การลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ในน้ำเสียจากนากุ้งด้วยต้นกระจับ
Reduction of *Vibrio* bacterial concentrations in wastewater from shrimp pond using *Trapa bispinosa* Roxb.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1*], ธีรวรรณ บุญโทแสง[2] และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[3]
[1]ภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131
[2]โครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131
[3]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131
[*]E-mail : subunti@buu.ac.th

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาถึงการลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* โดยใช้ต้นกระจับที่ระดับความหนาแน่นแตกต่างกัน 3 ระดับคือ 1, 2 และ 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ผลการศึกษาพบว่าในน้ำเสียจากนากุ้งในวันแรกของการศึกษาพบแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* อยู่ในช่วง 4.00 ± 0.00 ถึง 6.28 ± 0.00 × 10^4 CFU/ml และชุดการทดลองที่ใช้ต้นกระจับความหนาแน่นเท่ากับ 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีความสามารถในการลดปริมาณ *Vibrio* ได้ดีที่สุดในสัปดาห์สุดท้าย (สัปดาห์ที่ 4) ของการศึกษา รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 1, ชุดการทดลองที่ 2 และชุดควบคุม ตามลำดับ โดยพบปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* เท่ากับ 2.28 ± 0.00 × 10^4, 9.28 ± 0.01 × 10^4, 2.03 ± 0.00 × 10^5 และ 2.63 ± 0.00 × 10^5 ตามลำดับ ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าการลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ในน้ำเสียจากนากุ้งที่เหมาะสมที่สุดในการศึกษาคือ ความหนาแน่นของต้นกระจับ 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร

คำสำคัญ : *Vibrio* ต้นกระจับ *Trapa bispinosa* Roxb. น้ำเสียจากนากุ้ง

Abstract

In this study, reduction of vibrios' concentrations using 3 different densities (1, 2 and 3 Kg/m^2) of *Trapa bispinosa* Roxb. was investigated. The results showed that *vibrios* were found in wastewater at the beginning of this study in a range of 4.00 ± 0.00 to 6.28 ± 0.00 × 10^4 CFU/ml. In the last week (4th week) of the experiment, treatment with 3 kg/m^2 of *Trapa bispinosa* Roxb. showed the highest efficiency in reducing *vibrio* followed by treatment with 1 and 2 kg/m^2 of *Trapa bispinosa* Roxb. and the control as 2.28 ± 0.00 × 10^4, 9.28 ± 0.01 × 10^4, 2.03 ± 0.00 × 10^5 and 2.63 ± 0.00 × 10^5, respectively. In conclusion, the most effective reduction of Vibrios in wastewater from shrimp pond in this study was the treatment with 3 kg/m^2 of *Trapa bispinosa* Roxb.

Keywords : *Vibrio*; *Trapa bispinosa* Roxb; Wastewater from shrimp pond

1.บทนำ

ทรัพยากรน้ำ ถือเป็นปัจจัยหลักในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากน้ำถูกนำมาใช้ในกระบวนการต่าง ๆ มากมาย แม้ว่าการจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่าง ๆ จะมีความสำคัญในการเพิ่มผลผลิตสัตว์น้ำ รวมทั้งรักษาคุณภาพของสิ่งแวดล้อม แต่ในทางปฏิบัติพบว่าเกษตรกรและนักประมงมักให้ความสนใจต่อวิธีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมากกว่าเรื่องการจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง [1] ทำให้สิ่งที่เป็น

ผลกระทบตามมาคือ คุณภาพของน้ำที่ใช้แล้วหรือน้ำทิ้งที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีคุณภาพต่ำ

กุ้งกุลาดำ จัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดประเภทหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากในแต่ละปีมีปริมาณการส่งออกกุ้งกุลาดำจำนวนมากและเป็นสินค้าออกประเภทสินค้าประมงที่สูงเป็นอันดับ 1 ในตลาดโลก [2, 3] ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งมักประสบกับปัญหาเรื่องน้ำเน่าเสียจากการเพาะเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากเกิดการสะสมของของเสียจากเศษอาหารตกค้าง สิ่งขับถ่ายของกุ้ง ที่ถูกถ่ายเทแล้วเกิดสะสมในแหล่งเลี้ยงหรือแหล่งน้ำใกล้เคียง เป็นสาเหตุให้เกิดการตายของกุ้งและเป็นสาเหตุของปัญหาสิ่งแวดล้อมทางน้ำ เมื่อมีการปล่อยน้ำเสียออกสู่สิ่งแวดล้อมโดยไม่ผ่านการบำบัด [4]

