

โรคแถบสีชมพูในปะการังโขด *Porites lutea* ตามแนวปะการังของหมู่เกาะสีซัง จังหวัดชลบุรี



นายพงศา อังคนานุเคราะห์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PINK LINE SYNDROME (PLS) IN MASSIVE CORAL *Porites lutea* AT REEF COMMUNITIES OF
SICHANG ISLAND GROUP, CHONBURI PROVINCE

Mr. Pongsa Angkhananukroh



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Marine Science

Department of Marine Science

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	โรคแถบสีชมพูในปะการังโขด <i>Porites lutea</i> ตามแนว
	ปะการังของหมู่เกาะสีซัง จังหวัดชลบุรี
โดย	นายพงศา อังคนานุเคราะห์
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรรีดิวิรรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิณา เคยพุดชา ดร. นิลนัจ ชัยธนาวิสุทธิ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทมหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรณพ วิทยาญจน์)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรรีดิวิรรกุล)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิณา เคยพุดชา)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร. นิลนัจ ชัยธนาวิสุทธิ)
.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิตยธรรมยง)
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริษา กฤษณะพันธุ์)

พงศา อังคนานูเคราะห์ : โรคแถบสีชมพูในปะการังโขด *Porites lutea* ตามแนวปะการังของหมู่เกาะสีซัง จังหวัดชลบุรี (PINK LINE SYNDROME (PLS) IN MASSIVE CORAL *Porites lutea* AT REEF COMMUNITIES OF SICHANG ISLAND GROUP, CHONBURI PROVINCE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิดารกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ดร. วิภา เคนยพุดซา, ดร. นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ, หน้า.

ศึกษาโรค pink line syndrome หรือโรคแถบสีชมพู ในปะการังโขด *Porites lutea* และโรคปะการังชนิดอื่นๆ ตามแนวปะการังเกาะสีซัง จังหวัดชลบุรีในช่วงฤดูร้อน (เดือนเมษายน) และฤดูฝน (เดือนกันยายน) ในปี 2557 โดยเลือกศึกษาแนวปะการังในบริเวณที่ห่างไกลชุมชน (เกาะค้ำควา) และบริเวณที่ได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์ (เกาะขามน้อย และเกาะขามใหญ่) ผลการศึกษาพบโรคปะการังชนิดเด่นมี 5 ชนิดที่เกิดในปะการังโขด *P. lutea* คือ โรค pink line syndrome (แถบสีชมพู) โรค white patch disease (ต่างขาว) โรค white plague disease (ดวงขาว) โรค yellow-band disease (แถบสีเหลือง) และเนื้อเยื่อเจริญเติบโตผิดปกติ (growth anomaly) โดยพบโรคปะการังเพิ่มมากขึ้นในฤดูฝนตามแนวปะการังของเกาะขามใหญ่ (18.5 ± 7.3 เปอร์เซ็นต์) เกาะขามน้อย (18.1 ± 4.4 เปอร์เซ็นต์) และเกาะค้ำควา (17.7 ± 3.1 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ สำหรับในช่วงฤดูฝนพบการเกิดโรค pink line syndrome เพิ่มมากขึ้นตามแนวปะการังเกาะเกาะขามใหญ่ (31.9 ± 7.4 เปอร์เซ็นต์) เกาะค้ำควา (30.0 ± 5.0 เปอร์เซ็นต์) และเกาะขามน้อย (22.6 ± 2.7 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าโรค pink line syndrome เป็นโรคชนิดเด่นที่เพิ่มมากที่สุดทั้งในฤดูร้อนและฤดูฝน โดยอัตราการเกิดของโรคในฤดูร้อนจะต่ำกว่าในฤดูฝนอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในทุกจุดสำรวจ ในช่วงฤดูร้อนพบโรค pink line syndrome ตามแนวปะการังเกาะขามใหญ่ (14.6 ± 6.3 เปอร์เซ็นต์) เกาะขามน้อย (4.03 ± 1.7 เปอร์เซ็นต์) และเกาะค้ำควา (3.6 ± 1.3 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ และในช่วงฤดูฝนพบโรค เพิ่มมากขึ้นตามแนวปะการังเกาะค้ำควา (26.8 ± 9.4 เปอร์เซ็นต์) เกาะขามใหญ่ (15.7 ± 2.5 เปอร์เซ็นต์) และเกาะขามน้อย (10.7 ± 2.7 เปอร์เซ็นต์) หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างเมือกจากปะการังโขดที่เป็นโรค pink line syndrome มาทำการคัดแยกเชื้อกลุ่มเด่น พบเชื้อทั้งหมด 55 isolation เมื่อนำไปจำแนกชนิดจะพบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* แล้วจึงนำปะการังโขด *P. lutea* ไปจุ่มใน *K. pneumoniae* ที่มีความเข้มข้น 10^8 colony forming unit/millilitre เป็นเวลา 1 นาที พบว่าปะการังโขด *P. lutea* จะเกิดโรค pink line syndrome ในอุณหภูมิน้ำ 25.5 - 26.5 และ 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5572052323 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEYWORDS: CORAL DISEASE / DISEASE PREVALENCE / PINK LINE SYNDROME (PLS) / PORITES LUTEA / KOH SICHANG

PONGSA ANGKHANANUKROH: PINK LINE SYNDROME (PLS) IN MASSIVE CORAL *Porites lutea* AT REEF COMMUNITIES OF SICHANG ISLAND GROUP, CHONBURI PROVINCE. ADVISOR: ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATTIVORAKUL, Ph.D., CO-ADVISOR: ASST. PROF. WEENA KOEYPUDSA, Ph.D., NILNAJ CHAITANAWISUTI, Ph.D., pp.

Study of pink line syndrome (PLS) and coral disease prevalence in massive coral *Porites lutea* in three reef communities of Sichang Island group in Chonburi province. We chose to examine a *P. lutea*, a dominant species of massive coral found in this area during summer season (April) and rainy season (September) in 2014. Sites were selected to represent reefs that were relatively undisturbed (Khang Khao Island) and reefs that have been impacted by anthropogenic influences from human activities (Kham Yai and Kham Noi Islands). Results showed that a total of 5 coral diseases (pink line syndrome, white plague disease, white patch disease, yellow band disease and growth anomaly) occurred in *P. lutea*. Pink line syndrome was the most prevalent disease occurred in *P. lutea* in all study sites and both summer and rainy seasons. Total infected colony and pink line syndrome prevalence in *P. lutea* during summer was significantly lower than those in rainy season for all study sites ($P < 0.05$). The highest total disease infected colony of *P. lutea* in summer was found in reef community of Kham Yai Island (18.5 ± 7.3 %), followed by Kham Noi Island (18.1 ± 4.4 %) and Khang Khao Island (17.7 ± 3.1 %), respectively, and those in rainy season was found in reef community of Kham Yai Island (31.9 ± 7.4 %), followed by Khang Khao Island (30.0 ± 5.0 %) and Kham Noi Island (22.6 ± 2.7 %) respectively. While the highest pink line syndrome infected *P. lutea* in summer was found in reef community of Kham Yai Island (14.6 ± 6.3 %), followed by Kham Noi Island (4.03 ± 1.7 %) and Khang Khao Island (3.6 ± 1.3 %), respectively, and the highest pink line syndrome infected *P. lutea* in rainy season was found in reef community of Kham Yai Island (26.8 ± 9.4 %), followed by Khang Khao Island (15.7 ± 2.5 %) and Kham Noi Island (10.7 ± 2.7 %) respectively. Also specimens of mucus collected from *P. lutea* infected by pink line syndrome were screened and isolated for dominant bacteria groups, a total of 55 isolation were identified. Classification revealed presence of *Klebsiella pneumoniae* bacteria. *P. lutea* then were submerged in a *K. pneumoniae* dip at a concentration of 10^8 colony forming unit/millilitre for 1 minute. The experiment showed that *P. lutea* is infected at temperatures between $25.5 - 26.5$ and $31.5 - 32.5$ °C

Department: Marine Science

Field of Study: Marine Science

Academic Year: 2015

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิดาวรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่คอยดูแลช่วยเหลือให้คำปรึกษาในด้านต่างๆ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิณา เคยพุดชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำในการเตรียมความพร้อม ตลอดจนวิธีการศึกษา ให้การสนับสนุนวัสดุ และอุปกรณ์ในการวิจัย พร้อมทั้งให้คำปรึกษาในการแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการศึกษา ทำให้การทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิรษา กฤษณะพันธ์ จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำ และความช่วยเหลือในการออกสำรวจภาคสนาม ตลอดจนให้การสนับสนุน วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วรรณพ วิทยาญจน์ และรองศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิตติธรรมยง สำหรับการร่วมเป็นประธานและกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้คำแนะนำและตรวจทานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคุณมาลินี กิตกัธร์ และพี่เป็ด ผู้ให้ความช่วยเหลือในการเพาะเลี้ยงเชื้อ และขอขอบคุณศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยศูนย์ ที่เอื้อเพื่อปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาเพื่อใช้ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียจนทำให้การศึกษาวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วง

ขอขอบคุณคุณเสรี ดอนเหนือ ที่เอื้อเพื่ออุปกรณ์ในการสำรวจภาคสนาม ขอขอบคุณน้ำเซน น้ำสมชาย น้ำไกรสร พี่ดาว น้องเนตต์ น้องเฟิร์น น้องปาล์ม และพี่ๆ น้องๆ เพื่อนๆ ในภาควิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ เป็นกำลังใจสนับสนุนเสมอมา

ขอขอบคุณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ทางทะเลและศูนย์ฝึกนิสิต เกาะสีซัง สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการอนุเคราะห์ที่พักระหว่างเก็บตัวอย่าง ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่มีอบทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิตในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณลุง คุณป้า คุณน้า คุณอา และญาติพี่น้องทุกๆ ท่าน ที่คอยให้กำลังใจ กำลังทรัพย์ สนับสนุนจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จตามเป้าหมายที่วางไว้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	4
2.1 ปะการัง (Coral).....	4
2.2 ปะการังโขด (<i>Porites lutea</i>)	5
2.3 โรคปะการัง (Coral Disease).....	5
2.4 Pink Line Syndrome (PLS) หรือ โรคแถบสีชมพู.....	13
2.5 เชื้อก่อโรค (Pathogens)	14
2.6 หมู่เกาะสีซัง (Sichang Island Group) จังหวัดชลบุรี.....	15
บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย	18
3.1 พื้นที่ศึกษา (Study Site).....	18
3.2 ความชุกของโรคปะการัง (Disease Prevalence)	21
3.2.1 ศึกษาคุณภาพน้ำ	21
3.2.2 วิเคราะห์ข้อมูล	21

3.3 ชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Pathogen).....	22
3.4 การเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (Disease Induction).....	22
3.4.1 ตัวอย่างปะการังโรค (<i>P. lutea</i>).....	22
3.4.2 ปรับและควบคุมอุณหภูมิน้ำทะเลในแต่ละตู้ทดลอง	23
3.4.3 จุ่มปะการังในแบคทีเรียกลุ่มเด่น.....	23
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	27
4.1 สถานภาพทั่วไปของชุมชนปะการัง (Status of Coral Communities).....	27
4.2 ความชุกของโรคปะการัง (Disease Prevalence).....	29
4.3 คุณภาพน้ำทะเล (Water Quality).....	38
4.4 ชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Pathogen).....	39
4.5 การเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (Disease Induction).....	45
บทที่ 5 อภิปราย และสรุปผลการทดลอง	52
5.1 ข้อเสนอแนะ	56
รายการอ้างอิง	58
ภาคผนวก.....	59
ภาคผนวก ก. ข้อมูลการศึกษา.....	60
ภาคผนวก ข. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	68
ภาคผนวก ค. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียทางชีวเคมี (Biochemical test).....	70
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	74

สารบัญตาราง

ตาราง 1	เชื้อก่อโรคในปะการัง (Sheridan et al., 2013).....	17
ตาราง 2	ความชุกของการเกิดโรคในฤดูฝนและฤดูร้อนบริเวณแนวปะการังเขตน้ำตื้นของหมู่เกาะ สีซัง จังหวัดชลบุรี.....	37
ตาราง 3	เปอร์เซ็นต์ความถี่ของการเกิดโรคปะการัง บริเวณเกาะสีซัง จังหวัดชลบุรี.....	37
ตาราง 4	คุณภาพของน้ำทะเลบริเวณแนวปะการังเขตน้ำตื้นบริเวณหมู่เกาะสีซัง จังหวัดชลบุรี.....	38
ตาราง 5	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (cfu/ml) ที่เก็บจากน้ำทะเล และเมือกของปะการังชนิด <i>P.</i> <i>lutea</i> ที่เป็นโรค pink line syndrome ในบริเวณต่างๆ.....	43
ตาราง 6	การจำแนกกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย	44
ตาราง 7	คุณภาพน้ำขณะทำการศึกษการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในปะการังชนิดที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 25.5-26.5, 28.5-29.5 และ 31.5-32.5 องศาเซลเซียส	46
ตาราง 8	เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อปะการังที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ.....	48
ตาราง 9	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียก่อน และหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการนำปะการัง <i>P.</i> <i>lutea</i> ไปจุ่มใน <i>Klebsiella pneumoniae</i> และอนุบาล	51

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1	ปัจจัยการเกิดโรคในปะการัง (DAFF, 2009)	6
ภาพที่ 2	ชนิดของโรคปะการัง	10
ภาพที่ 3	หลักการจำแนกชนิดโรคปะการัง (coral disease identification) (NOAA, 2014).....	11
ภาพที่ 4	การทำลายโครงสร้างแข็ง และการสร้างเส้นใยของไฮยาโนแบคทีเรีย (Abdel-Salam et al., 2014)	16
ภาพที่ 5	พื้นที่ศึกษาบริเวณหมู่เกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี (1. เกาะขามน้อย 2. เกาะขามใหญ่ 3. เกาะค่างคว)	19
ภาพที่ 6	พื้นที่ศึกษาบริเวณเกาะขามใหญ่ (Kham Yai Island)	19
ภาพที่ 7	พื้นที่ศึกษาบริเวณเกาะขามน้อย (Kham Noi Island).....	20
ภาพที่ 8	พื้นที่ศึกษาบริเวณเกาะค่างคว (Khang Khao Island).....	20
ภาพที่ 9	การศึกษาคุณภาพน้ำทะเลบริเวณสถานที่ศึกษาและเก็บตัวอย่าง.....	25
ภาพที่ 10	การเก็บเมือกปะการังโดยใช้กระบอกลีดยา	25
ภาพที่ 11	บริเวณที่เก็บเมือก (mucus) จากปะการัง <i>P. lutea</i> 3 จุด (D. จุดที่เป็นโรค ND. จุดที่ใกล้เคียงโรค H. จุดที่ปะการังไม่เป็นโรค)	26
ภาพที่ 12	ค่า standard curve ของ <i>Klebsiella pneumoniae</i> ที่ใช้ในการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรค pink line syndrome	26
ภาพที่ 13	ปะการังชนิดเด่นที่พบบริเวณชุมชนปะการังเขตน้ำตื้นของหมู่เกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี.....	28
ภาพที่ 14	โรค pink line syndrome : PLS (แถบสีชมพู) ที่เกิดในปะการังชนิด <i>P. lutea</i>	31
ภาพที่ 15	โรค white patch disease : WP (ต่างขาว) ที่เกิดในปะการังชนิด <i>P. lutea</i>	32
ภาพที่ 16	โรค white plague disease : WPS (ดวงขาว) ที่เกิดในปะการังชนิด <i>P. lutea</i>	32
ภาพที่ 17	โรค yellow-band disease : YBD (แถบสีเหลือง) ที่เกิดในปะการังชนิด <i>P. lutea</i>	33
ภาพที่ 18	growth anomaly : GA (เนื้อเยื่อเจริญเติบโตผิดปกติ) ที่เกิดในปะการังชนิด <i>P. lutea</i> ..	33
ภาพที่ 19	โรค white pox disease : WPD (แผลสีขาว) ที่เกิดในปะการังชนิด <i>P. lutea</i>	34

ภาพที่ 20	การกัดแทะของสัตว์ (predation scars) ที่เกิดในปะการังโขด <i>P. lutea</i>	34
ภาพที่ 21	สัตว์ขุดเจาะ (bioeroders) ที่เกิดในปะการังโขด <i>P. lutea</i>	35
ภาพที่ 22	การทับถมของตะกอน (sediment damage) ที่เกิดในปะการังโขด <i>P. lutea</i>	35
ภาพที่ 23	เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบโรคปะการังที่พบในปะการังโขด <i>P. lutea</i> ในสองฤดูกาลของ ทุกสถานศึกษาบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี.....	36
ภาพที่ 24	ความชุกของโรค pink line syndrome ในปะการังโขด <i>P. lutea</i> ทั้งสองฤดูกาลใน ทุกสถานศึกษาบริเวณเกาะสีชังจังหวัดชลบุรี.....	36
ภาพที่ 25	ลักษณะโคโลนีของ <i>K. pneumoniae</i> บนอาหาร MacConkey agar.....	42
ภาพที่ 26	รูปร่าง และการติดสี (gram stain) ของ <i>Klebsiella pneumonia</i>	42
ภาพที่ 27	การทดสอบยืนยัน <i>Klebsiella pneumoniae</i> ด้วย Api 20E	42
ภาพที่ 28	การเกิดแก๊สซิมฟูในห้องปฏิบัติการ	47

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

แนวปะการัง (coral reef) เป็นระบบนิเวศทางทะเลที่มีความสำคัญระบบหนึ่ง เนื่องจากความอุดมสมบูรณ์ และความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ที่อาศัยอยู่ร่วมกันจำนวนมาก ตั้งแต่แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ สาหร่ายทะเล สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง นานาชนิด เช่น โพรโตซัว ฟองน้ำ ปะการัง หนอนตัวแบน หนอนตัวกลม ไส้เดือนทะเล กุ้ง ปู หอยหมึก ดาวทะเล เม่นทะเล เป็นต้น รวมไปถึงสัตว์มีกระดูกสันหลังทั้งขนาดเล็กและใหญ่ที่อาศัยในแนวปะการัง เช่น ปลาชนิดต่างๆ เต่าทะเล รวมถึงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด ดังนั้นบริเวณแนวปะการังจึงเป็นแหล่งอาหาร แหล่งอาศัย แหล่งหลบภัย และแหล่งอนุบาลของสิ่งมีชีวิตนานาชนิด ระบบนิเวศแนวปะการังจัดเป็นบริเวณที่มีกำลังผลิตขั้นต้นสูงรวมทั้งสิ่งมีชีวิตในแนวปะการังมีความสัมพันธ์ในการถ่ายทอดอาหารและพลังงานที่ซับซ้อน จากความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในแนวปะการังจึงทำให้เกิดประโยชน์ในทางการประมง การใช้ประโยชน์การแพทย์ รวมทั้งการท่องเที่ยวอันเนื่องมาจากสีสันและความสวยงามของแนวปะการัง นอกจากนี้แนวปะการังยังช่วยลดความรุนแรงของคลื่นที่กระทำต่อชายฝั่ง และแนวปะการังยังมีส่วนทำให้น้ำทะเลมีความสมดุลทางเคมีและมีคุณสมบัติของน้ำที่ดี (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2553) อย่างไรก็ตามความเสื่อมโทรมของแนวปะการังเกิดขึ้นในหลายบริเวณทั่วโลก สาเหตุส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของมนุษย์ทั้งที่ตั้งใจและไม่ตั้งใจ เช่น การปล่อยของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและชุมชนขนาดใหญ่ลงสู่ทะเล การรั่วไหลและปนเปื้อนของน้ำมันจากกิจกรรมการขนส่งและการขนถ่ายน้ำมันในทะเล กิจกรรมจากการก่อสร้างบริเวณชายฝั่ง และทำให้เกิดตะกอนทับถมบนแนวปะการัง กิจกรรมการทำประมงในแนวปะการังโดยผิดกฎหมาย (การใช้วัตถุระเบิด การใช้สารเคมี หรือการลากอวนในแนวปะการัง) การเหยียบย่ำของนักท่องเที่ยว หรือการทิ้งสมอเรือในแนวปะการัง การเก็บปะการังหรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในแนวปะการัง รวมทั้งปัจจัยธรรมชาติมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงและความเสื่อมโทรมของแนวปะการัง อาทิเช่น การฟอกขาวของ

ปะการัง (coral bleaching) และการระบาดของโรคปะการัง (coral diseases outbreak) อันมีสาเหตุจากอุณหภูมิน้ำทะเลสูงขึ้นเนื่องจากภาวะโลกร้อน (global warming) และคุณภาพน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงไป

โรคปะการัง (coral diseases) เป็นสภาวะที่ปะการังตอบสนองต่อสิ่งเร้าต่างๆ ทั้งด้านกายภาพและชีวภาพ โดยปะการังจะตอบสนองต่อสิ่งเร้าทั้งที่เกิดจากเชื้อก่อโรคต่างๆ เช่น แบคทีเรีย รา โปรโตซัว ไวรัส เป็นต้น และจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางกายภาพ เช่น การเพิ่มอุณหภูมิของน้ำทะเล รวมไปถึงมลพิษทางทะเลส่งผลให้เกิดความรุนแรงและเกิดการระบาดของโรคในปะการังได้เช่นกัน แต่สาเหตุที่แน่นอนของการเกิดโรคปะการังส่วนใหญ่ยังคงไม่แน่ชัด เชื่อกันว่าอาการของโรคเกิดจากการตอบสนองจากหลายปัจจัยรวมกัน โดยโรคปะการังเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อกลุ่มประชากรของปะการัง เช่น ความหลากหลายทางชีวภาพและอัตราการสืบพันธุ์ เนื่องจากโรคปะการังเป็นภาวะคุกคามที่ส่งผลต่อเนื้อเยื่อและโครงสร้างปะการังโดยตรง จึงเป็นผลทำให้เกิดความเสื่อมโทรมในแนวปะการังและส่งผลกระทบต่อความหลากหลายของระบบนิเวศปะการังลดน้อยลง (ICRI/UNEP-WCMC., 2010) ปัจจุบันมีรายงานการค้นพบโรคปะการังที่เกิดขึ้นทั่วโลกมากกว่า 35 ชนิด (Lesser et al., 2007) แต่ในประเทศไทยมีรายงานการศึกษาเรื่องโรคปะการังและสาเหตุของการเกิดโรคปะการังน้อยมาก Puchim et al. (2012) พบระบาดของโรค pink line syndrome: PLS (โรคแถบสีชมพู) เพิ่มมากขึ้นในปะการังโขด (*Porites lutea*) ทั้งนี้มีแนวโน้มที่โรคปะการังจะมีการระบาดเพิ่มขึ้นในบริเวณที่มีการพัฒนาชายฝั่ง การขนส่งสินค้าและการท่องเที่ยวซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดความเสื่อมโทรมของแนวปะการังเพิ่มมากขึ้นด้วย

ดังนั้นการศึกษาคั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการระบาดของโรคปะการังและชนิดของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค pink line syndrome ในปะการังโขด (*P. lutea*) บริเวณแนวปะการังเขตน้ำตื้นของเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการศึกษาวิจัย รวมทั้งเพื่อเป็นแนวทางป้องกันในการลดความเสียหายของแนวปะการังจากการเกิดโรคปะการังที่อาจจะเกิดขึ้นต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความชุก (disease prevalence) ของโรคปะการัง (coral diseases) ในแนวปะการังเขตน้ำตื้นของหมู่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี
2. ศึกษาชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเด่นที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค pink line syndrome (โรคแถบสีชมพู) ในปะการังโขด (*Porites lutea*) ในแนวปะการังเขตน้ำตื้นของหมู่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี
3. ศึกษาผลของการใช้อุณหภูมิเหนี่ยวนำ (water temperature inducing) ปะการังโขดให้เกิดโรค pink line syndrome โดยแบคทีเรียกลุ่มเด่นในห้องปฏิบัติการ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสถานภาพการระบาดของโรค pink line syndrome และโรคปะการังชนิดอื่นๆ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาของการเกิดโรคปะการัง และแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค pink line syndrome ในแนวปะการังในแนวปะการังเขตน้ำตื้นของกลุ่มเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี
2. ทราบข้อมูลของการเกิดโรคในแนวปะการังเพื่อประเมินสถานภาพความสมบูรณ์ของแนวปะการัง รวมไปถึงการติดตามสถานการณ์การระบาด และการป้องกันของโรคปะการังในอนาคต

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ปะการัง (Coral)

ปะการังเป็นสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลังจำพวกเดียวกับดอกไม้ทะเลและกัลปังหา ถูกจัดอยู่ใน Phylum Cnidaria, Class Anthozoa, Subclass Zoantharia, Order Scleractinia ปะการังสามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ แบบไม่อาศัยเพศจะสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อหรือ budding ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนั้นจะมีความสัมพันธ์กับวิถีของพระจันทร์ (lunar cycle) คือ ปะการังจะมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ช่วงขึ้น 15 ค่ำไปจนถึงแรม 3 ค่ำ โดยจะปล่อยสเปิร์มและไข่ออกมาพร้อมกันเพื่อผสมกันในน้ำทะเล แต่มีปะการังบางส่วนจะมีการผสมพันธุ์กันภายในตัว เนื่องจากปะการังหลายชนิดมีสองเพศในตัวเดียวกัน (hermaphrodite) ไข่ที่ถูกผสมแล้วจะเจริญอยู่ในช่องว่างกลางลำตัว (gastrovascular cavity) ของตัวพ่อหรือตัวแม่จนเป็นตัวอ่อนระยะ planula ก่อนถูกปล่อยออกมาทางปากโดยมีขนาดประมาณ 1-3 มิลลิเมตร และจะว่ายน้ำอยู่ระยะหนึ่งจนในที่สุดจะจมตัวลงสู่พื้นทะเลที่เหมาะสมเช่น ก้อนหิน หรือปะการังที่ตายแล้วเมื่อลงเกาะแล้วจะขยายพันธุ์ด้วยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศต่อไป ปะการังมักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มที่เรียกว่า colony โดยแต่ละ colony จะมีลักษณะและรูปร่างที่แตกต่างกันออกไป จากรูปร่างภายนอกของปะการังที่มีลักษณะเด่นที่แตกต่างกัน การพัฒนาของแนวปะการังจะเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ที่ได้รับอิทธิพลของคลื่นที่รุนแรงเนื่องจากคลื่นจะนำอาหาร แร่ธาตุและออกซิเจนมาสู่แนวปะการัง รวมทั้งช่วยแพร่กระจายตัวอ่อนของปะการังและช่วยให้ไม่เกิดการตกตะกอนทับถมแนวปะการังอีกด้วย ปะการังแข็งเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิประมาณ 20-28 องศาเซลเซียส ความเค็มมีค่าประมาณ 30-36 psu ด้วยเหตุนี้จึงพบแนวปะการังเฉพาะในน่านน้ำเขตร้อนและอบอุ่นเท่านั้น

