Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

ลักษณะปูทะเลที่มีอาการผิดปกติในเขตจังหวัดสมุทรสงครามและจันทบุรี

Morphological of the abnormal mud crab found in samut songkhram and chanthaburi provinces

จีรนันท์ อินทนาคม,[1,2*] และ จินตนา สแลน้อย [3]

Jeeranan Intanakom, and Jintana Salaenoi

บทคัดย่อ: การศึกษาลักษณะปูทะเลในเขตจังหวัดสมุทรสงครามและจันทบุรี ช่วงเดือนตุลาคม 2551 ถึง กุมภาพันธ์ 2552 พบปูทะเลที่มีลักษณะผิดปกติคือ บริเวณท้อง ~~รยางค์ขา~~ และก้ามมีสีน้ำตาลและสีแดง กล้ามเนื้อลำตัวมีสีขาวขุ่นอมชมพู มองเห็นเส้นการเรียงตัวของกล้ามเนื้ออย่างชัดเจน เลือดมีสีแตกต่างกันซึ่งจัดแบ่งปูทะเลที่มีอาการดังกล่าวออกเป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 เลือดใส กลุ่ม 2 เลือดสีส้มใส กลุ่ม 3 เลือดสีส้มคล้ายสีชาดำเย็น กลุ่ม 4 เลือดสีส้มคล้ายสีชาเย็น และกลุ่ม 5 เลือดสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม โดยกลุ่มที่ 4 และ 5 เป็นกลุ่มที่มีอาการรุนแรงที่สุด เนื่องจากเลือดไม่แข็งตัว อวัยวะภายในไม่คงรูป ตับมีสีเหลืองซีด เหงือกบวมพองและนิ่มกว่าปูปกติ กล้ามเนื้อโพรก การตอบสนองช้า และปูจะตายลงภายในเวลาอันรวดเร็ว เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียจากปูทะเลที่มีอาการท้องแดง พบเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Shewanella putrefaciens* (**คำสำคัญ** : ปูทะเล อาการท้องแดง เชื้อแบคทีเรีย)

ABSTRACT: External morphology of abnormal mud crabs collected from Samut Songkhram and Chanthaburi Provinces during October 2008 to February 2009 were observed. It was found that the infected crabs had brown to red abdominal thorax, chela, joints and claws and the fibrous muscle were clearly white. Haemolymph of those crabs were classified the severity of the syndrome into five groups; transparent (group I), transparency orange (group II), translucent brown (group III), cloudy orange (group IV) and opaque white (group V). Crabs in group IV and V got unclotted substances which were dispersed in organelles resulted to die very fast. The bacterial identification of infected mud crab present 3 species: *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Shewanella putrefaciens*

Key words : red sternum, mud crab, bacteria

---

[1]ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[2]ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงาน คณะกรรมการการอุดมศึกษา

[1] Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Sean Campus, Nakhon Pathom 73140

[2] Center for Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Thailand

[3] ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[3] Department of Marine Science, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding Author: Jeeranan_99@hotmail.com

Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

บทนำ

ปูทะเลเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง รสชาติดี และมีราคาสูง จึงทำให้ปูทะเลเป็นที่นิยมบริโภคทั้งภายในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ โดยมีการแปรรูปเป็นปูกระป๋องและปูปรุงแต่ง ปริมาณการส่งออกปูในช่วงปี 2548 - 2550 เท่ากับ 8,749.44, 7,824.99 และ 12,584.89 ตัน คิดเป็นมูลค่า 4,164.77, 3,351.43 และ 3,725.00 ล้านบาท ตามลำดับ (กรมประมง, 2551) เมื่อความต้องการบริโภคปูทะเลเพิ่มสูงขึ้น ย่อมส่งผลทำให้ปูทะเลที่จับจากธรรมชาติมีปริมาณลดน้อยลง ดังนั้นจึงต้องมีการเพาะเลี้ยงปูทะเลเพิ่มมากขึ้น ปัญหาสำคัญที่มักพบในฟาร์มที่มีการเพาะเลี้ยงปูทะเล ได้แก่ การขาดแคลนพันธุ์ปูทะเล จนต้องมีการนำเข้าพันธุ์ปูจากต่างประเทศ เช่น สหภาพพม่า บังคลาเทศ ปากีสถาน เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบปัญหาการเกิดโรคในฟาร์มเลี้ยง จากรายงานพบว่ามีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย (Davis and Sizenmore, 1982; Haryanti et al., 2003) เชื้อรา (Boeger et al., 2005) ไวรัส (Weng et al., 2007) และพาราไซต์ (Meyers et al., 1987; Field and Appleton, 1995) จึงทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปูประสบกับความเสียหายในเชิงธุรกิจ และจากการรายงานของ Salaenoi et al. (2006) พบปูทะเลที่มีลักษณะผิดปกติ คือมีสีแดงบริเวณอก ท้อง ข้อต่อ และก้าม กระดองไม่แข็งเหมือนปูปกติ กล้ามเนื้อหลวมโพรก ตับและเหงือกมีสีซีด ส่วนเลือดมีสีขาวขุ่นและไม่แข็งตัว หลังจากนั้นปูจะตายลงในเวลาอันรวดเร็ว ดังนั้นจึงทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปูต้องประสบกับความขาดทุน

