน้ำหนักถุงละ 200 กรัมและผลิตภัณฑ์ที่มีชื่อการค้า PondPlusE ประกอบด้วย *Bacillus* 7 ชนิด(*Brevibacillus parabrevis, B. velezensis, Bacillus subtilis, B. licheniformis, B. amyloliquefaciens, B. megaterium* และ *B. pumilus*) ซึ่งมีจำนวนไม่ต่ำกว่า 2 พันล้าน (2×10^9) CFU/g บรรจุอยู่ในถังขนาด 10 กิโลกรัม ใส่ผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดในปริมาณ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ประมาณ 200 – 250 กรัมต่อไร่) ของแต่ละช่วงอายุกุ้ง

3. การศึกษาคุณภาพน้ำบางประการ

เก็บน้ำก่อนการทดลองเพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ค่า ปริมาณออกซิเจนละลาย พีเอช ความเป็นด่าง แอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท คลอโรฟิลล์เอ และเก็บน้ำหลังจากใส่ผลิตภัณฑ์ไปแล้ว 3, 5 และ 7 วัน ตามลำดับ ซึ่งปริมาณออกซิเจนละลาย และพีเอช สามารถวิเคราะห์ได้ในระหว่างเก็บตัวอย่าง ส่วนค่าความเป็นด่าง แอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท คลอโรฟิลล์เอ จะเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

4. การศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียวิบริโอในบ่อเลี้ยงกุ้ง

เก็บน้ำจากบ่อทดลองและบ่อควบคุมโดยในแต่ละบ่อจะเก็บน้ำ 2 จุดและนำมาผสมรวมกันกันก่อนเพื่อนำไปตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียวิบริโอบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar ซึ่งจะเก็บน้ำในช่วงก่อนใส่ผลิตภัณฑ์และหลังจากใส่ผลิตภัณฑ์ไปแล้วในวันที่ 3, 5 และ 7 ตามลำดับ โดยจะนำน้ำตัวอย่างมาทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธีการเจือจางครั้งละ 10 เท่า (ten-folded dilutions) ก่อนมา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจะได้ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 10^0, 10^{-1} และ 10^{-2} CFU/ml บ่มเชื้อไว้ที่ อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตลักษณะ สี และปริมาณโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จดบันทึก

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (Steel and Torrie, 1980)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการยับยั้งปริมาณเชื้อแบคทีเรียวิบริโอในน้ำของบ่อควบคุมและบ่อทดลองที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ PondPlus และ PondPlusE พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียวิบริโอในน้ำของบ่อควบคุมและบ่อทดลองทั้ง 2

ผลิตภัณฑ์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในอายุกุ้งทุกๆ เดือน เมื่อใส่จุลินทรีย์ไปแล้ว 3 วัน และในช่วงอายุกุ้งเดือนท้ายๆ ของการเลี้ยงจะเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนกว่าในช่วงเดือนแรกๆ (Table 1, 2, 3 และ 4) เนื่องจากเริ่มมีการสะสมของสารอินทรีย์ในบ่อมากขึ้น ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพวกแบคทีเรียวิบริโอ Jayasree *et al*. (2006) กล่าวว่าชนิดของแบคทีเรียวิบริโอที่พบที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้งมี 6 ชนิด คือ *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus* และ *V. splendidus* เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหาร TCBS agar พบว่า *V. alginolyticus*, *V. anguillarum* และ *V. splendidus* เป็นแบคทีเรียที่ให้โคโลนีสีเหลือง ส่วน *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* เป็นแบคทีเรียที่ให้โคโลนีสีเขียว (Didem and Akin, 2006; Reid *et al*., 2009) โดยบ่อที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ PondPlus และ PondPlusE ทั้งสองผลิตภัณฑ์สามารถที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียวิบริโอได้ดีกว่าบ่อที่ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ เนื่องจากจุลินทรีย์บาซิลลัสสามารถสร้างเอนไซม์ไซลาเนส (xylanase) ซึ่งย่อยผนังเซลล์ของแบคทีเรียวิบริโอได้ (Suwanpinit and Suwanpinit 1992) และบาซิลลัสยังมีกลไกการทำลายแบคทีเรียก่อโรค โดยการแย่งสารอาหารและหลั่งเอนไซม์ที่สามารถย่อยเมือกที่ล้อมรอบเซลล์แบคทีเรียแกรมลบที่ก่อโรคได้ ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ ส่งผลให้แบคทีเรียก่อโรคหยุดการเจริญเติบโตหรือถูกทำลายไปในที่สุด (Moriarty, 1998) โดยผลิตภัณฑ์ PondPlus จะมีประสิทธิภาพดีกว่า PondPlusE เนื่องจากประกอบไปด้วยบาซิลลัสเพียง 5 สายพันธุ์ก็สามารถยับยั้งเชื้อวิบริโอให้ผลใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ PondPlusE ได้ Ziaei-Nejad (2006) ได้ศึกษากิจกรรมการย่อยของเอนไซม์ต่างๆ ที่ผลิตจากจุลินทรีย์บาซิลลัสในการเจริญเติบโตของกุ้งขาว พบว่ากุ้งที่ได้รับบาซิลลัสมีการเจริญเติบโตและกิจกรรมการย่อยของเอนไซม์ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับบาซิลลัส และ Jueliang (2011) ได้ศึกษาการทดลองผลิตภัณฑ์บาซิลลัสต่อการควบคุมเชื้อวิบริโอ และผลต่ออัตรารอดและการเจริญของกุ้งขาวแวนนาไม่ในบ่อเลี้ยง พบว่าบ่อที่ใช้ผลิตภัณฑ์บาซิลลัสมีปริมาณวิบริโอต่ำกว่าบ่อที่ไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Maketon and Masawhang (2000) รายงานว่า *Bacillus subtilis* และ *B. licheniformis* มีศักยภาพในการยับยั้ง *V. harveyi*