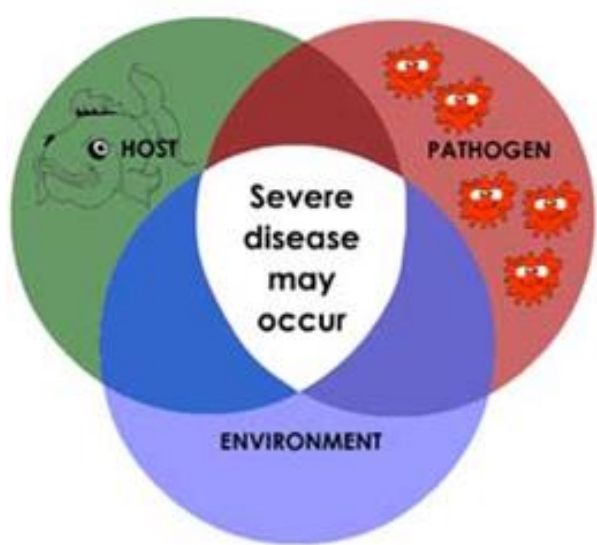
2.2 ปะการังโหนด (*Porites lutea*)

ปะการังโหนด (*Porites lutea*) เป็นปะการังใน Family Poritidae ลักษณะทั่วไปมีรูปร่างเป็นก้อน แต่เป็นลักษณะรูปร่างที่ไม่แน่นอน มีทั้งที่เป็นก้อนขนาดเล็กๆ ไปจนถึงโขดขนาดใหญ่ 3-5 เมตร ปะการังโหนดมีลักษณะเด่นคือ corallite จะมีรูพรุนและมีผนังที่แยกกันชัดเจนซึ่งแต่ละ corallite จะมีลักษณะเป็นช่อง 5-6 เหลี่ยมมีขนาดไม่เกิน 2 มิลลิเมตร และ septa จะผสมติดกัน จึงทำให้เป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์ขุดเจาะ (bioeroders) และสัตว์กัดแทะ (predation scars) ปะการังโหนดเป็นปะการังชนิดที่พบได้ทั่วไปและมีจำนวนมากที่สุดชนิดหนึ่งทั้งในเขตอินโดแปซิฟิกและบริเวณหมู่เกาะทะเลใต้ ส่วนใหญ่มักพบในน้ำที่ระดับความลึก 6 เมตร แต่ไม่เกิน 9 เมตร มักเป็นปะการังชนิดเด่นที่พบในเขตปะการังพื้นราบ (reef flat) ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ใกล้ฝั่งจึงได้รับผลกระทบจากน้ำขึ้นน้ำลงอย่างชัดเจน เนื่องจากกระแสน้ำไม่เพียงแต่จะพัดพาอาหารให้แก่ปะการังเท่านั้นยังพัดพาตะกอนต่างๆ ทำให้น้ำเกิดความขุ่นอันเนื่องมาจากตะกอนที่ถูกกระแสน้ำพัดมาทับถมบนตัวของปะการัง ประเทศไทยมีปะการังโหนดเป็นปะการังชนิดเด่นที่มีการครอบคลุมพื้นที่มากที่สุด โดยจะพบได้ทั้งในฝั่งทะเลอ่าวไทยและอันดามัน (Phongsuwan & Chansang, 1992) ปะการังโหนดที่พบมีหลายสีทั้งสีน้ำตาล สีเหลือง น้ำตาล สีเทา และในบางพื้นที่จะพบสีม่วงปะปนอยู่เล็กน้อยหรืออาจเป็นสีม่วงทั้งโคลนเนื่องจากสาหร่าย zooxanthellae ที่อาศัยอยู่ร่วมกันกับปะการังจึงทำให้เกิดสีสีนต่างๆ ขึ้น ปะการังโหนดสามารถเจริญอยู่ได้ทั้งในน้ำขุ่นและน้ำใส อีกทั้งยังสามารถทนทานต่อตะกอนและการรบกวนจากมนุษย์ได้ดีจากการสร้างเมือกขึ้นมาปกคลุมตัวเองเพื่อตัดตะกอนจากนั้นจึงขับแผ่นเมือกพร้อมตะกอนออกไป นอกจากนี้ปะการังโหนดยังเป็นปะการังที่มีความทนทานต่อภัยธรรมชาติต่างๆ ทั้งแรงกระแทกจากคลื่นลมมรสุม หรือแม้แต่การฟอกขาวของปะการัง แต่ปะการังโหนดสามารถเจริญเติบโตได้ช้าประมาณ 1-4 เซนติเมตรต่อปี (Fenner, 2005)

2.3 โรคปะการัง (Coral Disease)

โรคปะการัง (coral disease) เป็นสภาวะของปะการังที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้าต่างๆ ทั้งทางด้านชีวภาพและกายภาพ ที่ทำให้ปะการังอ่อนแอและส่งผลให้เกิดความเสื่อมโทรมของแนวปะการัง ด้านชีวภาพนั้นเกิดจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น แบคทีเรีย โปรโตซัว รา หรือไวรัส

เป็นต้น ส่วนในด้านกายภาพนั้นเกิดจากผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมทางกายภาพ เช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเล รวมไปถึงกิจกรรมของมนุษย์ที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมทางทะเลและชายฝั่ง โดยการเกิดของโรคปะการังประกอบได้ด้วย 3 ปัจจัย (ภาพที่ 1) คือ 1) โฮสต์หรือตัวของปะการัง เช่น อายุ ชนิดพันธุ์ และภูมิต้านทานโรค 2) เชื้อโรค เช่น แบคทีเรีย ปรสิตร และความรุนแรงของเชื้อที่ก่อโรค และ 3) สภาพแวดล้อม เช่น คุณภาพของน้ำ เช่น อุณหภูมิ ความขุ่นของน้ำ



ภาพที่ 1 ปัจจัยการเกิดโรคในปะการัง (DAFF, 2009)

การเกิดโรคปะการังมีความสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อม (environment) เชื้อก่อให้เกิดโรค (pathogen) และสัตว์ (host) โดยปัจจัยเหล่านี้สามารถทำให้ปะการังเกิดโรคได้ คือ เมื่อตัวของปะการัง เชื้อก่อโรค และสภาพแวดล้อมที่มีความเหมาะสมจะทำให้เกิดโรคในปะการังขึ้น นอกจากนี้ความแปรผันของฤดูกาลในปัจจุบันส่งผลต่อความรุนแรงการระบาดของโรคตามปัจจัยของสภาพแวดล้อมในด้านต่างๆ โดยเฉพาะความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะโลกร้อนทำให้ปะการังมีลักษณะตอบสนองต่อการเกิดโรคตามกลุ่มอาการต่างๆ เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ 4 ลักษณะตามการศึกษาของ Weil & Hooten (2008) ดังนี้

1. ลักษณะการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อปะการังที่ผิดปกติ เช่น การเกิดเนื้องอก (tumor, growth anomaly)
2. ลักษณะการสูญเสียเนื้อเยื่อของปะการัง (tissue loss) คือ ปะการังมีการสูญเสียเนื้อเยื่อซึ่งเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ และการกัดแทะของสิ่งมีชีวิตที่เป็นผู้ล่า (predator) เช่น ปลานกแก้ว ปลาผีเสื้อ และสัตว์ขุดเจาะ (bioeroders) ที่ทำให้เนื้อเยื่อปะการังเกิดเป็นบาดแผล เช่น โรคแถบขาว (white syndrome) โรคจุดเปื่อยสีขาว (ulcerative white spot disease) โรคจุดขาว (white spot disease) และโรคจุดชมพู (pink spot disease)
3. ลักษณะการเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อ (tissue discolouration) เกิดจากการย้ายหนีหรือตายไปของสาหร่าย zooxanthellae หรือสีที่เกิดจากปฏิกิริยาเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียบางชนิด โดยที่ปรากฏจะแตกต่างกันออกไปตามแต่ละชนิดของจุลินทรีย์ เช่น การฟอกขาว (bleaching) จุดฟอกขาว (focal bleaching) โรคแถบเหลือง (yellow band disease) โรคแถบดำ (black band disease) และโรคแถบสีชมพู (pink line syndrome disease) เป็นต้น
4. ลักษณะการเกิดอาการต่างๆร่วมกันที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพปะการัง (compromise health) เช่น การสูญเสียเนื้อเยื่อปะการังจากการทับถมของตะกอน (sediment damage) และการติดเชื้อจากไส้เดือนทะเล (brown flatworm) พบอาการบริเวณผิวปะการังเป็นลักษณะสีน้ำตาลในเนื้อเยื่อชั้นในปะการัง

นักวิทยาศาสตร์ได้เริ่มศึกษาสาเหตุของการเกิดโรคในปี 1980 โดย Peters et al. (1983) ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากปะการังที่เกิดโรค แต่ชนิดของแบคทีเรียที่พบนั้นยังไม่สามารถยืนยันถึงการทำให้เกิดโรคในปะการังได้จนกระทั่งปี 1990 Kushmaro et al. (1996) รายงานว่าเชื้อรา *Aspergillus sydowii* เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในกัลปังหา *Gorgonia ventalina* และปะการังบางชนิดเกิดการสูญเสียของเนื้อเยื่อ และทำให้เหลือเพียงโครงสร้างแข็งที่เป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (Geiser et al., 1998) หลังจากนั้นนักวิทยาศาสตร์ได้เริ่มศึกษาเชื้อใน Family Vibrionaceae จากโรคปะการังพบว่าเชื้อ *Vibrio shiloi* เป็นสาเหตุของการเกิดปะการังฟอกขาวในปะการัง *Oculina*

patagonica อีกด้วย โดยปัจจัยที่ทำให้แบคทีเรียเกิดความรุนแรงต่อการเกิดโรค (virulence factors) คือ ความรุนแรงของแบคทีเรียที่ทำให้แสดงอาการของโรคตามคุณสมบัติของเชื้อชนิดนั้นๆ เช่น toxin, enzyme, capsule เป็นต้น โดยสามารถจำแนกกลุ่มของเชื้อตามบทบาทของเชื้อดังนี้ 1) เกาะติดกับ host cell และเจริญเติบโตได้ (adherence and colonization) 2) แบคทีเรียเติบโตภายในเซลล์ (intracellular growth) และ 3) ปัจจัยพิเศษเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละชนิด ซึ่งโรคของปะการังที่พบมักเรียกตามสีที่ปรากฏจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค เช่น สีดำ สีขาว สีชมพู หรือสีเหลือง Weil & Hooten (2008) สรุปตัวอย่างของโรคปะการังที่มีรายงานในปัจจุบัน (ภาพที่ 2) ดังนี้

โรค black band disease (BBD) ลักษณะที่เห็นคือ วงหรือแถบสีดำหรือสีน้ำตาลแดง หรืออาจเห็นเป็นแผ่นเส้นใยหรือเป็นฝอย เกิดจากไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งจะทำลายเนื้อเยื่อปะการังและขยายไปตามพื้นผิวปะการังจนทำลายเนื้อเยื่อทั้งหมดจนเหลือแต่โครงสร้างหินปูน มักเกิดในกลุ่มปะการังวงแหวน (*Montastraea* spp.) ปะการังดาวใหญ่ (*Diploria* spp.) เป็นต้น

โรค white-band disease (WBD) ลักษณะที่เห็นคือ วงสีขาวหรือเหลือง หรือเนื้อเยื่อปะการังสีซีดขาว หรือเหลือแต่โครงสร้างหินปูน เกิดจากแบคทีเรียจำพวก *Vibrios* โดยบางครั้งพบเป็นแถบกว้างหลายเซนติเมตร ปะการังที่เกิดโรคนี้อาจสูญเสียน้ำเนื้อเยื่อปะการัง มักเกิดกับปะการังกลุ่มปะการังเขากวาง (*Acropora* spp.)

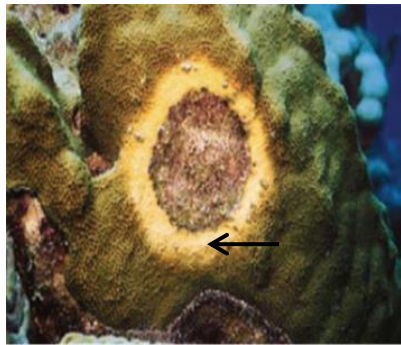
โรค red band disease (RBD) ลักษณะที่เห็นคือ วงหรือแถบสีแดงหรือสีม่วงเข้มอมน้ำตาล เกิดจากไซยาโนแบคทีเรียซึ่งทำลายเนื้อเยื่อปะการัง ทำให้เหลือแต่โครงสร้างหินปูน เกิดกับกัลปังหา และในปะการังแข็งบางชนิด

โรค white plague disease (WPS) ลักษณะที่เห็นคือ แถบสีขาวกว้าง บริเวณขอบระหว่างส่วนที่เป็นโรคกับปะการังที่ปกติจะเห็นชัดเจน โรคชนิดนี้เกิดจากเชื้อแบคทีเรียเกิดในกลุ่มปะการังไฟ (*Millipora* spp.) และปะการังวงแหวน (*Montastraea* spp.) เป็นต้น

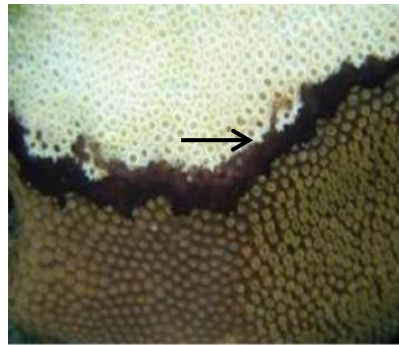
โรค yellow band disease (YBD) ลักษณะที่เห็นคือ แถบวงกว้างสีเหลืองขนาด 1-5 เซนติเมตร จะแผ่ขยายออกไปเรื่อยๆ ทำลายเนื้อเยื่อปะการัง เกิดจากเชื้อในกลุ่ม Vibrios พบเกิดกับปะการังวงแหวน (*Montastraea* spp.) ปะการังดาวใหญ่ (*Diploria* spp.) เป็นต้น

โรค growth anomaly (GA) ลักษณะที่เห็นคือ ตุ่มหรือเนื้องอกที่เจริญผิดปกติบนผิวปะการัง โดยตุ่มหรือเนื้องอกนี้จะมีสีแตกต่างจากปะการังปกติหรือมีสีซีดขาว ทั้งนี้ยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าอาจเกิดจากเชื้อรา โปรโตซัว ไวรัส หรือความผิดปกติทางพันธุกรรม พบเกิดกับปะการังหลายชนิดในกลุ่มปะการังวงแหวน (*Montastraea* spp.) ปะการังดาวใหญ่ (*Diploria* spp.) ปะการังเขากวาง (*Acropora* spp.)

โรคปะการังบางชนิดจะเกิดจากเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคเพียงชนิดเดียว แต่อีกหลายโรคที่พบมีความซับซ้อนกว่านั้น ตัวอย่างเช่นโรค black band disease ที่พบบริเวณทะเลแคริบเบียนและอินโดแปซิฟิก พบว่ามีเชื้อเกือบ 50 ชนิด ที่สามารถที่ก่อให้เกิดโรคชนิดนี้ได้ (Sekar et al., 2006) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบว่าแนวปะการังบริเวณฝั่งตะวันตกของมหาสมุทรแอตแลนติกเกิดโรคปะการังจำนวนมาก โดยการระบาดของโรคปะการังได้แพร่กระจายไปทั่วทุกเกาะของมหาสมุทรแอตแลนติก ซึ่งทำให้การระบาดของโรคปะการังเป็นปรากฏการณ์ที่พบได้ทั่วโลก เพียงแต่ยังไม่มีกรายงานการศึกษาเท่านั้น (Raymundo et al., 2005)



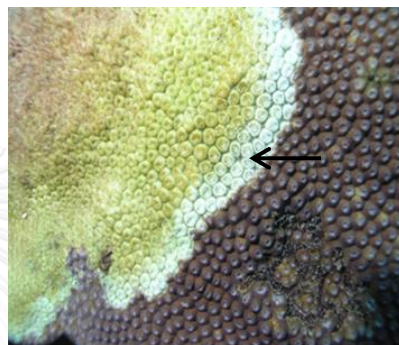
brown-band disease :BrBD (โรคแถบเหลือง)
(Cervino et al., 2008)



black-band disease :BBD (โรคแถบดำ)
(ICRI/UNEP-WCMC., 2010)



dark-spot disease :DSD (โรคจุดสีดำ)
(ICRI/UNEP-WCMC., 2010)



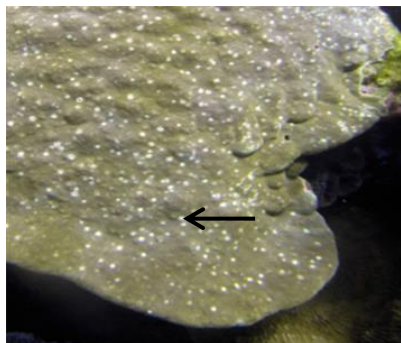
white band disease :WBD (โรคแถบขาว)
(ICRI/UNEP-WCMC., 2010)



white plague disease :WPS (โรคดวงขาว)
(Kritsanapuntu & Angkhananukroh, 2014)



white patch disease :WP (โรคต่างขาว)
(Kritsanapuntu & Angkhananukroh, 2014)



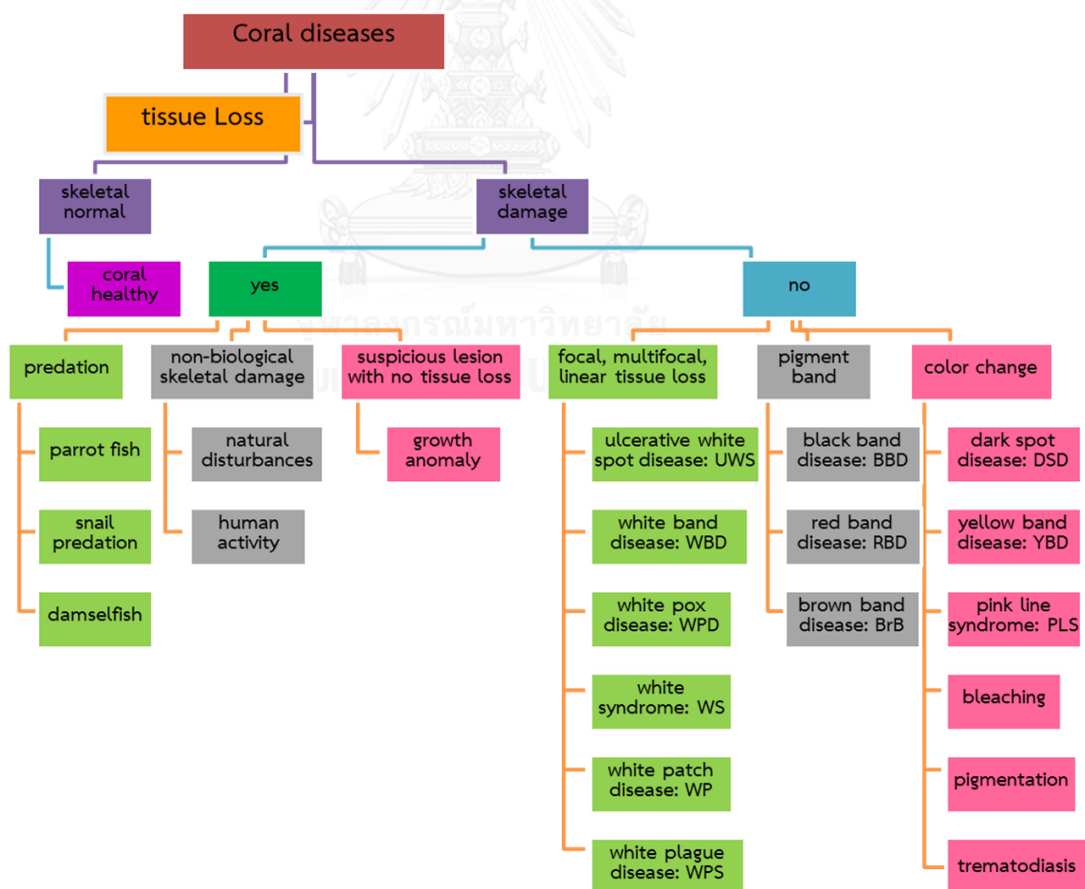
Ulcerative white spots :PUWS (โรคจุดขาว)
(Weil et al., 2012)



growth anomaly:GA (เนื้อเยื่อเจริญเติบโตผิดปกติ)
(Work et al., 2014)

ภาพที่ 2 ชนิดของโรคปะการัง

NOAA (2014) อธิบายหลักการที่ใช้ในการจำแนกชนิดของโรคปะการัง (coral disease identification) โดยอาศัยการลดลงของเนื้อเยื่อปะการังเป็นหลักเกณฑ์ คือ เมื่อปะการังเกิดการสูญเสียเนื้อเยื่อจะทำให้โครงสร้างของปะการังเปลี่ยนแปลงไป แต่ถ้าหากเนื้อเยื่อของปะการังไม่มีการเปลี่ยนแปลงจะถือว่าปะการังสุขภาพดี เมื่อโครงสร้างของปะการังเปลี่ยนไปจะสามารถจำแนกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อได้ออกเป็นสองกลุ่ม คือ ในกลุ่มแรกจะเกิดจากสัตว์นักล่า เช่น ปลานกแก้ว พวกสัตว์ขูดเจาะ การเข้ามาอาศัยร่วมกันของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น หรือแม้กระทั่งการกระทำของมนุษย์ รวมไปถึงภัยจากธรรมชาติที่ทำให้โครงสร้างแข็งของปะการังเกิดความเสียหาย และกลุ่มที่สองจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตัวปะการังเองโดยแสดงออกมาในลักษณะต่างๆ เช่น การเกิดเส้นของสี การเปลี่ยนแปลงสีของรงควัตถุทำให้เกิดแถบสี หรือการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อเยื่อทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น UWS, WBD, BBD, RBD, DSD, PLS และการฟอกขาว รวมไปถึงกิจกรรมอื่นๆ ที่ทำให้ปะการังเสียหาย ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 หลักการจำแนกชนิดโรคปะการัง (coral disease identification) (NOAA, 2014)

ประเทศไทยยังมีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับโรคปะการังอยู่น้อยมาก Kenkel (2008) พบโรคปะการัง 4 โรคคือ white syndrome, pink-line syndrome, black band disease และ Aspergillois ในแนวปะการังของไทยทั้งบริเวณอ่าวไทยและทะเลอันดามัน นอกจากนี้ยังรายงานว่ามีโรคปะการังเกิดในบริเวณที่มีการพัฒนาชายฝั่งและกิจกรรมการท่องเที่ยวต่างๆ มากกว่าบริเวณอื่นๆ อาทิเช่น ชายฝั่งด้านตะวันตกของเกาะภูเก็ต เกาะพีพี เกาะหลีเป๊ะ และเกาะเต่า Donsomjit & Yeemin (2010) รายงานว่าส่วนใหญ่ของปะการังบริเวณเกาะล้าน จังหวัดชลบุรี เป็นโรคจุดสีชมพู (pink spot disease) และโรคแถบขาว (white band disease) แสดงถึงผลกระทบจากการท่องเที่ยวของบริเวณดังกล่าว และได้ศึกษารูปแบบของโรคสีชมพู (pink syndrome) ในปะการังโขด *P. lutea* บริเวณเกาะล้าน พบว่าอาการของโรคสีชมพูมี 4 แบบ คือ จุดสีชมพู (pink spot) วงสีชมพู (pink circle) แถบสีชมพู (pink patch) และเนื้องอกสีชมพู (pink tumor) Weil (2004) พบว่าปะการังเป็นโรคเพิ่มมากขึ้นบริเวณทะเลอินโดแปซิฟิกทั้ง ออสเตรเลีย ฮาวาย ฟิลิปปีนส์ และอินโดนีเซีย โดยตั้งแต่ปี 1998-2003 บริเวณ Great Barrier Reef พบโรค white syndrome เพิ่มขึ้น 20 เท่า ซึ่งสิ่งแวดล้อมจะมีผลต่อความรุนแรงและการเปลี่ยนแปลงของโรคปะการัง โดยจะเพิ่มการแพร่กระจายและความรุนแรงของโรค นอกจากนี้ความผิดปกติของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในมหาสมุทรสามารถทำให้ปะการังมีความอ่อนแอและก่อให้เกิดโรคได้ และยังนำไปสู่การระบาดของบริเวณที่มีปะการังสมบูรณ์ นอกจากนี้ปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ ที่สามารถเพิ่มความไวต่อโรคปะการังได้คือ การตกตะกอน ความขุ่น และสารอาหารในทะเล Cervino et al. (2008) ได้ศึกษาโรคปะการังในบริเวณอุทยานแห่งชาติทางทะเลวากาโตปี ตะวันออกเฉียงใต้ของเกาะสุราเวสี ประเทศอินโดนีเซีย ในระหว่างปี 2005 และปี 2007 โดยพบว่าจำนวนชนิดของปะการังที่เป็นโรคปะการังลดลง แต่พบโรคเพิ่มขึ้นหลายชนิด และพบว่าปะการังโขด (*Porites* sp.) และปะการังผิวเกล็ดน้ำแข็ง (*Montipora* sp.) ซึ่งเป็นปะการังชนิดเด่นบริเวณนี้ เกิดโรครมากกว่าปะการังชนิดอื่น โดยเฉพาะปะการังโขด ที่พบว่าเป็นโรคได้ถึง 3 โรค คือ โรค white syndrome โรค growth anomalies และโรค porites ulcerative white spot disease และเมื่อเปรียบเทียบการแพร่กระจายของโรคกับแนวปะการังตามระดับความลึก พบว่าในปี 2005 ปะการังในเขตน้ำตื้นเป็นโรครมากที่สุด ในขณะที่ในปี 2007 ปะการังบริเวณเขตน้ำลึกเป็นโรครมากกว่าบริเวณเขตน้ำตื้น และในปี 2005 พบปะการัง 13 ชนิดที่เป็นโรคร ในขณะที่ในปี 2007 มีปะการังเพียง 5 ชนิดเป็นโรคร ซึ่ง *Montipora* sp., *Acroporidae* sp. และ *Porites* sp. เป็นปะการังที่พบว่าเป็นโรครทั้ง 2 ปี (Weil et al., 2012)