เนื่องจากอาการท้องแดงในปูทะเลก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากต่อเกษตรกร รวมทั้งข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับอาการท้องแดงในปูทะเลยังมีค่อนข้างน้อย จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม การวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาความแตกต่างของลักษณะภายนอกของปูที่มีอาการท้องแดงและปูปกติ รวมทั้งศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่พบในปูทะเลดังกล่าว เพื่อจะเป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปสู่การวินิจฉัยและหาวิธีป้องกันโรคที่จะเกิดในฟาร์มเลี้ยงปูของเกษตรกรได้ต่อไป

Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

วิธีการศึกษา

1. การศึกษาลักษณะภายนอกและภายในของปูทะเลที่มีอาการท้องแดง

เก็บตัวอย่างปูทะเลสภาพปกติและปูทะเลที่มีอาการท้องแดงจากฟาร์มปูในจังหวัดสมุทรสงคราม และจันทบุรี สังเกตลักษณะภายนอกของตัวปู ได้แก่ สีของกระดอง รยางค์ขาเดิน และสังเกตพฤติกรรมเมื่อปูถูกกระตุ้นด้วยสิ่งเร้า ก่อนเก็บอวัยวะภายในให้นำปูแช่ในน้ำที่เย็นจัดเป็นเวลาประมาณ 1 นาทีเพื่อให้ปูสลบ แล้วซับตัวปูให้แห้งด้วยผ้าที่สะอาด ชั่งน้ำหนัก วัดขนาด และทำความสะอาดบริเวณขาเดินคู่ที่ 4 และ 5 ด้วย 70% ethanol แล้วใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 21 ซึ่งทำให้ชุ่มด้วย 10% trisodium citrate (เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด) เจาะเลือด (haemolymph) ปูบริเวณขาเดินคู่ที่ 4 และ 5 (Salaenoi et al., 2006) แล้วนำตัวอย่างเลือดเก็บในหลอดทดลอง จากนั้นเปิดกระดองปูออกเพื่อศึกษาอวัยวะภายในได้แก่ ความคงรูปของเหงือก (gill) ตับ (hepatopancreas) กล้ามเนื้อ (muscle) และเนื้อเยื่อใต้กระดอง (integument) รวมทั้งระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือด

2. การตรวจสอบชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่พบในปูทะเลที่มีอาการท้องแดง

ตัวอย่างปูทะเลสภาพปกติและปูทะเลที่มีอาการท้องแดงถูกนำมาเขี่ยเชื้อจากอวัยวะที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ตับ เหงือก หัวใจ กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อใต้กระดอง และเลือดด้วยวิธีการปลอดเชื้อ (aseptic technique) ลงบนอาหาร TSA (Triptic Soy Agar) ที่เติม 1.5% NaCl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เลือกเก็บเฉพาะโคโลนีเดี่ยว ๆ และมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันก่อนถ่ายเชื้อลงบน TSA พร้อมทั้งเขียนรหัสเชื้อกำกับไว้ เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปูทะเลปกติและปูทะเลที่มีอาการท้องแดงจะถูกจำแนกโดยคุณสมบัติทางสรีรวิทยา ได้แก่ ลักษณะของโคโลนี การย้อมแกรม การเจริญบนอาหารที่เฉพาะเจาะจง เป็นต้น และสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ ตรวจสอบโดยใช้ชุดทดสอบ API 20E

Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ลักษณะภายนอกและภายในของปูทะเลที่มีอาการท้องแดง

จากการสำรวจฟาร์มเลี้ยงปูทะเลในอำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี และอำเภอคลองโคน จังหวัดสมุทรสงคราม ช่วงเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2552 พบปูทะเลที่มีลักษณะแตกต่างจากปูปกติอย่างชัดเจน คือบริเวณอก ท้อง ข้อต่อ และรยางค์ขาเดินของปู มีสีแดงและสีเหลืองปนน้ำตาล อวัยวะภายในมีลักษณะไม่คงรูป เนื้อโพรกลักษณะของกล้ามเนื้อลำตัวและกล้ามเนื้อก้ามมีสีขาวขุ่นจนถึงสีชมพูอ่อน โดยปูที่มีอาการรุนแรงขาและก้ามไม่สามารถเคลื่อนไหวได้และตายลงอย่างรวดเร็ว เลือดมีสีตั้งแต่ใสจนถึงสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ตามระดับความรุนแรงของความโรค คือ กลุ่ม I เลือดใส กลุ่ม II เลือดสีส้มใส กลุ่ม III เลือดสีส้มคล้ายสีชาดำเย็น กลุ่ม IV เลือดสีส้มคล้ายสีชาเย็น และกลุ่ม V เลือดสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม ซึ่งมีรายละเอียด (Figure 1-6) ดังนี้

1. ปูทะเลที่มีอาการท้องแดงกลุ่ม I เลือดใสจนถึงสีฟ้าอ่อน บริเวณท้องทั้งหมดมีสีเหลืองปนสีน้ำตาล รอยต่อระหว่างลำตัวและรยางค์ขาเดินมีสีน้ำตาล เมื่อมองผ่านรอยต่อระหว่างรยางค์ขาเดินกับลำตัวเห็นกล้ามเนื้อมีสีขาวขุ่น เมื่อเปิดกระดองออกพบว่า ตับมีเหลืองอ่อน เหงือกและหัวใจคงรูปคล้ายปูปกติ เนื้อแน่น กล้ามเนื้อลำตัวและกล้ามเนื้อขามีสีขาวขุ่นและสีชมพูอ่อน มองเห็นแนวเส้นการเรียงตัวของกล้ามเนื้ออย่างชัดเจน การแข็งตัวของเลือดใช้เวลา 2-3 นาที เมื่อมีสิ่งมากระตุ้นปูมีการตอบสนองโดยชูก้ามขึ้นเพื่อป้องกันตัว มีเคลื่อนไหวได้ดีและรวดเร็ว

2. ปูทะเลที่มีอาการท้องแดงกลุ่ม II เลือดสีส้มใส บริเวณท้องมีสีชมพู รอยต่อระหว่างลำตัวและรยางค์ขาเดินมีสีชมพู มองเห็นกล้ามเนื้อลำตัวขาวขุ่น อวัยวะภายใน เช่น ตับและหัวใจมีสีซีดกว่าปูปกติ เหงือกนิ่ม กล้ามเนื้อโพรกแต่อวัยวะภายในต่าง ๆ ยังคงรูปอยู่ ส่วนกล้ามเนื้อลำตัวและกล้ามเนื้อขามีสีขาวขุ่นมองเห็นแนวเส้นการเรียงตัวของกล้ามเนื้ออย่างชัดเจน การแข็งตัวของเลือดใช้เวลาประมาณ 6 นาที เมื่อมีสิ่งมากระตุ้นปูมีการตอบสนองโดยชูก้ามขึ้นเพื่อป้องกันตัว และยังสามารถเคลื่อนไหวได้ดีและรวดเร็ว

