ความหลากหลายของแบคทีเรียในน้ำทะเล บริเวณสถานีอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี

Diversity of Bacteria in Seawater at Sea Turtle Conservation Center, Sriracha District, Chonburi Province

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1*] , สุวรรณา มากรัตน์[2] , วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[3]
Subuntith Nimrat[1*] , Suwanna Makrat[2] , Verapong Vuthiphandchai[3]
Received: 24 April 2019 ; Revised: 19 June 2019 ; Accepted: 10 July 2019

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาถึงปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณสถานีอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเต่าทะเล เป็นระยะเวลา 5 เดือน พบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำทะเลเท่ากับ 5.00 ± 1.73 ´ 10^4 - 1.52 ± 0.09 ´ 10^6 CFU/mL เมื่อทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรียทั้งหมดพบแบคทีเรีย ได้แก่ *Azotobacter* sp., *Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp., *Brevibacillus laterosporus*, *Cytophaga* sp., *Erysipelothrix* sp., *Escherichia coli*, *Flavobacterium* sp., *Kocuria kristinae*, *Kocuria varians*, *Listeria* sp., *Micrococcus* sp., *Moraxella* sp., *Serratia* sp., *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus* sp., *Vibrio* sp. และแบคทีเรียที่ไม่สามารถจำแนกได้ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียที่พบทุกเดือนพบว่าปริมาณแบคทีเรียที่พบในเดือนตุลาคมและเดือนมกราคมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับเดือนพฤศจิกายน ธันวาคม และกุมภาพันธ์

คำสำคัญ: น้ำทะเล เต่าทะเล แบคทีเรียทั้งหมด

Abstract

In this study, numbers and genus of total bacteria were investigated monthly in seawater at a Sea Turtle Conservation Center, Sriracha District, Chonburi Province, Thailand, used for marine turtle culture for 5 months. Numbers of total bacteria in seawater ranged from 5.00 ± 1.73 ´ 10^4 to 1.52 ± 0.09 ´ 10^6 CFU/ml. Bacteria found in this study were identified as *Azotobacter* sp., *Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp., *Brevibacillus laterosporus*, *Cytophaga* sp., *Erysipelothrix* sp., *Escherichia coli*, *Flavobacterium* sp., *Kocuria kristinae*, *Kocuria varians*, *Listeria* sp., *Micrococcus* sp., *Moraxella* sp., *Serratia* sp., *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus* sp., *Vibrio* sp. and unidentified species. Numbers of total bacteria found in October were not significantly different (P > 0.05), compared to those in January, but significantly different (P < 0.05), compared to those in November, December and February.

Keywords : Seawater, Marine turtle, Total bacteria

---

[1] *รองศาสตราจารย์, ภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี*

[2] *นิสิตปริญญาตรี, ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี*

[3] *รองศาสตราจารย์, ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี*

[1] *Associate Professor, Department of Microbiology and Environmental Science Program, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri Province*

[2] *Bachelor degree student, Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri Province*

[3] *Associate Professor, Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri Province*

[*] *Corresponding author : E-mail: subunti@buu.ac.th*

บทนำ

เต่าทะเลเป็นทรัพยากรสัตว์น้ำที่มีคุณค่าและประโยชน์หลายด้านโดยเฉพาะในเชิงเศรษฐกิจ เนื่องจากเนื้อและไข่ของเต่าทะเลสามารถนำมาประกอบอาหารและสามารถนำมาบริโภคได้ ทั้งยังสามารถนำมาใช้ทำเครื่องประดับ เครื่องประดับเฟอร์นิเจอร์ เครื่องหนัง และเครื่องใช้ต่าง ๆ เช่น หวี กระดุม และพัด เป็นต้น[1,2] ในปัจจุบันเต่าทะเลในธรรมชาติลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วจนอยู่ในสภาวะที่ใกล้จะสูญพันธุ์ ส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากกิจกรรมของมนุษย์ทั้งจากการกระทำโดยเจตนาและโดยอุบัติเหตุ อาทิ การวางอวน การลักลอบขุดไข่เต่าทะเล มลภาวะจากการท่องเที่ยวทางทะเล ตลอดจนการสูญเสียแหล่งวางไข่ เป็นต้น[3] ดังนั้นเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล จึงได้มีการเพาะเลี้ยงเต่าทะเลขึ้น