2.4 Pink Line Syndrome (PLS) หรือ โรคแถบสีชมพู

pink line syndrome (PLS) หรือ โรคแถบสีชมพู เป็นลักษณะความผิดปกติของปะการังที่อ่อนแอ หรือเกิดการตาย โรคชนิดนี้พบได้มากในปะการังโขด (*P. lutea*) (Ravindran & Raghukumar, 2006) ลักษณะของรอยโรค (lesion) มีรูปร่างไม่แน่นอน โดยเกิดเป็นลักษณะเป็นแผล หรือจุดสีชมพูขนาด 3-5 มิลลิเมตรขึ้นบนโคโลนีของปะการัง ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อไฮยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Phormidium valderianum* เข้าไปยับยั้งการสังเคราะห์แสงทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เนื้อเยื่อของปะการังเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา รวมถึงการสูญเสียของสาหร่าย zooxanthellae บางส่วนไป อีกทั้งปัจจัยทางสภาพแวดล้อม เช่น pH อุณหภูมิของน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงอย่างกะทันหัน ทำให้ผลึกแคลเซียมในตัวปะการังลดลงจึงส่งผลต่อการเกิดเป็นแถบสีชมพูเพิ่มมากขึ้น และการตายของปะการังได้ (ลลิตา ปัจฉิม และคณะ, 2553) Ravindran & Raghukumar (2006) รายงานว่าโรค pink line syndrome มีการสำรวจพบครั้งแรกบริเวณของเกาะ Kavaratti ในประเทศอินเดีย ในปี 2001 หลังจากนั้นได้พบระบาดของโรค pink line syndrome ไปยังแถบอินโดแปซิฟิก โดยมีอัตราการระบาดของโรคเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปะการังในบริเวณนี้อ่อนแอลง อันเนื่องมาจากปริมาณของสาหร่าย zooxanthellae ในตัวปะการังได้ลดจำนวนลงเหลืออยู่น้อยหรือไม่พบเลย ซึ่งเกิดจากไฮยาโนแบคทีเรียเข้าไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง และเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ในเนื้อเยื่อปะการังมากเกินไปทำให้สาหร่าย zooxanthellae ถูกขับออกมา หรือหนีย้ายออกมาจากเนื้อเยื่อของปะการัง จึงเป็นการหยุดกระบวนการพึ่งพาอาศัยกันระหว่างปะการังกับสาหร่าย zooxanthellae ทำให้ปะการังเกิดความเครียด อีกทั้งไฮยาโนแบคทีเรียยังทำให้เกิดการบวมในชั้น gastrodermal ของเนื้อเยื่อปะการัง และยังมีการสร้างเส้นใยเข้าไปยึดกับโครงสร้างแข็งของปะการังเอาไว้ส่งผลให้ผนังในชั้นของ corallite เกิดความเสียหายของโครงสร้างแข็งและแสดงลักษณะแถบสีชมพูออกมา (ภาพที่ 4) โดยโรค pink line syndrome นอกจากจะพบในปะการังโขด *P. lutea* แล้วยังพบในปะการังโขด *P. lobata* อีกด้วย (Abdel-Salam et al., 2014) นอกจากนี้ยังมีการศึกษารูปแบบของโรคสีชมพูในปะการังโขด (*P. lutea*) บริเวณเกาะล้าน จังหวัดชลบุรี พบว่ารูปแบบของโรคปะการังสีชมพู 4 แบบคือ วงสีชมพู (pink circle) มากที่สุด 60.28 เปอร์เซ็นต์ จุดสีชมพู (pink spot) แถบสีชมพู (PLS) และเนื้องอกสีชมพู (pink tumor) ซึ่งพบน้อยสุดเพียง 1.37 เปอร์เซ็นต์ (วัชรชัย ดอนสมจิตร และธรรมศักดิ์ ยี่มิน, 2553) และยังพบ

โคโลนีปะการังบางส่วนที่มีลักษณะแผลสีชมพูอันเนื่องจากสิ่งมีชีวิตชุดเจาะ สัตว์ชุดกินสาหร่าย สิ่งมีชีวิตที่แก่งแย่งพื้นที่ และการฝังตัวของหนอนตัวแบน ซึ่งแผลในลักษณะนี้จะไม่ถือว่าเป็นโรค pink line syndrome อีกทั้งยังมีการสำรวจปะการังโหด (*P. lutea*) ในบริเวณทะเลอ่าวไทยและอันดามัน สำรวจปะการังโหดจำนวน 2,888 โคโลนี ในบริเวณทะเลอันดามันพบว่า พบเกิดโรค pink line syndrome 2.4 เปอร์เซ็นต์ และโรคจุดสีชมพู 35.3 เปอร์เซ็นต์ (ลลิตา ปัจฉิม และคณะ, 2553)

2.5 เชื้อก่อโรค (Pathogens)

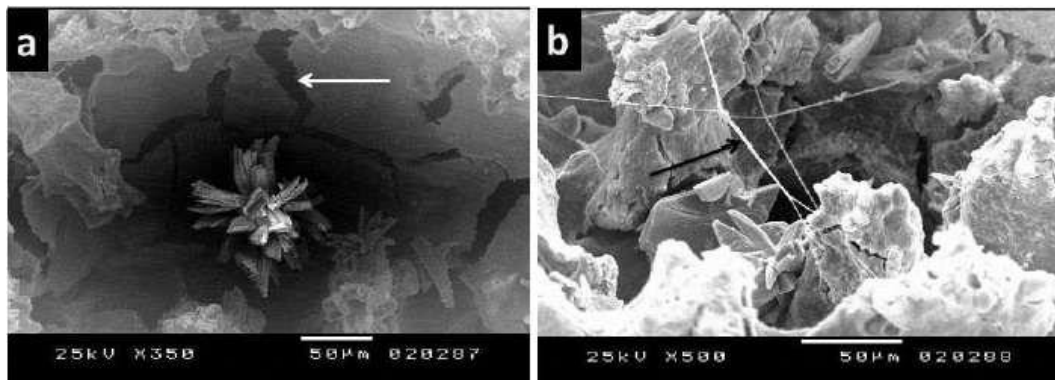
เชื้อก่อโรค (pathogens) คือเชื้อโรค หรือจุลชีพก่อโรคที่เมื่อเข้าสู่ร่างกายของคนหรือสัตว์ แล้วอาจก่อให้เกิดอาการเจ็บป่วยหรือติดเชื้อ โดยเรียกสิ่งมีชีวิตที่ก่อให้เกิดโรคเหล่านี้ว่า pathogen หรือ infectious agent ประกอบไปด้วย เชื้อไวรัส เชื้อริกเกตเซีย เชื้อแบคทีเรีย เชื้อโพรโตซัว เชื้อรา และอาจจะมีเชื้อชนิดอื่นๆ อีกมากที่ยังรอการศึกษา ซึ่งสามารถจำแนกชนิดตามโครงสร้างของเชื้อก่อโรค จากโครงสร้างที่มีความซับซ้อนน้อยหรือมีขนาดเล็กที่สุด ไปจนถึงเชื้อที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนมาก หรือมีขนาดใหญ่มากออกได้ 8 กลุ่มคือ prion, viruses, bacteria, rickettsiae, fungi, protozoa, ectoparasites และ bacteriophages โดยเชื้อแต่ละกลุ่มจะมีกระบวนการที่เข้าไปเจริญเติบโตในโฮสต์โดยการบุกรุก และเข้าไปเพิ่มจำนวนอยู่ในเนื้อเยื่อของโฮสต์ ทนทานต่อกระบวนการต้านทานของโฮสต์ และแสดงผลของการติดเชื้อที่แตกต่างกันออกไป (ละออง ชมพัทธร์, 2556) การศึกษาของชาวนรงค์ รอดคำ (2550) พบว่าทั้งในสัตว์น้ำจืดและน้ำเค็ม เช่น ปลานิล ปลาทับทิม ปลากระพง กุ้งกุลาดำ กุ้งขาว กุ้งแชบ๊วย หอยชนิดต่างๆ หรือกระทั่งสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำเช่น กบ เป็นต้น พบว่าโรคในสัตว์น้ำส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส รา โพรโตซัว และปรสิตต่างๆ โดยเฉพาะแบคทีเรียในกลุ่มของ *Vibrio* spp. ที่พบได้ทั่วไปทั้งในแหล่งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม โดยจะมีคนพีชน้ำ และสัตว์น้ำเป็นโฮสต์อาศัยทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ เช่น *V. vulnificus* ทำให้เกิดโรคเสี้ยนดำในกุ้งกุลาดำ *V. harveyi* ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้ง และ *V. tapetis* ก่อโรคในหอยสองฝา (สุบัญญัติ นิมิตรณ์, 2551) Sheridan et al. (2013) รายงานว่าโรคปะการังส่วนใหญ่จะแสดงลักษณะความผิดปกติโดยการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อเยื่อทำให้ปะการังอ่อนแอ เช่น สีขาว สีดำ สีเหลือง สีชมพู หรือการสูญเสียของเนื้อเยื่อ ซึ่งสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ในปะการังเกิดขึ้นจากหลายปัจจัยร่วมกัน เช่น อุณหภูมิของน้ำทะเล ความเค็ม ปริมาณธาตุอาหาร และแสง รวมไปถึงเชื้อที่ก่อโรคทั้ง แบคทีเรีย รา โพรโตซัว และสัตว์ชุดเจาะชนิดต่างๆ ที่ใช้ปะการังเป็นที่อยู่อาศัย ทำให้ตัวของปะการังอ่อนแอและ

แสดงลักษณะของโรคออกมา เช่น ไฮยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Geitlerinema*, *Leptolyngbya* และ *Oscillatoria* ทำให้เกิดโรค black band disease (แถบสีดำ) ในปะการัง *Acropora* spp. โปรโตซัว *Philaster* sp. ทำให้เกิดโรค brown band disease (แถบสีน้ำตาล) ในปะการัง *Acropora* spp. แบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. เป็นสาเหตุของโรค ulcerative white spot disease (จุดสีขาว) ในปะการังชนิด *Porites* spp. และยังมีเชื้อก่อโรคอีกหลายชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคในปะการังและทำให้ปะการังตายได้ (ตารางที่ 1)

2.6 หมู่เกาะสีซัง (Sichang Island Group) จังหวัดชลบุรี

หมู่เกาะสีซัง (Sichang island group) จังหวัดชลบุรี เกาะเป็นหมู่เกาะที่อยู่ด้านบนสุดของอ่าวไทยตอนบน ห่างจากฝั่งอำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ไปทางทิศตะวันตกประมาณ 15 กิโลเมตร ขนาดของเกาะสีซังค่อนข้างใหญ่ มีพื้นที่ทั้งหมดประมาณ 6.0 ตารางกิโลเมตร มีเกาะขนาดต่างๆ รวมกัน 8 เกาะ คือ เกาะสีซัง เกาะยายท้าว เกาะค้ำควา เกาะท้ายตาหมื่น เกาะขามน้อย เกาะขามใหญ่ เกาะปรัง และเกาะร้านดอกไม้ โดยพบแนวปะการังอยู่บริเวณรอบเกาะค้ำควา เกาะยายท้าว และเกาะร้านดอกไม้ รวมขนาดพื้นที่แนวปะการังทั้งหมด 393.75 ไร่ (0.63 ตารางกิโลเมตร) (UNEP, 2547) ชนิดของปะการังที่พบเด่นๆ คือ ปะการังแบบก้อน (massive coral) ที่มีขนาดเล็กไปจนถึงขนาดใหญ่เช่น ปะการังโขด (*P. lutea*) ปะการังวงแหวน (*Favia* sp.) และปะการังแบบแผ่น (foliose coral) และแบบพุ่ม (sub-massive coral) เช่น ปะการัง *Pavona* sp. ปะการัง *Turbinaria* sp. และ ปะการัง *Pocillopora damicornis* (ทรรษา จรรย์แสง และคณะ, 2542) จากการสำรวจสภาพแนวปะการังในปี 2538 (กรมประมง, 2542) พบว่าแนวปะการังของเกาะสีซังอยู่ในสภาพสมบูรณ์มาก โดยเฉพาะบริเวณทิศเหนือของเกาะค้ำควา พบปะการังแข็งทั้งสิ้น 85 ชนิด โดยมีปะการังโขด (*P. lutea*) เป็นปะการังชนิดเด่นและยังพบปะการัง *Acropora formosa*, *Montipora hispida*, *Pavona frondifera*, *Platygyra daedalea* เป็นชนิดรองลงมา (Sakai et al., 1989) อีกทั้งเกาะสีซังเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่มีความสำคัญของชลบุรี และการเพิ่มขึ้นของประชากรทำให้มีการใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น กิจกรรมการท่องเที่ยว การประมง อีกทั้งการพัฒนาบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเล โดยเฉพาะท่าเทียบเรือน้ำลึก การเดินเรือ การขนถ่ายสินค้าต่างๆ รวมไปถึงอิทธิพลจากแผ่นดินใหญ่ ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศแนวปะการัง นอกจากนี้ทำให้เกิดปรากฏการณ์การฟอกขาว

ของปะการัง (coral bleaching) และยังมีรายงานว่าพบปะการังตายหลังจากการฟอกขาวบริเวณ
เกาะยายเท้าถึง 53.4 เปอร์เซ็นต์ (อนุภาพ พานิชผล และเผติมศักดิ์ จารยะพันธุ์, 2555)



ภาพที่ 4 การทำลายโครงสร้างแข็ง และการสร้างเส้นใยของไซยาโนแบคทีเรีย (Abdel-Salam et al., 2014)

ตาราง 1 เชื้อก่อโรคในปะการัง (Sheridan et al., 2013)

โรค	เชื้อก่อโรค	อ้างอิง
black band disease (BBD)	microbial consortium dominated by cyanobacteria (<i>Geitlerinema</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Pseudoscillatoria</i> spp.)	Cooney et al. (2002) Richardson (2004) Sussman et al. (2006) Rasoulouniriana et al. (2009)
brown band disease (BrB)	ciliate (<i>Philaster</i> sp.)	Bourne et al. (2008) Sweet and Bythell (2012)
dark spots syndrome (DSS)	fungi and bacteria (<i>Vibrio</i> spp.)	Gil-Agudelo and Garzon-Ferreira (2001)
red band disease (RBD)	microbial consortium dominated by Cyanobacteria (<i>Agaricia</i> spp.)	Richardson (1992) Sussman et al. (2006)
ulcerative white spot disease (UWS)	bacteria (<i>Vibrio</i> spp.)	Raymundo et al. (2003)
yellow band disease (YBD)	bacteria (<i>Vibrio</i> spp.)	Cervino et al. (2008) Weil et al. (2009) Cróquer et al. (2013)
white syndrome (WS)	<i>Vibrio</i> sp., <i>Arcobacter</i> sp.	Luna et al. (2010) Sussman et al. (2008) Sweet and Bythell (2012)
white pox disease	<i>Serratia marcescens</i>	Sutherland et al. (2010)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 พื้นที่ศึกษา (Study Site)

สถานที่ศึกษาในครั้งนี้คือแนวปะการังเขตนํ้าตื้นบริเวณหมู่เกาะสีชัง อำเภอเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี โดยกำหนดพื้นที่ศึกษา 3 พื้นที่ศึกษา (ภาพที่ 5) คือ

- เกาะขามใหญ่ (latitude 13.165658, longitude 100.826905) (ภาพที่ 6) เป็นตัวแทนของแนวปะการังที่คาดว่าจะได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์ เกาะขามใหญ่ตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะสีชัง เป็นแนวปะการังที่มีความเสื่อมโทรม โดยแนวปะการังบริเวณนี้ตั้งอยู่ห่างจากชุมชนบนเกาะสีชังประมาณ 0.5 กิโลเมตร และบนเกาะขามใหญ่เป็นที่ตั้งของชุมชนหมู่ที่ 8 ตำบลท่าเวียง นอกจากนี้รอบๆ เกาะขามใหญ่ยังมีเรือขนถ่ายสินค้ากลางทะเลขนาดใหญ่จอดเพื่อขนถ่ายสินค้า

- เกาะขามน้อย (latitude 13.174119, longitude 100.828166) (ภาพที่ 7) เป็นตัวแทนของแนวปะการังที่จะได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์ เกาะขามน้อยตั้งอยู่ทางด้านทิศเหนือของเกาะสีชัง เป็นแนวปะการังที่มีความเสื่อมโทรม โดยแนวปะการังบริเวณนี้ตั้งอยู่ห่างจากชุมชนบนเกาะสีชังประมาณ 0.7 กิโลเมตร และบนเกาะขามน้อยไม่มีการตั้งชุมชนบนเกาะ โดยรอบๆ เกาะขามน้อยจะมีเรือขนถ่ายสินค้าขนาดใหญ่จอดถ่ายสินค้าอยู่กลางทะเล

- เกาะค่างคว (latitude 13.118117, longitude 100.808206) (ภาพที่ 8) เป็นตัวแทนของแนวปะการังที่จะได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์น้อย ตั้งอยู่ทางด้านทิศใต้ของเกาะสีชัง เกาะค่างควเป็นแนวปะการังที่มีความสมบูรณ์ระดับดี โดยแนวปะการังบริเวณนี้ตั้งอยู่ห่างไกลจากชุมชนบนเกาะสีชังทางตอนใต้ของเกาะประมาณ 0.5 กิโลเมตร และบนเกาะค่างควไม่มีที่ตั้งชุมชน มีเพียงรีสอร์ตขนาดเล็กเพียงหนึ่งแห่งที่ไม่ค่อยมีการใช้บริการ นอกจากนี้เกาะค่างควยังถูกใช้เป็นสถานีอ้างอิงในการศึกษาวิจัยทางวิชาการเพราะเป็นแนวปะการังแห่งแรกของอ่าวไทยฝั่งตะวันออก



ภาพที่ 5 พื้นที่ศึกษาระดับภูมิภาคหมู่เกาะสี่ช้าง จังหวัดชลบุรี (1. เกาะขามน้อย 2. เกาะขามใหญ่ 3. เกาะคังคาว)



ภาพที่ 6 พื้นที่ศึกษาระดับภูมิภาคเกาะขามใหญ่ (Kham Yai Island)



ภาพที่ 7 พื้นที่ศึกษาบริเวณเกาะขามน้อย (Kham Noi Island)



ภาพที่ 8 พื้นที่ศึกษาบริเวณเกาะค้างคาว (Khang Khao Island)

3.2 ความชุกของโรคปะการัง (Disease Prevalence)

ศึกษาความชุกของโรคปะการัง (disease prevalence) ใน 2 ฤดูกาลคือ ฤดูฝน (เดือนกันยายน) และฤดูร้อน (เดือนเมษายน) ด้วยการใช้วิธีการสำรวจแบบ Belt-transect (English et al., 1997) โดยการวางเส้นแนวสำรวจ (line transect) ขนาด 2 x 20 เมตร จำนวน 3 แนวสำรวจ บนพื้นแนวปะการังในทิศทางขนานกับชายฝั่งของแต่ละพื้นที่ศึกษา ทำการจำแนกชนิดของโรคปะการัง และบันทึกจำนวนโคโลนีของของปะการังที่เป็นโรคตามวิธีการของ Weil & Hooten (2008) หลังจากนั้นจะนำจำนวนโคโลนีของปะการังที่ได้ไปคำนวณหาความชุกของโรค (disease prevalence) ตามวิธีการของ (Raymundo et al., 2005) ดังนี้

$$\text{ความชุกของโรค} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีของปะการังที่เป็นโรคในแนวสำรวจ} \times 100}{\text{จำนวนของโคโลนีของปะการังทั้งหมดในแนวสำรวจ}}$$

3.2.1 ศึกษาคุณภาพน้ำ

คุณภาพของน้ำทะเลจะทำการศึกษาบริเวณที่เก็บตัวอย่างความชุกของโรคปะการัง โดยทำเก็บตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณใต้ผิวน้ำ 100 เซนติเมตร และเหนือปะการังที่ศึกษา 30 เซนติเมตร และตรวจวัดพารามิเตอร์น้ำทะเลต่างๆ ประกอบด้วย อุณหภูมิอากาศและน้ำทะเล (air & seawater temperature) ความเค็ม (salinity) ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen) ความเป็นกรดต่าง (pH) และความเป็นด่าง (alkalinity) ดังแสดงในภาพที่ 9

3.2.2 วิเคราะห์ข้อมูล

นำค่าความชุกของโรคปะการัง และสภาพความสมบูรณ์ของของปะการังชนิด *P. lutea* มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว one-way analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.3 ชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Pathogen)

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำทะเลและเมือก (mucus) ของปะการังจากพื้นที่ศึกษาเดียวกันกับการศึกษาความชุกของโรคปะการัง (disease prevalence) ทั้ง 2 ช่วงฤดูกาล คือ ฤดูฝน (กันยายน) และฤดูร้อน (เดือนเมษายน) เก็บตัวอย่างน้ำทะเล 100 มิลลิลิตร และสุ่มเลือกโคโลนีปะการังที่เกิดโรค pink line syndrome มากที่สุด เพื่อเก็บเมือก (mucus) จากโคโลนีของปะการังที่เป็นโรค pink line syndrome โดยใช้กระบอกฉีดยา (syringe) (ภาพที่ 10) เก็บเมือกปะการังจำนวน 3 จุดสำรวจ (ภาพที่ 11.) ตามวิธีการของ Croquer et al. (2013) คือ 1. เมือกของปะการังในบริเวณที่เกิดโรคอย่างชัดเจน 2. บริเวณใกล้จุดที่เป็นโรค และ 3. บริเวณที่ปะการังไม่เป็นโรค หลังจากนั้นนำตัวอย่างน้ำทะเล และเมือกที่ได้จากปะการังทั้ง 3 จุดสำรวจ ไปเพาะเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการเพื่อคัดแยกกลุ่มของแบคทีเรียด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ประกอบด้วย bacto tryptic soy agar dehydrated (TSA, Difco®, USA), bacto thiosulfate citrate bile-salt sucrose dehydrated (TCBS, BBL®, USA) และ bacto macconkey agar dehydrated (Difco®, USA) จากนั้นคำนวณหาปริมาณของแบคทีเรียเพื่อดูแบคทีเรียกลุ่มเด่น ตามวิธีการของ มาลินี กิตกำธร (2550) หลังจากนั้นนำเชื้อกลุ่มเด่นที่ได้ไปทำการจำแนกชนิดของแบคทีเรียด้วยการทดสอบการเคลื่อนที่ (motility test) การย้อมแกรม และรูปร่างของเชื้อ (gram's stain and morphology) การสร้างเอ็นไซม์ออกซิเดส (oxidase test) และคุณสมบัติทางชีวเคมีด้วยชุดทดสอบแบคทีเรีย (Api 20E®, France) อีกทั้งเพิ่มจำนวนเชื้อที่จำแนกได้ลงในอาหาร bacto tryptic soy broth (TSB, Difco®, USA) หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียลงในหลอดไมโครเซนติพิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ปิดทับด้วยพาราฟินเหลว และนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งเพื่อนำไปศึกษาการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรคต่อไป

3.4 การเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (Disease Induction)

3.4.1 ตัวอย่างปะการังโหด (*P. lutea*)

เก็บตัวอย่างปะการังโหด (*P. lutea*) จากธรรมชาติโดยจะเลือกปะการังที่มีสภาพสมบูรณ์แข็งแรง (healthy colony) ที่ไม่เกิดความเครียดซึ่งจะสังเกตจากปะการังจะไม่มีอาการขับเมือกออกมา ยังบริเวณผิวของตัวปะการังเอง สีของปะการังเป็นสีน้ำตาล หรือน้ำตาลอมเหลืองที่สม่ำเสมอ ไม่มี

ร่องรอยการกัดแทะ หรือขูดเจาะของสัตว์ มาพักพื้นในบ่อพักพื้นเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อเตรียมปะการังไว้ทดลองในขั้นตอนต่อไป

3.4.2 ปรับและควบคุมอุณหภูมิน้ำทะเลในแต่ละตู้ทดลอง

เก็บน้ำทะเลในบริเวณสถานีสำรวจ มาทำการกรองฆ่าเชื้อ (sterile) ใส่ในกล่องพลาสติกใส ขนาด 11 x 21 x 15 เซนติเมตร กล่องละ 8 ลิตร จำนวน 6 กล่อง ทำการควบคุมอุณหภูมิของน้ำทะเลในกล่องทดลองโดยใช้ water bath .ให้มีอุณหภูมิตั้งที่ 3 อุณหภูมิ คือ 25.5-26.5 (อุณหภูมิต่ำ) 28.5-29.5 (อุณหภูมิห้อง) และ 31.5-32.5 (อุณหภูมิสูง) โดยในแต่ละอุณหภูมิจะทำการศึกษาอุณหภูมิละ 2 ชั่วโมง (2 กล่องทดลอง) หลังจากนั้นนำปะการังที่พักพื้นไว้มาใส่ในกล่องทดลองจำนวน 5 โคลนี ต่อ 1 กล่องการทดลอง โดยระบบกล่องเลี้ยงปะการังใช้ระบบน้ำนิ่ง ให้อากาศแรงปานกลางผ่านหัวทรายตลอดเวลาและให้แสงสว่างจากหลอดไฟลูออเรสเซนต์ 12 ชั่วโมง และปิด 12 ชั่วโมง

3.4.3 จุ่มปะการังในแบคทีเรียกลุ่มเด่น

นำแบคทีเรียกลุ่มเด่นที่ได้จาก 3.3 คือเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* มาละลายโดยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA โดยใช้วิธีการ streak plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส 18-24 ชม. หลังจากนั้นขูดเชื้อที่ได้ละลายในน้ำเกลือ (normal saline) 1.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นจะเพิ่มความแข็งแรงของแบคทีเรีย (virulence) โดยนำแบคทีเรียที่เตรียมไว้ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ฉีดเข้ากุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่บริเวณกล้ามเนื้อโคนหางเพื่อกระตุ้นความรุนแรงของเชื้อ ตามวิธีการของ Rattanaporn & Utarabhand (2011) สังเกตอาการของกุ้งเมื่อกุ้งตายภายใน 24 ชั่วโมง เก็บแบคทีเรียจากกุ้งในบริเวณของ hepatopancreas แล้วนำไปเพิ่มจำนวนเชื้ออีกครั้งในอาหาร TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส 18-24 ชม. หลังจากนั้นนำโคลนของแบคทีเรียที่ได้ไปละลายในน้ำเกลือสะอาด 1.5 เปอร์เซ็นต์ นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ตามวิธีการของ Prabakaran et al. (2012) เพื่อนำไปหาค่า standard curve (ภาพที่ 12) ตามสมการ $Y=aX+b$ เพื่อนำไปหาคำนวนหาความเข้มข้นของปริมาณเชื้อที่ 10^8 colony forming unit / millilitre หรือ cfu/ml ดังนี้

$$\begin{aligned}
 Y &= 184X + 10.917 \\
 &= 184(0.006) + 10.917 \\
 &= 12.021
 \end{aligned}$$

$$\text{หาค่า Anti-Log} = \log 12 + A \log 0.021 = 1.05 \times 10^{12}$$

ดังนั้นต้องการใช้เชื้อที่มีความเข้มข้น 10⁸ ปริมาณ 500 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned}
 \text{จาก } C_1V_1 &= C_2V_2 \\
 500 \times 10^8 &= C_2 \times 10^{12} \\
 C_2 &= 0.05
 \end{aligned}$$

หมายเหตุ

Y = ความเข้มข้นของเชื้อ

a = 184 (ค่า slope)

X = 0.006 (ค่าการดูดกลืนแสง)

b = 10.917 (ค่าจุดตัดแกน y)

C₁ = ความเข้มข้นสารละลายก่อนเจือจาง

C₂ = ความเข้มข้นสารละลายหลังเจือจาง

V₁ = ปริมาตรสารละลายก่อนเจือจาง

V₂ = ปริมาตรสารละลายหลังเจือจาง

จากการศึกษาต้องใช้เชื้อจากการวัดค่า OD. ที่ 0.006 ปริมาณ 0.05 มิลลิลิตรต่อน้ำ 500 มิลลิลิตรจะได้เชื้อที่มีความเข้มข้น 10⁸ cfu/ml