3. ปูทะเลที่มีอาการท้องแดงกลุ่ม III เลือดสีส้มคล้ายสีชาดำเย็น บริเวณท้องมีสีเหลืองปนสีน้ำตาลเข้ม รอยต่อระหว่างลำตัวและรยางค์ขาเดินมีสีน้ำตาล เมื่อมองผ่านช่องระหว่างลำตัวและรยางค์ขาเดินเห็นกล้ามเนื้อมีสีขาวขุ่น อวัยวะภายใน เช่น ตับ หัวใจ เหงือก มีเลือดสีส้มคล้ายสีชาดำเย็นกระจายอยู่ทั่วอวัยวะ เหงือกนิ่มกว่าปูปกติ กล้ามเนื้อโพรกมากขึ้น การจัดเรียงเนื้อของกล้ามเนื้อมองเห็นเป็นเส้นชัดเจน กล้ามเนื้อลำตัวและกล้ามเนื้อก้ามมีสีขาวขุ่น การแข็งตัวของเลือดใช้เวลาประมาณ 13 นาที ปูยังมีการเคลื่อนไหวและมีการตอบสนองต่อสิ่งที่มากระตุ้นได้อย่างปกติ

4. ปูทะเลที่มีอาการท้องแดงกลุ่ม IV เลือดสีส้มคล้ายสีชาเย็น บริเวณท้องมีสีแดงเป็นแถบ ๆ รยางค์ขาเดินและก้ามมีสีแดง อวัยวะภายใน เช่น ตับมีสภาพเละ หัวใจไม่คงรูป เหงือกนิ่มกว่าปกติ มีเลือดสีส้มชาเย็นกระจายทั่วอวัยวะภายใน กล้ามเนื้อโพรก และเลือดไม่แข็งตัว ในระยะนี้ปูเริ่มมีการตอบสนองและเคลื่อนไหวช้าลง

Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

5. ปูทะเลที่มีอาการท้องแดงกลุ่ม V เลือดสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม บริเวณท้องมีสีแดงปนส้ม รยางค์ขาเดินมีสีแดง ปูในระยะนี้มีอาการที่รุนแรงมากที่สุด เนื่องจากปูจะมีชีวิตอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง เมื่อเปิดกระดองออกมีเลือดสีขาวคล้ายน้ำนมกระจายอยู่ทั่วอวัยวะ กล้ามเนื้อเหลว โพรก เลือดไม่แข็งตัว ปูจะอยู่นิ่งเคลื่อนไหวช้ามากจนถึงไม่สามารถเคลื่อนไหวร่างกายได้ เมื่อสัมผัสก้านตามีการตอบสนองช้า

ส่วนปูทะเลปกติ บริเวณอก ท้อง ข้อต่อ และรยางค์ขาเดินมีสีขาว เลือดใส (เมื่อสัมผัสกับอากาศจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้า) เลือดแข็งตัวเมื่อตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที กล้ามเนื้อลำตัวสีใส เนื้อแน่น อวัยวะภายในได้แก่ ตับ เหงือก หัวใจ สดและคงรูป เมื่อมีสิ่งมากระตุ้นปูมีการตอบสนองโดยชูก้ามขึ้นเพื่อป้องกันตัว มีเคลื่อนไหวได้ดีและรวดเร็ว

