

โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในหอยแครง (*Anadara Granosa*)

จากแหล่งเลี้ยง อำเภอลำลูกเกด จังหวัดจันทบุรี

ทิพย์สุดา ผลภานี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

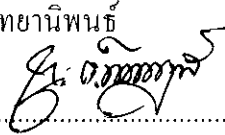
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

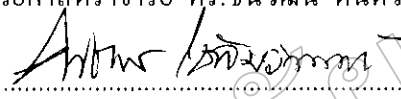
สิงหาคม 2550

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ ทิพย์สุดา ผลภายี ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

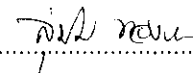
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

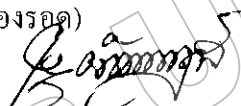

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันติวรานูรักษ์)

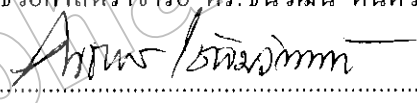

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร เฉลิมวัฒน์)

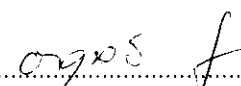

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร.อาคูลชัย มีพล)

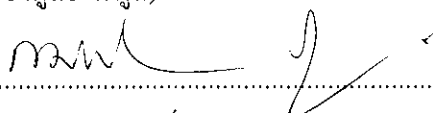
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธาน
(ดร.สุพิศ ทองรอด)



..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันติวรานูรักษ์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร เฉลิมวัฒน์)


..... กรรมการ
(ดร.อาคูลชัย มีพล)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จิริตควร)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยบูรพา


..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประทุม ม่วงมี)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.2550

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ ระดับบัณฑิตศึกษา
จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา
ประจำภาคต้น ปีการศึกษา 2549

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยความเมตตา และกรุณาจากหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รองศาสตราจารย์ ดร.กเชนทร เฉลิมวัฒน์ และ ดร.อาตุลย์ มีพูล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาแนะนำความรู้ แนวทาง ตรวจสอบ ความถูกต้องและแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ผู้ช่วยศาสตราจารย์สมถวิล จริตควร อาจารย์ผู้ให้คำแนะนำในด้านวิชาการ ตรวจสอบแก้ไขต่าง ๆ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้ ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่คอยติดตามสอบถามความก้าวหน้า ตลอดจน ให้กำลังใจในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณครอบครัว กิจอักษร และเกษตรกรผู้เลี้ยงหอยแครงทุกท่าน ที่ได้ให้ความรู้และอนุเคราะห์สถานที่ เพื่อทำการสำรวจ ตลอดจนตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้ง ผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับทุก ๆ ท่าน ที่ไม่ได้เอ่ยนามได้ครบถ้วน ต้องขออภัยและขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้ สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ พ่อ แม่ และครอบครัวที่อบอุ่น คอยเป็นกำลังใจ สันนิบาสนุน และเป็นแรงใจสำคัญ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ทิพย์สุดา ผลภาณี

47911170: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์ชีวภาพ; วท.ม. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

คำสำคัญ: *NEMATOPSIS*/ โปรโตซัวปรสิต/ BLOODY COCKLE/ *ANADARA GRANOSA*/ ชายฝั่งภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

ทิพย์สุดา ผลภายี: โปรโตซัวปรสิต *NEMATOPSIS* ที่พบในหอยแครง (*ANADARA GRANOSA*) จากแหล่งเลี้ยง อำเภอลำลูกเกด จังหวัดจันทบุรี (THE PROTOZOA PARASITE *NEMATOPSIS* IN BLOODY COCKLES (*ANADARA GRANOSA*) FROM KHLUNG DISTRICT, CHANTHABURI PROVINCE, THAILAND) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ชนวัฒน์ ตันติวรานุกฤษ, ปร.ด., ศเชนทร เถลิวัฒน์, Ph.D., อาดุลย์ มีพูล, ปร.ด. 47 หน้า. ปี พ.ศ. 2550.

