การคัดแยกแบคทีเรียและเพรียงจากปูเศรษฐกิจ (Portunidae : Decapoda) บริเวณอ่าวคุงกระเบน จังหวัดจันทบุรี

Isolation of Bacteria and Epizoite Barnacle from Portunid Crab (Portunidae : Decapoda) at Kung Krabaen Bay, Chanthaburi Province

ชุตาภา คุณสุข[1], เพ็ญโพยม หนองอ้อ[1], จิรภัทร จันทมาลี[1], วิลานี จุ้งลก[2]
[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี
[2]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย และเพรียงจากปูเศรษฐกิจ (Portunidae: Decapoda) จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปูม้า ปูดำ และปูลาย จากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงธันวาคม 2558 โดยใช้เครื่องมือประมงลอบและอวนจมปูม้าในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จากนั้นทำการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอวัยวะส่วนต่างๆ ของปูเศรษฐกิจ 5 บริเวณ ได้แก่ กล้ามเนื้อเหงือก หัวใจ ตับ และกระเพาะอาหาร ศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเบื้องต้นและการศึกษาชนิด ตำแหน่งที่มีการเข้าอยู่อาศัยของเพรียง รวมไปถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงบนตัวปูแต่ละชนิด เช่น เพศ ขนาด และฤดูกาล ผลการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียในปูม้า (Portunus pelagicus) 5 สกุล จากเชื้อที่คัดแยกได้ 11 ไอโซเลต โดยพบในบริเวณเหงือกมากที่สุด ส่วนปูดำ (Scylla transquebarica) พบ 3 สกุล จากเชื้อที่คัดแยกได้ 10 ไอโซเลต และปูลาย (Charybdis feriatus) พบ 6 สกุล จากเชื้อที่คัดแยกได้ 9 ไอโซเลต โดยพบเชื้อแบคทีเรียชนิด Vibrio sp. มากที่สุดในปูทุกชนิด สำหรับชนิดของเพรียงที่เข้าอยู่อาศัยในปูทุกชนิด พบว่า เป็นเพรียงถั่วงอกสกุล Octolasmis sp. โดยพบในบริเวณเหงือกมากที่สุด ส่วนเพรียงหิน Chelonibia sp. พบในปูม้าและปูดำเท่านั้น โดยพบในบริเวณขาเดิน และกระดอง การทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงของปูม้าและปูดำ พบว่า ปัจจัยเรื่องเพศ ขนาด และฤดูกาลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ในขณะที่ฤดูกาลมีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูลาย ($P<0.05$) โดยช่วงฤดูแล้ง เพรียงจะมีการเข้าอยู่อาศัยในปูลายมากกว่าในฤดูฝน ($P<0.05$)

คำสำคัญ : การคัดแยก, แบคทีเรีย, เพรียง, ปูเศรษฐกิจ, อ่าวคุ้งกระเบน

Abstract

Isolation of bacteria and epizoite barnacles from portunid crab (Portunidae: Decapoda); blue swimming crab Portunus pelagicus, mud crab Scylla transquebarica and crucifix crab Charybdis feriatus was conducted from January to December 2015 at Kung Krabaen Bay by using collapsible crab trap and crab gill nets. The bacteria was isolated from five organs; muscle, gill, heart, hepatopancrease and stomach. Morphology of bacteria was observed under compound microscopes and biochemical tests were also studied. Moreover, the research identified the epizoite barnacles and localized crabs position including influence of factors that had effected on epizoite barnacles such as sex, size and season were carried out. The result found that 6 generas (11 isolates), 3 generas (10 isolates), and 5 generas (9 isolates), of bacteria were isolated from Portunus pelagicus, Scylla transquebarica and Charybdis feriatus, respectively. The Vibrio sp. was the most dominant generas. The bacteria was mostly found in the gill, hepatopancrease and stomach in *P. pelagicus, S. transquebarica* and *C. feriatus. Octolasmis* sp. was found in all species especially in the gill. Chelonibia sp. was found in P. pelagicus and S. transquebarica, in particularly, it was walking legs and in carapaces. In addition, this research was found that sex, size and season were no significance to abundance of epizoite barnacles in the host crabs. However, season of C. feriatus indicate significant difference to the habitat of epizoite barnacle that lived in crab ($p<0.05$). Epizoite barnacles usually lived in the crab in dry seasons better than rainy seasons.

Keywords : Isolation, Bacteria, Epizoite barnacle, Portunid crab, Kung Krabaen Bay

บทนำ

ปัจจุบันความมั่นคงทางอาหาร (food security) เป็นประเด็นใหญ่ที่คนทั่วโลก และองค์กรที่รับผิดชอบเกี่ยวกับอาหารและยา เช่น องค์กรอนามัยโลก (WHO) และองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ให้ความตระหนักเป็นอย่างยิ่ง ทั้งในเรื่องของปริมาณอาหารที่ลดจำนวนลง การปนเปื้อนของสารเคมีต่างๆ ที่อยู่ในอาหาร ตลอดจนการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในอาหาร (FAO, 2013) ซึ่งในที่นี้ก็รวมถึงอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญของคนทั้งโลก ซึ่งก็คืออาหารทะเลนั่นเอง โดยกลุ่มหลักของอาหารทะเลที่ผู้บริโภคทั้งคนไทย และต่างประเทศนิยมรับประทานกันมากนั่นก็คือ ปู ซึ่งปัจจุบันปริมาณการลดลงในธรรมชาติมีอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากมีความต้องการในการบริโภคสูง อาทิเช่น ปูทะเล และปูม้า โดยจากข้อมูลทางสถิติของสมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย ในปี 2554 พบว่าประเทศไทยสามารถส่งออกปูม้าได้ 20,000 ตัน (สมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย, 2557) การศึกษาการส่งผลผลิตของปูออกไปขายยังแหล่งท่องเที่ยว และในต่างประเทศ เช่น เนื้อปูสด เนื้อปูรมควัน เนื้อปูกระป๋อง ฯลฯ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อปูแช่แข็งนั้น พบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อหลายชนิด เช่น Vibrio parahaemolyticus, Salmonella sp. และ Escherichia coli (Sizemore et al., 1975) ทำให้ปูมีลักษณะผิดปกติ คือกล้ามเนื้อหลวมโพรก กระดองไม่แข็งเหมือนปูสภาพปกติ ตับและเหงือกมีสีเหลืองซีด เป็นสาเหตุทำให้ปูตาย (Meyers et al., 1987) เมื่อปูติดเชื้อ ผลผลิตปูลดลง มีปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการบริโภค ทำให้ราคาของปูเศรษฐกิจเหล่านี้สูงขึ้นเป็นอย่างมากในปัจจุบัน จากการศึกษามูลค่าของผลผลิตปู พบว่าปูกลุ่มขาว่ายน้ำ (Portunid) ที่มีการขายสดเป็นตัวจะมีราคาลดลงมาก ถ้ามีการอยู่อาศัยของเพรียงชนิดต่างๆ เช่น เพรียงถั่วงอก (Octolasmis sp.) เพรียง (Sacculina sp.) และเพรียงหิน (Chelonibia patula) เป็นต้น (บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2542) โดยเพรียงเหล่านี้จะมีตำแหน่งในการอยู่อาศัยร่วมกันกับปูในตำแหน่งที่ต่างๆ กันออกไป เช่น ในบริเวณเหงือก จับปิ้ง หรือกระดอง เป็นต้น โดยเพรียงจะกินอาหารและใช้พลังงานจากตัวปูที่สะสมไว้ และเข้าไปควบคุมการทำงานระบบประสาทของตัวปู ทำให้ระบบการทำงานของปูทำงานผิดปกติ เช่น ฮอร์โมนที่ควบคุมการลอกคราบ ผลที่เกิดขึ้นกับปู ก็คือ ปูจะไม่ลอกคราบ และถ้าเป็นปูตัวเมีย จะทำให้รังไข่ฝ่อ และเป็นหมัน (บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2542) ซึ่งในปัจจุบันยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อแบคทีเรีย และเพรียงในปูเศรษฐกิจค่อนข้างน้อย คณะผู้วิจัยตระหนักถึงความสำคัญจากปัญหาดังกล่าว จึงมีความสนใจที่จะศึกษาแบคทีเรีย และเพรียงที่มีการแพร่ระบาดในปูเศรษฐกิจ ซึ่งทำให้ปูมีอาการผิดปกติ และตาย เพื่อนำเสนอข้อมูลชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และชนิดของเพรียงตามอวัยวะต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาวิธีแก้ปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรีย และเพรียงต่อไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียและเพรียงจากปูเศรษฐกิจในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี
2. เพื่อศึกษาตำแหน่งที่มีกรเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูเศรษฐกิจชนิดต่างๆ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างภาคสนาม