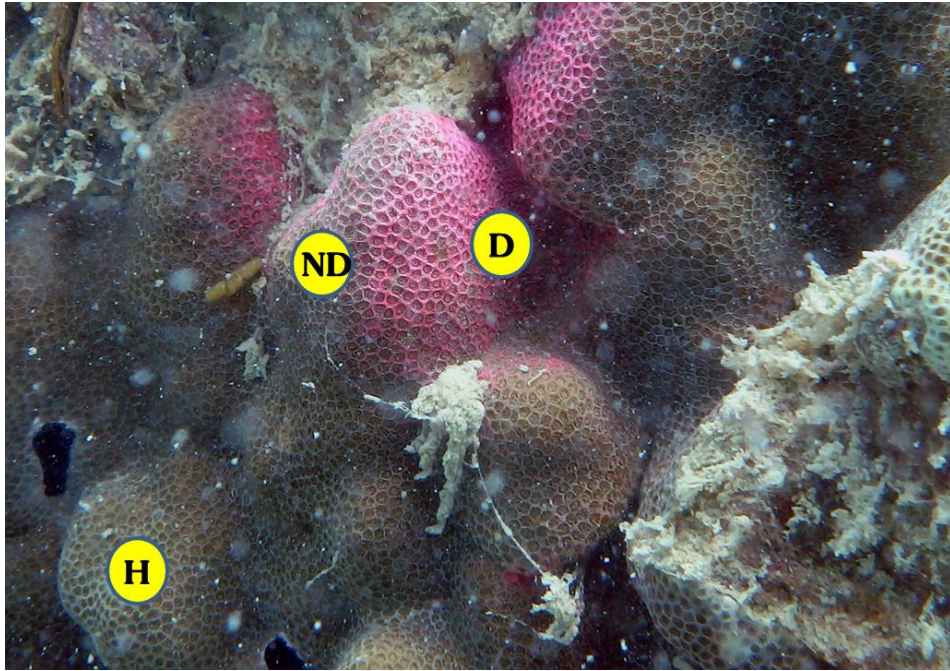
หลังจากนั้นนำปะการังทุกโคโลนีที่เตรียมไว้ในอุณหภูมิน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ 3 ระดับคือ อุณหภูมิน้ำทะเลปกติ (28.5-29.5 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิต่ำ (25.5-26.5 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิสูง (31.5-32.5 องศาเซลเซียส) มาจุ่มด้วย *Klebsiella pneumoniae* ที่ความหนาแน่นของเชื้อประมาณ 10⁸ cfu/ml ต่อน้ำทะเล 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำกลับไปใส่กล่องทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิน้ำไว้ข้างต้น หลังจากนั้นสังเกตบันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลง (gross diagnosis) และเก็บตัวอย่างเมือกของปะการังไปศึกษากลุ่มแบคทีเรียที่ก่อโรคในวันที่ 1 และ วันที่ 10 บันทึกการเปลี่ยนแปลงของปะการังแต่ละตู้กระจกทุกวันเป็นเวลา 10 วัน



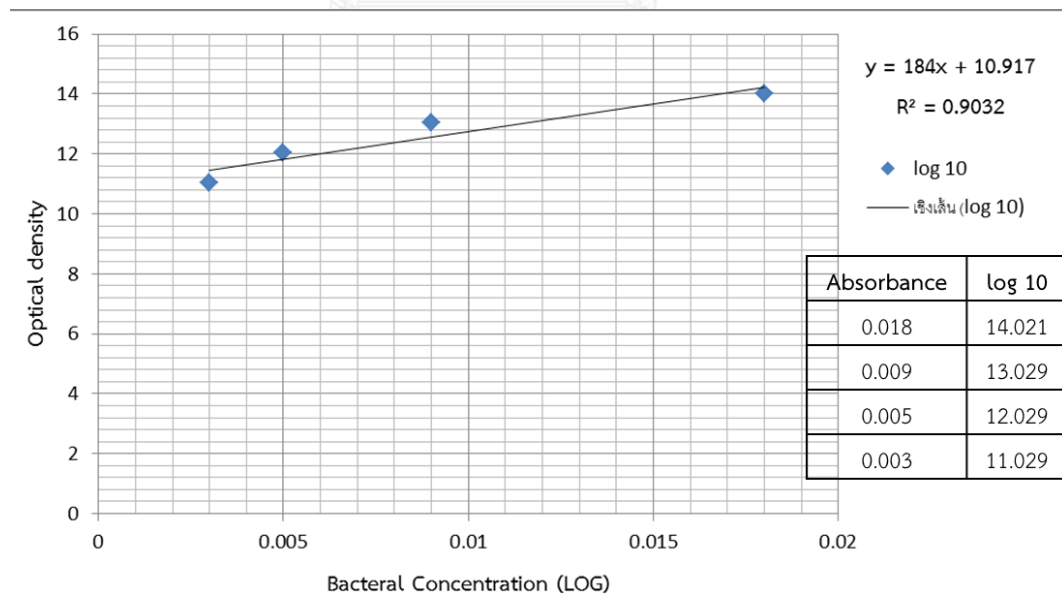
ภาพที่ 9 การศึกษาคุณภาพน้ำทะเลบริเวณสถานที่ศึกษาและเก็บตัวอย่าง



ภาพที่ 10 การเก็บเมือกปะการังโดยใช้กระบอกฉีดยา



ภาพที่ 11 บริเวณที่เก็บเมือก (mucus) จากปะการัง *P. lutea* 3 จุด (D. จุดที่เป็นโรค ND. จุดที่ใกล้โรค H. จุดที่ปะการังไม่เป็นโรค)



ภาพที่ 12 ค่า standard curve ของ *Klebsiella pneumoniae* ที่ใช้ในการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรค pink line syndrome

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 สถานภาพทั่วไปของชุมชนปะการัง (Status of Coral Communities)

การศึกษาสถานภาพทั่วไปของชุมชนปะการังของแต่ละสถานที่ศึกษาและเก็บตัวอย่างโรคปะการังทั้ง 3 พื้นที่ศึกษาพบว่า ชุมชนปะการังของเกาะค้างคาวมีความสมบูรณ์มากที่สุด รองลงมาคือเกาะขามใหญ่และเกาะขามน้อยตามลำดับดังนี้

ชุมชนปะการังเกาะค้างคาว (ด้านทิศเหนือ) พบชุมชนแนวปะการังมีสภาพสมบูรณ์ดีและมีปะการังมีชีวิตปกคลุมประมาณ 88.2 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปะการังโขด (*Porites lutea*) เป็นปะการังชนิดเด่น ปะการังที่พบส่วนใหญ่ประกอบด้วย ปะการังผิวยู่ยี่ (*P. (Synaraea) rus*) ปะการังรังผึ้ง (*G. pectinata*) ปะการังวงแหวน (*F. speciosa*) ปะการังลายดอกไม้ (*Pavana frondifera*) ปะการังลายดอกไม้ (*Pavana decussata*) ปะการังสมองร่องยาว (*Platygyra dacdalea*) และปะการังสมองร่องสั้น (*Platygyra pini*) (ภาพที่ 13)

ชุมชนปะการังเกาะขามใหญ่ (ด้านทิศเหนือ) พบชุมชนแนวปะการังมีสภาพสมบูรณ์ปานกลาง และมีปะการังมีชีวิตปกคลุมประมาณ 68.3 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปะการังโขด (*P. lutea*) เป็นปะการังชนิดเด่น ปะการังที่พบส่วนใหญ่ประกอบด้วยปะการังผิวยู่ยี่ (*P. (Synaraea) rus*) ปะการังรังผึ้ง (*Goniastrea pectinata*) ปะการังวงแหวน (*Favia speciosa*) ปะการังลายดอกไม้ (*Pavana frondifera*) ปะการังลายดอกไม้ (*Pavana decussata*) ปะการังสมองร่องยาว (*Platygyra dacdalea*) และปะการังสมองร่องสั้น (*Platygyra pini*) (ภาพที่ 13)

ชุมชนปะการังเกาะขามน้อย (ด้านทิศเหนือ) พบชุมชนแนวปะการังมีสภาพเสื่อมโทรม พบปะการังมีชีวิตอยู่น้อย มีเปอร์เซ็นต์การปกคลุมของปะการังที่มีชีวิตอยู่เพียง 25.2 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปะการังโขด (*P. lutea*) เป็นปะการังชนิดเด่น ปะการังที่พบส่วนใหญ่ประกอบด้วย ปะการังผิวยู่ยี่ (*P. (Synaraea) rus*) ปะการังรังผึ้ง (*G. pectinata*) ปะการังวงแหวน (*F. speciosa*) (ภาพที่ 13)



Porites lutea
ปะการังโขด



Porites (Synaraea) rus
ปะการังผิวขี้



Goniastrea pectinata
ปะการังรังผึ้ง



Favia speciosa
ปะการังวงแหวน



Pavana frondifera
ปะการังลายดอกไม้



Pavana decussata
ปะการังลายดอกไม้



Platygyra dactylea
ปะการังสมองร่องยาว



Platygyra pini
ปะการังสมองร่องสั้น



Galaxea spp.
ปะการังกาเล็กซี่

ภาพที่ 13 ปะการังชนิดเด่นที่พบบริเวณชุมชนปะการังเขตน้ำตื้นของหมู่เกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี

4.2 ความชุกของโรคปะการัง (Disease Prevalence)

การศึกษาความชุกของโรคในแนวปะการังเขตน้ำตื้นของเกาะขามใหญ่ เกาะขามน้อยและเกาะค้างคาวในระหว่างฤดูร้อนและฤดูฝนดังแสดงในตารางที่ 2 ผลการศึกษาพบว่าปะการังที่เป็นโรคมามากที่สุดคือปะการังโขด (*P. lutea*) รองลงมาคือปะการังลายดอกไม้ (*Pavona* spp.) ปะการังสมอง (*Platygyra* spp.) และปะการังเห็ด (*Fungia* spp.) โดยโรคที่พบบ่อยมากที่สุดคือโรค โรค pink line syndrome (PLS) หรือโรคแถบสีชมพู รองลงมาคือโรค white patch disease (ต่างขาว) โรค white plague disease (ดวงขาว) โรค yellow-band disease (แถบสีเหลือง) และ growth anomaly (เนื้อเยื่อเจริญเติบโตผิดปกติ) (ภาพที่ 14 - 18) โดยเมื่อนำไปถึงวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติจะแสดงออกมาเป็นค่าเฉลี่ย (\pm) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ดังแสดงในตารางที่ 2 คือ

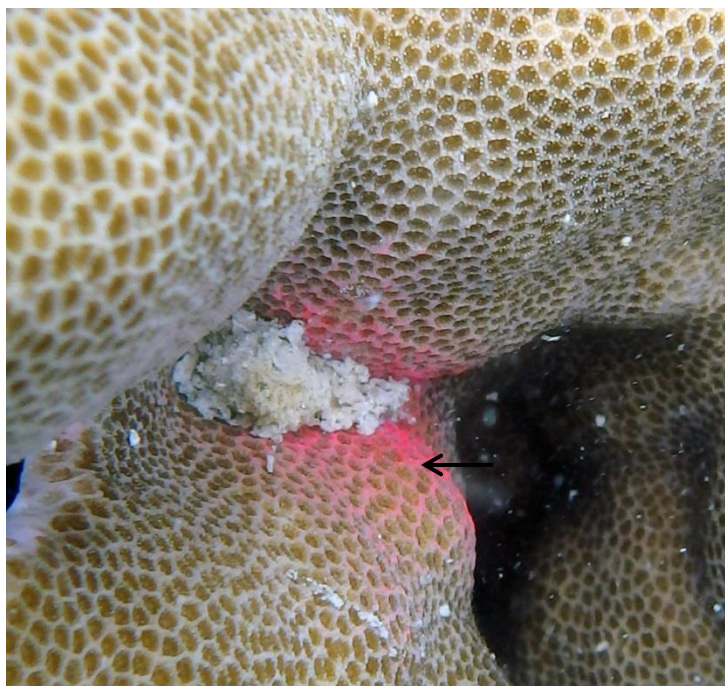
แนวปะการังเกาะขามใหญ่พบว่าในฤดูร้อนพบปะการังปกติทั้งหมด 81.5 ± 7.3 เปอร์เซ็นต์ และพบปะการังที่เป็นโรคทั้งหมด 18.5 ± 7.3 เปอร์เซ็นต์ โดยพบโรคปะการัง 2 ชนิด คือ โรค pink line syndrome (14.6 ± 6.3 เปอร์เซ็นต์) และโรค white patch disease (4.5 ± 3.2 เปอร์เซ็นต์) ส่วนในฤดูฝนพบความหลากหลายของโรคปะการังทั้งหมด 31.9 ± 7.4 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าในฤดูร้อนเล็กน้อย โดยพบโรค pink line syndrome (26.8 ± 9.4 เปอร์เซ็นต์) และโรค white patch disease (5.1 ± 2.6 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 2)

แนวปะการังเกาะขามน้อยในฤดูร้อนพบปะการังปกติ 81.8 ± 4.4 เปอร์เซ็นต์ และปะการังที่เป็นโรค 18.1 ± 4.4 เปอร์เซ็นต์ โดยในบริเวณนี้มีความหลากหลายของโรคค่อนข้างสูง โดยพบโรคปะการังทั้งหมด 5 ชนิด คือ โรค pink line syndrome (4.03 ± 1.7 เปอร์เซ็นต์) โรค white patch disease (3.4 ± 1.5 เปอร์เซ็นต์) โรค white plague disease (3.7 ± 1.2 เปอร์เซ็นต์) โรค yellow band disease (3.8 ± 1.1 เปอร์เซ็นต์) และ growth anomaly (เนื้อเยื่อเจริญเติบโตผิดปกติ) (3.2 ± 1.5 เปอร์เซ็นต์) ส่วนในฤดูฝนพบความหลากหลายของโรคปะการังทั้งหมด 22.6 ± 2.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าในฤดูร้อนเล็กน้อย โดยพบ โรค pink line syndrome (10.7 ± 2.7 เปอร์เซ็นต์) โรค white patch disease (5.6 ± 2.6 เปอร์เซ็นต์) โรค white plague disease (4.3 ± 1.4 เปอร์เซ็นต์) และ growth anomaly (2.0 ± 2.7 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 2)

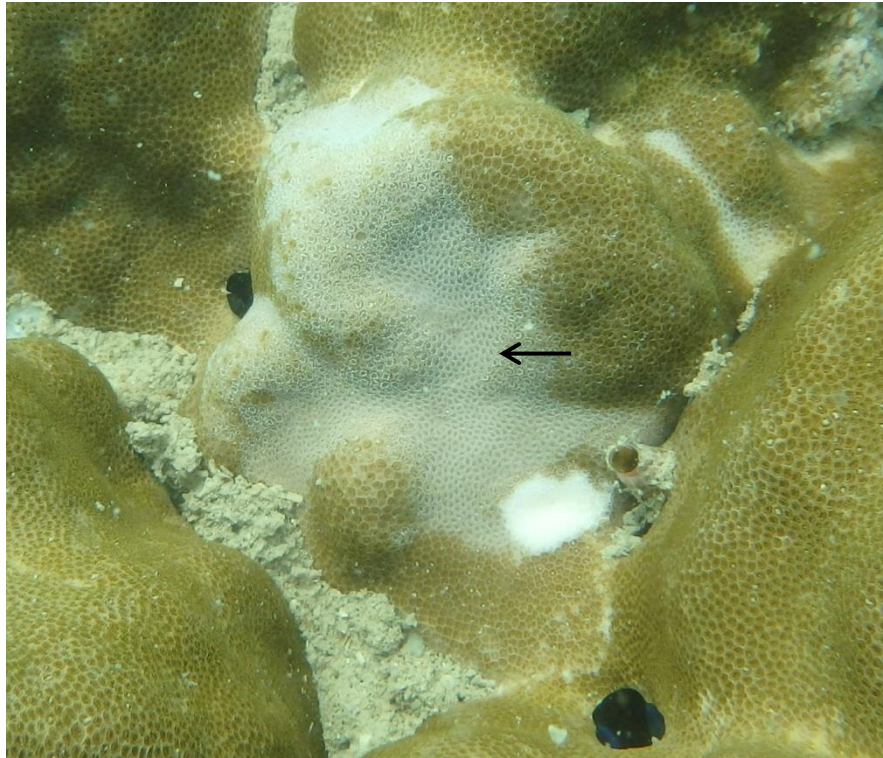
แนวปะการังเกาะค้ำควาในฤดูร้อนพบความหลากหลายของโรคปะการังค่อนข้างสูงคือพบโรคปะการังทั้งหมด 5 ชนิด คือ โรค pink line syndrome (3.6 ± 1.3 เปอร์เซ็นต์) โรค white patch disease (3.6 ± 1.2 เปอร์เซ็นต์) โรค white plague disease (3.4 ± 1.2 เปอร์เซ็นต์) โรค yellow band disease (2.5 ± 0.8 เปอร์เซ็นต์) และ growth anomaly (4.6 ± 2.1 เปอร์เซ็นต์) แต่มีเปอร์เซ็นต์ความหลากหลายของโรคปะการังทั้งหมดเพียง 17.7 ± 3.1 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์ของปะการังที่ปกติ 82.3 ± 3.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในฤดูฝนพบความหลากหลายของโรคปะการังทั้งหมด 30.0 ± 5.0 เปอร์เซ็นต์ และมีโรคปะการังเพียง 3 ชนิด คือโรคโรค pink line syndrome (15.7 ± 2.5 เปอร์เซ็นต์) โรค white patch disease (8.4 ± 2.5 เปอร์เซ็นต์) และโรค white plague disease (5.9 ± 2.8 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 2)

จากข้อมูลเมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว one-way analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ความชุกโรคปะการังของเกาะขามใหญ่ เกาะขามน้อย และเกาะค้ำควา ทั้งในฤดูร้อนและฤดูฝน ซึ่งให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการเกิดโรคในปะการังชนิด *P. lutea* ในทุกสถานี ($F = 1.29, P > 0.05$) แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการเกิดโรค pink line syndrome ในปะการังชนิด *P. lutea* ในทุกสถานี ($P < 0.05$) ของสถานที่ศึกษา ($F = 12.54, P < 0.05$) และฤดูกาล ($F = 19.05, P < 0.05$) โดยจะพบโรคปะการังเพิ่มมากขึ้นในช่วงฤดูฝน (ภาพที่ 23) คือ เกาะขามใหญ่พบการเกิดโรคปะการังทั้งหมด 31.9 เปอร์เซ็นต์ เกาะขามน้อยพบการเกิดโรคปะการังทั้งหมด 22.6 เปอร์เซ็นต์ และเกาะค้ำควาพบการเกิดโรคปะการังทั้งหมด 30.0 เปอร์เซ็นต์ โดยโรค pink line syndrome ในฤดูฝนจะพบมากกว่าในฤดูร้อนในทุกๆสถานีสำรวจเช่นกันดังแสดงในภาพที่ 24 และเมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์ความชุกชุมของโรคปะการังทั้ง 2 ฤดูกาล จาก 3 พื้นที่ศึกษา มาทำการคำนวณหาความถี่ของการเกิดโรคพบว่า การเกิดของโรค pink line syndrome 100 เปอร์เซ็นต์ และโรค white patch disease ทั้ง 2 ฤดูกาลทั้ง 3 พื้นที่ศึกษา และโรค white plague disease พบความถี่ของการเกิดโรคเท่ากันทั้งสองฤดูกาลคือ 66.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วน growth anomaly ในฤดูร้อนพบความถี่ของการเกิดโรค 66.7 เปอร์เซ็นต์ และลดลงในฤดูฝนเหลือเพียง 33.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโรคแถบสีเหลือง (yellow band disease) พบความถี่การเกิดโรค 66.7 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงของฤดูร้อนเท่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 3

นอกจากนี้ยังพบโรค white pox disease (แผลสีขาว) การกัดแทะของสัตว์ (predation scars) สัตว์ขุดเจาะ (bioeroders) และการทับถมของตะกอน (sediment damage) ในทุกสถานศึกษา (ภาพที่ 19 - 22)



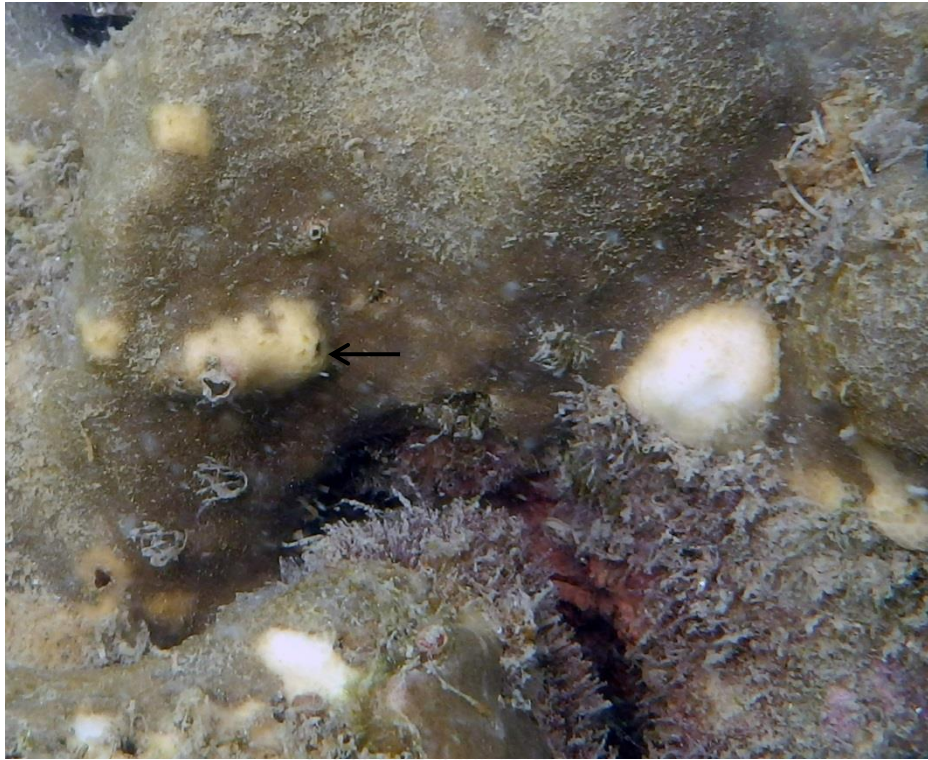
ภาพที่ 14 โรค pink line syndrome : PLS (แถบสีชมพู) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*



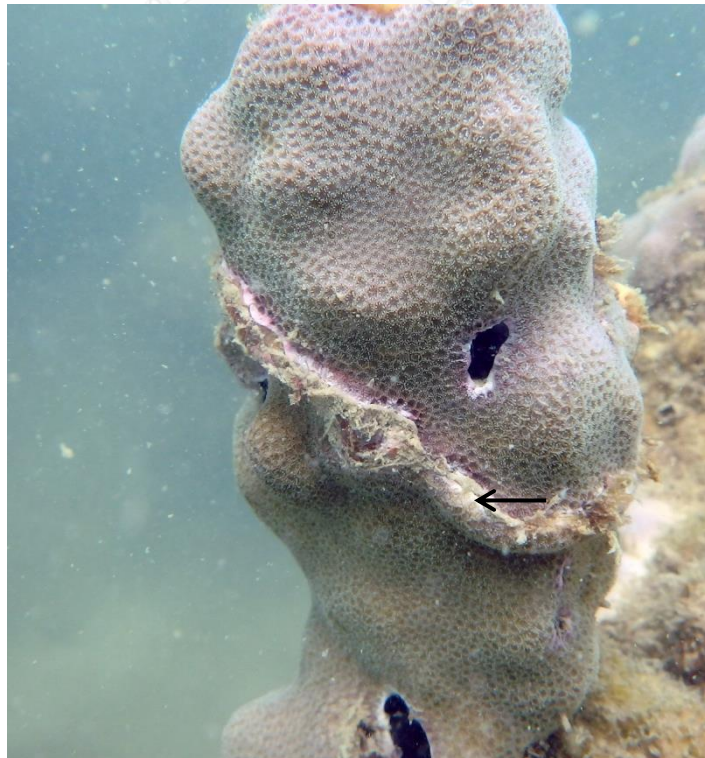
ภาพที่ 15 โรค white patch disease : WP (ต่างขาว) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*



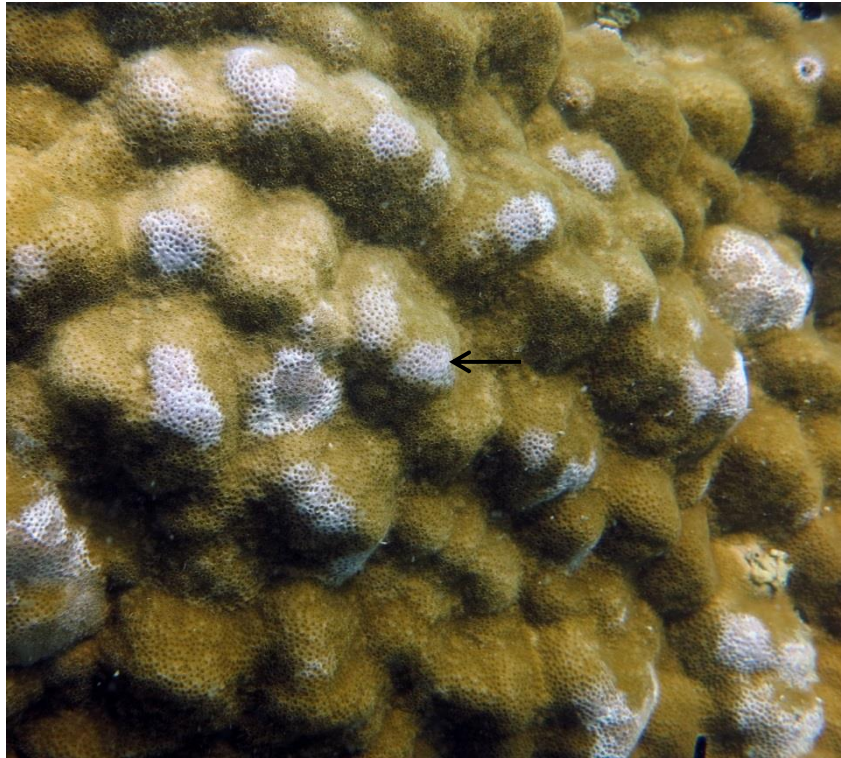
ภาพที่ 16 โรค white plague disease : WPS (ดวงขาว) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*



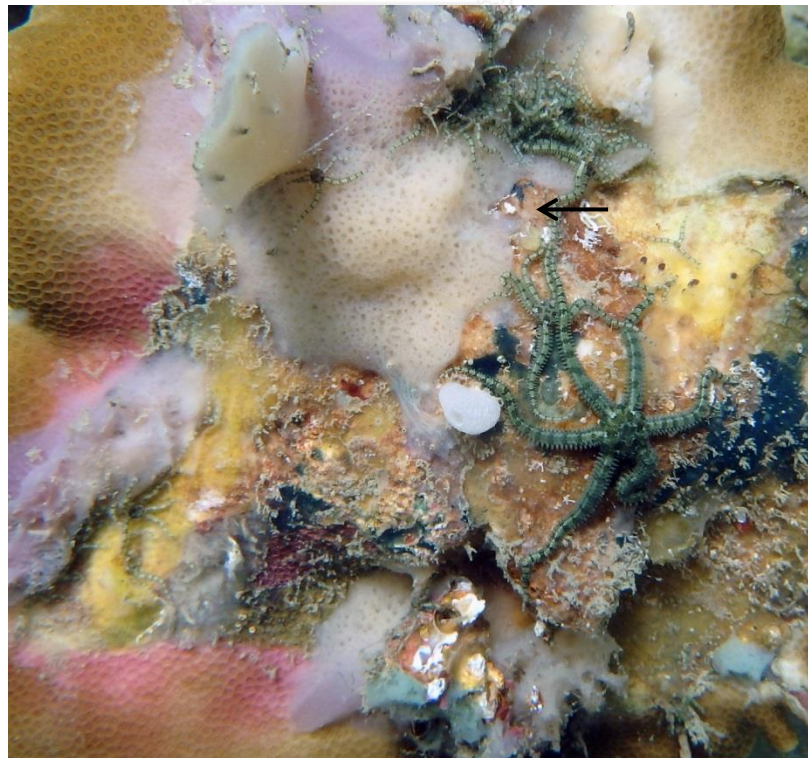
ภาพที่ 17 โรค yellow-band disease : YBD (แถบสีเหลือง) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*