ผลจากการศึกษาพบว่าข้อมูลมีความสอดคล้องกับรายงานของ Salaenoi et al. (2006) ที่พบว่าปูทะเลที่มีอาการท้องแดงจะมีกระดองที่มีความแข็งน้อยกว่าปูปกติ บริเวณท้อง รยางค์ก้ามและขามีสีแดง เซื่องซึม เคลื่อนไหวช้า ลอกคราบไม่ออก และตายลงในที่สุด คล้ายคลึงกับ pink crab disease (PCD) ที่พบในปู *Cancer pagurus* (Stentiford et al., 2002) bitter crab disease พบในปู *Chionoecetes bairdi* ปูชนิด *Chionoecetes opilio* (Meyers et al., 1987; Taylor and Khan, 1995) และปูชนิด *Necora puber* (Wilhelm and Mialhe, 1996) ซึ่ง Meyers et al. (1987) รายงานว่าการที่ปูมีบริเวณท้องและก้ามมีสีชมพูน่าจะมีสาเหตุมาจากมีปริมาณของคาโรทีนอยด์เพิ่มสูงขึ้นบริเวณเซลล์อิพิเดอร์มิสของปูที่ได้รับความเสียหาย เนื่องจากพบพาราไซต์ในกลุ่ม dinoflagellate ชนิด *Hematodinium* sp. อยู่ในเลือดและเนื้อเยื่อของปูเป็นจำนวนมาก (Stentiford et al., 2002) ผลจากการศึกษาพบว่าการที่ปูทะเลมีเลือดสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนมนั้นคล้ายคลึงกับปูชนิด *Carcinus maenas* ที่มีอาการของ milky disease ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่มีลักษณะคล้ายริกเก็ตเซียในกระแสเลือดและมีผลทำให้ปริมาณเม็ดเลือดมีจำนวนลดลง (Eddy et al., 2007) Shields and Squyars (2000) รายงานว่าปูชนิด *Callinectes sapidus* ที่มี *Hematodinium* ในกระแสเลือดพบว่าภายใน 3 วันจะมีจำนวนเม็ดเลือดลดลง 48% ซึ่ง Meyers et al. (1987) พบว่าพาราไซต์จำนวนมากในกระแสเลือดของปูที่มีการติดเชื้ออย่างรุนแรงมีผลทำให้เลือดมีสีครีมและไม่แข็งตัว โดยกลไกการแข็งตัวของเลือดอาจเกิดจากการลดลงของเม็ดเลือดชนิด hyalinocytes ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการแข็งตัวของเลือด (Shields and Squyars, 2000) และยังมีผลต่อการแลกเปลี่ยนก๊าซในระบบหายใจ ทำให้การขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ร่างกายเกิดขึ้นได้ไม่ดีจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ปูตายลงอย่างรวดเร็ว (Taylor et al., 1996)

นอกจากนี้ Salaenoi et al. (2006) รายงานว่าปูที่มีอาการท้องแดงที่เลือดมีสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนมไม่พบฮีโมไซยานิน (hemocyanin) ซึ่งฮีโมไซยานินมีหน้าที่ในการขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เมื่อขาดฮีโมไซยานินจึงส่งผลต่อประสิทธิภาพในการจับออกซิเจน และการขนส่งแร่ธาตุต่าง ๆ ไปเลี้ยงร่างกายเกิดขึ้นได้น้อย จึงทำให้ปูตายลงอย่างรวดเร็ว เมื่อศึกษาลักษณะภายในของปูพบว่าอวัยวะภายในมีลักษณะไม่คงรูป โดย Salaenoi et al. (2006) พบว่าการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อ ตับ เหงือกและกล้ามเนื้ออยู่กันอย่างหลวม ๆ ซึ่งมีรายงานการพบพาราไซต์และแบคทีเรียในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปูเป็นจำนวนมาก (Meyers et al.,1987; Stentiford and Shields, 2005; Eddy et al., 2007) Stentiford et al. (2002) รายงานว่าพาราไซต์ที่พบเป็นชนิด *Hematodinium* sp. ซึ่งเมื่อแพร่กระจายเข้าสู่ร่างกายปูและมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นในเซลล์ของตับ และเหงือก จะส่งผลทำให้ลักษณะของ

เนื้อเยื่อผิดปกติ โดยบริเวณกล้ามเนื้อพบกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า islands จะไปขัดขวางการยึดเกาะของเซลล์กล้ามเนื้อ ส่วนการจัดเรียงตัวของไฟบริล (fibril) บริเวณ Z-line ของกล้ามเนื้อบริเวณก้ามนั้นมีการจัดเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และเกิดช่องว่างเป็นกลุ่ม ๆ ภายในเซลล์ ซึ่งอาจเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในตัวของปู หรือจากตัวพาราไซต์

Figure 1 Characters of the normal mud crab showing white sternum (A) fresh and rigid internal organ (B) and transparent haemolymph (C)