โดยการออกเก็บตัวอย่างปูน้ำเค็มเศรษฐกิจ บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี เป็นจำนวน 3 ครั้ง ในช่วงน้ำขึ้นสูงสุด คลอบคลุมทั้ง 2 ฤดูกาล คือ ฤดูฝนและฤดูแล้ง โดยใช้เครื่องมือประมงลอบแบบพับได้และอวนจมปูม้าทั้งในอ่าวและนอกอ่าวคุ้งกระเบน ช่วงระยะเวลาตั้งแต่มกราคม 2558-ธันวาคม 2558 (ไม่สามารถระบุช่วงจำนวนครั้งหรือเดือนได้ เนื่องจากความชุกชุมของปูในแต่ละชนิดที่เก็บได้ในแต่ละเดือนไม่เท่ากัน)

2. การคัดแยกแบคทีเรียจากปูเศรษฐกิจ

ตัวอย่างอวัยวะปูทะเลปริมาณ 1 กรัม ผสมกับน้ำเกลือปลอดเชื้อ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตรได้ตัวอย่างเจือจาง 1:10 จากนั้นเจือจางลงครั้งละ 10 เท่าโดยใช้สารละลายน้ำเกลือปลอดเชื้อ 0.85 เปอร์เซ็นต์จนมีระดับความเจือจางถึง 10-4 ปี เปตตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในอาหารแข็ง Trypticase Soy agar (TSA) ที่เติม 1.5% NaCl แล้วทำการ spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่เกิดขึ้น คำนวณปริมาณเชื้อแบคทีเรีย หลังจากนั้นคัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกัน ทำให้เป็นโคโลนีเดี่ยวโดยการใช้เทคนิคการขีดลากแบบไขว้ (cross streak technique) โคโลนีเดี่ยวที่คัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหารเหลว TSB ปริมาตร 5 มิลลิลิตรเพื่อเป็น Stock culture โดยใส่กลีเซอรอลปลอดเชื้อปริมาตร 500 ไมโครลิตร รวมกับเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นจึงนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -70 ºC เพื่อใช้สำหรับการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3. การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอวัยวะส่วนต่างๆ ของปูทะเลทางด้านสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเบื้องต้น

3.1. การติดสีแกรม (Gram Strain)

นำเชื้อที่ต้องการย้อม smear ลงบนสไลด์ ทิ้งให้แห้ง จากนั้นตรึงตัวเซลล์ด้วยการผ่านเปลวไฟ การตรึงเซลล์จะช่วยให้เซลล์แห้งติดกับแผ่นกระจกสไลด์ หยด Ammonium oxalate crystal violet บนเชื้อที่ smear นานประมาณ 1 - 2 นาที แล้วเทสีทิ้ง หยดสารละลายไอโอดีนตามลงไปนานประมาณ 2 นาที แล้วเททิ้ง สารละลายไอโอดีนจะช่วยให้เซลล์ที่ย้อมติดสีได้ดีขึ้น ต่อจากนั้นล้างสีด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% นาน 30 วินาที แล้วจึงตามด้วยน้ำกลั่นหยดสี Safranin O บนเชื้อนานประมาณ 15-30 วินาที ล้างสีด้วยน้ำกลั่น และดูลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2. การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเบื้องต้น

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ catalase ทดสอบการสร้างเอนไซม์ oxidase การทดสอบความสามารถในการสร้างอินโดล (Indole test) การทดสอบ Methyl red (MR) test การทดสอบการใช้ Citrate เป็นแหล่งคาร์บอน การทดสอบ urease test การทดสอบการเคลื่อนที่ (motility) การทดสอบการใช้น้ำตาลสามารถบ่งบอกชนิดของแบคทีเรียได้ตามหลักเกณฑ์ของ Bergey's Manaul of Determinative Bacteriology 1994 (Holt et al., 1994) และการใช้ selective media ในการทดสอบ เช่น E.coli Mackonkeys, Vibrio TCB เป็นต้น

4. การศึกษาชนิด และตำแหน่งที่มีการเข้าอยู่อาศัยของเพรียง

นำตัวอย่างปูแต่ละชนิดมาวัดความกว้างกระดอง ชั่งน้ำหนัก และแยกเพศ จากนั้นนำตัวอย่างปูมาศึกษาการเกาะติดของเพรียงตามส่วนต่างๆ ของปู โดยศึกษาชนิดของเพรียงที่เกาะบริเวณกระดองด้านนอก ได้แก่ กระดอง และขาเดิน เพรียงที่เกาะติดตามเหงือก กล้ามเนื้อ ทางเดินอาหาร ตับ และจับปิ้ง และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกาะของเพรียงบนตัวปูแต่ละชนิด เช่น เพศ ขนาด และฤดูกาล และทดสอบโดยการใช้สถิติทดสอบ One-way ANOVA

5. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด และสรุปผลการศึกษา

ผลการวิจัย

ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียและเพรียง บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ผลการศึกษามีดังนี้

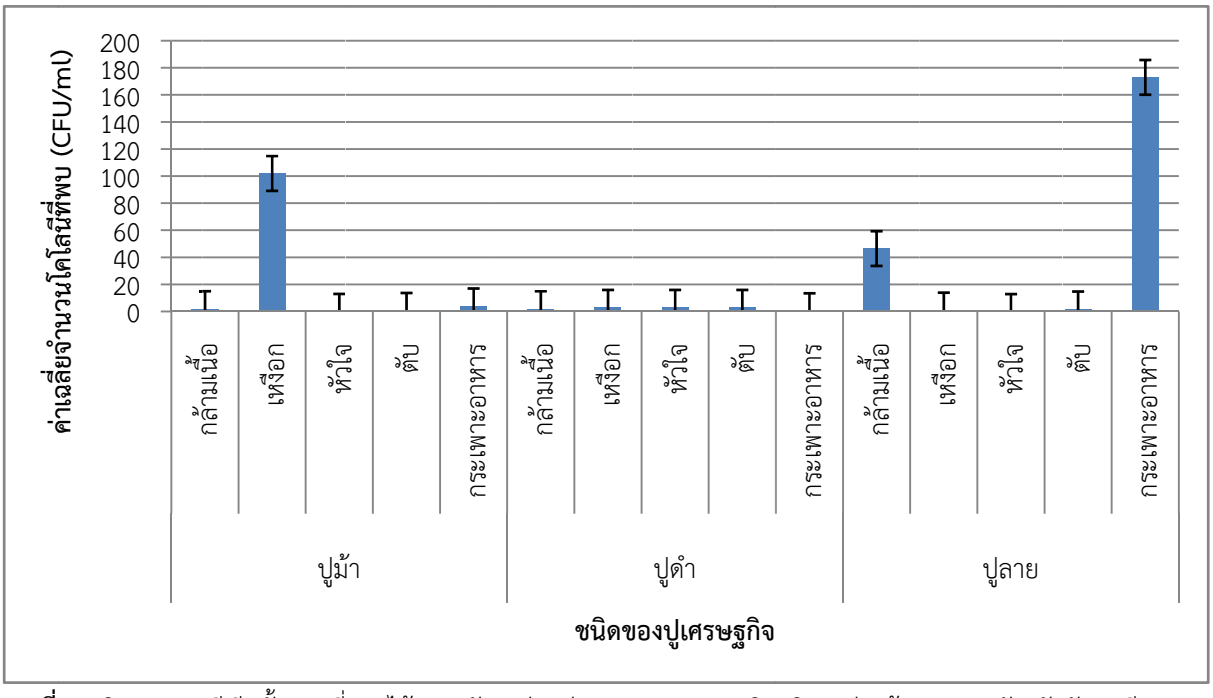
1. ปริมาณของแบคทีเรียที่พบในปูเศรษฐกิจ

การคัดแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างปู 3 ชนิด คือ ปูม้า (Portunus pelagicus) ปูดำ (Scylla transquebarica) และปูลาย (Charybdis feriatus) โดยใช้อาหาร Trypticase Soy Agar (TSA) ที่เติม 1.5% NaCl นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดโดยวิธี spread plate ผลการศึกษาพบจำนวนโคโลนีแบคทีเรียเฉลี่ยของปูม้า ในกล้ามเนื้อ เหงือก หัวใจ ตับ และกระเพาะอาหาร มีค่าดังนี้ 2.1x104, 102x104, 0.14x104, 0.81x104 และ 4.1x104 CFU/ml ตามลำดับ สำหรับปูดำ พบจำนวนโคโลนีแบคทีเรียเฉลี่ยในกล้ามเนื้อ เหงือก หัวใจ ตับ และกระเพาะอาหาร มีค่าดังนี้ 2.08x104, 3.06x104, 3.08x104, 3.11x104 และ 0.61x104 CFU/ml ตามลำดับ และปูลาย พบจำนวนโคโลนีแบคทีเรียเฉลี่ยในกล้ามเนื้อ เหงือก หัวใจ ตับ และกระเพาะอาหาร มีค่าดังนี้ 46.5x104, 1.07x104, 0, 1.87x104 และ 173x104 CFU/ml ตามลำดับ ดังภาพที่ 1