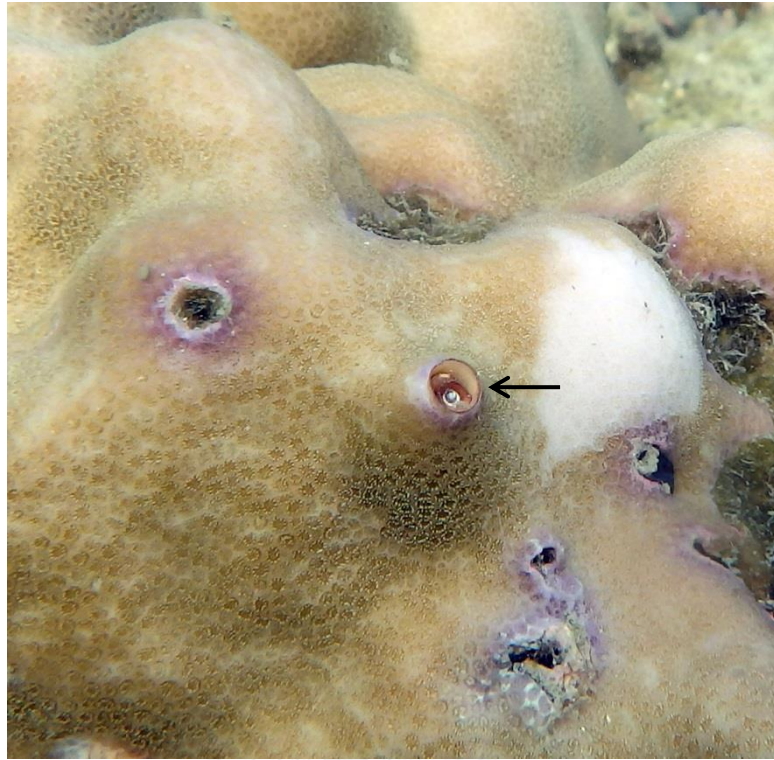
ภาพที่ 18 growth anomaly : GA (เนื้อเยื่อเจริญเติบโตผิดปกติ) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*



ภาพที่ 19 โรค white pox disease : WPD (แผลสีขาว) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*



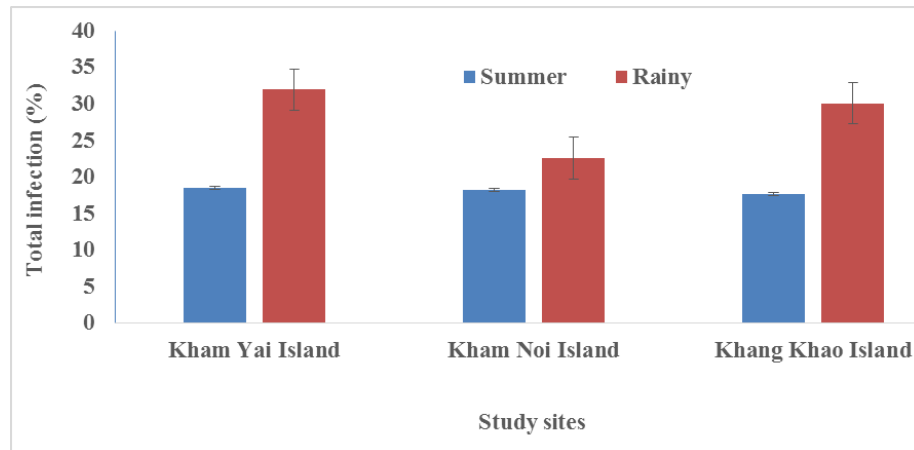
ภาพที่ 20 การกัดแทะของสัตว์ (predation scars) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*



ภาพที่ 21 สัตว์ขุดเจาะ (bioeroders) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*

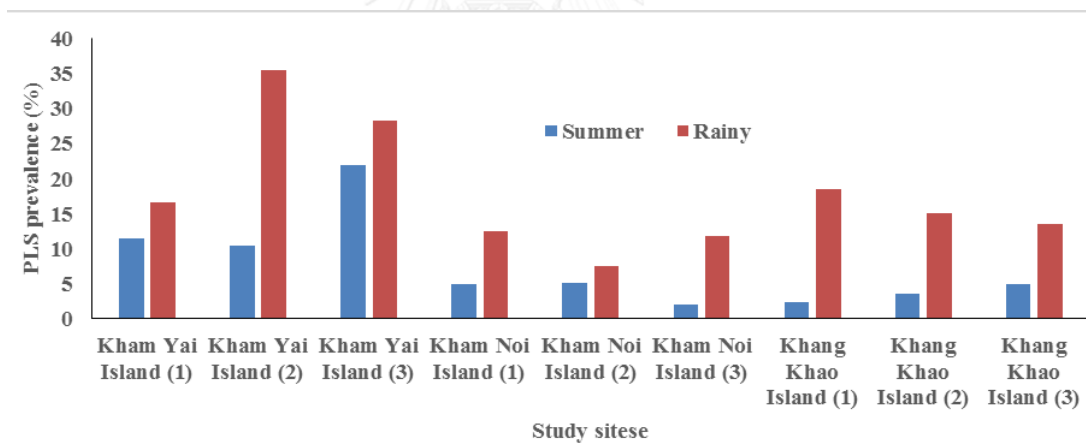


ภาพที่ 22 การทับถมของตะกอน (sediment damage) ที่เกิดในปะการังชนิด *P. lutea*



ภาพที่ 23 เปอร์เซนต์เปรียบเทียบโรคปะการังที่พบในปะการังชนิด *P. lutea* ในสองฤดูกาลของทุก
สถานีวิจัยบริเวณเกาะสีซัง จังหวัดชลบุรี

*ค่าที่แสดงเป็นค่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation: SD) ความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean: SE)



ภาพที่ 24 ความชุกของโรค pink line syndrome ในปะการังชนิด *P. lutea* ทั้งสองฤดูกาลในทุก
สถานี บริเวณเกาะสีซังจังหวัดชลบุรี

* ค่าที่แสดงเป็นค่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation: SD) ความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean:SE)

ตาราง 2 ความชุกของการเกิดโรคในฤดูฝนและฤดูร้อนบริเวณแนวปะการังเขตน้ำตื้นของหมู่เกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี

Season	Healthy colony (%)	Infected colony (%)					Total infection (%)
		PLS	WP	WPS	YBD	GA	
Kham Yai Island							
Summer	81.5±7.3 ^a	14.6±6.3 ^a	4.5±3.2	-	-	-	18.5±7.3 ^a
Rainy	68.1±7.4 ^b	26.8±9.4 ^b	5.1±2.6	-	-	-	31.9±7.4 ^b
Kham Noi Island							
Summer	81.8±4.4 ^a	4.03±1.7 ^a	3.4±1.5	3.7±1.2	3.8±1.1	3.2±1.5	18.1±4.4 ^a
Rainy	77.4±2.7 ^b	10.7±2.7 ^b	5.6±2.6	4.3±1.4	-	2.0±1.8	22.6±2.7 ^b
Khang Khao Island							
Summer	82.3±3.1 ^a	3.6±1.3 ^a	3.6±1.2	3.4±1.2	2.50±0.8	4.6±2.1	17.7±3.1 ^a
Rainy	69.93±5.1 ^b	15.7±2.5 ^b	8.4±2.5	5.9±2.8	-	-	30.0±5.0 ^b

หมายเหตุ PLS = pink line syndrome WP = white patch disease
 WPS = white plague disease YBD = yellow band disease
 GA = growth anomaly - = not found (ไม่มีข้อมูล)

* ค่าที่แสดงเป็นค่า ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation: SD) ความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean: SE)

ตาราง 3 เปอร์เซ็นต์ความถี่ของการเกิดโรคปะการัง บริเวณเกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี

Study sites	PLS	WP	WPS	YBD	GA	Frequency of occurrence (%)
Summer						
Kham Yai Island	X	X	-	-	-	40
Kham Noi Island	X	X	X	X	X	100
Khang Khao Island	X	X	X	X	X	100
Frequency of occurrence (%)	100	100	66.7	66.7	66.7	-
Rainy season						
Kham Yai Island	X	X	-	-	-	40
Kham Noi Island	X	X	X	-	X	80
Khang Khao Island	X	X	X	-	-	60
Frequency of occurrence (%)	100	100	66.7	-	33.3	-

หมายเหตุ PLS = pink line syndrome WP = white patch disease
 WPS = white plague disease YBD = yellow band disease
 GA = growth anomaly X = พบ
 - = not found (ไม่มีข้อมูล)

4.3 คุณภาพน้ำทะเล (Water Quality)

การศึกษาคุณภาพของน้ำทะเลในแนวปะการังเขตน้ำตื้นของเกาะขามใหญ่ เกาะขามน้อย และเกาะค้ำควาในฤดูร้อนและฤดูฝน ผลการศึกษาพบว่าคุณภาพน้ำทะเลในพารามิเตอร์ต่างๆ ระหว่างการศึกษาในฤดูร้อนและฤดูฝนของทุกสถานีศึกษาอยู่ในเกณฑ์ปกติดังนี้

เกาะขามใหญ่ อุณหภูมิอากาศอยู่ในช่วง 37.3 - 38.7 องศาเซลเซียส อุณหภูมิน้ำทะเลอยู่ในช่วง 30.2 - 31.5 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ในช่วงของ 29.2 - 33.3 ppt ความเป็นกรดต่างเฉลี่ย 8.1 และปริมาณออกซิเจนในน้ำเฉลี่ย 4.7 - 5.8 มิลลิกรัมต่อลิตร

เกาะขามน้อย อุณหภูมิของอากาศอยู่ในช่วง 33.5 - 37.0 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของน้ำทะเลอยู่ในช่วง 29.3 - 31.6 องศาเซลเซียส ความเค็มของน้ำทะเลอยู่ในช่วง 33.0 - 33.1 ppt ความเป็นกรดต่างเฉลี่ย 8.1 และปริมาณออกซิเจนในน้ำเฉลี่ย 4.7 - 5.8 มิลลิกรัมต่อลิตร

เกาะค้ำควา อุณหภูมิของอากาศอยู่ในช่วง 33.3 - 35.2 องศาเซลเซียส อุณหภูมิน้ำทะเลอยู่ในช่วง 30.0 - 31.7 องศาเซลเซียส น้ำทะเลมีความเค็มอยู่ในช่วง 32.3 - 33.0 ppt ความเป็นกรดต่างเฉลี่ย 8.1 และปริมาณออกซิเจนในน้ำเฉลี่ย 4.7 - 5.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4

ตาราง 4 คุณภาพของน้ำทะเลบริเวณแนวปะการังเขตน้ำตื้นบริเวณหมู่เกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี

Parameters	เกาะขามใหญ่		เกาะขามน้อย		เกาะค้ำควา	
	Summer	Rainy	Summer	Rainy	Summer	Rainy
Depth (m)	4	4	3.3	4	3	2.8
Air Temperature (°C)	37.3	38.7	33.5	37	33.3	35.2
Water Temperature (°C)	31.5	30.2	31.6	29.3	31.7	30
Salinity (ppt)	29.2	33.3	33	31.1	33	32.3
pH	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1	8.1
Dissolved oxygen (mg/l)	4.7	5.8	4.7	5.8	4.7	5.8

4.4 ชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Pathogen)

ผลการศึกษานิตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค pink line syndrome (แถบสีชมพู) ในปะการังโขดประกอบด้วยแบคทีเรียในน้ำทะเล เมื่อกบบริเวณปะการังที่เป็นโรค เมื่อกบบริเวณใกล้เคียงส่วนที่เป็นโรค และเมื่อกบบริเวณที่ไม่เป็นโรคได้แสดงในตารางที่ 5 ดังนี้

แบคทีเรียในน้ำทะเลในฤดูร้อนพบเชื้อแบคทีเรียรวม (total bacterial count) 6.8×10^2 cfu/ml และเชื้อ vibrio รวม (total vibrio count) 5.5×10^1 cfu/ml ประกอบด้วยเชื้อกลุ่มที่ใช้น้ำตาล sucrose 3.5×10^1 cfu/ml และเชื้อกลุ่มที่ไม่ใช้น้ำตาล sucrose 2.0×10^1 cfu/ml ส่วนในฤดูฝนพบ total bacterial count 1.3×10^2 cfu/ml และ total vibrio count 7.5×10^1 cfu/ml ประกอบด้วยเชื้อกลุ่มที่ใช้น้ำตาล sucrose 3.5×10^1 cfu/ml และเชื้อกลุ่มที่ไม่ใช้น้ำตาล sucrose 4.0×10^1 cfu/ml

แบคทีเรียในเมือกปะการังบริเวณที่เป็นโรคในฤดูร้อนพบเชื้อแบคทีเรียรวม (total bacterial count) 6.4×10^4 cfu/ml และเชื้อ vibrio รวม total vibrio count 2.093×10^3 cfu/ml ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้น้ำตาล sucrose ปริมาณ 1.85×10^3 cfu/ml และไม่ใช้น้ำตาล sucrose 2.43×10^2 cfu/ml ส่วนในฤดูฝนพบ total bacterial count 4.06×10^2 cfu/ml และ total vibrio count 4.62×10^2 cfu/ml ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้น้ำตาล sucrose ปริมาณ 5.6×10^1 cfu/ml และเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้น้ำตาล sucrose 4.06×10^2 cfu/ml ตามลำดับ

แบคทีเรียจากเมือกปะการังบริเวณที่ใกล้โรคในช่วงฤดูร้อนพบเชื้อเพียงกลุ่มเดียว คือ total bacterial count มีปริมาณ 5.9×10^6 cfu/ml แต่แบคทีเรียจากเมือกปะการังจากบริเวณที่ใกล้โรคในช่วงฤดูฝนพบเชื้อแบคทีเรีย 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม total bacterial count มีปริมาณ 3.26×10^2 cfu/ml กลุ่ม total vibrio count มีปริมาณ 1.26×10^2 cfu/ml โดยมีกลุ่มที่ใช้น้ำตาล sucrose ปริมาณ 4.6×10^1 cfu/ml และไม่ใช้น้ำตาล sucrose 8.0×10^1 cfu/ml และกลุ่ม total enteric count มีปริมาณ 9.2×10^5 cfu/ml ซึ่งเป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ทั้งหมด

แบคทีเรียจากเมือกของปะการังบริเวณที่ไม่เป็นโรคโดยพบเชื้อแบคทีเรียเพียงกลุ่มเดียว เช่นเดียวกับเมือกปะการังจากบริเวณที่ใกล้โรคคือ ในช่วงฤดูร้อนจะพบเชื้อแบคทีเรียเพียงกลุ่มเดียว

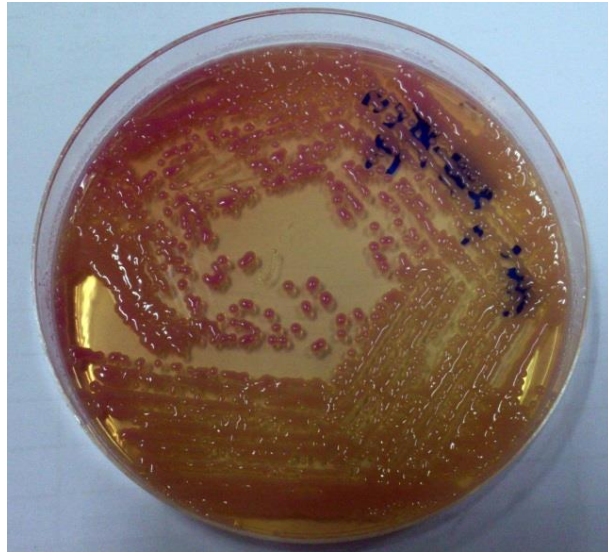
คือ กลุ่ม total bacterial count มีปริมาณ 1.83×10^2 cfu/ml แต่ละในช่วงฤดูฝนจะพบเชื้อแบคทีเรียถึง 3 กลุ่ม คือกลุ่ม total bacterial count มีปริมาณ 5.59×10^4 cfu/ml กลุ่ม total vibrio count มีปริมาณ 5.0×10^2 cfu/ml โดยมีกลุ่มที่ใช้น้ำตาล sucrose ปริมาณ 4.7×10^2 cfu/ml และไม่ใช้น้ำตาล sucrose 3.0×10^1 cfu/ml และกลุ่ม total enteric count มีปริมาณ 2.3×10^3 cfu/ml ซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่ใช้น้ำตาล lactose เช่นกัน

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อกลุ่มเด่นประกอบด้วย การเคลื่อนที่ (motility) การใช้ ออกซิเจน (oxidase) การติดสีของผนังเซลล์ (gram) และรูปร่าง (morphology) โดยในฤดูร้อน จัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 25 isolation และในฤดูฝน 30 isolation รวมทั้งหมดเป็น 55 isolation และทำการจัดจำแนกกลุ่มเชื้อตามคุณสมบัติข้างต้น คือ การเคลื่อนที่ (motility) การสร้างเอ็นไซม์ ออกซิเดส (oxidase test) การติดสีของผนังเซลล์ (gram stain) และรูปร่าง (morphology) จะได้ เชื้อกลุ่มเด่นทั้งหมด 13 กลุ่ม (ตารางที่ 6) และจะนำเชื้อกลุ่มเด่นที่พบเป็นจำนวนมากในแต่ละกลุ่ม ไปทำการยืนยันชนิดของเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดทดสอบแบคทีเรีย Api 20E (Api®, France) ซึ่ง ทดสอบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 23 isolation พบชนิดเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 15 ชนิดจากเชื้อแบคทีเรีย 13 กลุ่ม ดังนี้

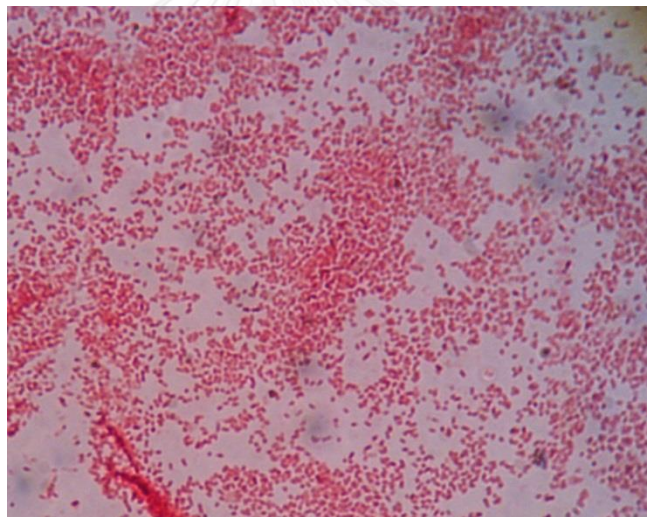
- 1) ไม่เคลื่อนที่ gram + รูปร่างเป็นแท่ง (rod) เกิด oxidase มี 1 isolation คือ *Sphingobacterium multivorum*
- 2) ไม่เคลื่อนที่ gram + รูปร่างเป็นแท่ง (rod) ไม่เกิด oxidase มี 5 isolation (ไม่ได้ทำการยืนยันชนิดของเชื้อ)
- 3) ไม่เคลื่อนที่ gram + รูปร่างทรงกลม (cocci) เกิด oxidase มี 1 isolation คือ *Sphingobacterium multivorum*
- 4) ไม่เคลื่อนที่ gram + รูปร่างทรงกลม (cocci) ไม่เกิด oxidase มี 16 isolation คือ *Micrococcus* spp.
- 5) ไม่เคลื่อนที่ gram - รูปร่างเป็นแท่ง (rod) เกิด oxidase มี 4 isolation คือ *Vibrio hallisae* และ *Sphingobacterium multivorum*
- 6) ไม่เคลื่อนที่ gram - รูปร่างเป็นแท่ง (rod) ไม่เกิด oxidase มี 4 isolation คือ *Serratia plymuthica*, *Pasteurella* sp. และ *Pseudomonas putrefaiens*

- 7) ไม่เคลื่อนที่ gram - รูปร่างทรงกลม (cocci) เกิด oxidase มี 5 isolation คือ *Pseudomonas putrefaciens*, *Escherichia coli*, *Pasteurella sp.* และ *Sphingobacterium multivorum*
- 8) ไม่เคลื่อนที่ gram - รูปร่างทรงกลม (cocci) ไม่เกิด oxidase มี 4 isolation คือ *Acinetobacter spp.* และ *Klebsiella pneumoniae* (2 isolation)
- 9) มีการเคลื่อนที่ gram + รูปร่างทรงกลม (cocci) ไม่เกิด oxidase มี 4 isolation คือ *Klebsiella pneumoniae* และ *Staphylococcus cohnii*
- 10) มีการเคลื่อนที่ gram - รูปร่างเป็นแท่ง (rod) เกิด oxidase มี 1 isolation คือ *Pseudomonas paucinobilis*
- 11) มีการเคลื่อนที่ gram - รูปร่างเป็นแท่ง (rod) ไม่เกิด oxidase มี 4 isolation คือ *Flavimonas oryzihabitans* และ *Enterobacter aerogenes*
- 12) มีการเคลื่อนที่ gram - รูปร่างทรงกลม (cocci) เกิด oxidase มี 3 isolation คือ *Vibrio metschnikovii* และ *V. cholerae*
- 13) มีการเคลื่อนที่ gram - รูปร่างทรงกลม (cocci) ไม่เกิด oxidase มี 1 isolation คือ *Erwinia spp.*

หลังจากนั้นจะทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียชนิดเด่นที่พบโคโลนีของเชื้อมากที่สุด โดยจะพบโคโลนีได้จากน้ำทะเล และเมือกที่เป็นโรค โดยเฉพาะจากเมือกที่ใกล้โรคเนื่องจากบริเวณเป็นบริเวณที่เชื้อแบคทีเรียมีความแข็งแรง และพร้อมปฏิบัติการ (active) ต่อการเข้าไปอาศัยอยู่ในตัวของปะการัง ซึ่งจะทำให้ปะการังอ่อนแอและเกิดโรคได้ แล้วจึงนำเชื้อกลุ่มเด่นชนิดนั้นมาทำการยืนยันชนิดของเชื้ออีกครั้งแล้วเก็บไว้ในหลอดไมโครเซนติพิวค์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ปิดทับด้วยพาราฟินเหลว และนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งเพื่อนำไปศึกษาการเหนียวทำให้เกิดโรคต่อไป โดยพบว่าเชื้อกลุ่มเด่นจะเป็นแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* มีลักษณะของโคโลนีเหนียว และเี่ยมเป็นสีชมพูบนอาหาร macconkey agar เนื่องจากเป็น lactose fermenter (ภาพที่ 25) เป็น gram negative bacilli ที่มีรูปร่างกลม (cocci) มีแคปซูลหนา เมื่อย้อมแกรมจะเห็นเป็นวงใสๆ รอบตัวเชื้อ (ภาพที่ 26) และเมื่อนำไปทดสอบยืนยันชนิดของแบคทีเรียด้วย API 20E จะได้ค่า biochemical test (IMViC) ซึ่งให้ผลเป็น -, -, +, + ดังแสดงในภาพที่ 27



ภาพที่ 25 ลักษณะโคโลนีของ *Klebsiella pneumoniae* บนอาหาร MacConkey agar



ภาพที่ 26 รูปร่าง และการติดสี (gram stain) ของ *Klebsiella pneumoniae*



ภาพที่ 27 การทดสอบยืนยัน *Klebsiella pneumoniae* ด้วย Apti 20E

ตาราง 5 ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (cfu/ml) ที่เก็บจากน้ำทะเล และเมือกของปะการังชนิด *P. lutea* ที่เป็นโรค pink line syndrome ในบริเวณต่างๆ ระหว่างฤดูร้อน และฤดูฝน

Parameters (unit) / Station	Water		Disease		Near Disease		Healthy	
	Summer	Rainy	Summer	Rainy	Summer	Rainy	Summer	Rainy
Total bacterial count (cfu/ml)	6.8 x10 ²	1.3x10 ²	6.4x10 ⁴	4.06x10 ²	5.9x10 ⁶	3.26x10 ²	1.83x10 ²	5.59x10 ⁴
Total Enteric count (cfu/ml)	NF	NF	NF	NF	NF	9.2x10 ⁵	NF	2.3x10 ³
- Lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	NF	NF	NF	NF	9.2x10 ⁵	NF	NF
- Non-lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	2.3x10 ³
Total Vibrio count (cfu/ml)	5.5x10 ¹	7.5x10 ¹	2.093x10 ³	4.62x10 ²	NF	1.26x10 ²	NF	5.0x10 ²
- Sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	3.5x10 ¹	3.5x10 ¹	1.85x10 ³	5.6x10 ¹	NF	4.6x10 ¹	NF	4.7x10 ²
- Non-sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	2.0x10 ¹	4.0x10 ¹	2.43x10 ²	4.06x10 ²	NF	8.0x10 ¹	NF	3.0x10 ¹

NF = not found (ไม่มีข้อมูล)

