

การระบาดและถิ่นฐานวิทยาของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาลาย
(*Penaeus semisulcatus*) จากแหล่งสะพานปลาอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

ปณิธิ หนูน้อย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

พฤษภาคม 2554

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ ปณิธิ หนูน้อย ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันตวรานุรักษ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร. อาดุลย์ มีพูล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(ดร. พิสิษฐ์ พลธนะ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันตวรานุรักษ์)

..... กรรมการ
(ดร. อาดุลย์ มีพูล)

..... กรรมการ
(ดร. วันศุกร์ เสนานาญ)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษาวดี ตันตวรานุรักษ์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. ๒๕๕๖.....พ.ศ.2554

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษา

มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีการศึกษา 2553

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์/คุณวุฒิพนธ์

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประจำปีงบประมาณ 2554

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี โดยความเมตตาและกรุณาจากหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบ
ขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ให้คำแนะนำ
ปรึกษาและคอยติดตามสอบถามความก้าวหน้า ดร. อาดุลย์ มีพูล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณา
แนะนำความรู้ แนวทาง และตรวจสอบความถูกต้องแก้ไขข้อบกพร่องในการวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้
จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ ขอขอบพระคุณครอบครัว เฉยศิริ ที่อนุเคราะห์
ตัวอย่างกึ่งกุลาสาย และขอขอบคุณนางสาวจันทิพย์ นพรัตน์อาภากุลที่ให้คำแนะนำและช่วยเตรียม
ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ไม่ได้เอ่ยนาม ต้องขออภัยและกราบ
ขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ พ่อ แม่ ทุกคนในครอบครัวของดิฉัน และคุณวินัย
วนิชัญญทรัพย์ ที่คอยเป็นกำลังใจ และสนับสนุน ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้สำเร็จได้ด้วยดี

ปณิธิ หนูน้อย

51911756: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์ชีวภาพ; วท.ม. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

คำสำคัญ: *Nematopsis* sp./ Protozoa/ Prawn/ *Penaeus semisulcatus*

ปณิธิ หนูน้อย: การระบาดและสัณฐานวิทยาของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus semisulcatus*) จากแหล่งสะพานปลาอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี (INFECTION AND MORPHOLOGY OF PROTOZOA PARASITE *Nematopsis* sp. IN GREEN TIGER PRAWN (*Penaeus semisulcatus*) FROM ANG-SILA PIER, CHONBURI PROVINCE, THAILAND) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ชนวัฒน์ ต้นดีวรานุรักษ์, ประ.ค., อาดุลย์ มีพูล, ประ.ค. 71 หน้า. ปี พ.ศ. 2554.

งานวิจัยนี้รายงานถึง การสำรวจค่าความชุก ลักษณะพยาธิสภาพภายในลำไส้กุ้ง และ สัณฐานวิทยาของ *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาดำ โดยเก็บตัวอย่างกุ้งกุลาดำทั้งหมด 260 ตัว ใช้ หลักการทางเนื้อเยื่อวิทยาประกอบกับการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอน พบว่าจากกุ้งกุลาดำ 260 ตัว ตรวจพบ *Nematopsis* sp. 179 ตัว คิดเป็นร้อยละ 68.85 โดยมีค่าความชุกมากในเดือนสิงหาคม คิดเป็นร้อยละ 95 ค่าความชุกน้อยในเดือนตุลาคม, ธันวาคม และมกราคม คิดเป็นร้อยละ 40 และพบ *Nematopsis* sp. ตั้งแต่ 1-454 ตัวต่อกุ้งกุลาดำ 1 ตัว