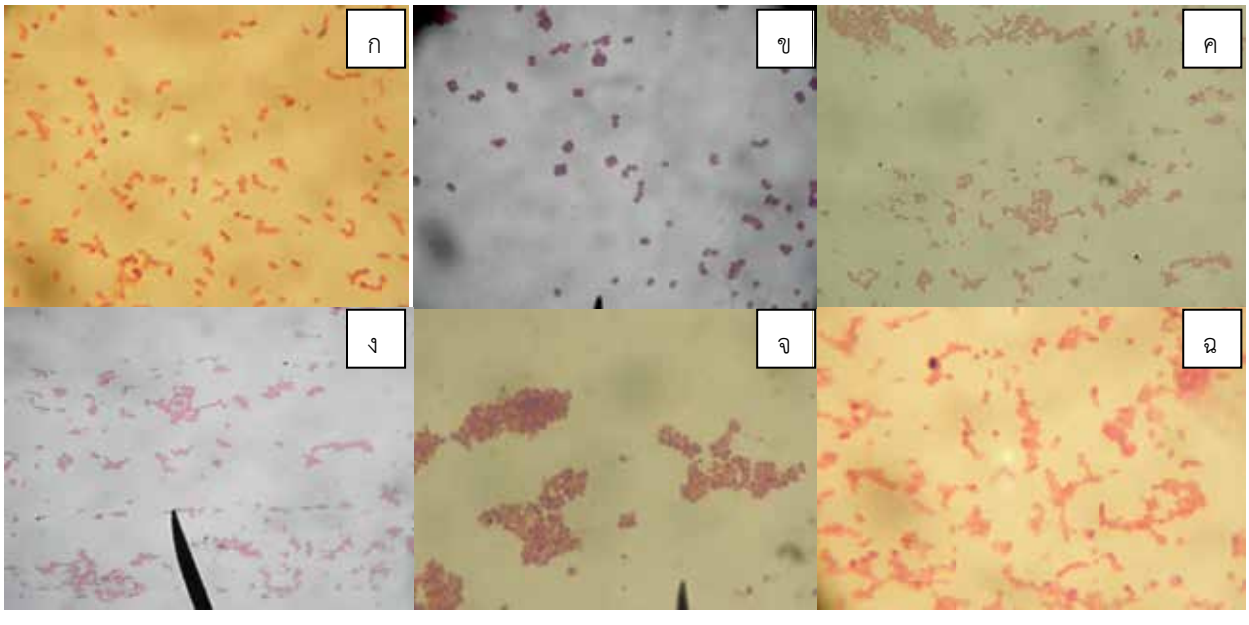
2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่แยกได้จากอวัยวะส่วนต่างๆ ของปู

แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างปูม้า (P. pelagicus) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม 3 ไอโซเลท คือ PM02, PE01 และ PE02 พบในกล้ามเนื้อและหัวใจ แบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน พบ 2 ไอโซเลท คือ PM01 และ PH02 แบคทีเรียรูปร่างกลม พบ 6 ไอโซเลท คือ PG01, PG02, PG03, PH01, PH03 และ PS01 พบในเหงือก ตับ และกระเพาะอาหาร ตามลำดับ ดังภาพที่ 2 จากตัวอย่างปูดำ (S. transquebarica) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน 3 ไอโซเลท คือ SS01, SG01 และ SE01 พบในกระเพาะอาหาร เหงือก และหัวใจ ตามลำดับ แบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน 7 ไอโซเลท คือ SM01, SM02, SM03, SM04 SG02, SH01 และ SS02 พบในกล้ามเนื้อ กระเพาะอาหาร ตับ และเหงือก ตามลำดับ ดังภาพที่ 3

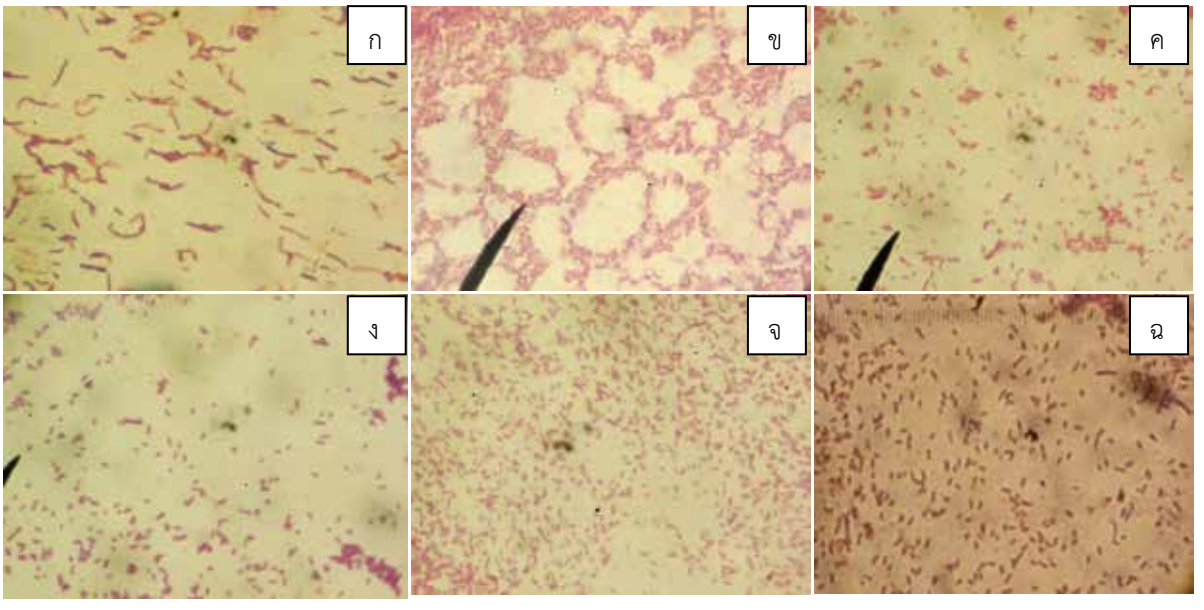
จากตัวอย่างปูลาย (C. feriatus) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อน 2 ไอโซเลท คือ CG01 และ CG02 พบในเหงือก ส่วนแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างกลม 4 ไอโซเลท คือ CM02, CS01, CS02 และ CS03 และแบคทีเรียรูปท่อน 3 ไอโซเลท คือ CM01, CM03 และ CH01 พบในกล้ามเนื้อ และตับ ตามลำดับ ดังภาพที่ 4