Table 1 Number of *Vibrio* sp. (CFU/ml) of control and treatment ponds in shrimp reared for 1 month

Day	Color of colony	Control	PondPlus	PondPlusE
0	Yellow	$1.0\pm0.20 \times 10^{2\,a}$	$1.10\pm0.26 \times 10^{2\,a}$	$1.40\pm0.40 \times 10^{2\,a}$
	Green	$2.87\pm0.31\times 10^{2\,a}$	$2.50\pm0.70 \times 10^{2\,a}$	$2.97\pm0.29 \times 10^{2\,a}$
3	Yellow	$2.93\pm0.40 \times 10^{2\,c}$	$0.47\pm0.21\times 10^{2\,a}$	$1.47\pm0.53 \times 10^{2\,b}$
	Green	$3.53\pm0.25 \times 10^{2\,b}$	$0.47\pm0.05 \times 10^{2\,a}$	$0.43\pm0.15 \times 10^{2\,a}$
5	Yellow	$3.07\pm0.49 \times 10^{2\,c}$	$0.50\pm0.26 \times 10^{2\,a}$	$1.77\pm0.25 \times 10^{2\,b}$
	Green	$2.80\pm0.35 \times 10^{2\,b}$	$1.27\pm0.32 \times 10^{2\,a}$	$0.97\pm0.25 \times 10^{2\,a}$
7	Yellow	$2.17\pm0.32 \times 10^{2\,b}$	$0.60\pm0.26 \times 10^{2\,a}$	$2.40\pm0.40 \times 10^{2\,b}$
	Green	$2.97\pm0.45 \times 10^{2\,b}$	$1.77\pm0.25 \times 10^{2\,a}$	$1.57\pm0.25 \times 10^{2\,a}$

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

Table 2 Number of *Vibrio* sp. (CFU/ml) of control and treatment ponds in shrimp reared for 2 months

Day	Color of colony	Control	PondPlus	PondPlusE
0	Yellow	$1.90\pm0.40 \times 10^{2\,a}$	$1.63\pm0.31 \times 10^{2\,a}$	$1.90\pm0.26 \times 10^{2\,a}$
	Green	$0.40\pm0.17\times 10^{2\,a}$	$0.50\pm0.20 \times 10^{2\,a}$	$0.60\pm0.17 \times 10^{2\,a}$
3	Yellow	$12.70\pm3.28 \times 10^{2\,b}$	$6.17\pm0.32 \times 10^{2\,a}$	$8.57\pm0.40 \times 10^{2\,a}$
	Green	$1.27\pm0.32\times 10^{2\,a}$	$1.77\pm0.50 \times 10^{2\,a}$	$1.37\pm0.15 \times 10^{2\,a}$
5	Yellow	$0.80\pm0.44 \times 10^{2\,b}$	$1.27\pm0.31 \times 10^{2\,a}$	$2.00\pm0.36 \times 10^{2\,a}$
	Green	$2.50\pm0.50 \times 10^{2\,b}$	$2.53\pm0.38 \times 10^{2\,b}$	$1.20\pm0.26 \times 10^{2\,a}$
7	Yellow	$6.87\pm0.35 \times 10^{2\,b}$	$2.70\pm0.35 \times 10^{2\,a}$	$3.57\pm0.64 \times 10^{2\,a}$
	Green	$2.50\pm0.26 \times 10^{2\,a}$	$2.80\pm0.26 \times 10^{2\,a}$	$3.03\pm0.30 \times 10^{2\,a}$