ในปัจจุบันประเทศไทยได้กำหนดให้เกษตรกรและผู้ประกอบการเลี้ยงกุ้ง ปฏิบัติตามหลัก Code of Conduct สำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ซึ่งหมายถึงจรรยาบรรณในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลอย่างมีความรับผิดชอบ โดยคำนึงถึงการจัดการสิ่งแวดล้อม ผลผลิตสด และปราศจากสิ่งเจือปนที่มีผลกระทบต่อผู้บริโภค [5] ความสัมพันธ์ระหว่างกุ้งกุลาดำ เชื้อโรค และสภาพแวดล้อมในบ่อเลี้ยงกุ้ง จัดเป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์และมีความสำคัญมากต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง สุขภาพของกุ้งและผลผลิตที่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งจะได้รับ [6] โดยถ้ามีการจัดการคุณภาพน้ำ ดิน และออกซิเจนละลายน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงได้อย่างเหมาะสมจะส่งผลให้กุ้งมีการเจริญเติบโตและมีสุขภาพดีปราศจากโรค ในทางตรงกันข้ามถ้าการจัดการสภาพแวดล้อมในบ่อเลี้ยงกุ้งไม่ดีเช่น น้ำเน่าเสียปริมาณจุลินทรีย์และเชื้อก่อโรคมีปริมาณมาก ฯลฯ จะทำให้กุ้งเสี่ยงต่อการเกิดโรคและตายในที่สุด [7] จุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียที่เป็นเชื้อก่อโรคและมักจะพบในกุ้งกุลาดำ ได้แก่ *Vibrio harveyi* ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้ง, *Vibrio* spp. เกิดโรคเหงือกกร่อนและโรคตายเดือน, *V. vulnificus* ทำให้เกิดโรคเสี้ยนดำในกุ้ง [7] *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp. นอกจากนี้ยังสามารถพบแบคทีเรียอื่นๆได้อีก ได้แก่ *Acinetobacter, Flavobacterium, Moraxella, Plesiomonas*, *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp. และ *E. coli* [8,9,10,11]

ปัจจุบันมีหลายหน่วยงานที่ให้ความสนใจและตระหนักถึงปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พร้อมทั้งหาแนวทางการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งการจัดการคุณภาพน้ำทั้งทางกายภาพและชีวภาพให้มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ และเป็นการใช้ทรัพยากรน้ำที่คุ้มค่าไม่ก่อมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งการบำบัดน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ มีหลายวิธีด้วยกัน เช่น บำบัดโดยการเติมอากาศหรือออกซิเจนให้กับบ่อเลี้ยงกุ้ง การปรับปรุงคุณภาพน้ำโดยใช้สารเคมี [1] และวิธีที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากอีกวิธีหนึ่งในปัจจุบันคือวิธีธรรมชาติ (Natural Treatment) เป็นวิธีที่ใช้พืชน้ำวัชพืชน้ำในการบำบัดน้ำเสียที่เกิดจากขั้นตอนต่างๆของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากวิธีนี้เป็นรูปแบบที่ทำได้ง่าย เสียค่าใช้จ่ายน้อย ง่ายต่อการบำรุงรักษา สามารถลดสารพิษที่มีตกค้างในบ่อกุ้งและแหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง พร้อมทั้งเป็นการอนุรักษ์ทรัพยากรน้ำและสิ่งแวดล้อม กระทั่งนำไปสู่การพัฒนา สิ่งแวดล้อมแบบยั่งยืนต่อไป [12] การบำบัดน้ำทิ้งด้วยวิธีธรรมชาติจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน