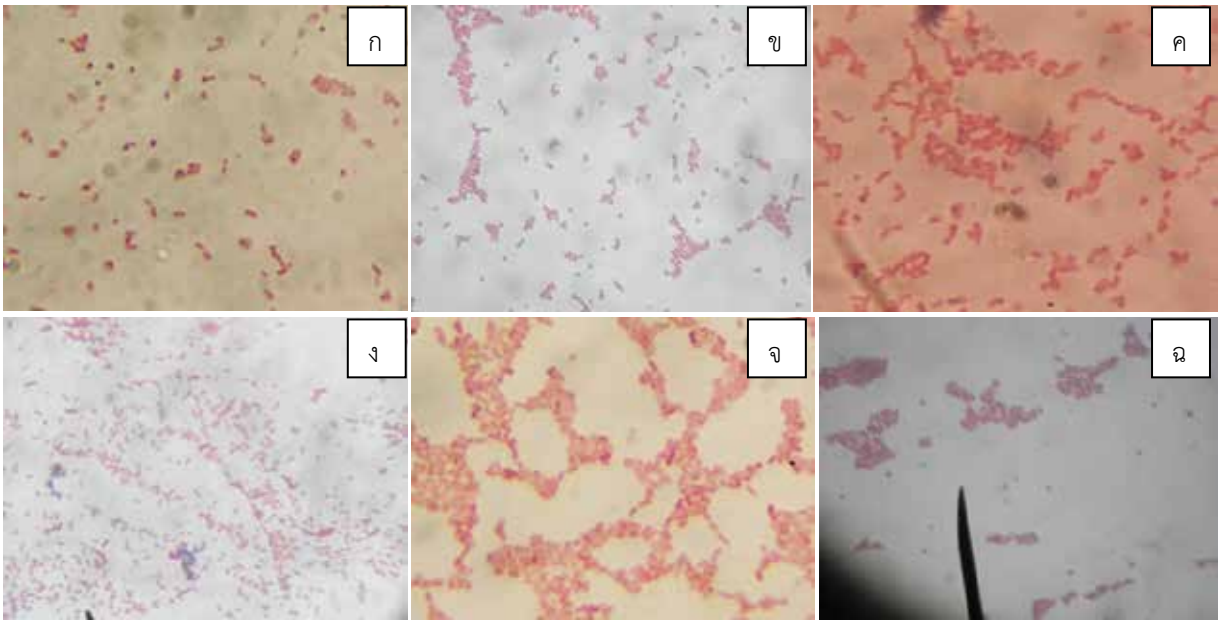
ภาพที่ 1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของปูเศรษฐกิจบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี



ภาพที่ 2 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากปูม้า *P. pelagicus* (กำลังขยาย 1000x)
ก: เชื้อแบคทีเรีย PM01, ข: เชื้อแบคทีเรีย PM02, ค: เชื้อแบคทีเรีย PG01
ง: เชื้อแบคทีเรีย PG02, จ: เชื้อแบคทีเรีย PG03, ฉ: เชื้อแบคทีเรีย PS01



ภาพที่ 3 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากปูดำ *S. transquebarica* (กำลังขยาย 1000x)
ก: เชื้อแบคทีเรีย SM01, ข: เชื้อแบคทีเรีย SM02, ค: เชื้อแบคทีเรีย SM03
ง: เชื้อแบคทีเรีย SS01, จ: เชื้อแบคทีเรีย SH01, ฉ: เชื้อแบคทีเรีย SE01



ภาพที่ 4 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากปูลาย *Charybdis feriatus* (กำลังขยาย 1000x)
ก: เชื้อแบคทีเรีย CM01, ข: เชื้อแบคทีเรีย CM02, ค: เชื้อแบคทีเรีย CM03
ง: เชื้อแบคทีเรีย CG02, จ: เชื้อแบคทีเรีย CH01, ฉ: เชื้อแบคทีเรีย CS01

3. การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

จากการตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่พบในปูม้า (*P. Pelagicus*) โดยจัดจำแนกในระดับสกุล สกุลที่พบมากที่สุด คือ Vibrio spp. พบทุกบริเวณในตัวปู เชื้อแบคทีเรียที่พบรองลงมาลำดับที่สอง คือ Staphylococcus spp. พบในกล้ามเนื้อและหัวใจ เชื้อที่พบรองลงมาลำดับที่สาม คือ Klebsiella spp. พบในหัวใจ, Salmonella spp. พบในตับ และ Pleisomonas spp. พบในเหงือก ตับ และกระเพาะ ตามลำดับ ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแบคทีเรียที่พบในปูม้า P. pelagicus

ไอโซเลท	Oxidase	Motility	Indole	Lysine	MR	VP	Urease	Citrate	TSI	สกุล
PM01	+	+	+	+	+	+	-	+	-	*Vibrio* sp.
PM02	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*Staphylococcus* sp.
PG01	+	+	+	+	-	-	-	-	A/A	*Plesiomonas* sp.
PG02	+	+	+	+	+	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PG03	+	+	+	+	+	+	-	+	-	*Vibrio* sp.
PE01	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*Staphylococcus* sp.
PE02	-	-	-	+	+	-	-	+	A/A+	*Klebseilla* sp.
PH01	-	+	-	+	+	-	-	-	K/A+	*Salmonella* sp.
PH02	+	+	+	+	+	-	-	+	-	*Vibrio* sp.
PH03	+	+	+	+	+	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
PS01	+	+	+	+	+	-	-	+	-	*Vibrio* sp.

หมายเหตุ : (+) = Positive, (-) = Negative

A/A = แบคทีเรียหมักย่อยน้ำตาลได้มากกว่า 1 ชนิด ทำให้เกิดสีเหลืองทั้งหลอด, K/A = แบคทีเรียสามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว หน้าอาหารเป็นสีแดง ก้นหลอดจะเป็นสีเหลือง, A/A+, K/A = มีการเกิดก๊าซ จะเห็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นฟองก๊าซ

สำหรับการตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่พบในปูดำ *(S. Transquebarica)* โดยจัดจำแนกในระดับสกุล สกุลที่พบมากที่สุด คือ Vibrio spp. พบในกล้ามเนื้อ กระเพาะอาหาร ตับ และเหงือก ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรียที่พบรองลงมาลำดับที่สอง คือ Salmonella spp. พบในตับ และหัวใจ ตามลำดับ เชื้อที่พบรองลงมาลำดับที่สาม คือ *Staphylococcus* spp. พบในกระเพาะอาหาร เหงือก ตามลำดับ ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแบคทีเรียที่พบในปูดำ *Scylla transquebarica*

ไอโซเลท	Oxidase	Motility	Indole	Lysine	MR	VP	Urease	Citrate	TSI	สกุล
SMO1	-	+	-	+	+	-	-	-	K/A+	*Salmonella* sp.
SM02	+	+	+	+	+	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
SM03	+	+	+	+	+	+	-	+	-	*Vibrio* sp.
SM04	+	+	+	+	+	+	-	+	-	*Vibrio* sp.
SS01	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*Staphylococcus* sp.
SS02	+	+	+	+	+	-	-	+	-	*Vibrio* sp.
SHO1	-	+	-	+	+	-	-	-	K/A+	*Salmonella* sp.
SG01	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*Staphylococcus* sp.
SG02	+	+	+	+	+	-	-	+	-	*Vibrio* sp.
SE01	-	+	-	+	+	-	-	-	K/A+	*Salmonella* sp.

หมายเหตุ : (+) = Positive, (-) = Negative

K/A = มีการเกิดก๊าซ จะเห็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นฟองก๊าซ

และการตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่พบในปูลาย (*C. feriatus*) โดยจัดจำแนกในระดับสกุล สกุลที่พบมากที่สุด คือ Vibrio spp. พบบริเวณกล้ามเนื้อ ตับ และกระเพาะ เชื้อแบคทีเรียที่พบรองลงมาลำดับที่สอง คือ *Staphylococcus* spp. พบในบริเวณเหงือก เชื้อที่พบรองลงมาลำดับที่สาม คือ *Pleisomonas* spp., Aeromonas spp., *Escherichia* spp. และ *Shigella* spp. พบในกล้ามเนื้อ ตับ และเหงือก ตามลำดับ ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแบคทีเรียที่พบในปูลาย C. feriatus

ไอโซเลท	Oxidase	Motility	Indole	Lysine	MR	VP	Urease	Citrate	TSI	สกุล
CMO1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
CM02	+	+	+	+	-	-	-	-	A/A	*Plesiomonas* sp.
CM03	-	+	+	-	+	-	-	-	A/A	*Aeromonas* sp.
CG01	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*Staphylococcus* sp.
CG02	-	+	+	+	+	-	-	-	A/A+	*Escherichia* sp.
CH01	-	+	+	+	+	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
CS01	+	+	+	+	+	-	-	-	-	*Vibrio* sp.
CS02	-	-	-	-	-	-	+	-	-	*Staphylococcus* sp.
CS03	-	-	+	-	+	-	-	-	K/A-	*Shigella* sp.