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

Table 3 Number of *Vibrio* sp. (CFU/ml) of control and treatment ponds in shrimp reared for 3 months

Day	Color of colony	Control	PondPlus	PondPlusE
0	Yellow	$8.43\pm0.75 \times 10^{2\,a}$	$7.80\pm0.79 \times 10^{2\,a}$	$8.47\pm0.70 \times 10^{2\,a}$
	Green	$8.00\pm0.46 \times 10^{2\,a}$	$7.60\pm0.44 \times 10^{2\,a}$	$8.37\pm0.42 \times 10^{2\,a}$
3	Yellow	$9.80\pm1.01 \times 10^{2\,a}$	$9.70\pm1.31 \times 10^{2\,a}$	$8.77\pm0.71 \times 10^{2\,a}$
	Green	$8.17\pm0.30 \times 10^{2\,b}$	$6.23\pm0.38 \times 10^{2\,a}$	$6.20\pm0.36 \times 10^{2\,a}$
5	Yellow	$10.43\pm0.87\times 10^{2\,b}$	$5.40\pm0.61 \times 10^{2\,a}$	$5.23\pm0.55 \times 10^{2\,a}$
	Green	$7.17\pm0.70 \times 10^{2\,b}$	$2.27\pm0.35 \times 10^{2\,a}$	$2.80\pm0.26 \times 10^{2\,a}$
7	Yellow	$23.43\pm1.62 \times 10^{2\,c}$	$14.70\pm1.35 \times 10^{2\,b}$	$9.40\pm0.76 \times 10^{2\,a}$
	Green	$7.60\pm0.62 \times 10^{2\,b}$	$3.43\pm0.11 \times 10^{2\,a}$	$3.17\pm0.58 \times 10^{2\,a}$

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

Table 4 Number of *Vibrio* sp. (CFU/ml) of control and treatment ponds in shrimp reared for 4 months

Day	Color of colony	Control	PondPlus	PondPlusE
0	Yellow	$8.70\pm0.62 \times 10^{2\,a}$	$8.63\pm0.40 \times 10^{2\,a}$	$8.67\pm0.29 \times 10^{2\,a}$
	Green	$2.40\pm0.36 \times 10^{2\,a}$	$2.40\pm0.36 \times 10^{2\,a}$	$2.93\pm0.84 \times 10^{2\,a}$
3	Yellow	$12.33\pm0.90 \times 10^{2\,b}$	$8.20\pm0.44 \times 10^{2\,a}$	$8.20\pm0.53 \times 10^{2\,a}$
	Green	$4.00\pm0.20 \times 10^{2\,c}$	$0.00\pm0.00 \times 10^{2\,a}$	$2.53\pm0.29 \times 10^{2\,b}$
5	Yellow	$13.67\pm0.50 \times 10^{2\,b}$	$7.07\pm0.74 \times 10^{2\,a}$	$8.00\pm1.06 \times 10^{2\,a}$
	Green	$1.80\pm0.20 \times 10^{2\,b}$	$0.43\pm0.05 \times 10^{2\,a}$	$0.43\pm0.23 \times 10^{2\,a}$
7	Yellow	$11.86\pm0.50 \times 10^{2\,b}$	$7.97\pm0.80 \times 10^{2\,a}$	$8.23\pm0.59 \times 10^{2\,a}$
	Green	$1.87\pm0.42 \times 10^{2\,c}$	$0.27\pm0.05 \times 10^{2\,a}$	$0.93\pm0.12 \times 10^{2\,b}$