การศึกษาด้านสัณฐานวิทยาพบว่า *Nematopsis* sp. ที่พบมี 3 ระยะ คือ ระยะ gamont, syzygy และ gametocyst ในระยะ gamont มีลักษณะเป็นทรงกระบอก ประกอบด้วย (protomerite) และ (deutomerite) ระยะ syzygy มีลักษณะเป็นทรงกระบอก ลำตัวแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนบน เรียกว่า primate ประกอบด้วย protomerite และ deutomerite และเชื่อมต่อกับส่วนท้ายเรียกว่า satellite โดยพบนิวเคลียสบริเวณ deutomerite และ satellite ระยะ gametocyst มีลักษณะกลมมีผนัง หุ้มภายในประกอบด้วย sporocyst จำนวนมาก เมื่อนำตัวอย่างของ *Nematopsis* sp. ในระยะ syzygy มา ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) พบว่าพื้นผิวของ *Nematopsis* sp. มี ลักษณะเป็น lamella ตั้งแต่ส่วน protomerite ไปจนถึงปลายสุดของ satellite และเมื่อศึกษาด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (TEM) มองเห็น septum ระหว่าง protomerite และ deutomerite ชัดเจน ภายใน protomerite deutomerite และ satellite ประกอบด้วย granule จำนวน มาก ภายใน nucleus พบ chromatin และ nucleolus อยู่ใกล้กับ nuclear membrane พบ mitochondria และ endoplasmic reticulum อยู่รอบนิวเคลียส ลักษณะของ lamella ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น ที่ ส่วนปลายพบ microtubule 6-8 อัน พบ phagocytocyst และ vacuole จำนวนมาก การศึกษาพยาธิ สภาพภายในลำไส้กุ้งที่มีการระบาดของ *Nematopsis* sp. พบว่า *Nematopsis* sp. อยู่อย่างอิสระ ภายในลำไส้ของกุ้งไม่ได้ยึดเกาะกับผนังลำไส้ และไม่พบว่าเนื้อเยื่อบริเวณผนังลำไส้ถูกทำลาย

51911756: MAJOR: BIOLOGICAL SCIENCE; M.Sc. (BIOLOGICAL SCIENCE)

KEYWORDS: *Nematopsis*, sp./ Protozoa/ Prawn/ *Penaeus semisulcatus*

PANITEE NUNOY: INFECTION AND MORPHOLOGY OF PROTOZOA
PARASITE *Nematopsis* sp. IN GREEN TIGER PRAWN (*Penaeus semisulcatus*) FROM
ANG-SILA PIER, CHONBURI PROVINCE, THAILAND. ADVISORY COMMITTEE:
CHANAWAT TUNTIWARANURUK, Ph.D., ARDOOL MEEPOOL, Ph.D. 71 P. 2011.

The prevalence, the intensity, the morphology of *Nematopsis* sp. and the pathology of gut infected by *Nematopsis* sp. in Green Tiger Prawn (*Penaeus semisulcatus*) collected from Ang-Sila Pier, Chonburi Province, Thailand. Twenty specimens collected each month total of 260 individuals from April, 2010 to April, 2011. The prevalence of infection was 68.85 which was high in August, 95% and low in October, December and January, 40% and the intensity of infection ranging from 1-454 parasites per one shrimp.