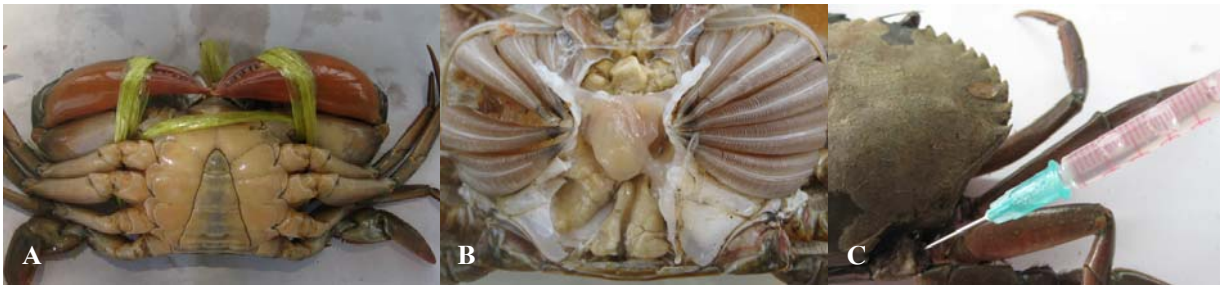

Figure 2 The abnormal mud crab group I : the infected crab with brown sternum (A) Showing the rigid internal organ (B) and transparent haemolymph (C)

Figure 3 The abnormal mud crab group II: the infected crab with red sternum (A) Showing the loose gill, hepatopancreas and muscle (B) and transparency orange haemolymph (C)

Figure 4 The abnormal mud crab group III: the infected crab with brown sternum (A) Showing the orange loose and soft gill and muscle, pale hepatopancreas (B) and translucent brown haemolymph (C)

Figure 5 The abnormal mud crab group IV: the infected crab with red sternum (A) Showing the orange and soft gill, muscle and haemolymph (dispersed in all tissue) (B) and cloudy orange haemolymph (C)

Figure 6 The abnormal mud crab group V: the infected crab with orange to red sternum (A) Showing the white soft gill, muscle and haemolymph (dispersed in all tissue) (B) and opaque white haemolymph (C)

Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

2. ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากปูทะเลที่มีอาการท้องแดง 4 กลุ่ม พบว่ากลุ่ม I เลือดใสถึงสีฟ้าอ่อน จำแนกเชื้อแบคทีเรียได้ 2 ชนิดคือ *Vibrio alginolyticus* และ *Vibrio parahaemolyticus* กลุ่ม II เลือดส้มใส จำแนกเชื้อแบคทีเรียได้ 2 ชนิด คือ *Shewanella putrefaciens* และ *V. parahaemolyticus* กลุ่ม III เลือดสีส้มคล้ายชาดำเย็นจำแนกเชื้อแบคทีเรียได้ 3 ชนิดคือ *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* และ *S. putrefaciens* ส่วนกลุ่ม V เลือดขาวขุ่นคล้ายน้ำนม จำแนกเชื้อแบคทีเรียได้ 2 ชนิดคือ *V. alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus* (Figure 7, Table 1) ส่วนในปูทะเลปกติพบเชื้อ *S. putrefaciens* และ *V. parahaemolyticus* โดยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดให้ผลการทดสอบทางชีวเคมีดังนี้*V. alginolyticus* ให้ผลบวกต่อการทดสอบ lysine decarboxylase, indole, gelatinase, glucose, mannitol, sucrose และ amygdalin ส่วน *V. parahaemolyticus* ให้ผลบวกต่อการทดสอบ lysine decarboxylase, ornithine decarboxylase, indole, gelatinase, glucose และ mannitol และเชื้อ *S. putrefaciens* ให้ผลบวกต่อการทดสอบ citrate utilization, H_2S production และ gelatinase

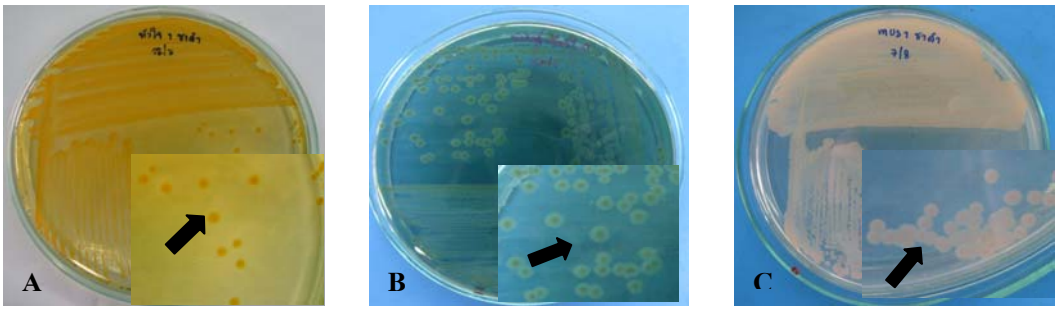

Figure 7 Bacterial colony forming on TCBS *Vibrio alginolyticus* (A) *Vibrio parahaemolytics* (B) *Shewanella putrefaciens* exposed on TSA (C)

ผลการศึกษาสรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปูทะเลที่มีอาการท้องแดงพบเชื้อแบคทีเรียไม่แตกต่างจากปูปกติโดยพบว่าเชื้อ*V. parahaemolyticus* สามารถพบได้ทั้งในปูทะเลที่มีอาการท้องแดงและปูปกติ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เป็นเชื้อที่พบเป็นประจำในสัตว์ทะเล (Davis and Sizenmore, 1982) โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Sizemore et al. (1975) ที่พบเชื้อ *Vibrio* sp., *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Flavobacterium* sp. และ colifrom ที่แยกได้จากปูชนิด *Callinectes sapidus* ปกติ ดังนั้นการเกิดอาการท้องแดงในปูทะเลอาจเป็นได้ว่ามีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องที่เหนี่ยวนำให้ปูมีอาการดังกล่าวซึ่งนอกเหนือจากการติดเชื้อจากแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว โดยปัจจัยที่คาดว่าน่าจะเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นให้มีเกิดโรค เช่น ความหนาแน่นในการเลี้ยง (Sindermann, 1990) อุณหภูมิของน้ำ (Noga et al., 2000; Eddy et al., 2007) เนื่องจากอุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้นทำให้การละลายของออกซิเจนลดลง จึงส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเซีย (Le Moullac and Haffner, 2000) และจากการศึกษาของ Chisholm and Smith (1994) พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการ

ยับยั้งกิจกรรมการทำงานของแบคทีเรียในปูชนิด *C. maenas* นอกจากนี้ยังพบว่าฤดูกาลเป็นปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเกิดโรคในสัตว์น้ำเช่นเดียวกัน จากการศึกษาของ Davis and Sizenmore (1982) พบว่าเชื้อ *V. vulnificus* และ *V. parahaemolyticus* เป็นเชื้อที่พบประจำในปูทะเลและเชื้อมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในช่วงฤดูร้อน และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Eddy et al. (2007) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะคล้ายริกเก็ตเซียที่ก่อให้เกิดโรคในปู *C. maenas* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้บ่อยในช่วงฤดูร้อน

Table 1 Biochemical characteristics for identifying bacterial groups found in abnormal crabs.

ลักษณะทางชีวเคมี	*Vibrio alginolyticus*	*Vibrio parahaemolyticus*	*Shewanella putrefaciens*
Growth on TCBS	Y	G	-
β-galactosidase	-	-	-
Arginine dihydrolase	-	-	-
Lysine decarboxylase	+	+	-
Ornithine decarboxylase	-	+	-
Citrate utillization	-	-	+
H_2S production	-	-	+
Urease	-	-	-
Tryptophane deaminase	-	-	-
Indole production	+	+	-
Voges Proskauer	-	-	-
Gelatinase	+	+	+
Glucose	+	+	-
Mannitol	+	+	-
Inositol	-	-	-
Sorbitol	-	-	-
Rhamnose	-	-	-
Sucrose	+	-	-
Melibiose	-	-	-
Amygdalin	+	-	-
Arabinose	-	-	-

1/ Y= Yellow , G= Green, - = negative, + = positive

Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาลักษณะภายนอก ภายในและสีเลือดปูที่มีอาการท้องแดงสามารถแบ่งกลุ่มปูออกเป็น 5 กลุ่ม โดยเรียงลำดับความรุนแรงของอาการจากน้อยไปมาก คือ กลุ่มเลือดใสถึงสีฟ้าอ่อน กลุ่มส้มใส เลือดสีน้ำตาล คล้ายสีชาดำเย็น กลุ่มเลือดสีส้มคล้าย สีชาเย็น และกลุ่มเลือดสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม ตามลำดับ การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียพบเชื้อ 3 ชนิด คือ *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Shewanella putrefaciens*

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ และทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2551. ปริมาณการส่งออกปูทะเล แหล่งข้อมูล: http://www.fisheries.go.th/foreign/doc/excel/totalexport1n.xls. ค้นเมื่อ 25 กรกฎาคม พ.ศ. 2551.