ตาราง 6 การจำแนกกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย

Motility -	SW-1	Gram +	SW-1	Morphology rod	SW-1	Oxidate +	RN-25	<i>Sphingobacterium multivorum</i>		
	SW-2		SD-3		SD-8	Oxidate -	SW-1			
	SD-3		SD-4		SD-16		SD-8			
	SD-4		SD-6		SN-24		SD-16			
	SW-5		SD-7		SW-25		SN-24			
	SD-6		SD-8		RN-25		SW-25			
	SD-7		SD-10							
	SD-8		SD-13				SD-3	Oxidate +	SD-4	<i>Sphingobacterium multivorum</i>
	SD-10		SD-16				SD-4	Oxidate -	SD-3	<i>Micrococcus spp.</i>
	SD-13		SW-21				SD-6		SD-6	
	SD-16	SW-22		SD-7	SD-7					
	SN-17	SW-23		SD-10	SD-10					
	SW-21	SN-24		SD-13	SD-13					
	SW-22	SW-25		SW-21	SW-21					
	SW-23	RD-1	Morphology cocci	SW-22	SW-22	SW-22				
	SN-24	RD-4		SW-23	SW-23	SW-23				
	SW-25	RD-6		RD-1	RD-1	RD-1				
	RD-1	RD-7		RD-4	RD-4	RD-4				
	RD-3	RD-9		RD-6	RD-6	RD-6				
	RD-4	RD-13		RD-7	RD-7	RD-7				
	RD-5	RW-16		RD-9	RD-9	RD-9				
	RD-6	RN-18		RD-13	RD-13	RD-13				
	RD-7	RN-25		RW-16	RW-16	RW-16				
	RD-8			RN-18	RN-18	RN-18				
	RD-9									
	RD-10									
	RD-11	Gram -	SW-2	RD-8	Oxidate +	RD-10				
	RD-13		SW-5	RD-10		RW-15				
	RD-14		SN-17	RD-11		RN-22	<i>Vibrio hallisae</i>			
	RW-15		RD-3	RW-15		RN-23	<i>Sphingobacterium multivorum</i>			
	RW-16		RD-5	RN-21		RD-8				
	RW-17		RD-8	RN-22		RD-11	<i>Serratia plymuthica</i>			
	RN-18		RD-10	RN-23		RN-21	<i>Pasteurella sp.</i>			
	RN-20		RD-11	RN-26		RN-26	<i>Pseudomonas putrefaiens</i>			
	RN-21		RD-14	RH-27		RH-27				
	RN-22		RW-15	RN-30		RN-30				
	RN-23	RW-17								
	RN-24	RN-20	Morphology cocci	SW-2	Oxidate +	SW-2	<i>Pseudomonas putrefaiens</i>			
	RN-25	RN-21		SW-5		SW-5	<i>Escherichia coli</i>			
	RN-26	RN-22		SN-17		RD-3				
	RH-27	RN-23		RD-3		RD-5	<i>Pasteurella sp.</i>			
	RN-30	RN-24		RD-5		RN-24	<i>Sphingobacterium multivorum</i>			
		RN-26		RD-14		SN-17	<i>Acinetobacter spp.</i>			
		RH-27		RW-17		RD-14				
		RN-30		RN-20		RW-17	<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
		RN-24		RN-20		<i>Klebsiella pneumoniae</i>				
motility +	SD-9	Gram +	SD-11	Morphology cocci	SD-11	Oxidate -	SD-11			
	SD-11		SD-14		SD-14		SD-14	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
	SD-12		SD-15		SD-15		SD-15			
	SD-14		SD-18		SD-18		SD-18	<i>Staphylococcus cohnii</i>		
	SD-15									
	SD-18	Gram -	SD-9	Morphology rod	SD-9	Oxidate +	RH-29	<i>Pseudomonas paucinobilis</i>		
	SD-19		SD-12		RD-2	Oxidate -	SD-9			
	SW-20		SD-19		RD-12		RD-2			
	RD-2		SW-20		RN-19		RD-12	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>		
	RD-12		RD-2		RH-29		RN-19	<i>Enterobacter aerogenes</i>		
	RN-19		RD-12							
	RH-28		RN-19		Morphology		SD-12	Oxidate +	SD-12	
	RH-29		RH-28				SD-19		SD-19	<i>Vibrio metschnikovii</i>
	RH-29		SW-20		SW-20		<i>Vibrio cholerae</i>			
			RH-28	Oxidate -	RH-28	<i>Erwinia spp.</i>				

หมายเหตุ	W = ตัวอย่างน้ำทะเลเหนือโคลนึปะการัง 30 เซนติเมตร
	D = ตัวอย่างเมือกของปะการังที่เกิดโรคอย่างชัดเจน
	N = ตัวอย่างเมือกของปะการังใกล้จุดที่เกิดโรค
	H = ตัวอย่างเมือกของปะการังบริเวณที่ไม่เป็นโรค
	S = ฤดูร้อน (เดือนกุมภาพันธ์-เดือนพฤษภาคม)
	R = ฤดูฝนในช่วง (เดือนมิถุนายน-เดือนมกราคม)
	Number = ลำดับ Isolate

4.5 การเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (Disease Induction)

การศึกษาชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Pathogen) พบว่าเชื้อที่พบมาก และอาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคคือ เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* หลังจากนั้นจะนำเชื้อ *K. pneumoniae* มาเพิ่มความแข็งแรงของแบคทีเรีย (virulence) โดยนำแบคทีเรียที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ฉีดเข้ากุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ทำการเก็บแบคทีเรียจากกุ้งในบริเวณของ hepatopancreas แล้วนำไปเพิ่มจำนวนเชื้ออีกครั้งในอาหาร TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส 18 - 24 ชม. นำโคลนแบคทีเรียที่ได้ไปละลายในน้ำเกลือสะอาด 1.5 เปอร์เซ็นต์ นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เพื่อนำไปหาคำนวณหาความเข้มข้นของปริมาณเชื้อที่ 10^8 cfu/ml แล้วนำปะการังโหนดที่เตรียมไว้ไปทำการจุ่ม ในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำปะการังกลับไปศึกษาต่อในน้ำทะเลที่ควบคุมอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 25.5 - 26.5, 28.5 - 29.5 และ 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิละ 2 ชั่วโมง) เป็นเวลา 10 วัน โดยจะทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อเยื่อปะการังในวันที่ 1, 4, 7 และ 10 ทำการเก็บตัวอย่างเมือกของปะการังไปตรวจสอบในวันที่ 1 และ 10 (ตารางที่ 7) ดังนี้

ที่อุณหภูมิ 25.5 - 26.5 องศาเซลเซียส น้ำทะเลอยู่ในช่วง 25.4 - 26.2 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ในช่วง 33 - 36 ppt ไนโตรท์ (NO₂) อยู่ในช่วง 3 - 5 mg/l ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) 4.44-5.29 mg/l ค่า pH 8 - 8.3 ค่าแอมโมเนีย (NH₃) 0.5 - 1 mg/l และค่าความเป็นด่าง (alkalinity) อยู่ในช่วง 90 - 120 mg/l

ที่อุณหภูมิ 28.5 - 29.5 องศาเซลเซียส น้ำทะเลอยู่ในช่วง 28.9 - 29.5 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ในช่วง 33 - 42 ppt ไนโตรท์ (NO₂) อยู่ในช่วง 0.25 - 0.5 mg/l ปริมาณออกซิเจนที่ละลาย

น้ำ (DO) 3.99 - 5.07 mg/l ค่า pH 8.5 - 9 ค่าแอมโมเนีย (NH₃) 0.5 - 2 mg/l และค่าความเป็นด่าง (alkalinity) อยู่ในช่วง 130 - 170 mg/l

ที่อุณหภูมิ 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส น้ำทะเลอยู่ในช่วง 31.4 - 32.4 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ในช่วง 33 - 37 ppt ไนไตรท์ (NO₂) อยู่ในช่วง 0.25 - 3 mg/l ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) 4.27 - 5.12 mg/l ค่า pH 8.3 - 8.6 ค่าแอมโมเนีย (NH₃) 0.25 - 2 mg/l และค่าความเป็นด่าง (alkalinity) อยู่ในช่วง 120 - 140 mg/l

ตาราง 7 คุณภาพน้ำขณะทำการศึกษากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในปะการังชนิดที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 25.5 - 26.5, 28.5 - 29.5 และ 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส

Treatment	Time	Temperature (°C)	Salinity (ppt)	NO ₂ (mg/l)	DO (mg/l)	pH	NH ₃ (mg/l)	Alkalinity (mg/l)	
25.5 - 26.5	SW(S) - 1	1	26	33	3	4.72	8.3	0.5	90
		2	25.4	33	3	5.29	8.3	1	90
		3	25.4	34	3	4.62	8.3	1	110
		4	26.2	34	5	4.8	8.3	1	120
	SW(S) - 2	1	26.1	33	3	4.86	8	0.5	90
		2	25.6	34	3	5.14	8	0.5	90
		3	25.6	34	3	4.44	8.3	0.5	110
		4	26.2	26	5	4.93	8.3	0.5	110
28.5 - 29.5	SW(S) - 1	1	28.9	33	0.25	4.8	8.6	0.5	130
		2	28.6	38	0.25	3.99	8.6	0.5	170
		3	29.3	35	0.5	4.52	8.6	2	150
		4	28.9	36	0.5	5.07	9	2	130
	SW(S)-2	1	28.9	34	0.25	4.64	8.6	1	140
		2	28.8	42	0.25	4.3	8.6	1	170
		3	29.5	34	0.5	4.43	8.6	2	150
		4	29	35	0.5	4.3	9	2	140
31.5 - 32.5	SW(S) - 1	1	31.6	33	0.25	4.8	8.3	0.25	120
		2	32.4	35	0.5	4.45	8.6	1	130
		3	31.6	37	1	5.12	8.6	1	130
		4	32.2	35	3	4.71	8.6	1	130
	SW(S) - 2	1	31.4	33	4.25	4.73	8.3	0.25	120
		2	32.4	35	1	4.48	8.6	1	140
		3	31.7	35	3	4.87	8.6	1	140
		4	32.3	36	3	4.27	8.6	2	130

หมายเหตุ

S = sterile

mg/l = milligram / liter

NO₂ = nitrite

DO = Dissolved Oxygen

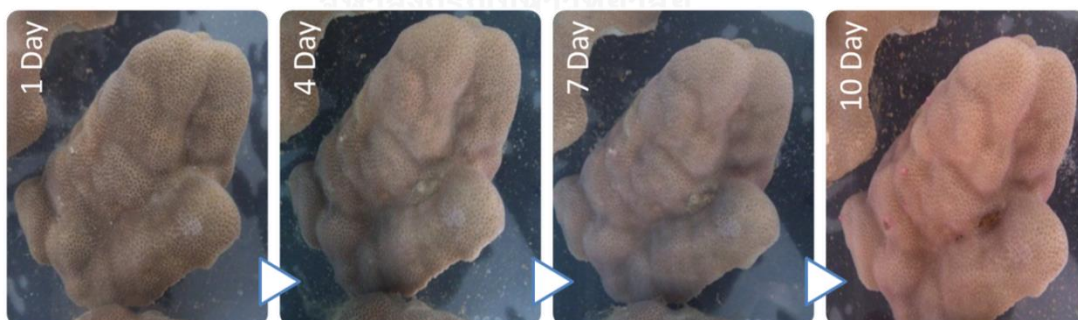
NH₃ = ammonia

°C = degree celsius

pH = potential of hydrogenion

ppt = part per thousand

หลังจากการจุ่มเชื้อ *K. pneumoniae* เมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อเยื่อปะการัง ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 10 ในการทดลองที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ คือ 25.5 - 26.5, 28.5 - 29.5 และ 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 28.5 - 29.5 องศาเซลเซียส ปะการังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อเยื่อ แต่ที่อุณหภูมิ 25.5 - 26.5 และ 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส ปะการังมีการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อเยื่อขึ้น โดยที่อุณหภูมิต่ำ (25.5 - 26.5 องศาเซลเซียส) ปะการังเกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อ 30 เปอร์เซ็นต์ และที่อุณหภูมิสูง (31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส) ปะการังเกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อ 10 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 25.5 - 26.5 องศาเซลเซียส ในการทดลองซ้ำที่ 2 พบว่า เกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อในวันที่ 7 (ภาพที่ 28) และปะการังโคโลนีที่ 5 มีการเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อในวันที่ 10 ส่วนปะการังโคโลนีที่ 1, 2 และ 3 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อเยื่อ และที่อุณหภูมิ 28.5 - 29.5 องศาเซลเซียสทั้งสองซ้ำการทดลองสีเนื้อเยื่อของปะการังเป็นปกติไม่เกิดจุดหรือแถบสีชมพู แต่สีเนื้อเยื่อของปะการังจะเริ่มจางลงตั้งแต่วันที่ 4 เป็นต้นไป ส่วนที่อุณหภูมิ 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียสในการทดลองซ้ำที่ 1 ปะการังโคโลนีที่ 4 เริ่มมีจุดสีชมพูเล็กๆ ในวันที่ 10 ส่วนปะการังโคโลนีอื่นๆไม่เกิดจุด หรือแถบสีชมพู แต่เนื้อเยื่อปะการังสีบางโคโลนีจะจางลงเรื่อยๆ จนเกือบจะเป็นสีขาวในวันที่ 10



ภาพที่ 28 การเกิดแถบสีชมพูในท้องปฏิบัติการ

ตาราง 8 เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อปะการังที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ

Water temperature	Time (day)			
	1	4	7	10
25.5-26.5 °C (อุณหภูมิต่ำ)	-	-	30%	
28.5-29.5 °C (อุณหภูมิปกติ)	-	-	-	-
31.5-32.5 °C (อุณหภูมิสูง)	-	-	-	10%

โดยก่อนและหลังทำการจุ่มเชื้อ *K. pneumoniae* จะทำการเก็บตัวอย่างน้ำทะเล และเมือกของปะการังในทุกการทดลองไปศึกษาเชื้อแบคทีเรียจะพบปริมาณของเชื้อกลุ่มต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 9 คือ ก่อนการจุ่มเชื้อในน้ำทะเล (การทดลองซ้ำที่ 1) จะพบแบคทีเรีย 3 กลุ่ม คือ total bacterial count มีปริมาณ 7.0×10^2 cfu/ml กลุ่ม total enteric count มีปริมาณ 2.3×10^2 cfu/ml โดยพบในกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 5.0×10^1 cfu/ml และไม่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 1.8×10^2 cfu/ml และกลุ่ม total vibrio count มีปริมาณ 1.6×10^2 ซึ่งเป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล sucrose และแบคทีเรียในน้ำทะเล (การทดลองซ้ำที่ 2) จะพบแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ total bacterial count มีปริมาณ 2.9×10^2 cfu/ml และ total enteric count มีปริมาณ 3.9×10^2 cfu/ml โดยพบในกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 3.5×10^2 cfu/ml และไม่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 4.0×10^1 cfu/ml ส่วนในเมือกปะการัง (การทดลองซ้ำที่ 1) พบแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม total bacterial count มีปริมาณ 6.3×10^3 cfu/ml และกลุ่ม total enteric count มีปริมาณ 1.36×10^6 cfu/ml เป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 1.1×10^6 cfu/ml และไม่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 2.6×10^5 cfu/ml และแบคทีเรียจากเมือกปะการังในการทดลองที่ 2 พบแบคทีเรีย 2 กลุ่มเช่นกัน คือ total bacterial count มีปริมาณ 1.26×10^6 cfu/ml และ total enteric count มีปริมาณ 2.72×10^6 cfu/ml โดยพบในกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 2.36×10^6 cfu/ml และไม่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 3.6×10^5 cfu/ml

ที่อุณหภูมิ 25.5 - 26.5 องศาเซลเซียส แบคทีเรียจากน้ำทะเลทั้งในการทดลองซ้ำที่ 1 และการทดลองซ้ำที่ 2 พบแบคทีเรียเพียงกลุ่มเดียว คือกลุ่ม total bacterial count มีปริมาณ 3.9×10^2 cfu/ml และ 2.5×10^2 cfu/ml ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียจากเมือกปะการังในการทดลองซ้ำที่ 1 พบเชื้อ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มของ total bacterial count มีปริมาณ 6.8×10^3 cfu/ml และกลุ่ม total

enteric count มีปริมาณ 1.26×10^3 cfu/ml ซึ่งเป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose เพียงกลุ่มเดียว และแบคทีเรียจากเมือกปะการังในการทดลองซ้ำที่ 2 พบแบคทีเรีย 2 กลุ่มเช่นกัน คือ total bacterial count มีปริมาณ 6.3×10^4 cfu/ml และ total enteric count มีปริมาณ 5.9×10^2 cfu/ml โดยเป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ซึ่งเชื้อที่พบมีปริมาณน้อยลงจากก่อนการจุ่มซื้อทั้งในน้ำทะเลและเมือกของปะการัง

ที่อุณหภูมิ 28.5 - 29.5 องศาเซลเซียส จากน้ำทะเล (การทดลองซ้ำที่ 1) จะพบแบคทีเรียทั้งหมด 2 กลุ่ม คือ total bacterial count มีปริมาณ 1.58×10^3 cfu/ml กลุ่ม total enteric count มีปริมาณ 5.0×10^1 cfu/ml ซึ่งกลุ่มที่ใช้น้ำตาล และแบคทีเรียจากน้ำทะเล (การทดลองซ้ำที่ 2) จะพบแบคทีเรีย 2 กลุ่มเช่นกัน คือ total bacterial count มีปริมาณ 1.86×10^3 cfu/ml และ total enteric count มีปริมาณ 6.0×10^1 cfu/ml โดยเป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ส่วนในเมือกปะการัง (การทดลองซ้ำที่ 1) พบแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม total bacterial count มีปริมาณ 1.5×10^4 cfu/ml และกลุ่ม total enteric count มีปริมาณ 1.7×10^2 cfu/ml เป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose เพียงอย่างเดียว และแบคทีเรียจากเมือกปะการัง (การทดลองซ้ำที่ 2) พบแบคทีเรีย 2 กลุ่มเช่นกัน คือ total bacterial count มีปริมาณ 7.5×10^3 cfu/ml และ total enteric count มีปริมาณ 8.0×10^1 cfu/ml โดยเป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose โดยในกลุ่มนี้ทั้งแบคทีเรียจากน้ำทะเล และแบคทีเรียจากเมือกของปะการัง ไม่พบแบคทีเรียในกลุ่มของ total vibrio count โดยแบคทีเรียในกลุ่ม total bacterial count ในการทดลองซ้ำที่ 1 ทั้งในน้ำทะเล และเมือกปะการังเพิ่มมากขึ้นหลังจากการจุ่มเชื้อ *K. pneumoniae* แต่แบคทีเรียในกลุ่มของ total Enteric count ลดจำนวนลงรวมไปถึงการทดลองซ้ำที่ 2 กลุ่มแบคทีเรียที่พบก็ลดจำนวนลงเช่นกันดังแสดงในตารางที่ 9

ที่อุณหภูมิ 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส แบคทีเรียจากน้ำทะเลในการทดลองซ้ำที่ 1 จะพบแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ total bacterial count มีปริมาณ 1.2×10^3 cfu/ml กลุ่ม total enteric count มีปริมาณ 4.9×10^2 cfu/ml โดยเป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 4.8×10^2 cfu/ml และไม่ใช้น้ำตาล lactose ปริมาณ 1.0×10^1 cfu/ml ส่วนแบคทีเรียในน้ำทะเลในการทดลองซ้ำที่ 2 พบแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ total bacterial count มีปริมาณ 3.2×10^3 cfu/ml และ total enteric count มีปริมาณ 7.0×10^1 cfu/ml โดยพบในกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose และในเมือกปะการังจากการทดลองซ้ำที่ 1 พบแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม total bacterial count มีปริมาณ 5.4×10^3 cfu/ml

และกลุ่ม total enteric count มีปริมาณ 2.3×10^3 cfu/ml เป็นกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose ส่วนแบคทีเรียจากเมือกปะการังในการทดลองซ้ำที่ 2 พบแบคทีเรีย 2 กลุ่มเช่นกัน คือ total bacterial count มีปริมาณ 3.9×10^3 cfu/ml และ total enteric count ในกลุ่มที่ใช้น้ำตาล lactose มีปริมาณ 5.0×10^1 cfu/ml และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียก่อนการจุ่มเชื้อ *K. pneumoniae* พบว่าแบคทีเรียทุกกลุ่มมีปริมาณลดลงทั้งในการทดลองซ้ำที่ 1 และการทดลองซ้ำที่ 2 อีกทั้งยังไม่พบแบคทีเรียกลุ่ม total vibrio count อีกด้วย

เมื่อเปรียบเทียบแบคทีเรียก่อน และหลังจุ่มเชื้อ *K. pneumoniae* พบว่าทั้งในส่วนของ การพบปริมาณของแบคทีเรียในกลุ่มของ total bacterial count และ total enteric count ลดลง อีกทั้งยังไม่พบ total vibrio count ในทั้งสองกลุ่มการทดลองอีกด้วย พบว่าก่อนที่ปะการังปกติที่สมบูรณ์แข็งแรงก่อนจะทำการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรคพบเชื้อแบคทีเรียในทุกกลุ่ม คือ total bacterial count, total enteric count และ total vibrio count (cfu/ml) ซึ่งมีปริมาณของเชื้ออยู่ที่ 10^2 cfu/ml ไปจนถึง 10^6 cfu/ml แต่เมื่อทำการจุ่มเชื้อแบคทีเรีย *K. pneumoniae* ลงไปเป็นเวลา 10 วัน พบว่าปะการังในน้ำทะเลที่อุณหภูมิ 25.5 - 26.5 องศาเซลเซียส ทั้ง 2 ซ้ำ และน้ำทะเลที่อุณหภูมิ 31.5 - 32.5 ในซ้ำที่ 1 ที่เกิดโรค pink line syndrome ขึ้น พบว่าเชื้อแบคทีเรียในทุกกลุ่มลดปริมาณลง รวมไปถึงกลุ่มของ enteric lactose fermenting bacterial ซึ่งเป็นกลุ่มของ *K. pneumoniae* ก็ปริมาณลงเหลือเพียง 10^2 - 10^3 เท่านั้น

ตาราง 9 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียก่อน และหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการนำปะการัง *P. lutea* ไปจุ่มใน *Klebsiella pneumoniae* และอนุบาล ที่อุณหภูมิต่างๆ

Parameters (unit) / treatment	Post				25.5 - 26.5 °C				28.5-29.5 °C				31.5 - 32.5 °C			
	1		2		1		2		1		2		1		2	
	Mucus	Water	Mucus	Water	Mucus	Water	Mucus	Water	Mucus	Water	Mucus	Water	Mucus	Water	Mucus	Water
Total bacterial count (cfu/ml)	6.3x10 ³	7.0x10 ²	6.8x10 ³	3.9x10 ²	6.3x10 ⁴	2.5x10 ²	1.5x10 ⁴	1.58x10 ³	7.5x10 ³	1.86x10 ³	5.4x10 ³	1.2x10 ³	5.4x10 ³	1.2x10 ³	3.9x10 ³	3.2x10 ³
Total Enteric count (cfu/ml)	1.36x10 ⁶	2.3x10 ²	1.26x10 ³	NF	5.9x10 ²	NF	1.7x10 ²	5.0x10 ¹	8.0x10 ¹	6.0x10 ¹	2.3x10 ³	4.9x10 ²	2.3x10 ³	4.9x10 ²	5.0x10 ¹	7.0x10 ¹
- Lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	1.1x10 ⁶	5.0x10 ¹	1.26x10 ³	NF	5.9x10 ²	NF	1.7x10 ²	5.0x10 ¹	8.0x10 ¹	6.0x10 ¹	2.3x10 ³	4.8x10 ²	2.3x10 ³	4.8x10 ²	5.0x10 ¹	7.0x10 ¹
- Non-lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	2.6x10 ⁵	1.8x10 ²	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	1.0x10 ¹	NF	NF
Total Vibrio count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
- Sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
- Non-sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF

NF = not found (ไม่มีข้อมูล)

บทที่ 5

อภิปราย และสรุปผลการทดลอง

การศึกษาโรคปะการังที่พบในปะการังโขด (*P. lutea*) บริเวณหมู่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี พบโรคปะการังทั้งหมด 5 ชนิดคือ โรค pink line syndrome (แถบสีชมพู) รองลงมาคือโรค white patch disease (ต่างขาว) โรค white plague disease (ดวงขาว) growth anomaly (เนื้อเยื่อเจริญเติบโตผิดปกติ) และโรค yellow-band disease (แถบสีเหลือง) โดยโรค pink line syndrome เป็นโรคชนิดเด่นที่พบได้ในแนวปะการังทั้ง 3 พื้นที่ศึกษา โดยมีแนวโน้มการพบโรคเพิ่มสูงขึ้นในช่วงฤดูฝน โดยเฉพาะแนวปะการังบริเวณเกาะค้างคาวในฤดูร้อนพบโรค pink line syndrome เพียง 1.81 เปอร์เซ็นต์ แต่ในฤดูฝนพบโรคนี้เพิ่มขึ้นเป็น 19.48 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ทั้ง 3 พื้นที่ศึกษายังพบโรค white pox disease (แผลสีขาว) การกัดแทะของสัตว์ (predation scars) สัตว์ขูดเจาะ (bioeroders) และการทับถมของตะกอน (sediment damage) จากการศึกษาของ Kenkel (2008) ได้ศึกษาโรคปะการังในทะเลอันดามันของไทยพบว่าโรค pink line syndrome เป็นโรคชนิดเด่นที่พบในทุกสถานีสำรวจ โดยส่วนใหญ่พบในปะการังโขด (*P. lutea*) ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Donsomjit & Yeemin (2010) ได้รายงานว่าเป็นโรคชนิดเด่นที่พบได้ตามแนวปะการังบริเวณอ่าวฉลาม เกาะล้าน จังหวัดชลบุรี ส่วนใหญ่เกิดขึ้นในปะการังโขด (*P. lutea*) มีสาเหตุเกิดจากสัตว์ขูดเจาะที่อาศัยอยู่ในปะการัง และกิจกรรมการท่องเที่ยวส่งผลให้ปะการังเกิดความอ่อนแอทำให้ปะการังแสดงความผิดปกติของสีออกมา 4 แบบ คือ วงสีชมพู (pink circle) เป็นแบบที่พบได้มากที่สุดถึง 60.28 เปอร์เซ็นต์ จุดสีชมพู (pink spot) แถบสีชมพู (PLS) และเนื้องอกสีชมพู (pink tumor) ซึ่งพบน้อยสุด 1.37 เปอร์เซ็นต์ และจากการสำรวจของ Thinesh et al. (2009) ยังพบการระบาดของโรค pink line syndrome ในแนวปะการังของประเทศอินเดีย อินโดนีเซีย และในทะเลแดงอีกด้วย

เชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดจะทำให้เกิดโรคที่แตกต่างกันไป ซึ่งจะมีความสัมพันธ์ต่อการตอบสนองของปะการังแต่ละชนิด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sheridan et al. (2013) ที่รายงานว่าโรค black band disease (BBD) เกิดจากเชื้อ cyanobacteria โรค brown band disease (BrB) เกิดจาก เชื้อ ciliate (*Philaster* sp.) โรค yellow band disease (YBD) เกิดจาก

แบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. และโรค white pox disease เกิดจากแบคทีเรีย *Serratia marcescens* จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* สามารถทำให้เกิดโรค pink line syndrome ได้ที่อุณหภูมิต่ำที่ 25.5 - 26.5 องศาเซลเซียส ซึ่งเกิดโรคในวันที่ 7 เป็นต้นไป และที่อุณหภูมิสูง 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส จะเกิดโรค pink line syndrome ขึ้นในวันที่ 10 อีกทั้งยังมีการศึกษาอื่นๆ ที่ระบุถึงเป็นสาเหตุของการเกิดโรค pink line syndrome ที่แตกต่างกันดังนี้

Ravindran & Raghukumar (2006) พบว่าโรค pink line syndrome เกิดจากเชื้อไฮยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Phormidium valderianum* เข้าไปยับยั้งการสังเคราะห์แสงทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นส่งผลให้น้ำเยื่อของปะการังเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยารวมไปถึงการสูญเสียของสาหร่าย zooxanthellae ทำให้เกิดแถบสีชมพูขึ้นปะน้ำเยื่อปะการัง

Meir (2009) พบว่าโรค pink line syndrome เกิดจากการตอบสนองของปะการังต่อสัตว์ขูดเจาะ และสัตว์กินแพะ เช่น *Podocotyloides stenometra* ที่ฝังตัวอาศัยอยู่ในปะการัง ทำให้ปะการังแสดงอาการของแถบสีชมพูขึ้น