หมายเหตุ : (+) = Positive, (-) = Negative

A/A = แบคทีเรียหมักย่อยน้ำตาลได้มากกว่า 1 ชนิด ทำให้เกิดสีเหลืองทั้งหลอด, K/A = แบคทีเรียสามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว หน้าอาหารเป็นสีแดง ก้นหลอดจะเป็นสีเหลือง, A/A+, K/A = มีการเกิดก๊าซ จะเห็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นฟองก๊าซ

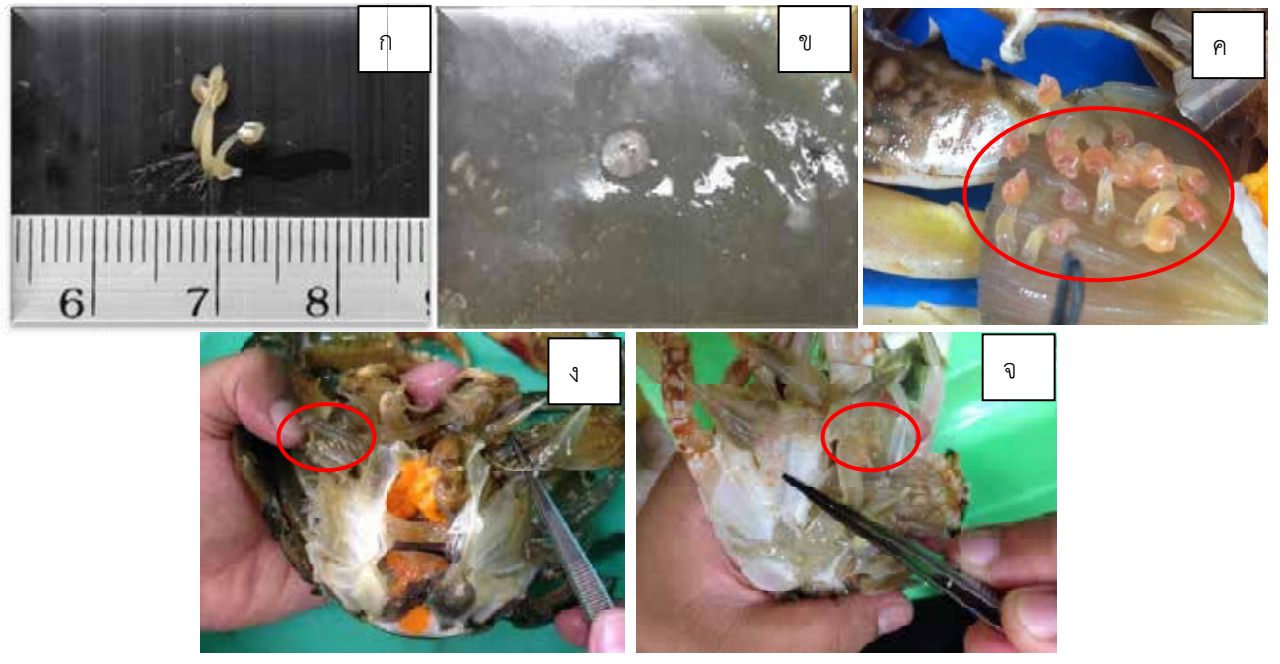
4. ผลการศึกษาเพรียงในปูเศรษฐกิจบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี

4.1 ชนิดของเพรียงที่พบในปูเศรษฐกิจชนิดต่างๆ

การศึกษาปูม้า (*P. pelagicus*) ทั้งหมด 50 ตัว จากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน ได้แก่ เพศผู้ 40 ตัว เพศเมีย 40 ตัว ในเดือนมกราคม, มีนาคม, พฤษภาคม, กรกฎาคม กันยายน ตุลาคม และพฤศจิกายน 2558 มีความกว้างกระดองอยู่ในช่วง 59.57-126.47 มิลลิเมตร ผลการศึกษาพบว่า มีปูม้าที่ถูกเพรียงเข้าอาศัยทั้งหมด 23 ตัว คิดเป็น 28.75% โดยพบในเพศผู้มากกว่าเพศเมีย ซึ่งพบในปูเพศผู้และเพศเมีย ปริมาณ 16.25% และ 12.5% ตามลำดับ เพรียงที่เข้าอยู่อาศัยในปูม้ามีทั้งหมด 2 ชนิด ได้แก่ เพรียงถั่วงอก (Octolasmis sp.) และเพรียงหิน (*Chelonibia* sp.) โดยจากการสังเกตการเข้าอยู่อาศัยตามอวัยวะต่างๆ ของปูม้า พบว่าเพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) มีการเข้าอยู่อาศัยในบริเวณเหงือกและขาเดิน ส่วนเพรียงหิน (*Chelonibia* sp.) พบการปรากฏในบริเวณขาเดิน (walking leg) เท่านั้น

การศึกษาปูดำ (*S. transquebarica*) ทั้งหมด 72 ตัว จากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน ได้แก่ เพศผู้ 36 ตัว เพศเมีย 36 ตัว ในเดือนมกราคม, มีนาคม, พฤษภาคม, กรกฎาคม สิงหาคม และ กันยายน 2558 มีความกว้างกระดองอยู่ในช่วง 53.47-134.13 มิลลิเมตร ผลการศึกษาพบว่า มีปูดำที่ถูกเพรียงเข้าอาศัยทั้งหมด 67 ตัว คิดเป็น 93.06% โดยพบในเพศผู้มากกว่าเพศเมีย (53.73% และ 46.27%) เพรียงที่เข้าอยู่อาศัยในปูดำมีทั้งหมด 2 ชนิด ได้แก่ เพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) และเพรียงหิน (*Chelonibia* sp.) โดยจากการสังเกตการเข้าอยู่อาศัยตามอวัยวะต่างๆ ของปูดำ พบว่า เพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) มีการเข้าอยู่อาศัยในบริเวณเหงือกเพียงบริเวณเดียว ส่วนเพรียงหิน (*Chelonibia* sp.) พบการปรากฏในบริเวณกระดอง (carapace)

การศึกษาปูลาย (*C. feriatus*) ทั้งหมด 36 ตัว จากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน ได้แก่ เพศผู้ 32 ตัว เพศเมีย 30 ตัว ในเดือนมีนาคม, พฤษภาคม, มิถุนายน, กรกฎาคม, สิงหาคม, ตุลาคม, พฤศจิกายน และธันวาคม 2558 มีความกว้างกระดองอยู่ในช่วง 37.52-116.58 มิลลิเมตร ผลการศึกษาพบว่า มีปูลายที่ถูกเพรียงเข้าอาศัยทั้งหมด 32 ตัว คิดเป็น 51.61% โดยพบในเพศผู้น้อยกว่าเพศเมีย (19.35% และ 32.26%) เพรียงที่เข้าอยู่อาศัยในปูลายมีเพียงชนิดเดียวเท่านั้น ได้แก่ เพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) โดยจากการสังเกตการเข้าอยู่อาศัยตามอวัยวะต่าง ๆ ของปูลาย พบว่า เพรียงถั่วงอก (Octolasmis sp.) มีการเข้าอยู่อาศัยในบริเวณเหงือกเพียงบริเวณเดียว ตัวอย่างการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูเศรษฐกิจชนิดต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ตัวอย่างการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูชนิดต่างๆ ก. เพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.), ข. เพรียงหิน (*Chelonibia* sp.) ค. เพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) ที่พบในปูม้า (*P. pelagicus*), ง. เพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) ที่พบในปูดำ (*S. transquebarica*) จ. เพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) ที่พบในปูลาย (*C. feriatus*)

จากผลการศึกษา จะเห็นได้ว่าเพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) มีการเข้าอยู่อาศัยในปูเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิด โดยเฉพาะในบริเวณเหงือก และอาจพบได้ในบริเวณขาเดินของปูม้า ส่วนเพรียงหิน (*Chelonibia* sp.) จะพบในบริเวณขาเดิน และกระดองของปูม้าและปูดำ ตามลำดับ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบการเข้าอยู่ของเพรียงในปูเศรษฐกิจ บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จันทบุรี

ชนิดของปู	ชนิดของเพรียง	บริเวณที่พบ
ปูม้า (*P. pelagicus*)	*Octolasmis* sp.	เหงือก, ขาเดิน
	Chelonibia sp.	ขาเดิน
ปูดำ (*S. transquebarica*)	*Octolasmis* sp.	เหงือก
	Chelonibia sp.	กระดอง
ปูลาย (*C. feriatus*)	เหงือก	เหงือก

4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูเศรษฐกิจ

ผลการศึกษาพบว่า เพศ ขนาด และฤดูกาล ไม่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยในปูม้าและปูดำ ($P>0.05$) แต่สำหรับปูลาย (*C. feriatus*) พบว่า ฤดูกาลมีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอก ($P<0.05$) ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูเศรษฐกิจ บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จันทบุรี ด้วยสถิติทดสอบ One-Way ANAOVA

ชนิดปู	เพศ		ขนาด		ฤดูกาล	
	F	Sig	F	Sig	F	Sig
ปูม้า (*P. pelagicus*)	0.514	0.476	1.762	0.188	2.858	0.095
ปูดำ (*S. tranquebarica*)	1.933	0.169	0.938	0.336	0.659	0.420
ปูลาย (*C. feriatus*)	0.213	0.646	0.972	0.328	47.393	0.000*