การเพาะเลี้ยงเต่าทะเลต้องคำนึงถึงความสะอาดของอาหารและแหล่งที่อยู่อาศัยมากที่สุด เนื่องจากทั้งความสะอาดของอาหารและแหล่งน้ำที่ใช้ล้วนส่งผลต่อสุขภาพของเต่าทะเลที่เลี้ยงได้ นอกจากนี้ตัวของเต่าทะเลและแหล่งที่อยู่มีแบคทีเรียประจำถิ่นอาศัยอยู่ ซึ่งเมื่อใดที่เต่าเกิดความเครียดอันเนื่องมาจากสาเหตุต่าง ๆ แบคทีเรียเหล่านี้สามารถเข้าไปทำให้อาการของโรครุนแรงขึ้น ดังนั้นถ้าแหล่งที่อยู่อาศัยหรืออาหารมีการปนเปื้อนของเชื้อแล้ว โอกาสของการเกิดโรคในเต่าย่อมมีสูงมากตามไปด้วย[4,5] โดยสาเหตุของการป่วยและเสียชีวิตของเต่าทะเลส่วนหนึ่งมาจากการติดเชื้อ ได้แก่ แบคทีเรีย ไวรัส และปรสิต เป็นต้น มีรายงานการพบแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิดในน้ำทะเลธรรมชาติ เช่น *Proteus* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus, V. vulnificus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Streptococcus* sp. และ *Mycobacterium marinum* เป็นต้น[6] เต่าทะเลอาจติดเชื้อได้ทั้งจากแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียฉวยโอกาสที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งที่อยู่อาศัยและอาหาร โดยแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่พบการติดเชื้อในเต่าทะเลทั่วโลก ได้แก่ *Aeromonas hydrophilia*, *Aureobacterium* sp, *Bacillus* sp., *Citrobacter freundii*, *Corynebacterium* sp., *Edwardsiella* sp., *Micrococcus* sp., *Moraxella* spp., *Pseudomonas* sp., *Salmonella* sp., *Streptococcus* sp. และแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม[4,7,8] โดยแบคทีเรียที่พบการติดเชื้อบ่อยที่สุดในเต่าทะเลคือ *Vibrio alginolyticus*[4] และจากการศึกษาของ Storelli and Zizzo[9] พบแบคทีเรีย ได้แก่ *Acinetobacter calcoaceticus, Citrobacter freundii*, *Citrobacter* sp., *Escherichia coli* และ *Pasteurella* sp. ในเต่าทะเลแถบทะเลเมดิเตอเรเนียน นอกจากนี้พบว่าจุลินทรีย์บางชนิดที่ปนเปื้อนในแหล่งเพาะเลี้ยงที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคในเต่าทะเลยังอาจแพร่เชื้อส่งต่อมายังมนุษย์ได้ ยกตัวอย่างเช่น พบการแพร่ระบาดของโรคซัลโมแนลโลซิส (Salmonellosis) ที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *Salmonella* sp. จากเต่ามายังมนุษย์[10,11]

ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ศึกษาถึงความหลากหลายของแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำทะเล เพื่อทำให้มีแหล่งข้อมูลทางด้านความหลากหลายของแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำทะเลในช่วงเวลาดังกล่าวและเก็บเป็นฐานข้อมูลเพื่อประโยชน์ต่อแนวทางการป้องกันโรคระบาดในเต่าทะเลและมนุษย์ให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงเต่าทะเลต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การเก็บตัวอย่างน้ำทะเล

การศึกษาในครั้งนี้ได้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแบคทีเรียในน้ำทะเลที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเต่าทะเลในช่วงระยะเวลา 5 เดือน ตั้งแต่ตุลาคม พ.ศ. 2548 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2549 โดยเก็บตัวอย่างน้ำทะเลจากบริเวณสถานีอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลศรีราชา จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นน้ำก่อนนำมาใส่ในบ่อเลี้ยงเต่าทะเล โดยเก็บตัวอย่างน้ำทะเลจำนวน 1 จุด ที่ระดับความลึกของน้ำ 3-5 เซนติเมตร ห่างจากชายฝั่ง 30 เซนติเมตร (Figure 2) เดือนละ 1 ครั้ง (จำนวน 3 ซ้ำ) และนำมาตรวจวิเคราะห์หาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทั้งหมดต่อไป

Figure 1 Marine turtle (*Chelonia mydas*, Linnaeus 1758)

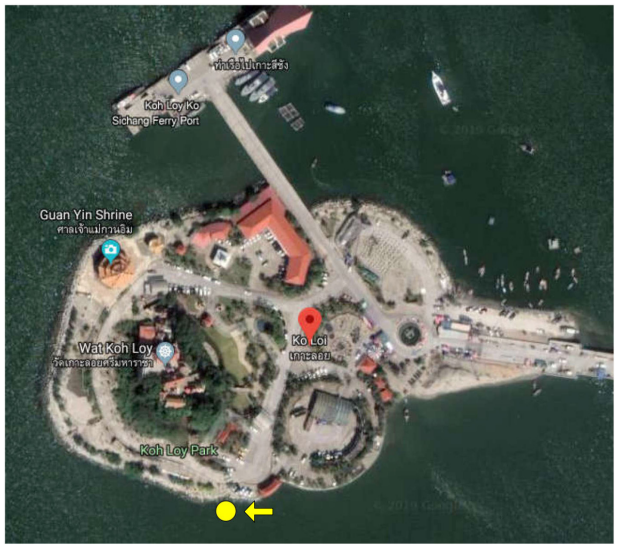

Figure 2 Sampling site (yellow arrow) at Sea Turtle Conservation Center, Sriracha District, Chonburi Province

2. การศึกษาปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างน้ำทะเล[12]

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างน้ำทะเล ทำโดยนำตัวอย่างน้ำทะเลจากข้อ 1. ปริมาตร 1 mL ใส่ลงใน Butterfield's phosphate-buffered water ปริมาตร 9 mL เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างน้ำทะเลที่ระดับความเจือจางเริ่มต้นคือ 10^{-1} และทำการเจือจางต่อจนถึงระดับความเจือจาง 10^{-6} จากนั้นปิเปตตัวอย่างน้ำทะเลที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ปริมาตร 0.1 mL ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Marine agar (บริษัท Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) ที่ประกอบด้วย Peptone 5 g/L, Yeast extract 1 g/L, Ferric Citrate 0.1 g/L, Sodium Chloride 19.45 g/L, Magnesium Chloride 8.8 g/L, Sodium Sulfate 3.24 g/L, Calcium Chloride 1.8 g/L, Potassium Chloride 0.55 g/L, Sodium Bicarbonate 0.16 g/L, Potassium Bromide 0.08 g/L, Strontium Chloride 34 mg/L, Boric Acid 22 mg/L, Sodium Silicate 4 mg/L, Sodium Fluoride 2.4 mg/L, Ammonium Nitrate 1.6 mg/L, Disodium Phosphate 8 mg/L, Agar 15 g/L จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างน้ำทะเลให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวิธี Spread plate (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) ทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้ง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และคำนวณปริมาณแบคทีเรียในหน่วย CFU/mL

การศึกษาชนิดของแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างน้ำทะเล ทำโดยนำโคโลนีของแบคทีเรียที่มีลักษณะแตกต่างกันมาย้อมสีแกรม ศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรีย ตามวิธีของ Bergey's manual of determinative bacteriology, Bergey's manual of systematic bacteriology และ Color atlas and textbook of diagnostic microbiology[13-16]

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS (Version 13) โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test (DMRT) ($P<0.05$)

ผลการศึกษา

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างน้ำทะเลก่อนนำมาใช้เลี้ยงเต่าทะเลที่ระยะเวลาต่าง ๆ พบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในช่วง 5.00 ± 1.73 ´ 10^4 - 1.52 ± 0.09 ´ 10^6 CFU/mL โดยพบว่าน้ำทะเลมีปริมาณแบคทีเรียสูงสุดในเดือนธันวาคม เท่ากับ 1.52 ± 0.09 ´ 10^6 CFU/mL และมีปริมาณต่ำสุดในเดือนมกราคม เท่ากับ 5.00 ± 1.73 ´ 10^4 CFU/mL เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียที่พบทุกเดือน พบว่าปริมาณแบคทีเรียในเดือนตุลาคมและเดือนมกราคมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีความแตกต่างกับเดือนพฤศจิกายน ธันวาคมและกุมภาพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงใน Table 1

เมื่อนำแบคทีเรียที่พบมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรีย พบแบคทีเรียแพร่กระจายในน้ำทะเลทั้งหมด 18 สายพันธุ์ ได้แก่ *Azotobacter* sp., *Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp., *Brevibacillus laterosporus*, *Cytophaga* sp., *Erysipelothrix* sp., *Escherichia coli*, *Flavobacterium* sp., *Kocuria kristinae*, *Kocuria varians*, *Listeria* sp., *Micrococcus* sp., *Moraxella* sp., *Serratia* sp., *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus* sp., *Vibrio* sp. และแบคทีเรียที่ไม่สามารถจำแนกได้ ดังแสดงใน Table 2 ซึ่งลักษณะทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่แยกได้ในการศึกษาในครั้งนี้แสดงใน Table 3-5

Table 1 Number of total bacteria in sea water at different sampling period of times

Sampling periods	Number of total bacteria (CFU/ml)
October	$9.00 \pm 1.41 \times 10^{4}$ [d]
November	$5.25 \pm 1.63 \times 10^{5}$ [c]
December	$1.52 \pm 0.09 \times 10^{6}$ [a]
January	$5.00 \pm 1.73 \times 10^{4}$ [d]
February	$1.06 \pm 0.28 \times 10^{6}$ [b]

Data were expressed as mean ± S.D. Means with superscript letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