การศึกษาในครั้งนี้ได้เลือกใช้ต้นกระจับ (*Trapa bispinosa* Roxb.) (Figure 1) ในการทดลองบำบัดน้ำทิ้งจากนากุ้งกุลาดำ เพื่อลดจำนวนแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* ซึ่งต้นกระจับเป็นพืชน้ำที่พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งน้ำทางภาคกลาง อีกทั้งยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมนำมารับประทาน [13] ทั้งในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง [14] โดยทำการศึกษาประสิทธิภาพของต้นกระจับต่อการลดลงของจำนวนแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* ที่ระดับความหนาแน่นของต้นกระจับต่างกัน 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร เพื่อหาระดับความหนาแน่นของต้นกระจับที่มีความสามารถในการลดจำนวนแบคทีเรียข้างต้นได้ดีที่สุด ผลจากการทดลองนี้สามารถนำความรู้ที่ได้ไปขยายผลสู่กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในการบำบัดน้ำทิ้งจากนากุ้งด้วยวิธีธรรมชาติทดแทนวิธีอื่น ๆ ได้ ซึ่งจะเป็น

การศึกษาเพิ่มเติมถึงประโยชน์ของต้นกระจับมากยิ่งขึ้น นอกเหนือจากการนำมารับประทานมาใช้ในการบำบัดสภาพแวดล้อมให้ดียิ่งขึ้น

(a)

(b)

Figure 1 (a) ต้นกระจับ (b) ผลกระจับ [15]

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมบ่อบำบัด

เตรียมตู้กระจกขนาด 75 × 40 × 40 นิ้ว จำนวน 12 ตู้ (ชุดการทดลองละ 3 บ่อ) ดังแสดงใน Figure 2 และ 3 เติมดินตะกอนนากุ้งที่ได้จากขอบบ่อของบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้มีความสูง 2 เซนติเมตร ต่อมาเติมน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำตู้ละ 100 ลิตร จากนั้นพักบ่อทดลองเป็นเวลา 3 วันก่อนนำไปทำการทดลองต่อไปเพื่อให้ดินตกตะกอน และนำต้นกระจับอายุประมาณ 4 เดือน มาปลูกในบ่อทดลอง โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ดังนี้

- ชุดควบคุม (C): ไม่ใส่ต้นกระจับ
- ชุดการทดลองที่ 1 (T1): ใส่ต้นกระจับ 1 กิโลกรัม/ตารางเมตร/ตู้
- ชุดการทดลองที่ 2 (T2): ใส่ต้นกระจับ 2 กิโลกรัม/ตารางเมตร/ตู้
- ชุดการทดลองที่ 3 (T3): ใส่ต้นกระจับ 3 กิโลกรัม/ตารางเมตร/ตู้

หมายเหตุ บ่อบำบัดทั้ง 12 บ่อ ได้รับแสงตามปกติ

C (บ่อที่ 1) ○ ○ ○	T1 (บ่อที่ 1) ○ ○ ○	T2 (บ่อที่ 1) ○ ○ ○	T3 (บ่อที่ 1) ○ ○ ○
C (บ่อที่ 2) ○ ○ ○	T1 (บ่อที่ 2) ○ ○ ○	T2 (บ่อที่ 2) ○ ○ ○	T3 (บ่อที่ 2) ○ ○ ○
C (บ่อที่ 3) ○ ○ ○	T1 (บ่อที่ 3) ○ ○ ○	T2 (บ่อที่ 3) ○ ○ ○	T3 (บ่อที่ 3) ○ ○ ○

Figure 2 แผนภาพแสดงบ่อทดลอง

(a) (b)

Figure 3 (a) ชุดทดลองที่มีการเติมต้นกระจับ (b) ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมต้นกระจับ [15]

2.2 การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อตรวจวัดคุณภาพน้ำทางชีวภาพ