หมายเหตุ * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

1. การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากปูเศรษฐกิจ

จากผลการศึกษาการตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนตรงและท่อนโค้ง เมื่อทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่พบในปูม้า (*P. pelagicus*) โดยจัดจำแนกในระดับสกุล พบทั้งหมด 5 สกุล จากเชื้อ 17 ไอโซเลต สกุลที่พบมากที่สุด คือ Vibrio spp. เชื้อแบคทีเรียที่พบรองลงมาลำดับที่สอง คือ *Staphylococcus* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม เชื้อที่พบรองลงมาลำดับที่สาม คือ Klebsiella spp., Salmonella spp. และ Pleisomonas spp. สำหรับการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างปูดำ *(Scylla transquebarica*) จากอวัยวะภายใน 5 ตำแหน่ง ได้แก่ บริเวณ กล้ามเนื้อ เหงือก หัวใจ ตับ และกระเพาะอาหาร

ผลการศึกษาการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากปูเศรษฐกิจ 3 ชนิด ได้แก่ ปูม้า *(P. pelagicus*) ปูดำ (*S. transquebarica*) และปูลาย (*C. feriatus*) พบการติดเชื้อแบคทีเรียในเกือบทุกอวัยวะ ยกเว้นในปูลาย (*C. feriatus*) ที่บริเวณหัวใจจะไม่พบการติดเชื้อแบคทีเรียเลย โดยในปูม้า พบเชื้อในบริเวณเหงือกมากที่สุด ส่วนปูดำพบการติดเชื้อแบคทีเรียในบริเวณตับมากที่สุด และปูลายพบการติดเชื้อแบคทีเรียในบริเวณกระเพาะอาหารมากที่สุด ในงานวิจัยนี้ได้มีการเลือกบริเวณตำแหน่งของอวัยวะต่างๆ เช่น กล้ามเนื้อ ตับ และเหงือก ซึ่งเป็นที่นิยมในการนำมาบริโภคและนำไปเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปมากที่สุด ในการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อแบคทีเรียของปูม้าในบริเวณเหงือกนั้น โดยเชื้อแบคทีเรียที่เข้าอยู่อาศัยในปูม้ามากที่สุด คือ เชื้อแบคทีเรีย ชนิด Vibrio spp. ซึ่งพบว่า สอดคล้องกับการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ของ Talpur et al. (2011) ซึ่งทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียของปูม้า จากบริเวณสถานที่เพาะเลี้ยง รัฐตรังกานู ประเทศมาเลเซีย ผลการศึกษาพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้เป็นสกุล *Vibrio* spp. เช่นเดียวกัน และการศึกษาของ เพ็ญโพยม หนองอ้อ (2556) ที่ได้มีการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากเหงือก กล้ามเนื้อ และหัวใจของปูม้า ในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบนเช่นเดียวกัน แต่ในการศึกษาครั้งนี้ในได้สุ่มตรวจตัวอย่างที่คลอบคลุมระยะและวัยของปูม้าทุกระยะ คือ ทั้งวัยอ่อนและตัวเต็มวัย ผลการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. มากที่สุดในบริเวณเหงือก สำหรับการศึกษาการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในปูที่มีลักษณะคล้ายกับปูม้ามาก เช่น ปูฟ้า *Callinectes sapidus* บริเวณคลองสุเอซ ประเทศอียิปต์ โดยทำการคัดแยกมาจากกระดอง ตับ เลือด เหงือก และกล้ามเนื้อ ผลการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียชนิด *Aeromonas hydrophila* (29 ไอโซเลท), *Vibrio alginolyticus* (192 ไอโซเลท), *Vibrio haemolyticus* (96 ไอโซเลท) และ *Pseudomonas fluorescens* (3 ไอโซเลท) โดยพบการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียในบริเวณกระดองมากที่สุด รองลงมาคือที่เหงือก เลือด ตับ และพบน้อยที่สุดในกล้ามเนื้อ (Enany et al., 2012) *Vibrio* spp. เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นประจำในสัตว์ทะเลกลุ่มครัสเตเชียน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มกุ้ง กั้ง ปู (Davis and Sizenmore, 1982)

สำหรับการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากปูดำ (*S. transquebarica*) ผลการศึกษาพบการแพร่กระจายในบริเวณตับมากที่สุด และพบเชื้อ *Vibrio* spp. มากที่สุดเช่นเดียวกับปูม้า โดยจากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า มีความสอดคล้องกับการศึกษาของจีรนันท์ อินทนาคม และจินตนา สและน้อย (2553) ที่ได้ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากตับ หัวใจ กล้ามเนื้อ เหงือก และเลือดของปูดำ บริเวณจังหวัดสมุทรสงคราม และจันทบุรี โดยใช้คุณสมบัติทางสรีรวิทยา และคุณสมบัติทางชีวเคมี ผลการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียชนิด *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus* และ *Shewanella putrefaciens* และพบว่า มีความคล้ายคลึงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มีการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากกระดอง กล้ามเนื้อ เหงือกและกระเพาะอาหารของปูดำชนิด *Scylla*

serrata บริเวณชายฝั่งชาโกเรีย ประเทศบังกลาเทศ ที่พบการแพร่กระจายของ เชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* sp. มากที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิด *V. harveyi* โดยพบมากในบริเวณกระเพาะอาหาร เหงือก กล้ามเนื้อและกระดองตามลำดับ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากปูดำ ชนิด *S. serrata* ที่มีอาการท้องแดงในฟาร์มเลี้ยงปู และมีลักษณะภายนอกค่อนข้างคล้ายคลึงกับ *S. transquebarica* ผลการศึกษาพบว่าอวัยวะที่พบการติดเชื้อแบคทีเรียจำนวนมากเรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ เหงือก ตับ หัวใจ กระเพาะอาหาร กล้ามเนื้อ และก้ามปู ซึ่งเชื้อแบคทีเรียอาจเข้าไปภายในร่างกายปู โดยผ่านจากเหงือกแล้วเข้าสู่กระแสเลือด และเดินทางไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย เนื่องจากลักษณะของปูดำที่มีขนาดใหญ่กว่าปูม้ามาก ซึ่งรวมถึงพื้นที่ตับของปูดำซึ่งมีพื้นที่กว้างกว่าปูม้าด้วย (*hepatopancrease*) (บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2542)

และการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากปูลาย (*C. feriatus*) ผลการศึกษาพบการแพร่กระจายในบริเวณกระเพาะอาหารมากที่สุด และพบเชื้อ *Vibrio spp.* มากที่สุดเช่นเดียวกับปูม้า และปูทะเล การศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียจากปูลายนี้ นับเป็นการรายงานผลครั้งแรกในประเทศไทย โดยพบว่าส่วนใหญ่จากการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ จะเป็นปูเศรษฐกิจชนิดต่างๆ เช่น ปูม้า ปูทะเล ปูฟ้า เป็นต้น ไม่เคยมีการรายงานผลในปูชนิดนี้แต่อย่างใด อย่างไรก็ตามจากรายงานวิจัยก่อนหน้า พบว่า มีการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย 16 ชนิด จากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของปูลาย (C. feriatus) ที่มีการเก็บรักษาในน้ำแข็ง จากประเทศอินเดีย (Rajendran et al., 2008) และพบว่า มีการศึกษาในปูหินก้ามสัน หรือ *C. natator* ในบริเวณอ่าวเบงกอล ประเทศอินเดีย ซึ่งเป็นปูสกุลเดียวกันกับปูลาย ผลการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 40 ชนิด โดยพบเป็นจำนวนมากในช่องทางเดินอาหาร (Alimentary canal) และบริเวณกระดอง (Carapace)

