

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การสำรวจโปรโตซัวปรสิต ส่วนใหญ่นิยมสำรวจสัตว์ที่อาศัยอยู่ในทะเล จำพวกกุ้ง ปู ปลา หอย ซึ่งอาจจัดได้ว่าสัตว์เหล่านี้เป็นตัวกลางสำคัญ หรือสัตว์ที่เป็นทางผ่านหลายชนิดของปรสิต จึงนับได้ว่าบริเวณนี้จะมีการแพร่ระบาดของปรสิตอยู่ในระดับสูง ปรสิตบางชนิดได้แพร่ระบาดเข้าไปเจริญในกุ้ง โดยจะอาศัยและเจริญเติบโตอยู่ในทางเดินอาหารของกุ้ง โดยโปรโตซัวปรสิตในสกุล *Nematopsis* sp. (Apicomplexa : Porosporidae) จะอยู่ในหอยจนกว่าจะถูกกินโดยกุ้ง หรือปูจากนั้นก็จะมีพัฒนาเจริญต่อไปเป็นตัวเต็มวัยในทางเดินอาหารของกุ้งหรือปูต่อไป

ชีววิทยาทั่วไปของกุ้งกุลาดำ

ลักษณะทางกายภาพ

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่มีความยาวประมาณ 10-23 ซม. มีกริยาวเรียวโค้งขึ้น ปลายกริสิ้นสุดบริเวณปลายก้านหนวดคู่ที่ 1 ขอบกริด้านบนมีฟัน 6 ถึง 8 ซี่ ขอบด้านล่างมีฟัน 2 ถึง 3 ซี่ สันข้างตับ (hepatic crest) เอียงทำมุมประมาณ 30 องศา สันข้างตา (gastro-obital crest) ยาวประมาณ 2-3 ของระยะทางระหว่างหนามข้างตับ (hepatic spine) กับขอบหลังตาของเปลือกหัว ขาเดินคู่ที่ 5 มีเอ็กโซพอด ลำตัวมีสีน้ำตาลอ่อน มีแถบสีน้ำตาลปนแดงหรือเทาอมเขียวพาดขวาง ขาเดิน และขาว่ายน้ำ มีสีแดงกับสีขาวพาดอยู่ หนวดมีลายสีน้ำตาลแดงสลับขาวเป็นปล้องๆ มองเห็นชัดเจน หางและแพนหางมีสีน้ำตาลและมีสีเขียวหรือเทาอมเขียว ปลายแพนหางมีสีแดงและมีขนสีแดงอยู่รอบๆ (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2545)



ภาพที่ 1. ลักษณะภายนอกของกุ้งกุลาดำตัวเต็มวัย

อนุกรมวิธานของ กุ้งกุลาลาย

Phylum Arthropoda

Class Crustacia

Order Decapoda

Family Penaeidae

Genus *Penaeus*Species *semisulcatus*

ลักษณะนิสัย

กุ้งกุลาลายโตเต็มวัยชอบอาศัยพื้นดินโคลน โคลนปนทรายในทะเลลึก ว่ายน้ำอ่อนเป็นแพลงก์ตอน ว่ายน้ำได้อย่างอิสระ ว่ายน้ำเคลื่อนย้ายเข้าสู่ชายฝั่งเพื่อเลี้ยงตัวและเดินทางกลับสู่ทะเลเมื่อโตเต็มวัย เพื่อผสมพันธุ์ มีความทนทานสูงสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีอยู่ได้ทั้งน้ำที่อุณหภูมิสูง ความเค็มสูงและสามารถนำมาปรับ ให้เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มต่ำได้ โตเร็ว (สมนึก ใช้เทียมวงศ์ และสมศรี ไทยประยูร, 2521)

การแพร่กระจาย

พบได้ในประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย ศรีลังกา อินเดีย นิวกินี ออสเตรเลีย และบริเวณชายฝั่งทะเลอันดามันและอ่าวไทยของประเทศไทย (วรรณเกียรติ ทับทิมแสง, 2521)

ชีววิทยาทั่วไปของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* sp.