Table 2 Abundance of bacteria isolated from sea water

Sampling periods	Bacteria isolated from sea water		
	Bacterial isolates	No. of isolates	Percentage of bacteria found
October	*Bacillus megaterium*	1	9.09
	Bacillus sp.	2	18.18
	Cytophaga sp.	1	9.09
	Escherichia coli	1	9.09
	Micrococcus sp.	4	36.36
	Staphylococcus lentus	1	9.09
	Unidentified	1	9.09
November	*Cytophaga* sp.	1	14.28
	Escherichia coli	1	14.28
	Flavobacterium sp.	1	14.28
	Serratia sp.	1	14.28
	Staphylococcus lentus	1	14.28
	Staphylococcus sp.	2	28.57
December	*Bacillus* sp.	1	7.69
	Brevibacillus laterosporus	1	7.69
	Escherichia coli	2	15.30
	Flavobacterium sp.	1	7.69
	Kocuria kristinae	3	23.07
	Micrococcus sp.	1	7.69
	Moraxella sp.	1	7.69
	Staphylococcus lentus	1	7.69
	Staphylococcus lugdunensis	1	7.69
	Vibrio sp.	1	7.69
January	*Kocuria varians*	2	33.33
	Listeria sp.	1	16.66
	Micrococcus sp.	1	16.66
	Moraxella sp.	1	16.66
	Staphylococcus sp.	1	16.66
February	*Azotobacter* sp.	1	16.66
	Erysipelothrix sp.	3	50.00
	Micrococcus sp.	1	16.66
	Unidentified	1	16.66

Table 3 Biochemical tests of rod-shaped Gram-negative bacteria

Characters	*Escherichia coli*	*Serratia* sp.	*Flavobacterium* sp.	*Moraxella* sp.	*Vibrio* sp.	*Azotobacter* sp.	*Cytophaga* sp.
Gram stain	-	-	-	-	-	-	-
Cell shape	Short rod	Short rod	Short rod	Short rod	Short rod	Short rod	Long rod
Spore forming	-	-	-	-	-	-	-
Oxidase test	-	-	+	+	+	nd	+
Catalase test	-	+	+	+	+	+	+
Motility	+	+	-	-	+	+	nd
Growth on McConkey medium	+	+	-	-	-	nd	nd
Growth on TCBS	-	-	-	-	+	nd	nd
Indole	+	-	+	-	+	+	-
Methyl red	+	-	nd	nd	+	nd	nd
Voges-Proskauer	-	+	nd	-	+	nd	nd
Citrate	-	+	nd	-	+	nd	nd
Urease test	-	-	-	-	nd	+	-
Nitrate reduction	+	+	nd	nd	nd	nd	nd
H_2S production	-	-	nd	nd	nd	+	-
O/129 Sensitivity	nd	nd	nd	nd	+	nd	nd
O/F test	F	F	Non-F	Non- F	F	nd	nd
Arginine Dehydrogenase	-	-	-	nd	-	nd	nd
Hydrolysis of Gelatin	-	+	-	-	nd	nd	-
Starch	nd	nd	+	nd	nd	nd	-
Casein	nd	+	-	nd	nd	nd	+
Chitin	nd	nd	-	nd	nd	nd	nd
Fermentation of Arabinose	+	+	nd	nd	nd	nd	nd
Fructose	nd	+	nd	nd	nd	+	nd
Glucose	+	+	-	-	-	+	nd
Inositol	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Lactose	+	-	nd	nd	nd	nd	nd
Maltose	+	+	nd	nd	nd	+	nd
Mannitol	+	+	nd	nd	nd	nd	nd
Mannose	+	+	nd	nd	nd	nd	nd
Raffinose	+	-	nd	nd	nd	nd	nd

Note: + = positive reaction; - = negative reaction; F = fermentative; Non-F = non-fermentative; nd = not done

Table 4 Biochemical tests of rod-shaped Gram-positive bacteria

Character	*Bacillus* sp.	*Bacillus megaterium*	*Brevibacillus laterosporus*	*Listeria* sp.	*Erysipelothrix* sp.
Gram stain	+	+	+	+	+
Cell shape	Large rod	Large rod	Small rod	Small rod	Small rod
Endospore forming	+	+	-	-	-
Motility	+	+	+	+	-
Oxidase test	+	nd	nd	nd	-
Catalase test	+	+	+	+	-
Indole	-	-	+	-	nd
Methyl red	+	-	nd	+	nd
Voges-Proskauer	+	+	-	+	nd
Citrate utilization	+	+	nd	-	nd
Urease test	-	+	-	-	nd
H_2S production	nd	nd	nd	-	+
Growth at 30 °C	+	+	nd	+	+
37 °C	+	+	nd	+	+
45 °C	+	+	nd	-	-
60 °C	+	+	nd	-	-
Acid production from Glucose	-	+	+	+	+
Lactose	+	+	nd	nd	nd
Xylose	+	-	nd	-	nd
Mannitol	+	+	+	-	nd
Maltose	nd	+	-	nd	nd
Hydrolysis of Gelatin	+	+	+	-	nd
Starch	+	+	-	nd	nd
Casein	+	+	+	-	nd