Abdel-Salam et al. (2014) รายงานว่าสาเหตุของการเกิดโรค pink line syndrome เกิดจากปัจจัยทางชีวภาพ เช่น รา และไฮยาโนแบคทีเรีย และปัจจัยทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิ และค่า pH ของน้ำทะเล ทำให้ปะการังเกิดความเครียด ส่วนราและไฮยาโนแบคทีเรียจะทำให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในตัวปะการังสูงขึ้นทำให้แคลเซียมในตัวปะการังเสียหายและแสดงลักษณะของแถบสีชมพูออกมา

หลังจากเกิดโรค pink line syndrome ขึ้นจะนำเมือกของปะการังไปตรวจสอบแบคทีเรียจะพบเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ได้ทำการจุ่มปะการังเพื่อทำให้เกิดโรคซึ่งอยู่ในช่วงที่กว้างซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Anderson et al. (2008) พบว่าการระบาดของโรคที่เกิดจาก *K. pneumoniae* เกิดขึ้นตั้งแต่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสไปจนถึงอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โดย *K. pneumoniae* สามารถเจริญอยู่ในอุณหภูมิสูงสุดถึง 36.9 องศาเซลเซียส จึงส่งผลให้โรค pink line syndrome พบได้ทั้งในฤดูร้อน และฤดูฝน โดยแต่ละช่วงของฤดูการจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณของออกซิเจนที่แบคทีเรียต้องการใช้ทำให้ในแต่ละฤดูกาล ชนิด ปริมาณ และความรุนแรงของแบคทีเรียที่ทำให้

ปะการังเกิดความเครียด และเมื่อปะการังอ่อนแอแบคทีเรียจะเข้าไปทำลายเนื้อเยื่อ และโครงสร้างปะการังทำให้เกิดโรคต่างๆขึ้นในปะการัง *Porites lutea* (Lesser et al., 2007, Li et al., 2014). ซึ่งเป็นปะการังมีการตอบสนองต่อความชุกของโรคค่อนข้างสูง และพบโรคปะการังที่เกิดขึ้นกับปะการังชนิดได้หลายโรค เช่น *porites ulcerative white spot disease* การเกิดเนื้องอกบนปะการังและการเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อ (Raymundo et al., 2005)

การศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าฤดูกาลมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดของโรค โดยในฤดูฝนจะพบอัตราการเกิดของโรค pink line syndrome สูงกว่าฤดูร้อน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bongioni & Rinkevich (2005) พบว่าการเกิดของโรค pink line syndrome ในปะการัง *Acropora eurystoma* ในเดือนสิงหาคม ถึง 43 เปอร์เซ็นต์และในเดือนมีนาคมพบเพียง 29 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากความแตกต่างของฤดูกาลซึ่งจะมีผลต่อปริมาณการเกิดของโรคปะการัง

นอกจากนี้ความแตกต่างของพื้นที่ศึกษาทั้ง 3 พื้นที่ศึกษาก็มีผลต่อปริมาณการเกิดของโรคปะการัง คือ

ซึ่งเกาะขามใหญ่ตั้งอยู่ใกล้กับแหล่งชุมชนขนาดใหญ่บนเกาะสีชังและชุมชนขนาดเล็กประมาณ 30 ครัวเรือนบนเกาะขาม นอกจากนี้ชุมชนปะการังบริเวณนี้ยังเป็นที่จอดเรือบรรทุกสินค้าจำนวนมากเพื่อรอการขนถ่ายสินค้าสู่เรือเดินสมุทรขนาดใหญ่ ดังนั้นชุมชนปะการังบริเวณนี้อาจได้รับผลกระทบจากการทิ้งของเสียในรูปแบบต่างๆ โดยชุมชนและเรือขนถ่ายสินค้าลงสู่ทะเล

เกาะขามน้อยเป็นเกาะว่างเปล่าไม่มีประชาชนอาศัยบนเกาะ เกาะขามน้อยตั้งอยู่ใกล้กับแหล่งชุมชนขนาดใหญ่บนเกาะสีชัง ชุมชนเกาะขามใหญ่ และเรือบรรทุกสินค้าจอดรอขนถ่ายสินค้าสู่เรือเดินสมุทรขนาดใหญ่อยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นชุมชนปะการังบริเวณนี้อาจได้รับผลกระทบจากการทิ้งของเสียในรูปแบบต่างๆ โดยชุมชนและเรือขนถ่ายสินค้าลงสู่ทะเลเช่นเดียวกับเกาะขามใหญ่

เกาะค้ำควาเป็นเกาะว่างเปล่าไม่มีประชาชนอาศัยบนเกาะ และตั้งอยู่ห่างไกลจากชุมชนบนเกาะสีชัง นอกจากนี้ไม่มีเรือบรรทุกสินค้าและเรือเดินสมุทรขนาดใหญ่ นอกจากนี้เกาะค้ำควาไม่มีชุมชนอาศัยอยู่บนเกาะ ดังนั้นเกาะค้ำควาจึงมีสภาพความสมบูรณ์ของปะการังมากกว่าชุมชนปะการังของสถานที่ศึกษาสองแห่งข้างต้น รวมถึงได้รับผลกระทบทางลบด้านสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าด้วย

ซึ่งจะมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Lamb et al. (2014) พบว่าอุตสาหกรรมการท่องเที่ยวทางทะเลต่างๆ เช่น ทัวร์ทางทะเล การดำน้ำลึก การเช่าเหมาเรือเพื่อมาตกปลา จะทำให้ระบบนิเวศปะการังเกิดความเสียหายทำให้เกิดความชุกของโรคปะการังมากขึ้น อีกทั้งความแตกต่างของฤดูกาล รวมไปถึงสภาวะโลกร้อนที่เกิดขึ้นในปัจจุบันจะส่งผลต่อ ความเค็ม อุณหภูมิ ปริมาณของธาตุอาหารจากแหล่งต่างๆที่ไหลลงสู่ทะเล ทำให้ระบบนิเวศปะการังเกิดการเปลี่ยนแปลงจึงทำให้เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศปะการัง และการเกิดของโรค Williams et al. (2010) รายงานว่าโรคปะการังที่เกิดขึ้นในแต่ละพื้นที่มีสาเหตุหลักมาจากความเครียดของปะการัง โดยในแต่ละบริเวณจะได้รับอิทธิพลจากกิจกรรมต่างๆ ส่งผลให้สารอาหารที่ปะปนอยู่ในแหล่งน้ำในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยสารอาหารเหล่านั้นอาจทำให้ปะการังเกิดความเครียด และส่งผลทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคแข็งแรงมากขึ้น อีกทั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเหล่านั้นจะมีความจำเพาะต่อชนิดปะการังที่เป็นโฮสต์ต่างกัน อีกทั้งการเกิดสภาวะโลกร้อน (global warming) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ (climate change) หรือแม้กระทั่งการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล (Bruckner, 2002) รวมถึงพารามิเตอร์คุณภาพน้ำทะเลอื่นๆ ที่อาจส่งผลต่อสุขภาพ และการเกิดโรคของปะการังอีกด้วย รวมไปถึงตัวของโฮสต์หรือตัวปะการังที่มีชนิด และสายพันธุ์ที่ต่างกัน จะมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม และการตอบสนองต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่แตกต่างกันออกไปด้วย เช่นในบริเวณตอนเหนือทะเลแดงของประเทศอียิปต์พบชนิดปะการังที่เกิดโรคส่วนใหญ่เพียง 3 ชนิด คือ *Favia stelligera*, *P. lutea* และ *Goniastrea edwardsi* (Mohamed et al., 2012)

อีกทั้งเมื่อฝนตกจะชะล้างหน้าดินจากชายฝั่งลงสู่ทะเล โดยจะนำพาเชื้อโรค สารอาหารอินทรีย์สารที่แปลกปลอมลงสู่ทะเล ทำให้ปะการังเกิดความเครียดและขับเมือกออกมาเพื่อต่อต้านสิ่งแปลกปลอม รวมไปถึงการเพิ่มขึ้นของสารอาหารจะทำให้เชื้อก่อโรคเพิ่มจำนวนและมีความสามารถในการก่อโรคเพิ่มมากขึ้น (Looney et al., 2010) โดย Sukumaran et al. (2011) รายงานว่าอุณหภูมิของน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้การระบาดของโรค pink line syndrome และโรคชนิดอื่นๆ เช่น โรคแถบสีน้ำตาล (brown band disease) โรคจุดขาวในปะการังโขด (porites ulcerative white spot syndrome) เพิ่มสูงขึ้นซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับสาหร่าย zooxanthellae ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อปะการัง นอกจากนี้ Williams et al. (2010) รายงานว่าโรคปะการังที่เกิดขึ้นในแต่ละพื้นที่มีสาเหตุหลักมาจากความเครียดของปะการัง โดยในแต่ละบริเวณจะได้รับอิทธิพลจากกิจกรรมต่างๆ

ส่งผลให้สารอาหารที่ปะปนอยู่ในแหล่งน้ำในปริมาณที่แตกต่างกัน ทำให้อัตราการเกิดของโรคปะการัง ในแต่ละบริเวณจะแตกต่างกัน จึงทำให้การศึกษาถึงสาเหตุและการเกิดโรคในปะการังเป็นเรื่องที่สำคัญเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันและดูแลรักษาแนวปะการังต่อไปในอนาคต

จากการศึกษาในครั้งนี้จึงสรุปได้ว่า

1. จากพื้นที่สำรวจทั้ง 3 สถานี พบโรคปะการังที่เกิดขึ้นในปะการังโขด (*P. lutea*) บริเวณหมู่เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี พบโรคปะการังทั้งหมด 5 ชนิดคือ โรค pink line syndrome (แถบสีชมพู) รองลงมาคือโรค white patch disease (ต่างขาว) โรค white plague disease (ดวงขาว) growth anomaly (เนื้อเยื่อเจริญเติบโตผิดปกติ) และโรค yellow-band disease (แถบสีเหลือง) โดยมีโรค pink line syndrome เป็นโรคชนิดเด่น
2. ทั้ง 3 สถานีสำรวจพบว่าโรค pink line syndrome พบในฤดูฝนมากกว่าในฤดูร้อนของทุกๆ สถานีสำรวจ
3. เชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค pink line syndrome คือ *K. pneumonia*
4. อุณหภูมิที่ทำให้เกิดโรค pink line syndrome คือ อุณหภูมิต่ำที่ 25.5 – 26.5 องศาเซลเซียส ซึ่งเกิดโรคในวันที่ 7 เป็นต้นไป และที่อุณหภูมิสูง 31.5 - 32.5 องศาเซลเซียส จะเกิดโรค pink line syndrome ขึ้นในวันที่ 10

5.1 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษานี้ทำให้ทราบข้อมูลเบื้องต้นของสถานการณ์การเกิดโรคในปะการัง และสาเหตุของการเกิดโรค pink line syndrome (โรคแถบสีชมพู) ในปะการังโขดบริเวณแนวปะการังเขตนํ้าตื้นของเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี ทั้งนี้ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะในการศึกษาวิจัยขั้นต่อไปดังนี้

1. เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่เป็นเชื้อชนิดเด่นที่พบในห้องปฏิบัติการ อาจจะไม่ได้เป็นสาเหตุของการเกิดโรค pink line syndrome ที่แท้จริง ดังนั้นควรจะนำเชื้อชนิดเด่นตัวอื่นที่พบมาทำการทดลองการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรคในแนวทางการเดียวกันด้วย

2. อุณหภูมิของน้ำทะเลอาจไม่ใช่ปัจจัยเดียวที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค pink line syndrome ซึ่งอาจจะมีปัจจัยอื่นๆร่วมด้วย เช่น ความเค็ม และสารอาหาร ดังนั้นควรจะศึกษาปัจจัยอื่นๆ ต่อการเกิดของโรคด้วย
3. จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเชื้อก่อโรคจะพบได้ในบริเวณที่ใกล้โรคมากกว่าบริเวณที่เกิดโรค ดังนั้นผู้วิจัยจึงเห็นควรว่าควรเก็บเมือก (mucus) ที่บริเวณใกล้โรคเนื่องจากเชื้อบริเวณนี้จะมี ความ active และมีปริมาณของเชื้อที่มากกว่า



รายการอ้างอิง

- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง (2553) ผลกระทบจากการเกิดปะการังฟอกขาวปี 2553. In
 กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
 กรมประมง (2542) แผนที่แนวปะการังในน่านน้ำไทย เล่มที่ 1 อ่าวไทย. โครงการจัดการทรัพยากร
 ปะการัง,
 ชาญณรงค์ รอดคำ (2550) โรคที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อปะการังเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย. In
 ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 33, pp 319-
 326. ณ โรงแรมโซฟิเทล เซ็นทารา แกรนด์, กรุงเทพฯ:
 มาลินี กิตกำธร (2550) การวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียในน้ำโดยวิธีนับจากอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด
 แข็ง. In โครงการอบรมวิชาการเรื่องหมอปปลา, pp 1-4. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย :
 ศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์:
 ลลิตา ปัจฉิม, ชัยมงคล แยมอรุณพัฒนา, นิพนธ์ พงศ์สุวรรณ (2553) การคุกคามของโรคสีชมพู และ
 จุดสีชมพูบนปะการังโขด. In การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล 2553 “ความ
 หลากหลายทางชีวภาพทะเลไทย: อุปสรรคและโอกาส”
 ละออง ชมพักตร์ (2556) หลักการเกิดโรคติดเชื้อ ‘Principle of infection’. In ภาควิชาพยาธิวิทยา
 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
 วัชรชัย ดอนสมจิตร, ธรรมศักดิ์ ยี่มิน (2553) รูปแบบของโรคสีชมพูในปะการังโขด *Porites lutea*
 บริเวณเกาะล้าน อ่าวไทย. In การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่
 36
 สุภณชาติ นิรมรัตน์ (2551) การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อน:วงศ์บิริโอนาสีอิ, 1.
 สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : 2551,
 ธรรมชาติ จรรย์แสง, อุกฤษฏ์ สดภูมินทร์, สมบัติ ภู่วชิรานนท์ (2542) แผนที่แนวปะการังในน่านน้ำไทย:
 เล่มที่ 2 ทะเลอันดามัน. โครงการจัดการทรัพยากรปะการัง. กรมประมง. ,
 อานุกาฬ พานิชผล, เมติมศักดิ์ จารยะพันธุ์ (2555) สถานภาพแนวปะการังบริเวณเกาะค้างคาว และ
 เกาะขามใหญ่ จังหวัดชลบุรี. หน่วยวิจัยปะการังและสัตว์พื้นทะเลสถานวิจัยความเป็นเลิศ
 ความหลากหลายทางชีวภาพแห่งคาบสมุทรไทย คณะวิทยาศาสตร์
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์,

- Abdel-Salam H, Hanifi S, Hamza D, Ali A (2014) Pink line syndrome in *Porites lobata* from El-Ain El-Sukhna, Gulf of Suez, Red Sea. *International Journal of Development* 3: 23-33
- Anderson D, Richet H, Chan L, Spelman D, Hung Y, Huang A, Sexton D, Rooult D (2008) Seasonal Variation in *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infection on 4 Continents. *The Journal of Infectious Diseases* 197: 752-756
- Bongioni L, Rinkevich B (2005) The pink-blue spot syndrome in *Acropora eurystoma* (Eilat, Red Sea): A possible marker of stress? *Zoology* 108: 247-256
- Bruckner A (2002) Priorities for Effective Management of Coral Diseases. NOAA Technical Memorandum NMFS-OPR: 8-12
- Cervino J, Thompson F, Gomez-Gil B, Lorence E, Goreau T, Hayes R, Winiarski-Cervino K, Smith G, Huguen K, Bartels E (2008) The *Vibrio* core group induces yellow band disease in Caribbean and Indo-Pacific reef-building corals. *Journal of Applied Microbiology* 105: 1658-1671
- Croquer A, Bastidas C, Elliott A, Sweet M (2013) Bacterial assemblages shifts from healthy to yellow band disease states in the dominant reef coral *Montastraea faveolata*. *Environmental Microbiology Reports* 5: 90-96
- DAFF (2009) Nature of disease. In Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry.
- Donsomjit W, Yeemin T (2010) Patterns of pink syndrome in *Porites lutea* at Koh Lan. In Proceeding of 35th Congress on Science and Technology of Thailand, Burapa Univesity:
- English S, Wilkinson C, Baker V (1997) Survey manual for tropical marine resources. Australian Institute of Marine Science: 368
- Fenner D (2005) Corals of Hawaii. Honolulu, HI: Mutual Publishing: 144
- Geiser D, Taylor J, Ritchie K, Smith G (1998) Cause of sea fan death in the West Indies. *Nature* 394: 137-138
- ICRI/UNEP-WCMC. (2010) Disease in Tropical Coral Reef Ecosystems. In ICRI Key Messages on Coral Disease
- Kenkel C (2008) Coral disease : baseline surveys in the andaman sea and gulf of Thailand. *Phuket man biol Cent Res Bull* 692: 43-53

- Kritsanapuntu S, Angkhananukroh P (2014) Coral disease prevalence in Samui Island and the adjacent islands, southern part of the Gulf of Thailand. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)* 5: 158-165
- Kushmaro A, Loya Y, Fine M, Rosenberg E (1996) Bacterial infection and coral bleaching. *Nature* 380: 396
- Lamb J, True J, Piromvaragorn S, Willis B (2014) Scuba diving damage and intensity of tourist activities increases coral disease prevalence. *Biological Conservation* 178: 88-96
- Lesser M, Bythell J, Gates R, Johnstone R, Hoegh-Guldberg O (2007) Are infectious diseases really killing corals? Alternative interpretations of the experimental and ecological data. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 346: 36-44
- Li J, Chen Q, Long L, Dong J, Yang J, Zhang S (2014) Bacterial dynamics within the mucus, tissue and skeleton of the coral *Porites lutea* during different seasons. *Scientific Reports* 4: 1-8
- Looney E, Sutherland K, Lipp E (2010) Effects of temperature, nutrients, organic matter and coral mucus on the survival of the coral pathogen, *Serratia marcescens* PDL100. *Environmental Microbiology Reports* 12: 2479-2485
- Meir S (2009) Coral disease pathogens of the Indo-Pacific Ocean. In *Marine & Tropical Biology*, pp 1-15. James Cook University
- Mohamed A, Ali A, Abdel-Salam H (2012) Status of coral reef health in the northern Red Sea, Egypt. In *Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium*, p 5. Cairns, Australia,: Coral bleaching and climate change
- NOAA (2014) Coral Disease & Health Consortium. In *Coral Disease Identification Key*
- Peters E, Yevich P, Oprandy J (1983) Possible causal agent of 'white band disease' in Caribbean acroporid corals. *J Invertebr Pathol* 41: 394-396
- Phongsuwan N, Chansang H (1992) Assessment of Coral Communities in the Andaman Sea (Thailand). In *Proceedings of the 7th International Coral Reef Symposium*, pp 114-121.

- Prabakaran M, Tamil S, Merinal S, Panneerselvam A (2012) Effect of ozonation on pathogenic bacteria. *Pelagia Research Library Advances in Applied Science Research* 3: 299-302
- Putchim L, Yamarunpattana C, Pongsuwan N (2012) Observations of coral diseases in *Porites lutea* in the Andaman Sea following the 2012 bleaching. *Phuket marine biological center research bulletin* 71: 57-62
- Rattanaporn O, Utarabhand P (2011) Molecular cloning of a C-type lectin with two CRD domains from the banana shrimp *Fenneropenaeus merguensis*: Early gene up-regulation after *Vibrio harveyi* infection. *Journal of Invertebrate Pathology* 106: 196-204
- Ravindran J, Raghukumar C (2006) Histological observations on the scleractinian coral *Porites lutea* affected by pink-line syndrome. *CURRENT SCIENCE* 90: 5
- Raymundo L, Rosell K, Reboton C, Kaczmarek L (2005) Coral diseases on Philippine reefs: genus *Porites* is a dominant host. *Diseases of aquatic organisms* 64: 181-191
- Sakai K, Snidvongs A, Nishihira M (1989) A mapping of a coral-based, non-reefal community at Khang Khao Island, inner part of the Gulf of Thailand: interspecific competition and community structure. *Galaxea* 8: 185-216
- Sekar R, Mills D, Remily E, Voss J, Richardson L (2006) Microbial communities in the surface mucopolysaccharide layer and the black band microbial mat of black banddiseased *Siderastrea siderea*. *Appl Environ Microbiol* 72: 5963-5973
- Sheridan C, Kramarsky-Winter E, Sweet M, Kushmaro A, Leal M (2013) Diseases in coral aquaculture: causes, implications and preventions. *Aquaculture* 396: 124-135
- Sukumaran S, George R, Vinod K, Sobhana K, Naomi T, Manisseri M (2011) Temporal patterns in biodiversity and health status of reef corals of Palk Bay. *Indian J Fish* 58: 73-77
- Thinesh T, Mathews G, Edward J (2009) Coral disease prevalence in Mandapan group of island, Gulf of Mannar, Southern India. *Indian Journal of Marine Science* 38: 444-450

- UNEP (2547) ข้อมูลสารสนเทศทางภูมิศาสตร์ (GIS database) เล่มที่ 2 ปะการัง. UNEP GEF Project on Reversing Environmental Degradation Trends in the South China Sea and Gulf of Thailand,
- Weil E (2004) Coral Reef Diseases in the Wider Caribbean. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: 35-68
- Weil E, Hooten A (2008) Underwater cards for assessing coral health on Caribbean reefs. CRTR Program Project Executing Agency, Centre for Marine Studies. The University of Queensland. Australia. ORGANISMS Dis Aquat Org,
- Weil E, Irikawa A, Casareto B, Suzuki Y (2012) Extended geographic distribution of several Indo-Pacific coral reef diseases. Diseases of aquatic organisms Dis aquat org 98: 163-170
- Williams G, Aeby G, Cowie R, Davy S (2010) Predictive modeling of coral disease distribution within a reef system. plos one 5: 1-10
- Work T, Aeby G, Lasne G, Tribollet A (2014) Gross and microscopic pathology of hard and soft corals in New Caledonia. Journal of Invertebrate Pathology 120: 50-58



ภาคผนวก ก. ข้อมูลการศึกษา

ตารางที่ 1 ศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อกลุ่มเด่น

Summer							
ตัวอย่าง	จาก	Code	ลักษณะ	Motility	Oxidase	Gram	Morphology
1	W-1,1,tsa	SW-1	ใหญ่ขาวจาก4 (17)	-	-	+	rod
2	W0,3,tsa	SW-2	ขาวกระจายขุ่นเล็กจาก3 (66)	-	+	-	cocci
3	D-1,2,tsa	SD-3	เล็กเหลืองจาก9 (112)	-	-	+	cocci
4	D-1,2,tsa	SD-4	เหลืองปนส้มจาก9 (7)	-	+	+	cocci
5	W0,2,tsa	SW-5	สีมันขาวจาก2 (9)	-	+	-	cocci
6	D-2,2,tsa	SD-6	ขาวเล็กขุ่นจาก11 (56)	-	-	+	cocci
7	D-2,2,tsa	SD-7	ใหญ่ขาวมันขาวจาก11 (6)	-	-	+	cocci
8	D-1,2,tsa	SD-8	เหลืองใสจาก9 (7)	-	-	+	rod
9	D0,1,tcbs	SD-9	เหลืองมันขาวจาก6 (138)	+	-	-	rod
10	D0,3,tcbs	SD-10	เหลืองมันขาวจาก8 (16)	-	-	+	cocci
11	D0,2,tcbs	SD-11	เหลืองเล็กจาก7 (239)	+	-	+	cocci
12	D0,2,tcbs	SD-12	เหลืองขุ่นขาวจาก7 (9)	+	+	-	cocci
13	D0,2,tcbs	SD-13	เขียวเล็กจาก7 (2)	-	-	+	cocci
14	D0,3,tcbs	SD-14	เขียวใหญ่ขอบขาวจาก8 (9)	+	-	+	cocci
15	D0,3,tcbs	SD-15	ดำจาก8 (1)	+	-	+	cocci
16	D0,3,tcbs	SD-16	เขียวมันขาวจาก8 (29)	-	-	+	rod
17	N-3,3,tsa	SN-17	เหลืองขุ่นเล็กจาก13 (486)	-	-	-	cocci
18	D0,2,tcbs	SD-18	เหลืองเล็กกระจายจาก17 (42)	+	-	+	cocci
19	D0,2,tcbs	SD-19	เหลืองใหญ่มันขาวเป็นกระจุกจาก17 (10)	+	+	-	cocci
20	W0,2,tcbs	SW-20	เหลืองขาวจาก14 (12)	+	+	-	cocci
21	W0,2,tcbs	SW-21	เหลืองขาวขอบใสจาก14 (8)	-	-	+	cocci
22	W0,2,tcbs	SW-22	เขียวขาวใหญ่จาก14 (12)	-	-	+	cocci
23	W0,2,tcbs	SW-23	เขียวขาวเล็กจาก14 (27)	-	-	+	cocci
24	N-2,2,tsa	SN-24	ขาวกระจายใหญ่จาก12 (236)	-	-	+	rod
25	W-3,1,tsa	SW-25	ขาวกระจายเล็กๆจาก16 (37)	-	-	+	rod

หมายเหตุ W = ตัวอย่างน้ำทะเลเหนือโคลนึ่ปะการัง 30 เซนติเมตร
D = ตัวอย่างเมือกของปะการังที่เกิดโรคอย่างชัดเจน
N = ตัวอย่างเมือกของปะการังใกล้จุดที่เกิดโรค
H = ตัวอย่างเมือกของปะการังบริเวณที่ไม่เป็นโรค
S = ฤดูร้อน (เดือนกุมภาพันธ์-เดือนพฤษภาคม)
R = ฤดูฝนในช่วง (เดือนมิถุนายน-เดือนมกราคม)
Number = ลำดับ Isolate

ตารางที่ 1 ศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อกลุ่มเด่น (ต่อ)