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากปูเศรษฐกิจ 3 ชนิด ได้แก่ ปูม้า (*P. pelagicus*) ปูดำ (*S. transquebarica*) และปูลาย (*C. feriatus*) ในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ผลการศึกษาพบแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. มากที่สุด เนื่องจากเชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal flora) ที่สามารถพบได้เสมอในสัตว์ทะเล โดยเฉพาะในกลุ่มครัสเตเชียน (Davis and Sizenmore, 1982) นอกจากนี้การตรวจพบเชื้อแบคทีเรียสกุลอื่นๆ เช่น *Staphylococcus sp., Escherichia sp., Pseudomonas sp.* และ *Salmonella sp.* น่าจะเป็นเพราะปัจจัยที่เกิดมาจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การย่อยสลายอาหาร และการปนเปื้อนของของเสียในสภาพแวดล้อม (Kannathasan and Rajendran, 2010) ตลอดจนสภาวะโลกร้อนที่ส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงปู และปูในธรรมชาติ เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น ทำให้จุลินทรีย์ต่างๆ ซึ่งรวมทั้งแบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดี (Harvell et al., 1999) ในปัจจุบันความต้องการบริโภคปูในจังหวัดจันทบุรี และประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากจันทบุรีเป็นเมืองท่องเที่ยว และศูนย์กลางของการค้าชายแดนในภาคตะวันออก มีนักท่องเที่ยวเข้ามาในจังหวัดเป็นจำนวนมาก จึงมีอัตราการบริโภคอาหารทะเล รวมทั้งปูน้ำเค็มเพิ่มขึ้นมาก ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต่างๆ จึงควรออกนโยบายเกี่ยวกับการซื้อขายอาหารทะเลที่มีคุณภาพ สะอาด และมีความปลอดภัย ตลอดจนนโยบายการจัดการทำประมงปูอย่างยั่งยืน เช่น การลดการใช้ประโยชน์ปูไข่นอกกระดอง ปูที่มีขนาดเล็ก และกำหนดขนาดตาของเครื่องมือให้มีขนาดที่เหมาะสม เป็นต้น เพื่อเป็นการเพิ่มประชากรปูให้เข้าสู่ข่ายการทำประมงในธรรมชาติ

2. การคัดแยกเพรียงจากปูเศรษฐกิจ และปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียง

การศึกษาการคัดแยกเพรียงจากปูม้า (*P. pelagicus*) ปูดำ (*S. transquebarica*) และปูลาย (*C. feriatus*) ผลการศึกษาพบเพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) ในปูทุกชนิด โดยพบในบริเวณเหงือก ส่วนปูม้าพบในบริเวณกระดองด้วย สำหรับเพรียงหิน (*Chelonibia* sp.) พบในปูม้าและในปูดำ โดยในปูม้าพบในบริเวณขาเดิน ส่วนปูดำ พบบริเวณกระดอง และปูลายไม่พบการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงหิน ดังตารางที่ 5.1 ส่วนการทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูม้า (P. pelagicus) และปูดำ (*S. transquebarica*) ผลการศึกษาพบว่า เพศ ขนาด และฤดูกาล ไม่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยในปูม้าและปูดำ ($P>0.05$) แต่สำหรับปูลาย (*C. feriatus*) พบว่า ฤดูกาลมีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอก ($P<0.05$) ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า มีความคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Gaddes และ Sumpton (2004) ที่ทำการศึกษาชนิดของเพรียงที่พบในปูม้า P. pelagicus บริเวณอ่าว Morton ประเทศออสเตรเลีย โดยพบเพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) เช่นเดียวกัน แต่พบในบริเวณเหงือก และกระดอง และคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Alsaqabi และคณะ (2010) ที่ศึกษาชนิดของเพรียงที่พบในปูม้า (*P. pelagicus*) ประเทศซาอุดิอาระเบีย พบว่า เป็นสกุล *Octolasmis* sp. เช่นเดียวกัน แต่เพรียงหินเป็นชนิด *Balanus* sp. โดยพบการเข้าอยู่อาศัยที่บริเวณทางเดินอาหาร และเหงือก รายงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า ปูม้ามีการเข้าอยู่อาศัยของเพรียง 3 ชนิด ได้แก่ เพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) เพรียงหิน (*Balanus* sp.) และเพรียงอ่อน (*Sacculina* sp.) โดยพบในปูเพศเมียมากกว่าเพศผู้ทั้งในส่วนของความหลากชนิดและความชุกชุม (Shield, 1992)

สำหรับปูดำ *S. transquebarica* ผลการศึกษาพบว่ามีการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอก *Octolasmis* sp. ในบริเวณเหงือก ถึง 93% และพบเพรียงหิน *Chelonibia* sp. บริเวณกระดอง โดยพบว่ามีความคล้ายคลึงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Mushtaq

และ Mustaquim (2009) ที่ทำการศึกษาการปรากฏและการกระจายของเพรียงในปูดำ (S. transquebarica) ผลการศึกษาพบการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอก *Octolasmis* sp. ถึง 85% โดยพบในบริเวณเหงือกเช่นเดียวกัน นอกจากนี้การศึกษานี้ยังมีการจัดจำแนกชนิดของเพรียงถั่วงอกออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ *O. cor* และ *O. angulata* สำหรับการศึกษาชนิดของเพรียงในปูดำชนิดอื่นๆ เช่น Scylla olivacea และชนิด *S. serrata* มีดังนี้ การศึกษาการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูดำ ชนิด *S. olivacea* จากฟาร์มปู ในอำเภอกันตัง จังหวัดตรัง พบว่า มีการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอก *Octolasmis* sp. ถึง 97% จากตัวอย่างที่เก็บมา โดยพบการเข้าอยู่อาศัยในเพศเมียมากกว่าเพศผู้ ($P<0.05$) โดยพิจารณาจากความหนาแน่นบริเวณเหงือก โดยมีค่า 125 : 47 การศึกษาการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงในปูดำ ชนิด *S. serrata* พบการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) บริเวณเหงือกเช่นเดียวกัน และพบ 2 ชนิดเช่นเดียวกันกับ *S. transquebarica* คือ *O. cor* และ *O. angulata* (Voris et al.,1994) สำหรับการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงหิน จากการศึกษาของ Jithendran และคณะ (2010) พบในบริเวณกระดองเช่นเดียวกัน ซึ่งรวมทั้งก้ามหนีบด้วย นอกจากนี้ยังพบเพรียงอ่อน (*Sacculina* sp.) ในการเข้าอยู่อาศัยด้วย โดยพบในบริเวณจับปิ้ง ซึ่งอาจจะนำไปสู่การตายของปูได้ เพราะทำให้กระดองถูกกัดกร่อนจนนำไปสู่การเข้าโจมตีโดยเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้

สำหรับการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอก (*Octolasmis* sp.) ในปูลาย (*C. feriaus*) พบในบริเวณเหงือกเพียงบริเวณเดียว และไม่พบการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงหิน (*Chelonibia* sp.) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ (Jeffries et al., 1982) ที่พบว่าปูในวงศ์ขาว่ายน้ำ (Portunidae) ซึ่งรวมทั้งปูลาย ซึ่งมีการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอกค่อนข้างหนาแน่นในบริเวณเหงือก โดยพบการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงถั่วงอกในช่วงฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า ปูที่อาศัยอยู่ในน้ำทะเลที่มีความเค็มสูงสามารถที่จะดึงดูดการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงมากกว่า โดยปริมาณน้ำฝนมีผลโดยอ้อมทำให้ความเค็มต่ำและทำให้เกิดผลต่อพฤติกรรมการกิน การสืบพันธุ์ กระบวนการเมตาบอลิซึม กิจกรรมอื่นๆ ซึ่งรวมไปถึงการลอกคราบของเพรียงถั่วงอกด้วย ซึ่งเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นในวัฏจักรชีวิตของครัสเตเชียนนั่นเอง (Key et al., 1997)