Note: + = positive reaction; - = negative reaction; nd = not done

Table 5 Biochemical tests of spherical-shaped Gram-positive bacteria

Character	*Micrococcus* sp.	*Kocuria kristinae*	*Kocuria varians*	*Staphylococcus* sp.	*Staphylococcus lentus*	*Staphylococcus lugdunensis*
Gram stain	+	+	+	+	+	+
Cell shape	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci
Motility	-	-	-	-	-	-
Endospore forming	-	nd	nd	-	-	nd
Catalase	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	-	-	+	-
Coagulase	-	nd	nd	-	-	-
Arginine dihydrolase	-	nd	nd	nd	-	-
Nitrate reduction	nd	-	+	+	+	+
Resistant to bacitracin	nd	nd	nd	+	nd	nd

Table 5 Biochemical tests of spherical-shaped Gram-positive bacteria (Continue)

Character	*Micrococcus* sp.	*Kocuria kristinae*	*Kocuria varians*	*Staphylococcus* sp.	*Staphylococcus lentus*	*Staphylococcus lugdunensis*
Urease	-	-	+	nd	nd	-
Novobiocin resistance	nd	nd	nd	nd	+	-
Acid production from Sucrose	nd	+	nd	nd	+	+
Glucose	-	+	+	+	nd	+
Trehalose	nd	nd	nd	nd	+	+
Ribose	nd	nd	nd	nd	+	-
Mannitol	-	-	-	nd	nd	-
Mannose	-	+	-	nd	nd	+
Hydrolysis of Esculin	nd	+	-	nd	nd	nd
Gelatin	nd	-	+	nd	nd	nd
Starch	nd	-	-	nd	nd	nd

Note: + = positive reaction; - = negative reaction; nd = not done

วิจารณ์และสรุปผล

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำทะเลซึ่งมีปริมาณอยู่ระหว่าง $5.00 \pm 1.73 \times 10^4$ - $1.52 \pm 0.09 \times 10^6$ CFU/mL โดยพบปริมาณสูงสุดในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2548 และพบปริมาณต่ำสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2549 สอดคล้องกับรายงานของ Austin[17] ที่ระบุว่าน้ำทะเลมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ระหว่าง 10^3 - 10^6 CFU/mL เมื่อพิจารณาปริมาณแบคทีเรียที่พบในแต่ละเดือนนั้นมีค่าเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอนตลอดระยะเวลาการทดลอง 5 เดือน อาจเป็นผลมาจากอิทธิพลและการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล ประกอบกับการมีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่จำเป็นต่อการเจริญเพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้จำนวนของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นตามไปด้วย[18] โดยความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการแพร่กระจายและการเจริญของแบคทีเรีย[18-20] ส่วนเดือนมกราคมที่เป็นช่วงเดือนในฤดูหนาวจึงมีปริมาณแบคทีเรียต่ำ ปริมาณความเค็มของน้ำทะเลสูง ขณะที่เดือนกุมภาพันธ์ทั้งที่เป็นเดือนในช่วงฤดูหนาว ความเค็มของน้ำทะเลยังคงมีค่าสูง ส่งผลให้แบคทีเรียบางชนิดไม่สามารถเจริญได้ โดยความเค็มจะมีค่าแตกต่างกันไปตามปริมาณน้ำฝนที่ตกลงมาเจือจางและการระเหยของน้ำทะเล[21] แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในเดือนกุมภาพันธ์กลับมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในปริมาณสูง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าช่วงที่ทำการเก็บตัวอย่าง มีการทิ้งสิ่งปฏิกูลและระบายน้ำเสียจากบ้านเรือน แหล่งชุมชนอาศัย ท่าเรือ สถานประกอบการท่องเที่ยว และเรือประมงลงสู่ทะเล ซึ่งเป็นพื้นที่บริเวณเดิมที่มักพบการปนเปื้อนดังกล่าวสูงส่งผลให้พบปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้น[22] โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเข้าใกล้ชายฝั่งมากเท่าใดย่อมมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น[23]

เมื่อทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มนี้พบแบคทีเรียทั้งหมด 18 สายพันธุ์ โดยแบคทีเรียที่พบปริมาณสูงที่สุด คือ *Micrococcus* sp. รองลงมาคือ *Erysipelothrix* sp. และ *Kocuria kristinae* และพบแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่มีการแพร่กระจายในตัวอย่างน้ำทะเล คือ *Azotobacter* sp., *Bacillus megaterium*, *Bacillus* sp., *Brevibacillus laterosporus*, *Cytophaga* sp., *E. coli*, *Flavobacterium* sp., *K. varins*, *Listeria* sp., *Moraxella* sp., *S. lentus*, *S. lugdunensis*, *Staphylococcus* sp., *Serratia* sp., *Vibrio* sp. และแบคทีเรียที่ไม่สามารถจำแนกได้ เป็นต้น สอดคล้องกับรายงานของ เอกวิทย์ เส็งประชา[22] ที่ได้ทำการศึกษาการแพร่กระจายและความหลากหลายทางชีวภาพของแบคทีเรียในทะเลบริเวณปากแม่น้ำ และพบแบคทีเรียสกุล *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Chromobacterium*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Cytophaga* และ *Photobacterium* ในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งไอโอเนียน แถบทะเลเมดิเตอเรเนียนประเทศอิตาลี[24]