งานวิจัยนี้รายงานถึง การสำรวจค่าความชุกและการตรวจหาค่าความหนาแน่นของ โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในเหงือกของหอยแครง ที่ได้จากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกเฉียงเหนือของ ประเทศไทย ณ แหล่งเลี้ยงอำเภอลำลูกเกด จังหวัดจันทบุรี โดยใช้หลักการทางเนื้อเยื่อวิทยาประกอบการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2548 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2549 จำนวน เดือนละ 15 ตัว รวมทั้งสิ้น 195 ตัว พบว่า มีความชุกของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในหอย ทั้งหมด 139 ตัว คิดเป็นร้อยละ 71.28 ซึ่งสามารถพบปรสิตได้ในทุกเดือน โดยพบว่าในเดือน พฤศจิกายน และเดือนธันวาคมมีความชุกมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 100 ค่าความหนาแน่นคิดเป็น 655 Oocyst มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งของเหงือก และในเดือนกันยายน มีความชุกน้อยที่สุด คิดเป็น ร้อยละ 26.67 ค่าความหนาแน่นคิดเป็น 6 Oocyst มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งของเหงือก

การศึกษาค้นเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าตัวอ่อนของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ระยะ Oocyst มีลักษณะกลมรี คล้ายไข่ มีเปลือกหนา และแข็ง มีขนาดความกว้าง $12.2-13.5 \mu\text{m}$ ($12.57 \pm 0.41 \mu\text{m}$) ($n = 15$) และมีขนาดความยาว $16.4-17.5 \mu\text{m}$ ($16.81 \pm 0.28 \mu\text{m}$) ($n = 15$) Oocyst แต่ละฟอง จะมีถุงหุ้มอีกชั้นหนึ่ง เรียกว่า Parasitophorous Vacuole และหลาย ๆ ถุง จะถูกหุ้มด้วย Phagocyte ซึ่งเป็นส่วนที่หอยสร้างขึ้นมาเพื่อหุ้มปรสิตไว้ มีหลายขนาดตั้งแต่เส้นผ่านศูนย์กลาง $30 \mu\text{m}$ ไปจนถึง $120 \mu\text{m}$ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวน Oocyst ที่บรรจุอยู่ภายใน มีตั้งแต่ 1 ฟอง ไปจนถึง 45 ฟอง จากการศึกษารายภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่า Oocyst มีขนาดความกว้าง $8.2-9 \mu\text{m}$ มีขนาดความยาว $7.5-8 \mu\text{m}$ ความหนาของผนัง Oocyst มีขนาด $1-1.2 \mu\text{m}$ และ Operculum มีขนาด $1.5 \mu\text{m}$ ภายในมีตัวอ่อนระยะ Sporozoite ภายนอกของผนัง Oocyst จะมี ลักษณะเป็นเส้นใย (Microfibrils) ปกคลุม

47911170: MAJOR: BIOLOGICAL SCIENCE; M.Sc. (BIOLOGICAL SCIENCE)

KEYWORDS: PROTOZOA PARASITE/ *NEMATOPSIS*/ BLOODY COCKLE/ *ANADARA GRANOSA*/ EASTERN COAST OF THAILAND

THIPSUDA PONPASEE: THE PROTOZOA PARASITE *NEMATOPSIS* IN BLOODY COCKLES (*ANADARA GRANOSA*) FROM KHLUNG DISTRICT, CHANTHABURI PROVINCE, THAILAND. THESIS ADVISORS: CHANAWAT TUNTIWARANURUK, Ph.D., KASHANE CHALERMWAT, Ph.D., ARDOOL MEEPOOL, Ph.D. 47 P. 2007.

The prevalence and intensity of infection of this apicomplexan parasite of commercial cultured cockles was studied in 15 specimens collected each month total of 195 individuals. The specimens were collected monthly from November, 2005 to November, 2006, in the gulf of Thailand near Khlung district, Chantaburi Province, Thailand. The total incidence of infection was 71.28%. Prevalence of *Nematopsis* during the 13 month sampling period was highest in November and December, 100% (n= 15) the intensity of infection, 655 oocyst/ gill dry weight and lowest in September, 26.67% (n= 15) with intensity of infection, 6 oocyst/ gill dry weight.