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

ผลการศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อควบคุมและบ่อที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ตลอดระยะเวลาการทดลอง พบว่าคุณภาพน้ำส่วนใหญ่อยู่ในช่วงเหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยค่าปริมาณออกซิเจนละลายของบ่อควบคุมและบ่อทดลองที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ในทุกๆ ช่วงอายุกุ้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่ง Limsuwan and Chanratchakool (2004) กล่าวว่าระดับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งต้องไม่ต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งตลอดระยะเวลาการทดลองปริมาณออกซิเจนละลายอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เนื่องจากมีการใช้เครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอและมีการวางตำแหน่งที่เหมาะสม ค่าพีเอชในบ่อควบคุมและบ่อทดลองที่เติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดทุกระยะการเก็บตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมียสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และมีค่าอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม คืออยู่ระหว่าง 7.0-9.0 (Brock and Main, 1994) ค่าความเป็นด่างตลอดระยะเวลาการทดลองมีค่ามากกว่า 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้ง (Limsuwan, 2000; Limsuwan and Chanratchakool, 2004) ซึ่งค่าความเป็นด่างของบ่อควบคุมและบ่อทดลองผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ปริมาณแอมโมเนียจะมีค่ามากขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากเริ่มมีการสะสมสารอินทรีย์และสิ่งขับถ่ายของกุ้งมากขึ้น เกิดการเน่าสลายแล้วปล่อยแอมโมเนียออกมา ซึ่งในบ่อควบคุมและบ่อทดลองผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่อย่างไรก็ตามบ่อทดลองที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์มีปริมาณแอมโมเนียรวมต่ำกว่าบ่อควบคุม เนื่องจาก *Bacillus* เหล่านี้มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ที่แตกต่างกัน เช่น โปรติเอส อไมเลส ไลเปส สารเหล่านี้สามารถที่จะช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำได้ ปริมาณไนไตรท์ของบ่อควบคุมและบ่อทดลองผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าอยู่ในระดับสูงกว่ามาตรฐานซึ่งปริมาณไนไตรท์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งควรต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Preedalumphabut and Chaiyakam, 1994) เนื่องจากปริมาณแอมโมเนียรวมที่สูงซึ่งเกิดจากของเสียสิ่งขับถ่ายจากกุ้งและอาหารที่เหลือในบ่อที่เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยงและไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่ว่าในกุ้งอายุช่วงเดือนที่ 4 พบว่าปริมาณไนไตรท์ในบ่อที่เติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ มีค่าน้อยกว่าบ่อที่ไม่ได้เติมจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ปริมาณไนเตรทของบ่อควบคุมในทุกช่วงอายุกุ้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับบ่อทดลองที่เติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด แต่ส่วนใหญ่ปริมาณไนเตรทของบ่อควบคุมจะมีค่ามากกว่าบ่อทดลอง (Table 5, 6, 7 และ 8) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sae-ia (2006) พบว่าคุณสมบัติของน้ำส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งและในบ่อทดลองที่ใช้จุลินทรีย์บาซิลลัสมีปริมาณแอมโมเนียรวมและปริมาณไนไตรท์ต่ำกว่าบ่อที่ไม่ใช้จุลินทรีย์บาซิลลัส ปริมาณคลอโรฟิลล์เอตลอดระยะเวลาทำการทดลอง 7 วัน พบว่าทุกช่วงอายุกุ้งของการศึกษาครั้งนี้ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอในบ่อทดลองมีค่าลดลงและต่ำกว่าบ่อที่ไม่เติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) หลังจากใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดไปแล้ว 3 วัน และจะเริ่มมีค่าเพิ่มขึ้นอีกครั้งหลังจากใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ไปแล้ว 5 วัน (Table 9) ทั้งนี้เนื่องมาจากจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถแย่งอาหารจากแพลงก์ตอนได้ จึงทำให้ปริมาณแพลงก์ตอนลดลง ซึ่งในช่วงระยะแรกของการเลี้ยงปริมาณอาหารในบ่อยังมีค่อนข้างน้อยและจุลินทรีย์ต้องใช้อาหารบางส่วน จึงทำให้ปริมาณแพลงก์ตอนมีน้อยและเพิ่มขึ้นช้า แต่

ในช่วงเวลาที่การเลี้ยงนานมากขึ้นจะเห็นว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอจะมีค่าเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีการสะสมอาหารในบ่อเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในทางปฏิบัติถ้าต้องการควบคุมปริมาณแพลงก์ตอน สามารถที่จะเติมจุลินทรีย์ในระยะเวลาทุก ๆ 3-5 วัน เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่จะเป็นอาหารต่อแพลงก์ตอน ทำให้ควบคุมปริมาณแพลงก์ตอนให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมได้

Table 5 Water quality of control and treatment ponds in shrimp reared for 1 month