The morphology of *Nematopsis* sp. was found three stage gamont, syzygy and gametocyst. Gamont composed the protomerite and deutomerite with single nucleus was spherical the syzygy composed 2 part primite and satellite the part of primite composed protomerite and deutomerite and found nucleus in deutomerite and satellite. Gamont and syzygy were found in intestine. Gametocyst covered by thin-wall with in numerous sporocyst was found in anus. The morphology of syzygy stage under scanning electron microscopy (SEM) shows that the surface membrane of the syzygy stage composed of numerous cytoplasmic lamellae extended from the protomerite to the end of the satellite. Under transmission electron microscopy (TEM) the protomerite was hemispherical and found septum between protomerite and deutomerite. The protomerite deutomerite and satellite composed numerous granule and vesicle in difference size. The nucleus were composed with chromatin and nucleolus and surround nucleus were found structure like endoplasmic reticulum and mitochondria. The lamella composed with three-membrane complex and 6-8 microtubule and found phagocytocyst and vacuole near the cell wall. The pathology of gut infected by *Nematopsis* sp. were found *Nematopsis* sp. free living in the lumen there was not evidence of tissue degeneration or lesions in the gut.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	จ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
สมมติฐานของการวิจัย.....	2
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่ได้รับ.....	3
ขอบเขตการวิจัย.....	3
สถานที่ทำการวิจัย.....	3
ระยะเวลาของการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ชีววิทยาทั่วไปของกิ้งกูดลาย.....	5
ชีววิทยาทั่วไปของโปรโตซัวปรสิต <i>Nematopsis</i> sp.	6
การจำแนกชนิดของ <i>Nematopsis</i> sp.	23
การแพร่ระบาด.....	25
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	28
วัสดุและอุปกรณ์.....	28
วิธีดำเนินการ.....	29
การศึกษาค่าความชุกและสัณฐานวิทยาของ <i>Nematopsis</i> sp.	29
การศึกษาพยาธิสภาพลำไส้ของกิ้งกูดลายที่มีการระบาดของ <i>Nematopsis</i> sp.	31
4 ผลการวิจัย.....	33
การศึกษาความชุกของ <i>Nematopsis</i> sp. ในกิ้งกูดลาย.....	33
การศึกษาความหนาแน่นของ <i>Nematopsis</i> sp. ในกิ้งกูดลาย.....	40

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
การศึกษาสัณฐานวิทยาของ <i>Nematopsis</i> sp.	45
การศึกษาพยาธิสภาพลำไส้กึ่งกลางสายที่มีการระบาดของ <i>Nematopsis</i> sp.	54
5 สรุปและอภิปรายผล.....	57
การศึกษาความชุกของ <i>Nematopsis</i> sp. ในกึ่งกลางสาย.....	57
การศึกษาความหนาแน่นของ <i>Nematopsis</i> sp. ในกึ่งกลางสาย.....	58
การศึกษาสัณฐานวิทยาของ <i>Nematopsis</i> sp.	59
การศึกษาพยาธิสภาพลำไส้กึ่งกลางสายที่มีการระบาดของ <i>Nematopsis</i> sp.	61
ข้อเสนอแนะ.....	62
บรรณานุกรม.....	63
ภาคผนวก.....	67
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	71

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงข้อมูลที่ใช้ในการจำแนกชนิดของ <i>Nematopsis</i> sp. ประกอบด้วย ขนาดความยาว ความกว้าง อัตราส่วนระหว่างความยาวกับความกว้างของส่วน protomerite deutomerite satellite ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ gametocyst และความสามารถในการเคลื่อนที่.....	24
2	แสดงค่าความชุก (%) ของ <i>Nematopsis</i> sp. ในลำไส้กึ่งกลาตายในรอบปี.....	34
3	แสดงค่าอุณหภูมิ ความเต็ม และความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำทะเลในรอบปี.....	36
4	แสดงค่าความชุก (%) ของ <i>Nematopsis</i> sp. ในลำไส้กึ่งกลาตาย และ ค่าอุณหภูมิ ความเต็ม และความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล ในรอบปี.....	37
5	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความชุกของ <i>Nematopsis</i> sp. กับอุณหภูมิ ความเต็ม และค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำทะเล โดยการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม spss ด้วยวิธีการวิเคราะห์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน.....	38
6	แสดงความหนาแน่นของ <i>Nematopsis</i> sp. ต่อลิ้น้ำกึ่ง 1 ตัว และจำแนกออกเป็นความหนาแน่นในระยะ gamont syzygy และ gametocyst และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์.....	41
7	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนาแน่นของ <i>Nematopsis</i> sp. กับค่าความชุกของ <i>Nematopsis</i> sp. อุณหภูมิ ความเต็ม และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำทะเล โดยการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม spss ด้วยวิธีการวิเคราะห์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน.....	42
8	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของกึ่งกลาตายกับจำนวน <i>Nematopsis</i> sp. ที่พบในลำไส้ โดยการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม spss ด้วยวิธีการวิเคราะห์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน.....	55