Histological examination of *Nematopsis* showed that the oocysts were 12.2 - 13.5 μm ($12.57 \pm 0.41 \mu\text{m}$) in width and 16.4 - 17.5 μm ($16.81 \pm 0.28 \mu\text{m}$) in length. Each oocyst was located in the center of a spherical to ellipsoidal parasitophorous vacuole (PV) of 30-120 μm in diameter. The phagocyst sac diameter varied between 30-120 μm depending on the number of oocysts within the sac that ranged from 1 to 45 oocysts. The oocysts under examination by transmission electron microscopy, TEM, showed that the oocysts were 8.2- 9 μm long and 7.5-8 μm wide consisting of the external wall of 1-1.2 μm thick surrounded by the internal, uninucleated sporozoite. The polar end, where the circular micropyle is located, was approximately 1.5 μm in diameter and was covered by an operculum. The oocyst wall was connected to the PV membrane by a complex network of anastomosed microfibrils.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	จ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
สมมติฐานของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
ขอบเขตการวิจัย.....	3
สถานที่ทำการวิจัย.....	3
ระยะเวลาของการวิจัย.....	3
นิยามคำศัพท์เฉพาะ.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ชีววิทยาทั่วไปของหอยแครง.....	5
อนุกรมวิธานของหอยแครง (<i>Anadara granosa</i>).....	6
ชีววิทยาทั่วไปของโปรโตซัวปรสิต <i>Nematopsis</i>	7
อนุกรมวิธานของ <i>Nematopsis</i>	7
สัณฐานวิทยาและวงจรชีวิตของ <i>Nematopsis</i>	8
วงจรชีวิตของ <i>Nematopsis</i>	11
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ <i>Nematopsis</i>	13
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	16
วิธีดำเนินการ.....	17
การศึกษาสัณฐานวิทยา และค่าความชุก (Prevalence).....	19
การตรวจหาค่าความหนาแน่น (Intensity of Infection) ของ <i>Nematopsis</i>	19

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
เนื้อเยื่อวิทยาของเหงือกหอยแครงที่ติดเชื้อ <i>Nematopsis</i>	20
โครงสร้างละเอียดของ <i>Nematopsis</i> ที่ระบาดในหอยแครง.....	20
4 ผลการวิจัย.....	22
การศึกษาสัณฐานวิทยาและค่าความชุกของ <i>Nematopsis</i>	22
การตรวจหาค่าความหนาแน่น (Intensity of Infection) ของ <i>Nematopsis</i>	25
การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา และ โครงสร้างละเอียด ของเหงือกหอยแครงที่ติดเชื้อ <i>Nematopsis</i>	26
5 อภิปรายและสรุปผล.....	35
สรุปผลการวิจัย.....	35
อภิปรายผลการวิจัย.....	37
การตรวจหาค่าความหนาแน่น (Intensity of Infection) ของ <i>Nematopsis</i>	37
เนื้อเยื่อวิทยา.....	38
โครงสร้างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน.....	40
ข้อเสนอแนะ.....	41
บรรณานุกรม.....	43
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	47

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงร้อยละค่าความชุกของโปรโตซัวปรสิต <i>Nematopsis</i> ในรอบปี.....	22
2 แสดงขนาดของ Oocysts ของ <i>Nematopsis</i> ชนิดต่าง ๆ ที่พบได้ในหอยแต่ละชนิด.....	42

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	6
2	9
3	10
4	12
5	13
6	18
7	23
8	24
9	25
10	26
11	28
12	29
13	30

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
14 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) กำลังขยายต่ำ (A) และสูง (B) ของ Epithelial Cell ของเหงือกหอยแครง แสดง Oocyst (Oc) ของโปรโตซัวปรสิต <i>Nematopsis</i> ที่ฝังตัวอยู่ใน Cytoplasm ของ Epithelial Cell.....	31
15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) กำลังขยายต่ำ (A) และสูง (B) ของเหงือกหอยแครงที่ติดเชื้อ <i>Nematopsis</i>	32
16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (TEM) ของ Oocystic Wall (W) และ Clear Zone ของ Phagocytic Sac.....	33
17 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (TEM) ของ Oocystic Wall (W) แสดงลักษณะของ Operculum.....	34

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University