Parameter	Control	PondPlus	PondPlusE
Dissolved Oxygen (mg/l)	5.42±0.46 [a]	5.47±0.55 [a]	5.52±0.43 [a]
pH	8.61±0.05 [a]	8.64±0.06 [a]	8.65±0.04 [a]
Alkalinity (mg/l)	123.33±12.77 [a]	120.33±13.69 [a]	118.75±12.59 [a]
Total Ammonia (mg/l)	0.658±0.074 [a]	0.615±0.044 [a]	0.637±0.013 [a]
Nitrite (mg/l)	0.082±0.009 [a]	0.084±0.002 [a]	0.085±0.002 [a]
Nitrate (mg/l)	0.679±0.031 [a]	0.664±0.028 [a]	0.642±0.022 [a]

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

Table 6 Water quality of control and treatment ponds in shrimp reared for 2 months

Parameters	Control	PondPlus	PondPlusE
Dissolved Oxygen (mg/l)	5.32±0.09 [a]	5.32±0.13 [a]	5.28±0.10 [a]
pH	8.34±0.07 [a]	8.31±0.03 [a]	8.29±0.04 [a]
Alkalinity (mg/l)	152.99±8.16 [a]	156.67±7.52 [a]	154.84±10.57 [a]
Total Ammonia (mg/l)	1.315±0.477 [a]	1.295±0.451 [a]	1.250±0.410 [a]
Nitrite (mg/l)	0.091±0.005 [a]	0.090±0.002 [a]	0.089±0.001 [a]
Nitrate (mg/l)	0.861±0.169 [a]	0.888±0.231 [a]	0.893±0.237 [a]

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

Table 7 Water quality of control and treatment ponds in shrimp reared for 3 months

Parameters	Control	PondPlus	PondPlusE
Dissolved Oxygen (mg/l)	5.57±0.07 [a]	5.53±0.08 [a]	5.49±0.02 [a]
pH	8.46±0.05 [a]	8.49±0.03 [a]	8.48±0.03 [a]
Alkalinity (mg/l)	204.17±22. [a]	200.34±17.11 [a]	200.00±16.17 [a]
Total Ammonia (mg/l)	1.387±0.306 [a]	1.352±0.292 [a]	1.323±0.250 [a]
Nitrite (mg/l)	1.878±0.055 [a]	1.889±0.047 [a]	1.832±0.050 [a]
Nitrate (mg/l)	1.325±0.291 [a]	1.294±0.301 [a]	1.342±0.333 [a]

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

Table 8 Water quality of control and treatment ponds in shrimp reared for 4 months

Parameters	Control	PondPlus	PondPlusE
Dissolved Oxygen (mg/l)	5.40±0.05 [a]	5.41±0.05 [a]	5.43±0.03 [a]
pH	8.42±0.04 [a]	8.39±0.04 [a]	8.39±0.03 [a]
Alkalinity (mg/l)	151.83±1.00 [a]	151.17±3.19 [a]	155.17±4.44 [a]
Total Ammonia (mg/l)	1.294±0.340 [a]	1.283±0.352 [a]	1.267±0.330 [a]
Nitrite (mg/l)	1.964±0.021 [b]	1.911±0.052 [ab]	1.875±0.060 [a]
Nitrate (mg/l)	1.282±0.039 [a]	1.033±0.192 [a]	1.058±0.221 [a]

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

Table 9 Chlorophyll concentration of control and treatment ponds in shrimp reared for 1, 2, 3, and 4 months

Shrimp period	Day	Control	PondPlus	PondPlusE
25-30	0	30.643±1.143 [a]	29.667±1.975 [a]	28.347±3.019 [a]
	3	26.370±1.143 [a]	22.417±1.137 [b]	23.073±1.137 [b]
	5	30.987±2.281 [a]	25.423±1.504 [b]	25.083±1.172 [b]
	7	29.040±1.170 [a]	25.710±1.980 [a]	25.587±1.980 [a]
55-60	0	30.983±1.137 [a]	32.960±1.143 [a]	32.593±0.960 [a]
	3	32.300±1.143 [a]	24.383±1.149 [b]	26.370±1.143 [b]
	5	28.350±1.143 [a]	29.010±1.143 [a]	28.970±1.500 [a]
	7	31.643±1.975 [a]	32.300±1.143 [a]	31.593±1.755 [a]
85-90	0	36.260±1.143 [a]	37.030±1.143 [a]	37.300±0.960 [a]
	3	38.227±1.155 [a]	33.733±1.975 [b]	35.520±1.985 [ab]
	5	38.067±2.105 [a]	36.370±1.143 [a]	36.920±1.143 [a]
	7	38.740±1.015 [a]	37.667±1.015 [a]	38.900±1.143 [a]
115-120	0	31.643±1.975 [a]	32.300±1.143 [a]	31.970±0.566 [a]
	3	32.300±1.143 [a]	27.400±1.552 [b]	30.983±1.137 [a]
	5	32.393±0.548 [a]	29.730±1.000 [a]	32.303±2.281 [a]
	7	33.043±1.521 [a]	33.620±1.980 [a]	34.940±1.143 [a]