Rainy							
ตัวอย่าง	จาก	Code	ลักษณะ	Motility	Oxidase	Gram	Morphology
A1	AD0,1,tcbs	RD-1	เชียวใหญ่ (98)	-	-	+	cocci
A2	AD0,1,tcbs	RD-2	เชียวเล็ก (4)	+	-	-	rod
A3	AD0,1,tcbs	RD-3	เหลืองเข้ม (6)	-	+	-	cocci
A4	AD0,1,tcbs	RD-4	เหลืองใส (1)	-	-	+	cocci
A5	AD0,1,tsa	RD-5	ส้มใหญ่ (6)	-	+	+	cocci
A6	AD0,1,tsa	RD-6	ส้มเล็ก (12)	-	-	+	cocci
A7	AD0,1,tsa	RD-7	ขาวเล็ก (29)	-	-	+	cocci
A8	AD0,1,tsa	RD-8	ขาวอาหารป้อน (1)	-	-	-	rod*
A9	AD0,1,tsa	RD-9	ขาวอาหารป้อนขึ้นสีขาว (เป็นแผ่น)	-	-	+	cocci
A10	AD0,2,tsa	RD-10	ส้มอาหารป้อน (1)	-	+	-	rod
A11	AD0,2,tsa	RD-11	ขาวใหญ่ (10)	-	-	-	rod
A12	AD2,1,tsa	RD-12	ขาวเป็นปื้น (4)	+	-	-	rod
A13	AD3,1,tsa	RD-13	ขาวเล็ก (46)	-	-	+	cocci
A14	AD3,2,tsa	RD-14	ขาวอมชมพูเล็กๆ (652)	-	-	-	cocci
A15	AW0,1,tsa	RW-15	ขาวใหญ่ (8)	-	+	-	rod
A16	AW0,2,tsa	RW-16	ส้มใหญ่ (6)	-	-	+	cocci
A17	AW1,2,mac	RW-17	ขึ้นขาวอมชมพูโคโลนีใหญ่แข็ง (414)	-	-	-	cocci
A18	AN,0,3,tsa	RN-18	ขาวใหญ่ (17)	-	-	+	cocci
A19	AN,0,3,tsa	RN-19	ขาวเล็ก (28)	+	-	-	rod
A20	AN1,1,tsa	RN-20	ขาวอมชมพูเล็กๆ (85)	-	-	-	cocci
A21	AN1,1,mac	RN-21	ชมพูเล็กๆ (1262)	-	-	-	rod*
A22	AN2,1,tsa	RN-22	กลมใสขนาดใหญ่มีรูตรงกลาง (282)	-	+	-	rod
A23	AN2,1,mac	RN-23	กลมใสมีรูตรงกลาง (195)	-	+	-	rod
A24	AN2,1,mac	RN-24	แท่งโค้งเล็กน้อย (12)	-	+	-	cocci
A25	AN2,2,mac	RN-25	กลมใสมีรูตรงกลาง (84)	-	+	+	rod
A26	AN3,3,mac	RN-26	กลมติดกันเป็นพวงอ่อน(1040)	-	-	-	rod
A27	AH0,1,mac	RH-27	ขาวขุ่นเล็กมาก (672)	-	-	-	rod
A28	AH1,1,tcbs	RH-28	เหลืองเล็ก (55)	+	-	-	cocci
A29	AH1,1,tsa	RH-29	ขาวครีมเล็กปลายเข้ม (642)	+	+	-	rod
A30	AN2,2,tsa	RN-30	กลมใสมีรูตรงกลาง (147)	-	-	-	rod

ตารางที่ 2 ปริมาณของแบคทีเรียก่อน และหลังการเตรียมน้ำทำให้เกิดโรคโดยการนำปะการังจัด *P. lutea* ไปจุ่มใน *Klebsiella pneumoniae* ที่อุณหภูมิ

25.5 – 26.5 องศาเซลเซียส

Parameters (unit) / treatment	Day 0						Day 10					
	1			2			1			2		
	M	W		M	W		M	W		M	W	
Total bacterial count (cfu/ml)	6.3×10^3	7.0×10^2		1.26×10^6	2.9×10^2		6.8×10^3	3.9×10^2		6.3×10^4	2.5×10^2	
Total Enteric count (cfu/ml)	1.36×10^6	2.3×10^2		2.72×10^6	3.9×10^2		1.26×10^3	NF		5.9×10^2	NF	
- Lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	1.1×10^6	5.0×10^1		2.36×10^6	3.5×10^2		1.26×10^3	NF		5.9×10^2	NF	
- Non-lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	2.6×10^5	1.8×10^2		3.6×10^5	4.0×10^1		NF	NF		NF	NF	
Total Vibrio count (cfu/ml)	NF	1.6×10^2		NF	NF		NF	NF		NF	NF	
- Sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	1.6×10^2		NF	NF		NF	NF		NF	NF	
- Non-sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	NF		NF	NF		NF	NF		NF	NF	

W = ตัวอย่างน้ำทะเลเหนือโคโลนิปะการัง

D = ตัวอย่างเมือกของปะการังที่เป็นโรคอย่างชัดเจน

N = ตัวอย่างเมือกของปะการังใกล้จุดที่เกิดโรค

H = ตัวอย่างเมือกของปะการังบริเวณที่ไม่เป็นโรค

NF = not found (ไม่มีข้อมูล)

ตารางที่ 3 ปริมาณของแบคทีเรียก่อน และหลังการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรคโดยการนำปะการังจัด *P. lutea* ไปจุ่มใน *Klebsiella pneumoniae*

ที่อุณหภูมิ 28.5 – 29.5 องศาเซลเซียส

Parameters (unit) / treatment	Day 0						Day 10					
	1			2			1			2		
	M	W		M	W		M	W		M	W	
Total bacterial count (cfu/ml)	6.3x10 ³	7.0x10 ²		1.26x10 ⁶	2.9x10 ²		1.5x10 ⁴	1.58x10 ³		7.5x10 ³		1.86x10 ³
Total Enteric count (cfu/ml)	1.36x10 ⁶	2.3x10 ²		2.72x10 ⁶	3.9x10 ²		1.7x10 ²	5.0x10 ¹		8.0x10 ¹		6.0x10 ¹
- Lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	1.1x10 ⁶	5.0x10 ¹		2.36x10 ⁶	3.5x10 ²		1.7x10 ²	5.0x10 ¹		8.0x10 ¹		6.0x10 ¹
- Non-lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	2.6x10 ⁵	1.8x10 ²		3.6x10 ⁵	4.0x10 ¹		NF	NF		NF		NF
Total Vibrio count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²		NF	NF		NF	NF		NF		NF
- Sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²		NF	NF		NF	NF		NF		NF
- Non-sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	NF		NF	NF		NF	NF		NF		NF

W = ตัวอย่างน้ำทะเลเหนือโคโลนิปะการัง

D = ตัวอย่างเมือกของปะการังที่เป็นโรคอย่างชัดเจน

N = ตัวอย่างเมือกของปะการังใกล้จุดที่เกิดโรค

H = ตัวอย่างเมือกของปะการังบริเวณที่ไม่เป็นโรค

NF = not found (ไม่มีข้อมูล)

ตารางที่ 4 ปริมาณของแบคทีเรียที่เรียกก่อน และหลังการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรคโดยการนำปะการังชนิด *P. lutea* ไปจุ่มใน *Klebsiella pneumoniae*

ที่อุณหภูมิ 31.5 – 32.5 องศาเซลเซียส

Parameters (unit) / treatment	Day 0						Day 10					
	1			2			1			2		
	M	W		M	W		M	W		M	W	
Total bacterial count (cfu/ml)	6.3x10 ³	7.0x10 ²		1.26x10 ⁶	2.9x10 ²		5.4x10 ³	1.2x10 ³		3.9x10 ³	3.2x10 ³	
Total Enteric count (cfu/ml)	1.36x10 ⁶	2.3x10 ²		2.72x10 ⁶	3.9x10 ²		2.3x10 ³	4.9x10 ²		5.0x10 ¹	7.0x10 ¹	
- Lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	1.1x10 ⁶	5.0x10 ¹		2.36x10 ⁶	3.5x10 ²		2.3x10 ³	4.8x10 ²		5.0x10 ¹	7.0x10 ¹	
- Non-lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	2.6x10 ⁵	1.8x10 ²		3.6x10 ⁵	4.0x10 ¹		NF	1.0x10 ¹		NF	NF	
Total Vibrio count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²		NF	NF		NF	NF		NF	NF	
- Sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²		NF	NF		NF	NF		NF	NF	
- Non-sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	NF		NF	NF		NF	NF		NF	NF	

W = ตัวอย่างน้ำทะเลเหนือโคโลนิปะการัง

D = ตัวอย่างเมือกของปะการังที่เป็นโรคอย่างชัดเจน

N = ตัวอย่างเมือกของปะการังใกล้จุดที่เกิดโรค

H = ตัวอย่างเมือกของปะการังบริเวณที่ไม่เป็นโรค

NF = not found (ไม่มีข้อมูล)

ตารางที่ 5 ปริมาณของแบคทีเรียก่อน และหลังการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรคโดยการนำปะการังชนิด *P. lutea* ไปจุ่มใน *Klebsiella pneumoniae* ที่อุณหภูมิ 25.5 – 26.5 องศาเซลเซียส ในน้ำทะเลที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

Parameters (unit) / treatment	Day 0						Day 10 (F)					
	1			2			1			2		
	M	W		M	W		M	W		M	W	
Total bacterial count (cfu/ml)	6.3x10 ³	7.0x10 ²		1.26x10 ⁶	2.9x10 ²		6.5x10 ²	3.4x10 ²		4.7x10 ²	3.4x10 ²	
Total Enteric count (cfu/ml)	1.36x10 ⁶	2.3x10 ²		2.72x10 ⁶	3.9x10 ²		3.2x10 ²	NF		1.25x10 ³	2.0x10 ²	
- Lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	1.1x10 ⁶	5.0x10 ¹		2.36x10 ⁶	3.5x10 ²		3.2x10 ²	NF		1.25x10 ³	1.9x10 ²	
- Non-lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	2.6x10 ⁵	1.8x10 ²		3.6x10 ⁵	4.0x10 ¹		NF	NF		NF	1.0x10 ¹	
Total Vibrio count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²		NF	NF		NF	NF		NF	NF	
- Sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²		NF	NF		NF	NF		NF	NF	
- Non-sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	NF		NF	NF		NF	NF		NF	NF	

W = ตัวอย่างน้ำทะเลเหนือโคโคโนปะการัง

D = ตัวอย่างเมือกของปะการังที่เป็นโรคอย่างชัดเจน

N = ตัวอย่างเมือกของปะการังใกล้จุดที่เกิดโรค

H = ตัวอย่างเมือกของปะการังบริเวณที่ไม่เป็นโรค

NF = not found (ไม่มีข้อมูล)

ตารางที่ 6 ปริมาณของแบคทีเรียที่เรียกก่อน และหลังการเหนี่ยวนำทำให้เกิดโรคโดยการนำภากรังชุด *P. lutea* ไปจุ่มใน *Klebsiella pneumoniae* ที่อุณหภูมิ 25.5 – 26.5 องศาเซลเซียส ในน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

Parameters (unit) / treatment	Day 0						Day 10 (S)					
	1			2			1			2		
	M	W		M	W		M	W		M	W	
Total bacterial count (cfu/ml)	6.3x10 ³	7.0x10 ²		1.26x10 ⁶	2.9x10 ²		1.46x10 ⁴	3.4x10 ²		7.0x10 ²	5.0x10 ²	
Total Enteric count (cfu/ml)	1.36x10 ⁶	2.3x10 ²		2.72x10 ⁶	3.9x10 ²		1.0x10 ³	1.3x10 ²		2.8x10 ³	1.2x10 ²	
- Lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	1.1x10 ⁶	5.0x10 ¹		2.36x10 ⁶	3.5x10 ²		7.3x10 ²	1.3x10 ²		2.8x10 ³	1.2x10 ²	
- Non-lactose fermenting bacterial count (cfu/ml)	2.6x10 ⁵	1.8x10 ²		3.6x10 ⁵	4.0x10 ¹		2.7x10 ²	NF		NF	NF	
Total Vibrio count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²		NF	NF		NF	NF		NF	NF	
- Sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	1.6x10 ²		NF	NF		NF	NF		NF	NF	
- Non-sucrose fermenting bacterial count (cfu/ml)	NF	NF		NF	NF		NF	NF		NF	NF	

W = ตัวอย่างน้ำทะเลเหนือโคไลบะการัง

D = ตัวอย่างเมือกของปะการังที่เป็นโรคอย่างชัดเจน

N = ตัวอย่างเมือกของปะการังใกล้จุดที่เกิดโรค

H = ตัวอย่างเมือกของปะการังบริเวณที่ไม่เป็นโรค

NF = ไม่พบข้อมูล (not found)

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนสีเนื้อเยื่อของปะการังชนิด *P. lutea*

Coral colony / Date	1	4	7	10
SW(F)-1				
1				
2				
3				
4				√
5				
SW(F)-2				
1				
2			√	√
3				
4				
5				
SW(S)-1				
1				
2				
3				
4				
5				
SW(S)-2				
1				
2				
3				
4				
5				
SW(26°C)-1				
1				
2				
3				
4			√	√
5				√
SW(26°C)-2				
1				
2				
3				
4				
5				
SW(29°C)-1				
1				
2				
3				
4				
5				
SW(29°C)-2				
1				
2				
3				
4				
5				
SW(32°C)-1				
1				
2				
3				
4				√
5				
SW(32°C)-2				
1				
2				
3				
4				
5				

ภาคผนวก ข. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

Bacto Tryptic Soy Agar Dehydrated (TSA)

ใช้สำหรับ isolate และ cultivate จุลินทรีย์พวก fastidious microorganisms หรือใช้ผสมกับเลือดเพื่อศึกษา hemolytic reactions

- วิธีการเตรียม**
- ชั่ง medium ปริมาณ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร
 - คนให้เข้ากันแล้วนำไปต้มใน water bath ให้ agar ละลายให้หมด
 - นำไป sterile ด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 120 °C เป็นเวลา 15 นาที
 - นำไปเทใน petri dish ที่ sterile แล้ว

หมายเหตุ : กรณีที่ต้องการ isolate เชื้อกลุ่ม *Vibrio spp.* ต้องเติม sodium chloride ปริมาณ 5 กรัมต่อ 1000 มิลลิลิตร ใน medium ก่อนนำไป sterile

Bacto Tryptic Soy Broth Dehydratd (TSB)

ใช้สำหรับ cultivating จุลินทรีย์ทั่วไป

- วิธีการเตรียม**
- ชั่ง medium ปริมาณ 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร
 - คนให้เข้ากันให้ medium ละลายจนหมด
 - นำไป sterile ด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 120 °C เป็นเวลา 15 นาที
 - นำไปเทลงใน tube ที่ sterile แล้ว
 -

Bacto Thiosulfate Citrate Bile-Salt Sucrose Dehydratd (TCBS)

ใช้สำหรับ isolate และ cultivating จุลินทรีย์พวก *Vibrio Cholerae* และพวก Enteropathogenic Vibrios ชนิดอื่น

- วิธีการเตรียม**
- ชั่ง medium ปริมาณ 89 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร
 - คนให้เข้ากันแล้วนำไปต้มใน water bath ให้ agar ละลายให้หมด

- นำไปเทใน petri dish ที่ sterile แล้ว

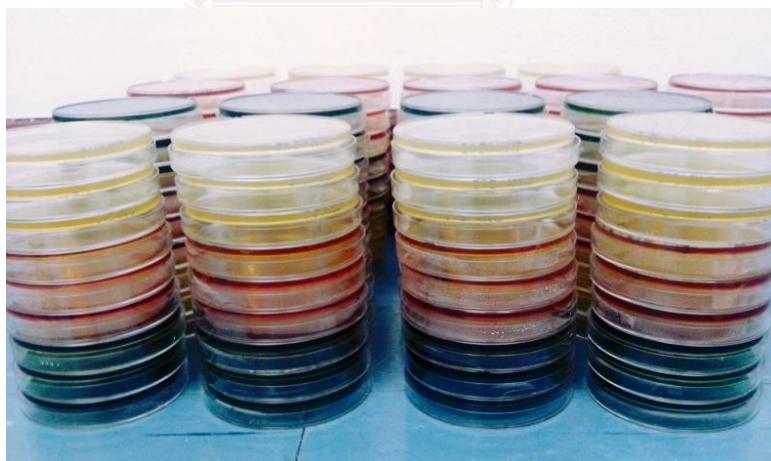
หมายเหตุ : ไม่ต้อง autoclave

Bacto MacConkey Agar Dehydratd

ใช้สำหรับ isolate และจำแนกความแตกต่างระหว่าง lactose-fermenting

microorganisms กับ lactose non-fermenting microorganisms และแยกพวก enteric bacilli gram negative

- วิธีการเตรียม**
- ชั่ง medium ปริมาณ 51.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร
 - คนให้เข้ากันแล้วนำไปต้มใน water bath ให้ agar ละลายให้หมด
 - นำไป sterile ด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 120 °C เป็นเวลา 15 นาที
 - นำไปเทใน petri dish ที่ sterile แล้ว



ภาคผนวก ค. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียทางชีวเคมี (Biochemical test)

การตรวจจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียมีการตรวจสอบหลายวิธี เช่น การย้อมแกรม (Gram's stain) การทดสอบการเคลื่อนที่ของเชื้อ (Motility Test) การทดสอบออกซิเดส (Oxidase Test) และการทดสอบโดยใช้ชุดทดสอบทางชีวเคมี API 20 E เป็นต้น

การทดสอบการเคลื่อนที่ของเชื้อ (Motility Test)

- เช็ดแผ่นสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ให้สะอาด
- หยดน้ำเกลือ (Normal Saline Sterile) 1 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ที่เตรียมไว้
- เป็นด้วยแผ่น cover slip (พยายามอย่าให้มีฟองอากาศ)
- ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า

การแปลผล - ผลบวก = แบคทีเรียจะเคลื่อนที่ไปมา

- ผลลบ = แบคทีเรียไม่มีการเคลื่อนไหว (แต่อาจมีการไหลตามน้ำ)

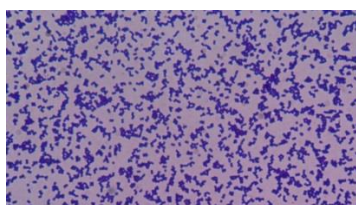
การย้อมสีแกรม (Gram's stain)

- เช็ดแผ่นสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ให้สะอาด
- หยดน้ำเกลือ (Normal Saline Sterile) 1 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ที่เตรียมไว้
- นำเชื้อที่เตรียมไว้ เชี่ยวบนหยดน้ำแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
- นำแผ่นสไลด์ที่แห้งแล้วไปลงผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง
- หยดสี Crystal Violet ให้ท่วมแผ่นสไลด์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที
- ล้างออกด้วยน้ำกลั่นจนหมดสี
- หยดสี Gram's Iodine ลงให้ท่วมแผ่นสไลด์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที
- ล้างออกด้วยน้ำกลั่นจนหมดสี
- หยดสาร Decolorizer ให้ท่วมแผ่นสไลด์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที

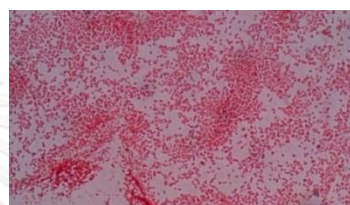
- ล้างออกด้วยน้ำกลั่นจนหมดสี
- หยดสี Safranin ลงให้ท่วมแผ่นสไลด์ ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 วินาที
- ล้างออกด้วยน้ำกลั่นจนหมดสี
- ซับน้ำเบาๆ ด้วยกระดาษทิชชู หรือผ้านุ่มๆ
- ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า

การแปลผล - ผลบวก = แบคทีเรียจะติดสีน้ำเงิน

- ผลลบ = แบคทีเรียจะติดสีแดง



แบคทีเรียจะติดสีน้ำเงิน



แบคทีเรียจะติดสีแดง

การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test)

- วางกระดาษกรองที่ตัดเตรียมไว้บนจากอาหารเลี้ยงเชื้อ
- ใช้ loop เชี่ยโคโลนีเชื้อลงบนกระดาษกรอง
- หยดสารทดสอบ Oxidase test
- ทิ้งไว้ 3-5 นาที

การแปลผล - ผลบวก = เกิดสีม่วงเข้มที่โคโลนีเชื้อ

- ผลลบ = โคโลนีเชื้อไม่มีการเปลี่ยนสี



แบคทีเรียที่ไม่เกิดการเปลี่ยนสี และแบคทีเรียเกิดสีม่วงเข้มที่โคโลนี

ภาคผนวก ง. การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยใช้ API 20E Test kit

Api 20 E (Biomérieux) เป็นชุดทดสอบคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียทางชีวเคมีสำเร็จรูปซึ่งประกอบด้วยสารตั้งต้นเป็นอาหารแห้ง (sehydrated substrate) ซึ่งสามารถทดสอบคุณสมบัติทั้งหมดได้ 20 คุณสมบัติ คือ ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H₂S, URE, TDA, IND, VP, GEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY และARA ดังแสดงในภาพที่ 1

วิธีการทดสอบ

1. ใช้ loop เชี่ยวเชื้อแบคทีเรีย 1 โคโลนี ลงในน้ำเกลือ (NaCl 0.85%) 9 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. นำแถบ strip วางในกล่อง incubate ที่เติมน้ำกลั่นไว้แล้ว
3. ใช้ปิเปต หรือ syringe ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ดูดสารละลาย (suspension) เติมลงในหลุม (cupule) ของ strip ให้ถึงแค่ขอบหลุม (tube) แต่การทดสอบ **CIT** , **VP** และ **GEL** เติม suspension ให้เต็มหลุม ส่วนการทดสอบ **ADH**, **LDC**, **ODC**, **H₂S** และ **URE** ให้เติม mineral oil
4. ปิดฝากล่องนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
หมายเหตุ การอ่านผลของ strip ควรอ่านผลหลังจาก incubate ถึง 18 ถึง 24 ชั่วโมง ในกรณีที่ไม่สามารถอ่านผลได้ ให้นำ strip ออกจากตู้ incubate มาเก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส จนกว่าจะได้ทำการอ่านผล

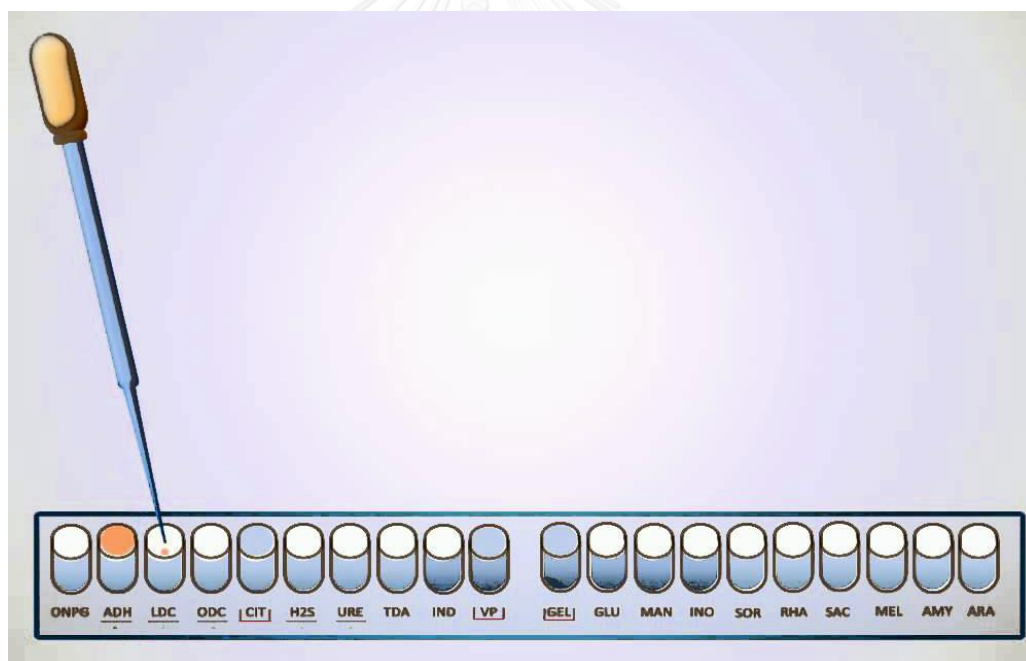
การอ่านผล

1. หลังจาก incubate 18-24 ชั่วโมง ให้เปรียบเทียบสีการเปลี่ยนแปลงชีวเคมีตามตารางอ่านผล
2. การทดสอบ GLU เป็นบวก หรือการทดสอบ VP กับ GEL เป็นบวกทั้งคู่ ให้หยุด Reagent ลงในการทดสอบดังนี้
 - TDA test หยุด TDA reagent ลงไป 1 หยด ถ้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ให้บันทึกผลเป็นบวก

- IND test หยด JAMES reagent ลงไป 1 หยด ถ้าเปลี่ยนเป็นสีชมพูทั้งหลุมทันที ให้บันทึกผลเป็นบวก หรือหยด IND reagent ลงไป 1 หยด ถ้าเกิดวงแหวนสีแดงขึ้น หลังจากเติม Reagent 2 นาที บันทึกผลเป็นบวก
- VP test หยด VP1 และ VP2 reagent อย่างละ 1 หยด รอประมาณ 10 นาที ถ้ามีสีชมพูหรือ แดงเกิดขึ้นให้บันทึกผลเป็นบวก

หมายเหตุ ถ้าในหลุมหรือช่องการทดสอบ GLU test เป็นลบ (ไม่เป็นสีเหลือง) และการทดสอบ VP

กับ GEL เป็นลบ ไม่ต้องเติม Reagent ให้ Incubate ต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกมาเติม Reagent และอ่านผล



ภาพที่ 1 ลักษณะของ Api 20E

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางพงศา อังคณานุเคราะห์ เกิดเมื่อวันที่ 19 เมษายน 2532 ที่จังหวัดสงขลา มีประวัติการศึกษาดังนี้

- ปีการศึกษา 2550 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและมัธยมศึกษาตอนปลาย แผนการเรียน วิทยาศาสตร์-คณิต โรงเรียนนวมารวีเฉลิม จังหวัดสงขลา

- ปีการศึกษา 2554 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางน้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

- ปีการศึกษา 2555 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้ทำการเผยแพร่ผลงานทางวิชาการโดยการนำผลงานทางวาจาและโปสเตอร์ในงานประชุมวิชาการ รวมไปถึงการตีพิมพ์บทความทางวิชาการ ดังนี้

1) การตีพิมพ์บทความทางวิชาการในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ (International journal)

Pongsa Angkhananukroh, Sirusa Kritsanapuntu, Nilnaj Chaitanawisuti, Somkiat Piyatiratitivorakul. 2016. Preliminary survey on disease prevalence in dominant massive coral *Porites lutea* in three reef communities at Sichang Island group, the Eastern Gulf of Thailand. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* (Accepted)

2) การตีพิมพ์บทความทางวิชาการในการประชุมวิชาการ (Proceeding)

พงศา อังคณานุเคราะห์, นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ, วิณา เคยพุดชา, สมเกียรติ ปิยะธีรธิตีวรกุล. 2558. โรคแถบสีชมพูในปะการังโขด *Porites lutea* ของแนวปะการังเขตน้ำตื้นบริเวณกลุ่มเกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี. ประมวลการประชุมวิชาการ งานเกษตรนเรศวรครั้งที่ 13, มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

3) การนำเสนอผลงานวิชาการภาคโปสเตอร์ (Poster presentation)

3.1 Pongsa Angkhananukroh, Nilnaj Chaitanawisuti, Sirusa Kritsanapuntu, Somkiat Piyatiratitivorakul. Pink line syndrome in massive coral *Porites lutea* in reef communities of Sichang Island group, the Eastern Gulf of Thailand. *Society for Coastal Ecosystems Studies - Asia Pacific (SCESAP)*, 3-7 July 2015, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

3.2 พงศา อังคณานุเคราะห์, นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ, วิณา เคยพุดชา, สมเกียรติ ปิยะธีรธิตีวรกุล. โรคแถบสีชมพูในปะการังโขด *Porites lutea* ของแนวปะการังเขตน้ำตื้นบริเวณกลุ่มเกาะสี่ซัง จังหวัดชลบุรี. การประชุมวิชาการ งานเกษตรนเรศวรครั้งที่ 13, 2-8 พฤศจิกายน 2558: มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

4) ผลงานวิชาการที่เกี่ยวข้อง (Relative publications)

Sirusa Kritsanapuntu และ Pongsa Angkhananukroh. 2014. Coral disease prevalence in Samui Island and the adjacent islands, the southern part of the Gulf of Thailand. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* 5 (4): 158 – 165.