แบคทีเรียที่พบในการศึกษาครั้งนี้บางชนิดเป็นแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Vibrio* sp. ก่อให้เกิดโรคผิวหนังในเต่าหัวค้อน การอักเสบของเยื่อหุ้มหัวใจในเต่ามะเฟือง เยื่อเมือกในช่องจมูกอักเสบ ปอดบวม เยื่อบุเมือกในปากอักเสบ และเลือดเป็นพิษในเต่าตนุ[4,7,8,25,26] ส่วน *Bacillus* sp. และ *Staphylococcus* sp. ก่อให้เกิดอาการอักเสบ เยื่อบุเมือกอักเสบและเนื้อเยื่อตาย[4,7,27] และจากรายงานวิจัยของ ธนาพร ชื่นอิ่ม[28] พบการติดเชื้อแบคทีเรียในอวัยวะต่าง ๆ ของลูกเต่าทะเลที่ตายจากศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล เมื่อทำการจำแนกชนิดของ

แบคทีเรีย พบจำนวน 10 ชนิด คือ *A. hydrophila*, *Aureobacterium* sp., *Citrobacter freundii*, *Corynebacterium* spp., *Edwardsiella* sp., *Micrococcus* sp., β-haemolytic *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* group C, *V. alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus* นอกจากนี้ยังพบการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในเต่าทะเล คือ *V. parahaemolyticus* และ *Lactococcus garviae* โดยพบว่าแบคทีเรียดังกล่าวเป็นสาเหตุที่ทำให้เต่าทะเลป่วยและเต่าทะเลอาจเป็นพาหะนำเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิดไปสู่ปลาและมนุษย์ได้[29]

ดังนั้น น้ำที่ใช้เลี้ยงเต่าทะเลจึงจำเป็นต้องได้รับการควบคุมในเรื่องของการปนเปื้อนแบคทีเรียก่อโรคชนิดต่าง ๆ ที่เป็นสาเหตุและหรือทำให้เต่าทะเลป่วยและตายไป รวมถึงเป็นพาหะนำโรคมาสู่มนุษย์และสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของธนาพร ชื่นอิ่ม และคณะ[28] พบว่ามีอัตราการตายของลูกเต่าทะเลระหว่างการอนุบาลโดยเฉลี่ย 30-70% รวมทั้งจากการสำรวจตัวอย่างลูกเต่าทะเลที่ตายจากศูนย์อนุรักษ์ของกองทัพเรือ อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ถึง 2550 จำนวนทั้งหมด 65 ตัว พบบาดแผลและอาการผิดปกติทางคลินิกทั้งอวัยวะภายนอก เช่น กระดอง รยางค์ บริเวณผิวหนัง หางและก้น และอวัยวะภายในร่างกายของลูกเต่าทะเล เช่น หัวใจ ตับ กระเพาะอาหาร ลำไส้ ไต เป็นต้น จากการตรวจสอบด้วยตาเปล่าไม่พบลักษณะการติดเชื้อพยาธิปรสิต หรือไข่ของพยาธิหรือปรสิต อาการโรคชนิดต่างๆ ที่ตรวจสรุปได้ดังนี้ บาดแผลเน่าเป็นหนองบนผิวหนัง ตามลำตัวและที่บริเวณกระดอง (Ulcerative dermatitis) แผลเปื่อยและแผลอักเสบของเยื่อบุเมือกในช่องปาก (Ulcerative stomatitis) ตับอักเสบซึ่งบางครั้งพบอาการลามไปที่ลำไส้เล็กด้วย (Necrotizing hepatitis) กระเพาะอาหารที่อักเสบมีอาการบวมพอง (Gastrectasis) และลำไส้เล็กอักเสบมีอาการบวมพอง เมื่อทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากบาดแผล พบรวมทั้งหมด 10 ชนิดด้วยกันคือ *A. hydrophila*, *Aureobacterium* sp., *Citrobacter freundii*, *Corynebacterium* sp., *Edwardsiella* sp., *Micrococcus* sp., b-haemolytic *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* group C, *V. alginolyticus* และ *V. parahaemolyticus*[28] นั่นคือลูกเต่าทะเลเหล่านี้ติดเชื้อแบคทีเรียจากสภาพแวดล้อมได้ง่ายส่งผลให้ป่วยเป็นโรคและหายจากโรคยากกว่าจึงตายในที่สุด ลักษณะการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าเป็นเชื้อก่อโรคในเต่าทะเลในแต่ละท้องที่อาจมีความแตกต่างกัน ดังนั้นในแต่ละท้องที่จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการตรวจสอบชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่นเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานแต่มีความสำคัญต่อการป้องกันและรักษาโรคในสัตว์ต่อไป[25-29]