อย่างไรก็ตามแม้จะไม่มีเอกสารหรืองานวิจัยชี้บ่งว่าการมีเพรียงเข้าอยู่อาศัยนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้ปูเกิดโรค หรือปูตายอย่างชัดเจน แต่เนื่องด้วยประชากรของเพรียงจำนวนมากที่อาศัยอยู่ในตัวปูนี้อาจจะทำให้ผลผลิตของปูในฟาร์มเลี้ยงต่ำ และเป็นผลทำให้ปูอ่อนแอ ซึ่งนำไปสู่การติดเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้ อย่างไรก็ตามก็มีงานวิจัยบางส่วนได้รายงานผลกระทบจากการเข้าอยู่อาศัยของเพรียงชนิดต่างๆ ในตัวปู ดังนี้ บรรจง เทียนส่งรัศมี (2542) รายงานว่าเพรียงถั่วงอกจะมีการสร้างสารเหนียวขึ้นเพื่อการยึดเกาะกับเหงือกของปู ทำให้ปูไม่สามารถดึงเอาแร่ธาตุไปใช้ในการสร้างคราบใหม่ในระยะการลอกคราบได้ ส่วนเพรียงหินทำให้กระดองของปูเกิดการเสียหาย จนก่อให้เกิดการติดเชื้อในบริเวณกระดองได้ ตลอดจนถ้ามีการลงเกาะของตัวอ่อนบริเวณกระดอง จะทำให้ปูไม่ลอกคราบในระยะต่อมา ส่วนเพรียงอ่อนจะมีการลงเกาะบริเวณจับปิ้งของปู และมีการหยั่งรากแขนงลงไปในเนื้อเยื่อของปู มีการแย่งอาหาร และพลังงาน รวมไปถึงการเข้าควบคุมการทำงานของระบบประสาท ทำให้มีผลต่อระบบฮอร์โมน เช่น ฮอร์โมนที่ควบคุมการลอกคราบ ฮอร์โมนที่ควบคุมการวางไข่ ผลที่เกิดกับปู คือ ปูจะไม่ลอกคราบ ถ้าเป็นปูเพศเมีย จะทำให้รังไข่ฝ่อและเป็นหมัน โดยที่กล่าวมาจัดว่าเป็นผลกระทบของเพรียงที่มีต่อสรีรวิทยาการดำรงชีวิตของปูเกือบทั้งสิ้น โดยในปัจจุบันจากรายงานการศึกษาเรื่องระบบการทำประมงปูม้า บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน ซึ่งเป็นการรวบรวมข้อมูลการทำประมงปูม้าตั้งแต่ต้นน้ำถึงปลายน้ำ ตลอดจนการบูรณาการองค์ความรู้ในเรื่องของสังคมและเศรษฐกิจฐานรากของชุมชน บริเวณอ่าวคุ้งกระเบนเข้ามา ดังนั้นการศึกษาการเข้าอยู่อาศัยของเพรียง จึงไม่ใช่เป็นประโยชน์เฉพาะผู้ที่ประกอบอาชีพเพาะเลี้ยงปูขายเท่านั้น ยังเป็นประโยชน์ต่อบุคคลโดยทั่วไปที่มีการบริโภคปูเศรษฐกิจชนิดต่างๆ อีกด้วย นอกจากนี้ในการจัดการทรัพยากรปูอย่างยั่งยืนในอนาคต จำเป็นที่จะต้องใช้องค์ความรู้จากบุคคลหลายฝ่ายให้เข้ามามีส่วนร่วมร่วมกัน เพื่อเปิดมุมมอง และเพื่อหาแนวทางในการที่จะเพิ่มทรัพยากรปูให้มีไว้ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนต่อไป ทั้งในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี และพื้นที่ชายฝั่งของประเทศไทย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัยจากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ประจำปีงบประมาณ 2557 และทุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ปีงบประมาณ 2558

เอกสารอ้างอิง

จีรนันท์ อินทนาคม และ จินตรา สและน้อย. (2553). ลักษณะที่ผิดปกติ และชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในปูทะเลที่มีอาการอก-ท้องแดง. **แก่นเกษตร,** 38: 361-372.

ชุติมากรณ์ ชำนาญชล, เปรมใจ คำจันทร์ และวาสนา เพชรเรือง. (2557). **ระบบการทำประมงปูม้าเพื่อการจัดการที่ยั่งยืน บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี.** ครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี.

บรรจง เทียนส่งรัศมี และบุญรัตน์ ประทุมชาติ. (2542). **สถานการณ์ทรัพยากรปูทะเลของไทยในปัจจุบัน.** ในการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37 กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เพ็ญโพยม หนองอ้อ. (2556). **การคัดแยกแบคทีเรีย และเพรียงจากปูม้า บริเวณอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี.** ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต เอกชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จันทบุรี.

สมาคมอาหารแช่เยือกแข็งไทย. (2557). **ผลผลิตปูม้าที่มีการส่งออกตั้งแต่ปี 2543-2554.** http://www.thai-frozen.or.th/csr_tffa_04.php เข้าถึงเมื่อ 15 กุมภาพันธ์ 2557.

Alsaqabi, S. M. ; Eshky, A. A. ; Albelali, A. S. (2010). Parasitic Infections in The blue crab swimmer Portunus pelagicus (Linneaus, 1758), (*Arthropoda : Crustacea*) found in the Arabian Gulf, Kingdom of Saudi Arabia. **Arab Gulf Journal of Scientific Research,** 28 : 185-196.

Davis, J.W. and Sizenmore, R.K. (1982). Incidence of Vibrio species associated with blue crab (*Callinectes sapidus*) collected from Galveston Bay, Texas. Applied Environmental Microbiology, 43 : 1092-1097.

Enany, M.E., Abou El-Atta, M.E. and El. Tantawy, M.M. (2012). Incidence of some bacterial pathogens in summer season from shell diseased crab in the Suez Canal region. **Egyptian Journal for Aquaculture,** 2(2) : 51-61.

Food and Agriculture Organization of the United Nation. (2013). Access. http://www.fao.org/home/en/. 15th February 2014.

Gaddes, S.W. and Sumpton, W.D. (2004). Distribution of barnacle epizoites of the crab Portunus pelagicus in the Moreton Bay region, eastern Australia. **Marine and Freshwater Research,** 55 : 241-248.

Harvell, C.D., Kim, K., Burkholder, J.M., Colwell, R.R., Epstein, P.R., Grimes, D.J., Hofmann, E.E., Lipp, E.K., Osterhaus, A.D.M.E., Overstreet, R.M., Porter, J.W., Smith, G.W. and Vasta, G.R. (1999). Emerging marine Diseases-climate links and anthropogenic factors. **Sciences,** 285 : 1505-1510.

Holt, J.G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. (1994). **Bergey's manual of determinative bacteriology.** Maryland : Lippincott Williams & Wilkins.

Jeffries, W.B., Voris, H.K. and Yang, C.M. (1982). Diversity and distribution of the pedunculate barnacle Octolasmis in the seas adjacent to Singapore. **Journal of Crustacean Biology,** 2 : 562-569.

Jithendran, K.P., Poornima, M., Balasubramanian, C.P. and Kulasekarapandian, S. (2010). Diseases of mud crabs (*Scylla* spp.): an overview. **Indian Journal of Fish,** 57(3):55-63.

Kannathasan, A. and Rajendran, K. (2010). Isolation of microbes from various tissues of marine crab Charybdis natator (Herbst, 1789) (Brachyura : Portunidae). **International Journal of Recent Scientific Research,** 7 : 172-176.

Key, M.M., Volpe, J.W. Jr., Jeffries, W. and Voris, H.K. (1997). Barnacle fouling of the blue crab Callinectes sapidus at Beaufort, Northern Carolina. **Journal of Crustacean Biology,** 17: 424-439.

Lerssutthichawal, T. and Penprapai, N. (2013). Seasonal distribution and host-parasite interaction of pedunculate barnacle, Octolasmis spp. on orange mud crab, Scylla olivacea. **Walailak Journal of Science and Technology,** 10(2) : 113-119.

Meyers, T.R., Koeneman, T. M., Botelho, C., and Short, S. (1987). Bitter crab disease: a fatal dinoflagellate infection and marketing problem for Alaskan Tanner **crabs Chionoecetes bairdi.** Disease Aquatic Organism, 3 : 195-216.

Mushtaq, S. and Mustaquim, J. (2009). The occurrence and distribution of stalked barnacles of the genus Octolasmis on the gill of mud or mangrove crab, genus **Scylla. Crustaceana,** 82(1) : 53-61.

Rajendran, K., Kavitha, P., and Anbalagan, T. (2008). Isolation of fungi and bacteria from variation tissues of ice store marine crab Charybdis feriata (Decapoda : Portunidae). **Journal of Aquatic Biology,** 23(1) : 181-184.

Shields, J.D. (1992). Parasites and symbions of the crab Portunus pelagicus from Mortan Bay, eastern Australia. **Journal of Crustacean Biology,** 12(1) : 94-100.

Sizemore, R. K., Colwel, R. R., Thbiash l, H. S. and Lovelace, T. E. (1975). Bacterial flora of the hemolymph of the blue crab, Callinectes sapidus: most probable numbers, **Applied Microbiology,** 29 : 393-399.

Talpur, A.D., Memon, A.J., Khan, M.I., Ikhwanuddin, M., Danish Daniel, M.M. and Abol-Munafi, A.B. (2011). A novel of gut pathogenic bacteria of blue swimming crab Portunus pelagicus (Linnaeus, 1758) and pathogenicity of Vibrio harveyi a transmission agent in larval culture under hatchery conditions. **Research Journal of Applied Sciences,** 6(2); 116-127.