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 สัณฐานวิทยาภายนอกของกิ้งกูดลายตัวเต็มวัย.....	4
2 สัณฐานวิทยาภายนอกของโปรโตซัวปรสิต <i>Nematopsis legeri</i>	9
3 สัณฐานวิทยาภายนอกของ <i>Nematopsis marinus</i> ในกิ้ง <i>Litopenaeus vannamei</i>	10
4 วงชีวิตของโปรโตซัวปรสิต <i>Nematopsis ostrearum</i>	12
5 สัณฐานวิทยาภายนอกของ <i>Gregarina garnhami</i> ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด.....	14
6 สัณฐานวิทยาภายนอกของ <i>Gregarina polymorpha</i> ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด.....	15
7 สัณฐานวิทยาภายนอกของ gregarine ระยะ trophozoite ในกิ้ง <i>Penaeus monodon</i> ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด.....	16
8 สัณฐานวิทยาภายนอกของ <i>Nematopsis</i> ระยะ gametocyst ในกิ้ง <i>Penaeus monodon</i> ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด.....	17
9 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของ gregarine <i>Leidyana ephestiae</i> ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	19
10 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของ <i>Gregarina garnhami</i> ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	20
11 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของ gregarine ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	21
12 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของ gymnosporic ของ <i>Nematopsis</i> ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	22
13 อุณหภูมิ (A) ความเค็ม (B) และความเป็นกรด-ด่าง (C) ของน้ำทะเลในแต่ละเดือน.....	35
14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความชุกของ <i>Nematopsis</i> กับอุณหภูมิ (A) ค่าความชุกของ <i>Nematopsis</i> sp. กับความเค็ม (B) และค่าความชุกของ <i>Nematopsis</i> sp. กับความเป็นกรด-ด่าง (C) ของน้ำทะเล.....	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนาแน่นกับค่าความชุกของ <i>Nematopsis</i> sp. (A) และค่าความหนาแน่นของ <i>Nematopsis</i> sp. กับความเป็นกรด-ด่าง (B) ของน้ำทะเล..	43
16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนาแน่นของ <i>Nematopsis</i> sp. กับความเค็ม (A) และอุณหภูมิ (B) ของน้ำทะเล.....	44
17 แสดงลักษณะของ <i>Nematopsis</i> sp. ทั้ง 3 ระยะ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง.....	46
18 แสดงลักษณะของ <i>Nematopsis</i> sp. ระยะ syzygy ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด	47
19 แสดงลักษณะและองค์ประกอบบริเวณ protomerite และ deutomerite ของ <i>Nematopsis</i> sp. ระยะ syzygy ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	50
20 แสดงลักษณะและองค์ประกอบบริเวณ deutomerite (D) satellite (Sa) ของ <i>Nematopsis</i> sp. ระยะ syzygy ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	51
21 แสดงลักษณะและองค์ประกอบบริเวณ nucleus ของ <i>Nematopsis</i> sp. ระยะ syzygy ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	52
22 แสดงลักษณะและองค์ประกอบบริเวณ lamella (La) ของ <i>Nematopsis</i> sp. ระยะ syzygy ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	53
23 แสดงลักษณะของผนังลำไส้ และ <i>Nematopsis</i> sp. ที่พบในลำไส้กุ้งกุลาลาย.....	54
24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของกุ้งกุลาลายกับจำนวน <i>Nematopsis</i> sp. ที่พบในลำไส้.....	55
25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของกุ้งกุลาลายกับจำนวน <i>Nematopsis</i> sp. ที่พบในลำไส้.....	56
26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักกับความยาวของกุ้งกุลาลาย.....	56