จากรายงานของดลภูมิ สุริยันต์[7] ได้ทำการศึกษาเพื่อตรวจสอบแบคทีเรียในน้ำทะเลจากบ่ออนุบาลเต่าทะเลและเนื้อปลาที่ใช้เป็นอาหารของศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลฯ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ในระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2555 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2557 ผลการศึกษาพบแบคทีเรียแกรมลบที่พบบ่อยที่สุดและมีปริมาณมากสุดได้แก่ กลุ่ม *Vibrio* sp. สำหรับแบคทีเรียแกรมบวกพบกลุ่ม *Staphylococcus* sp. มากที่สุด นอกจากนี้ยังตรวจพบกลุ่มอื่น ๆ ได้แก่ Beta hemolytic bacteria, Enteric bacteria และ Coliform, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. และ *Staphylococcus aureus* โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้มีประโยชน์ในการบริหารจัดการของการอนุรักษ์เต่าทะเลในส่วนของการป้องกันและการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียต่อไป

นอกจากนั้นพบว่าเมื่อทำการตรวจสอบแบคทีเรียในน้ำทะเลจากบ่ออนุบาลลูกเต่าทะเลในช่วง เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2552 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2554 ผลการทดลองตรวจพบเชื้อ *Vibrio* sp. บ่อยที่สุดและมีปริมาณมากที่สุด ส่วนแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่ตรวจพบ ได้แก่ Enteric และ Coliform bacteria, Gram negative bacteria, Hemolytic bacteria, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Staphylococcus* sp. และ *S. aureus*[30] ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะถูกใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการป้องกันและรักษาการติดเชื้อในลูกเต่าทะเลต่อไป

ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการบริหารจัดการการเพาะเลี้ยงเต่าทะเล และการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล ในด้านการป้องกันโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียที่ปะปนในน้ำทะเลต่อไป นอกจากนั้นควรติดตามความหลากหลายของแบคทีเรียในน้ำทะเลบริเวณสถานีอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี อย่างสม่ำเสมอ เพื่อการป้องกันการติดเชื้อของเต่าทะเลได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว

รวมทั้งในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลของความหลากหลายของแบคทีเรียในน้ำทะเล บริเวณสถานีอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ในช่วงปี พ.ศ. 2548 - 2549 และสามารถนำมาเปรียบเทียบกับข้อมูลอื่นๆที่มีรายงานอยู่เพื่อทำให้ทราบถึงแนวโน้มของวิวัฒนาการของความหลากหลายของแบคทีเรียในน้ำทะเล บริเวณสถานีอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี รวมทั้งเป็นการเพิ่มข้อมูลที่ขาดหายไปของข้อมูลทางวิชาการในการเพาะเลี้ยงและการอนุรักษ์เต่าทะเลนั่นเอง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์วัสดุอุปกรณ์ และสถานที่ในการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. เจษฎา อิสเหาะ, สุภาวดี โกยดุลย์, ทิพรัตน์ พงศ์ธนาพาณิช, วรรณนภา สมบุญสำราญ. การศึกษาการพัฒนาระบบการเลี้ยงตะพาบน้ำและการวิเคราะห์ทางเศรษฐกิจการผลิตและการตลาดของตะพาบน้ำพันธุ์ไต้หวัน. รายงานการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ; 2544
2. Mudiyanselage R, Rathnayake W. Turtle watching: a strategy for endangered marine turtle conservation through community participation in Sri Lanka, Ocean Coast Manage 2016;119:199-207
3. บุญเลิศ ผาสุก. จรรณยาบรรณในการทำการประมงด้วยการรับผิดชอบ. วารสารการประมง 2539;49 (6):511-514
4. Chuen-Im T, Areekijseree M, Chongthammakun S, Graham SV. Aerobic bacterial infections in captive juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) and hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) from Thailand, Chelonian Conserv Biol 2010;9:135-142
5. Chuen-Im T, Phengpan P, Panishkan K. Effects of environmental parameters on bacterial levels in seawater from juvenile green turtle (*Chelonia mydas*) kept in captivity, Fish Aquac J 2010;FAJ-9:1-8
6. Pougnet R, Pougnet L, Allio I, Lucas D, Dewitte JD, Loddé B. Maritime environment health risks related to pathogenic microorganisms in seawater, Int Marit Health 2018;69:35-45
7. ดลภูมิ สุริยันต์. การตรวจสอบและทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียที่หายใจแบบใช้ออกซิเจนที่แยกได้จากบ่ออนุบาลเต่าทะเลของศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร; 2557
8. Glazebrook JS, Campbell RSF. A survey of the diseases of marine turtles in Northern Australia," I. Farmed turtles. Dis Aquat Organ 1990;9(2):83-95
9. Storelli MM, Zizzo N. Occurrence of organochlorine contaminants (PCBs, PCDDs and PCDFs) and pathologic findings in loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, from the Adriatic Sea (Mediterranean Sea), Sci Total Environ 2014;472:855-861
10. Soto E, Ives AK, Stewart K, Francis S, Sithole F, Kearney MT, Griffin MJ. Prevalence and persistence of *Salmonella enterica* in sea turtles and beach sand on the island of St. Kitts, West Indies, Available from: https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=14818&meta=Generic&catId=75132&id=7312324&ind=134&objTypeID=17 Accessed February 4, 2019
11. Alfaro A, Koie M, Buchmann K. Synopsis of infections in sea turtles caused by virus, bacteria and parasites: An ecological review. Available from: http://www.seaturtle.org/library/AlfaroA_2010_Synopsisofinfectionsinseaturtlescau.pdf Accessed February 4, 2019
12. Maturin L, Peeler JT. BAM: Aerobic plate count, bacteriological analytical manual chapter 3 aerobic plate count. Available from: https://www. fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063346.htm Accessed March 12, 2009
13. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's manual of determinative bacteriology. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins; 1994
14. Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity GM. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol. 2) 2nd ed., New York: Springer-Verlag; 2005
15. Staley JT, Bryant MP, Pfennig N, Holt JG. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol. 3) Baltimore: Williams and Wilkins; 1989
16. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Scherenberger P, Woods G. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006
17. Austin B. Marine microbiology. New York: Cambridge University Press; 1988.
18. Suh SS, Park M, Hwang J, Kil EJ, Jung SW, Lee S, Taek-Kyun Lee TK. Seasonal dynamics of marine microbial community in the South Sea of Korea, PLoS ONE 2015;10: e0131633. doi:10.1371/ journal.pone.0131633