Note: Mean values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05)

สรุปผลการทดลอง

การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์กลุ่มบาซิลลัสทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ (PondPlus และ PondPlusE) ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ากลุ่มที่ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มสามารถลดปริมาณแบคทีเรียวิบริโอในน้ำได้คุณสมบัติของน้ำทั้ง 4 ช่วงอายุกุ้งในบ่อทดลองที่เติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ และบ่อควบคุมที่ไม่เติมจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งแวนนาไม และพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอของบ่อที่เติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าลดลงในวันที่ 3

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณบริษัท Novozymes Biological, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกาที่ให้ทุนสนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Brock, J.A., and Main, K. 1994. A Guide to the Common Problems and Disease of Cultured *Penaeus vannamei*. Published by the Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii, USA.

Didem, D., and Akin, C. 2006. Identification of *Vibrio anguillarum* by PCR (rpoN Gene) Associated with Vibriosis in Marine Fish in Turkey. Turk. J. Vet Anim. Sci. 30: 305 – 310.

Jayasree, L., Janakiram, P., and Madhavi, R. 2006. Characterization of *Vibrio* spp. associated with diseased shrimp from culture ponds of Andhra Pradesh (India). J. World Aquac. Soc. 37(4): 523-532.

Jueliang, P. 2011. The application of spore forming bacteria for Control *Vibrio harveyi* in *Litopenaeus vannamei* Culture. Master's Thesis. Kasetsart University. Bangkok. 95p. [in Thai]

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society.

Limsuwan, C. 2000. Thai Shrimp 2000.Chalermrat Publisher, Bangkok. 259 p. [inThai]

Limsuwan, C. and Chanratchakool, P. 2004. Shrimp culture industry in Thailand; supported by the National Research Council of Thailand for The Celebration on the Auspicious Occasion of His Majesty the King's Birthday Anniversary, 5th December 2004. Magic Publication. [inThai]

Maketon, M., and Masawhang, K. 2000. Potential of some benefical bacteria in colonizing *Vibrio harveyi* luminous bacteria causing diseases in shrimp. In Proceeding of the 38th Kasetsart University. Chatuchak Bangkok. [inThai]

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

Nash, G., Nithimathachock, C., Tungmandi, C., Arkarjamorn, A., Prathanpipat, P., and Ruamthaveesub, P. 1992. Vibriosis and its control in pond-reared *Penaeus monodon* in Thailand, pp. 143-155. *In* M.Shariff, ed. Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila.

Preedalumphabut, Y., and Chaiyakam, K. 1994. Effects from shrimp farming discharge on water quality in natural water resources. Academic article 7/2537. Coastal Aquaculture Research Institute. 39p. [in Thai]

Reid H. I., Treasurer, J. W., Adam, B., and Birkbeck, T. H. 2009. Analysis of bacterial populations in the gut of developing cod larvae and identification of *Vibrio logei*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio splendidus* as pathogens of cod larvae. Aquaculture 288: 36 – 43.

van Rijn, J. and Nussinovitch, A. 1997. An empirical model for predicting degradation of organic matter in fish culture systems based on short-term observations. Aquaculture 154:173 - 179.

van Rijn, Fonarev, N., and Berkowitz, B. 1995. Anaerobic treatment of fish culture effluents: digestion of fish feed and release of volatile fatty acids. Aquaculture 33: 9 - 20.

Queiroz, J.F. and Boyd, C.E. 1998. Effect of bacterial inoculum in channel catfish ponds. J. World Aquac. Soc. 29: 67-73.

Sae-ia, W. 2006. Effects of *Bacillus* sp. on Water Quality and Production of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricious) Cultured in Low Salinity Water. Master's Thesis. Kasetsart University. Bangkok. 95p. [in Thai]

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principles and Procedures of Statistics: A Biometerial Approach. 2nd ed. McGraw-Hill Publishing Co., New York, U.S.A.

Suwanpinit, N. and Suwanpinit, P. 1992. General Microbiology. Chula Press. Bangkok. [inThai]

Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M.H., Takami, G.A., Lovett, D.L., Mirvaghefi, A.R. and Shakouri, M. 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture 252, 516-524.