Boeger, W.A., M.R. Pie, A. Ostrensky, and L. Patella. 2005. A new shell disease in the mud crab *Scylla serrata* from Port Curtis, Queenland (Australia). Dis. Aquat. Org. 43:233-239.

Chisholm, J. R.S., and V.J. Smith. 1994. Variation in antibacterial activity in the haemocytes of the shore crab, *Carcinus maenas*, with temperature. J. Mar. Biol. Assoc. UK 74:82-979.

Davis, J.W., and R.K. Sizemore. 1982. Incidence of *Vibrio* species associated with blue crabs (*Callinectes sapidus*) collected from Galveston Bay, Texas. Appl. Environ. Microbiol. 43(5): 1092-1097.

Eddy, F., A. Powell, S. Gregory, L.M. Nunan, G.V. Lightner, P.J. Dyson, A.F. Rowley, and R. J. Shields. 2007. A novel bacterial disease of the European shore crab, *Carcinus maenas*-molecular pathology and epidemiology. Microbiology 153:2839-2849.

Getchell, R.G. 1989. Bacterial shell disease in crustaceans: a review. J. Shellfish Res. 8:1-6.

Haryanti, K. Sugama, and T. Nishijima. 2003. Diversity of bacterial isolated from crustacea larvae and their rearing water. J. Ocean Univ. Qingdao. 2:49-52.

Le Moullac, G., and P. Haffner. 2000. Environmental factors affecting immune responses in crustacean. Aquaculture 191:121-132.

Meyers, T.R., T.M. Koeneman, C. Botelho, and S. Short. 1987. Bitter crab disease: a fatal dinoflagellate infection and marketing problem for Alaska Tanner crabs *Chionoecetes bairdi*. Dis. Aquat. Org. 3:195-216.

Noga, E.J., R. Smolowitz, and L.H. Khoo. 2000. Pathology of shell disease in the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun, (Decapoda: Portunidae). J. Fish Dis. 23:389-399.

Salaenoi, J., A. Sangcharoen, A. Thongpan, and M. Mingmuang. 2006. Morphology and haemolymph composition changes in red sternum mud crab (*Scylla serrata*). Kasetsart J. (Nat. Sci.) 40(1):158-166.

Shield, J.D., and C.M. Squyars. 2000. Mortality and hematology of blue crab, *Callinectes sapidus*, experimentally infected with the parasitic dinoflagellate *Hematodinium perezi*. Fish. Bull. 98: 139-152.

Stentiford, G. D., M. Green, K. Bateman, H.J. Small, D.M. Neil, and S.W. Feist. 2002. Infection by a *Hematodinium*-like parasitic dinoflagellate causes pink crab disease (PCD) in the edible crab *Cancer pagurus*. J. Invertebr. Pathol. 79:179-191.

Edited by Foxit Reader
Copyright(C) by Foxit Corporation,2005-2009
For Evaluation Only.

_____, and J. D. Shields. 2005. A review of the parasitic dinoflagellates *Hematodinium* species and *Hematodinium*-like infection in marine crustaceans. Dis. Aquat. Org. 66:47-70.

Sizemore, R.K., R.R. Colwell, H.S. Tubiash, and T.E. Lovelace. 1975. Bacteria flora of the hemolymph of the blue , *Callinectes sapidus*: numerical taxonomy. Appl. Microbiol. 29:393-399.

Taylor, D.M., and R.A. Khan. 1995. Observations on the Occurrence of *Hematodinium* sp. (Dinoflagellate: Syndinidae), the causative agent of bitter crab disease in Newfoundland snow crab (*Chionoecetes opilio*). J. Invertebr. Pathol. 65:283-288.

Taylor, A.C., R.H. Field, and P.J. Parslow-Williams. 1996. The effects of *Hematodinium* sp.-infection on aspects of the respiratory physiology of the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L.). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 207:217-228.

Weng, S.P., Z.X. Guo, J.J. Sun, S.M. Chan, and J.-G. He. 2007. A reovirus disease in cultured mud crab, *Scylla serrata*, in southern China. J. Fish Dis. 30:133-139.

Wilhelm, G., and E. Mialhe. 1996. Dinoflagellate infection associated with the decline of *Necora puber* crab populations in France. Dis. Aquat. Org. 26:213-219.