19. เสถียรพงษ์ ขาวหิต, เกษม จันทร์แก้ว. การประเมินการปนเปื้อนแบคทีเรียบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเลแหลมผักเบี้ย ตำบลแหลมผักเบี้ย อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) 2559;8(15): 78-87
20. WHO. Health-based monitoring of recreational waters: The feasibility of a new approach (the Annapolis protocol), WHO/SDE/WSH/99.1. Geneva: World Health Organization; 1999.
21. Munn CB. Marine microbiology: Ecology and application. London: BIOS Scientific; 2001.
22. เอกวิทย์ เส็งประชา. การศึกษาการแพร่กระจาย และความหลากหลายทางชีวภาพของแบคทีเรียในทะเล บริเวณปากแม่น้ำบางประกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ถึง เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี, ปัญหาทางจุลชีววิทยาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยบูรพา; 2541
23. Pandey PK, Kass PH, Soupir ML, Biswas S, Singh VP. Contamination of water resources by pathogenic bacteria, AMB Express 2014;4:51. doi:10.1186/s13568-014-0051-x
24. Cavallo RA, Acquaviva MI, Stabili L. Culturable heterotrophic bacteria in seawater and *Mytilus galloprovincialis* from a Mediterranean area (Northern Ionian Sea – Italy), Environ Monit Assess 2009;149:465-475
25. Wiles M, Rand TG. Integumental ulcerative disease in a loggerhead turtle, *Caretta caretta*, at the Bermuda Aquarium: Microbiology and histopathology, Dis Aquat Organ 1987;3(2):85-90
26. Glazebrook JS, Campbell RSF. A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia II: Oceanarium-reareo and wild turtles, Dis Aquat Organ 1990;9:97-104
27. Orós J, Torrent A, Calabuig P, Déniz S. Diseases and causes of mortality among sea turtles stranded in the Canary Islands, Spain (1998-2001), Dis Aquat Organ 2005;63:13-24
28. ธนาพร ชื่นอิ่ม. การสำรวจโรคเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลจากศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ จ.ชลบุรี. ได้จาก: http://www.tnrr.in.th/?page=result_search&record_id=60254 Accessed February 4, 2019.
29. Fichi G, Cardeti G, Cersini A, Mancusi C, Guarducci M, Di Guardo G, Terracciano G. Bacterial and viral pathogens detected in sea turtles stranded along the coast of Tuscany, Italy, Vet Microbiol 2016;15:56-61
30. พันธิตรา เพ็งปาน. การสำรวจและทดสอบประสิทธิภาพการดื้อยาของแบคทีเรียที่หายใจแบบใช้ออกซิเจนจากบ่ออนุบาลลูกเต่าทะเลของศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล จังหวัดชลบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2552-2554. ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร; 2554