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำตามวิธีการของ Collins et al. [16] โดยเตรียมขวดแก้วมีฝาปิดขนาดปริมาตรบรรจุ 300-500 มิลลิลิตร ที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นใช้หลอดฉีดยาปราศจากเชื้อขนาด 20 มิลลิลิตร ต่อด้วยสายยางพลาสติก ความยาว 15 เซนติเมตร และดูดเก็บตัวอย่างน้ำบริเวณกึ่งกลางความลึกของน้ำให้ได้ปริมาตร 150 มิลลิลิตรต่อตู้ทดลอง ปิดฝาขวดและผสมให้เข้ากัน แช่ขวดน้ำตัวอย่างในถังน้ำแข็งก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อไปในห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง

2.3 การตรวจนับปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio*

การตรวจนับปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ตามวิธีการของ Nimrat et al. [17] โดยวิธี Spread Plate Methods โดยนำตัวอย่างน้ำที่เก็บได้จากแต่ละชุดการทดลองมาทำการเจือจางแบบ 10 เท่า (10-fold dilution technique) โดยนำตัวอย่างน้ำปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน 0.85% Normal saline ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางให้ได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ จากนั้นดูดตัวอย่างน้ำแต่ละระดับความ

เจือจาง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate citrate bile salt sucrose (TCBS) agar และทำการเกลี่ยตัวอย่างโดยใช้แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหาร TCBS จนผิวหน้าอาหารแห้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อและบันทึกผลในหน่วย CFU/ml

2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ One Way Anova ระดับความมีนัยสำคัญที่ 0.05 และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี Duncan

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ในช่วงเริ่มต้นก่อนการบำบัดน้ำทิ้งจากนากุ้งในทุกชุดการทดลองพบปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* อยู่ในช่วง $4.00 \pm 0.00 \times 10^4$ ถึง $6.28 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml โดยมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทำการทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าในชุดควบคุมเพิ่มขึ้นอย่างมากจาก $6.28 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml เพิ่มขึ้นเป็น $1.62 \pm 0.00 \times 10^6$ CFU/ml และเพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 1 ส่วนชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 1 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีค่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* สูงขึ้นมากเป็นอันดับ 2 นั่นคือจาก $5.57 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml เพิ่มขึ้นเป็น $4.03 \pm 0.00 \times 10^5$ CFU/ml และชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีปริมาณแบคทีเรียสูงขึ้นเล็กน้อยคือจาก $5.00 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml เป็น $5.83 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml ส่วนชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ลดลงจาก $4.00 \pm 0.00 \times 10^4$ เป็น $2.83 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml

ในสัปดาห์ที่ 2 พบว่าในชุดควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในสัปดาห์เริ่มต้น (สัปดาห์ 0) และมีค่าเท่ากับ $6.67 \pm 0.00 \times 10^3$ CFU/ml ส่วนอีก 3 ชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 1, 2 และ 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสัปดาห์เริ่มต้น โดยมีค่าเท่ากับ $1.69 \pm 0.00 \times 10^5$, $2.79 \pm 0.00 \times 10^5$ และ $8.39 \pm 0.01 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ

ในสัปดาห์ที่ 3 พบว่าในชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* สูงสุดเท่ากับ $2.21 \pm 0.00 \times 10^5$ CFU/ml ส่วนชุดที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* จากมากไปน้อยดังนี้ คือ ชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 1, 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร และชุดทดลอง ตามลำดับ

ต่อมาในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองพบว่าในชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ในปริมาณน้อยที่สุดเท่ากับ $2.28 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml ส่วนชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 1 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* สูงกว่าชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ส่วนชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร และชุดควบคุมมีค่าที่มากที่สุดเท่ากับ $2.03 \pm 0.00 \times 10^5$ และ $2.63 \pm 0.00 \times 10^5$ CFU/ml ตามลำดับ

แต่อย่างไรก็ตามตลอดระยะเวลาทำการทดลอง 4 สัปดาห์พบว่าชุดการทดลองที่มีต้นกระจับความหนาแน่น 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร สามารถลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ได้ดีที่สุดตั้งแต่ภายใน 7 วันแรกของการทดลองและมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ลดลงจากวันแรกของการทดลองทุกสัปดาห์ ยกเว้นสัปดาห์ที่ 2 ที่มีค่าเพิ่มขึ้นแต่ก็ไม่เพิ่มขึ้นมากนัก (< 3 เท่า) รวมทั้งในวันสุดท้ายของการทดลองที่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ที่คงน้อยกว่าวันแรกของการทดลองโดยมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* เท่ากับ $2.28 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับในช่วงเริ่มต้นการทดลอง และในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้น้ำเสียตามธรรมชาติที่มาจากนากุ้ง ดังนั้นจึงทำให้มีปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ในน้ำเสียตามธรรมชาติและผลการทดลองพบว่ามีปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. เริ่มต้นที่มีอยู่ในน้ำเสียในแต่ละชุดการศึกษา

เท่ากับ $4.00 \pm 0.00 \times 10^4$ ถึง $6.28 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/ml ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการบำบัดแบบที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผู้เลี้ยงกุ้งได้โดยตรง ดังนั้นจึงไม่มีการควบคุมการปลอดเชื้อของต้นกระจับแต่ใช้ต้นกระจับตามธรรมชาติมาทำการทดลองเหมือนการศึกษาการฟื้นฟูสภาพโดยใช้ต้นพืชแบบบึงประดิษฐ์นั่นเองซึ่งจะไม่มีกระบวนการปลอดเชื้อของพืชที่จะนำมาใช้นั่นเอง ซึ่งสามารถทำให้เกษตรกรสามารถนำวิธีการฟื้นฟูสภาพไปใช้ได้สะดวกและง่าย ๆ ตามวิถีชาวบ้าน

ความสัมพันธ์ของต้นกระจับกับแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. มีความสัมพันธ์กับบ่อทดลองดังนี้ ซึ่งแบคทีเรียทำการย่อยสลายอินทรีย์สารในบ่อเพื่อใช้ในการดำรงชีวิตรวมทั้ง คาร์บอนไดออกไซด์ ไนเทรต ฟอสเฟต ในขณะเดียวกันต้นกระจับจะดูดเอาสารอาหาร สารละลายที่เป็นประโยชน์เหล่านี้ไปใช้ในการเจริญของต้นกระจับ [18] ดังนั้นสารเหล่านี้โดยส่วนมากจะถูกต้นกระจับใช้ไป นอกจากที่กล่าวมาข้างต้นกลไกการทำงานของต้นกระจับในการลดจำนวนจุลินทรีย์ ที่จะอธิบายตามลักษณะความสำคัญของการทำงานของพืชในบึงประดิษฐ์ คือ สัดส่วนที่จมอยู่ใต้น้ำของพืช การกระจายกิ่งก้านของพืชที่สม่ำเสมอ จะทำหน้าที่เสมือนส่วนที่ให้จุลินทรีย์ยึดเกาะและเจริญซึ่งผลของการยึดเกาะของจุลินทรีย์เหล่านี้ถือว่าเป็นกลไกสำคัญที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย [19] และเชื้อโรคส่วนใหญ่ที่พบอยู่ในบึงประดิษฐ์ ได้แก่ หนอนพยาธิ แบคทีเรีย และไวรัส เชื้อก่อโรคจำพวกแบคทีเรียและไวรัสจะถูกกำจัดด้วยกลไกต่าง ๆ [20,21] ซึ่งการกำจัดเชื้อในระบบบึงประดิษฐ์สามารถที่จะกำจัดได้โดยกระบวนการทางด้านเคมี กายภาพ และชีวภาพ อันได้แก่ การตกตะกอนและการกรองผ่านช่องว่างของชั้นตัวกลางรวมทั้งการดูดติดของรากพืช การถูกทำลายจากแสงอาทิตย์ และการถูกกินโดยสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในระบบ ประสิทธิภาพในการกำจัดจะขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อโรค และการตายที่เกิดจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น เวลากักเก็บและอุณหภูมิ การดูดซับสารอินทรีย์ [20,21,22,23,24] การมีแสงอุลตร้า-ไวโอเลตหรือยูวีจากดวงอาทิตย์ อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ของเซลล์ [19] เป็นต้น นอกจากนี้ระบบรากยังสามารถปล่อยสารอื่นที่ไม่ใช่ออกซิเจน เช่น กก (Bulrush) สามารถปล่อยสารปฏิชีวนะจากรากซึ่งสามารถทำลายเชื้อโรคบางอย่างในน้ำเสียได้ หรือการปลดปล่อยสารบางอย่างที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอื่น การถูกจับกินโดยสิ่งมีชีวิตอื่น กิจกรรมของ Lytic bacteria หรือไวรัส และการตายตามธรรมชาติ [25,26]

Table 1 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ในน้ำทิ้งจากนากุ้งที่ทำการบำบัดโดยใช้ต้นกระจับ

สัปดาห์ที่ / ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* (CFU/ml)				
	0	1	2	3	4
C : ชุดควบคุม	$6.28 \pm 0.00\times10^{4\,a}$	$1.62 \pm 0.00\times10^{6\,a}$	$6.67 \pm 0.00\times10^{3\,c}$	$3.11 \pm 0.00\times10^{4\,c}$	$2.63 \pm 0.00\times10^{5\,a}$
T1 : ต้นกระจับ 1 กก./ตร.ม.	$5.565 \pm 0.00\times10^{4\,a}$	$4.03 \pm 0.00\times10^{5\,b}$	$1.69 \pm 0.00\times10^{5\,a}$	$9.78 \pm 0.01\times10^{4\,b}$	$9.28 \pm 0.01\times10^{4\,b}$
T2 : ต้นกระจับ 2 กก./ตร.ม.	$5.00 \pm 0.00\times10^{4\,a}$	$5.83 \pm 0.00\times10^{4\,c}$	$2.79 \pm 0.00\times10^{5\,a}$	$2.21 \pm 0.00\times10^{5\,a}$	$2.03 \pm 0.00\times10^{5\,a}$
T3 : ต้นกระจับ 3 กก./ตร.ม.	$4.00 \pm 0.00\times10^{4\,a}$	$2.83 \pm 0.00\times10^{4\,c}$	$8.39 \pm 0.01\times10^{4\,b}$	$1.44 + 0.00\times10^{4\,c}$	$2.28 \pm 0.00\times10^{4\,c}$

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

4. สรุป

จากการศึกษาการลดลงของแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. ในน้ำเสียจากนากุ้งที่ทำการบำบัดโดยใช้ต้นกระจับที่ 4 ระดับความหนาแน่น คือ 1, 2 และ 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งพบว่าการใช้ต้นกระจับความหนาแน่น 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตรมีประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ได้ดีที่สุดเนื่องจากสามารถควบคุมปริมาณ *Vibrio* spp. ได้ตั้งแต่ 7 วันแรกของการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 ยังพบว่าการใช้ต้นกระจับความหนาแน่น 3 กิโลกรัมต่อตารางเมตรมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ต้นกระจับความหนาแน่น 1 และ 2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยาและภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย

6. บรรณานุกรม

[1] มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา. (2539). การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[2] ศุภชัย นิลวานิช. (2540). กุ้งกุลาดำทางเลือก-ทางรอด. กรุงเทพฯ: มติชน.

[3] Vuthiphandchai, V.; Nimrat, S.; Kotcharat S.; Bart, A.N. (2007). Development of a cryopreservation protocol for long-term storage of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) spermatophores. *Theriogenology*, 68, 1192-1199.

[4] Nimrat, S.; Suksawat, S.; Maleeweach, P.; Vuthiphandchai, V. (2008). Effect of different shrimp pond bottom soil treatments on the change of physical characteristics and pathogenic bacteria in pond bottom soil. *Aquaculture*, 285, 123-129.

[5] สิริ ทุกข์วินาส. (2545). แนวทางการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามอย่างมีความรับผิดชอบตามระบบ Code of Conduct. *วารสารการประมง*. 55(6), 551-554.

[6] ชะลอ ลิ้มสุวรรณ. (2543). กุ้งไทย 2000. กรุงเทพฯ: เจริญรัฐการพิมพ์.

[7] ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์. (2539). จุลินทรีย์กับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. *วารสารวาริชศาสตร์*, 3(1), 42-51.

[8] จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. (2535). การศึกษาการเหนี่ยวนำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเสี้ยนดำโดยเชื้อ *Vibrio vulnificus* ในกุ้งกุลาดำที่มีอายุแตกต่างกัน. *วารสารสัตว์น้ำ*, 13(1), 31-37.

[9] ศุภชัย นิลวานิช. (2540). กุ้งกุลาดำทางเลือก-ทางรอด. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มติชน.

[10] Kusumaningrum, H.P.; Zainuri, M. (2015). Detection of bacteria and fungi associated with *Penaeus monodon* postlarvae mortality. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 329-337.

[11] Narasimhan, N.; Ravimanickam, T.; Sukumaran, M.; Ravichelvan, R.; Ravichandran, R.; Madhavan, D. (2013). Pathogenic bacteria isolated from tiger prawn *Penaeus monodon* in shrimp culture ponds at east coast of Thanjavur district Tamil Nadu, India. *International Journal of Research in Biological Sciences*, 3(2), 98-101.

[12] แนวคิดและทฤษฎีอันเนื่องมาจากพระราชดำริพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว, 2543

[13] สุชาดา ศรีเพ็ญ. (2542). พรรณไม้น้ำในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: อมรินทร์พริ้นติ้งแอนพับลิชชิ่ง.

[14] Malik, A.H.; Anjum, F.M.; Sameen, A.; Khan, M.I.; Sohaib, M. (2012). Extraction of starch from Water Chestnut (*Trapa bispinosa* Roxb) and its application in yogurt as a stabilizer. *Pakishtan Journal of Food Science*, 22(4), 209-218.

[15] บุญมา กรายไทยสงค์, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, นิตยา ไชยเนตร และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2548). ผลของกระจับในการบำบัดน้ำเสียจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. การประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 4. สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ: วันที่ 19-21 มกราคม 2548.

[16] Collins, C. H.; Lyne, P. M.; Grange, J. M. (1995). Microbiological method. Oxfords: Butterworth-Heinemann Ltd.

[17] Arnold, G. E.; Rhodes, T. R.; Lenore, C. S. (1985). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Washington, DC; America Public Health Association.

[18] บัญญัติ สุขศรีงาม. (2534). จุลชีววิทยาทั่วไป (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

[19] กรมควบคุมมลพิษ และสมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. (2546). เทคโนโลยีการบำบัดน้ำ
เสียบางวิธี การนำน้ำทิ้งมาใช้ประโยชน์ และการทดสอบพิษวิทยาสำหรับน้ำทิ้ง. กรุงเทพฯ: สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย.

[20] Karim, M.R.; Manshadi, F.D.; Karpiscak, M.M.; Gerba, C.P. (2004). The persistence and removal of enteric pathogens in constructed wetlands. *Water Research*, 38, 1831-1837.

[21] Quiñónez-Dìaz, M. de J.; Karpiscak, M.M.; Ellman, E.D.; Gerba, C.P. (2001). Removal of pathogenic and indicator microorganisms by a constructed wetland receiving untreated domestic wastewater. *Journal of Environmental Science and Health*, A36(7), 1311-1320.

[22] Gersberg, B. M.; Elkins, S. R.; Lyons, S. R.; Goldman, C. R. 1985. Role of aquatic plants in wastewater treatment by artificial wetlands. *Water Research*, 20, 363-368.

[23] Cooper, P. F.; Job, G. D.; Green, M. B.; Shutes, R.B.E. 1996. Reed beds and constructed wetlands for wastewater treatment. WRc Publications, Medmenham, Marlow, U.K

[24] Brix, H. 1997. Do macrophyters play a role in constructed wetlads. *Wat. Sci. Tech*., 35, 11-17.

[25] Vymazal, J.; Brix, H.; Cooper, P. F.; Green, M. B.; Haberl, R. (1998). Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe. Backhuys Publishers, Leiden, Netherland.

[26] Vacca, G.; Wand, H.; Nikolausz, M.; Kuschk, P.; stner, M.K. (2005). Effect of plants and filter materials on bacteria removal in pilot-scale constructed wetlands. *Water Research*, 39, 1361-1373.