Nematopsis sp. จัดเป็นสิ่งมีชีวิตในกลุ่ม Apicomplexa จัดเป็น Protista โบราณกลุ่มหนึ่ง ซึ่งได้จัดอยู่ในชั้น Sporozoa โดยที่ทุกชนิดมีการดำรงชีวิตเป็นปรสิตทั้งหมด นับได้ว่าเป็นปรสิตที่มีกลุ่มใหญ่มีประมาณ 4,000 ชนิด ยังไม่นับรวมส่วนที่เป็นฟอสซิล แต่ในปัจจุบันนี้ก็มีจำนวนลดลงเรื่อยๆ ปรสิตในกลุ่มนี้เป็นปรสิตที่พบได้ทั้งในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังและไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งมีทั้งข้อดีและข้อเสีย คือ ข้อเสียในบางชนิดก่อให้เกิดโรคอย่างรุนแรง เช่น *Plasmodium* ก่อให้เกิด

โรคในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงในบ้าน ส่วนข้อดี คือ ปรสิตในกลุ่ม Apicomplexa ที่เป็นปรสิตในแมลงจะเป็นตัวที่ใช้ในการทดลองเพื่อควบคุมประชากรของแมลง (ประไพศิริ สิริกาญจน, 2538)

Nematopsis sp. ค้นพบครั้งแรกโดย Schneider (1892) โดยพบระยะ oocysts ใน mantle ของหอยกาบ (*Solen vagina*) ที่ประเทศฝรั่งเศส

อนุกรมวิธานของ *Nematopsis* sp. (Belofastova, 1996)

Phylum	Apicomplexa
Class	Sporozoa
Subclass	Gregarinida
Order	Eugregarinida
Family	Porosporidac
Genus	<i>Nematopsis</i>

ลักษณะทั่วไปของโปรโตซัวปรสิตใน Phylum Apicomplexa บางชนิดมีวงจรชีวิตแบบ direct cycle คือเจริญใน host ชนิดเดียว แต่ ปรสิต บางชนิดต้องอาศัย host ตัวกลาง (intermediate host) พบลักษณะที่เป็น apical complex ในระยะ sporozoite และ merozoite ของวงจรชีวิต Phylum Apicomplexa ประกอบด้วยหลาย Class ลักษณะสำคัญของ Class Sporozoa คือ ปรสิตในกลุ่มนี้จะมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะมีการสร้าง spore เรียกว่าระยะ sporogony และลักษณะที่สำคัญของ Subclass Gregarinida คือ เป็นปรสิตที่มีระยะสืบพันธุ์โดยอาศัยอยู่ใน host สามารถเคลื่อนที่ได้โดยการ flexion หรือ gliding โดยอาศัยลักษณะของพื้นผิวลำตัวที่มีลักษณะเป็นสัน โดยปรสิตที่อยู่ใน Order Eugregarinida จะพบระยะ gamogony และ sporogony ไม่พบระยะ merogony Order Eugregarinida ประกอบด้วย 3 Suborder คือ Blastogregarinorina Aseptatorina และ Septatorina โดย Suborder Blastogregarinorina และ Aseptatorina ไม่พบ septum ระหว่าง protomerite และ deutomerite ในระยะ gamont แต่ Suborder Septatorina พบ septum ระหว่าง protomerite และ deutomerite ในระยะ gamont Suborder Septatorina ประกอบด้วย superfamily Porosporicae ซึ่งโปรโตซัวที่จัดอยู่ใน superfamily นี้จะมีวงจรชีวิตอยู่ใน host 2 ชนิด Genus *Nematopsis* อยู่ใน Family Porosporidae ซึ่งอยู่ใน superfamily Porosporicae สำหรับ Family Porosporidae ประกอบด้วย 3 Genus คือ *Pachyporospora* *Porospora* และ *Nematopsis* Genus *Pachyporospora* ต่างจาก Genus *Porospora* และ *Nematopsis* โดยระยะ

gamont ประกอบด้วย 2-3 นิวเคลียส และ Genus *Porospora* ต่างจาก Genus *Nematopsis* โดยพบว่า sporozoites ที่พบในหอยไม่มี sporocyst หุ้ม นอกจากนี้ Genus *Porospora* มีลักษณะเด่นคือ sporozoite พบใน leukocytes และ mature trophozoites มีลักษณะยาวมักอยู่เดี่ยว ๆ (Clopton, 2000)

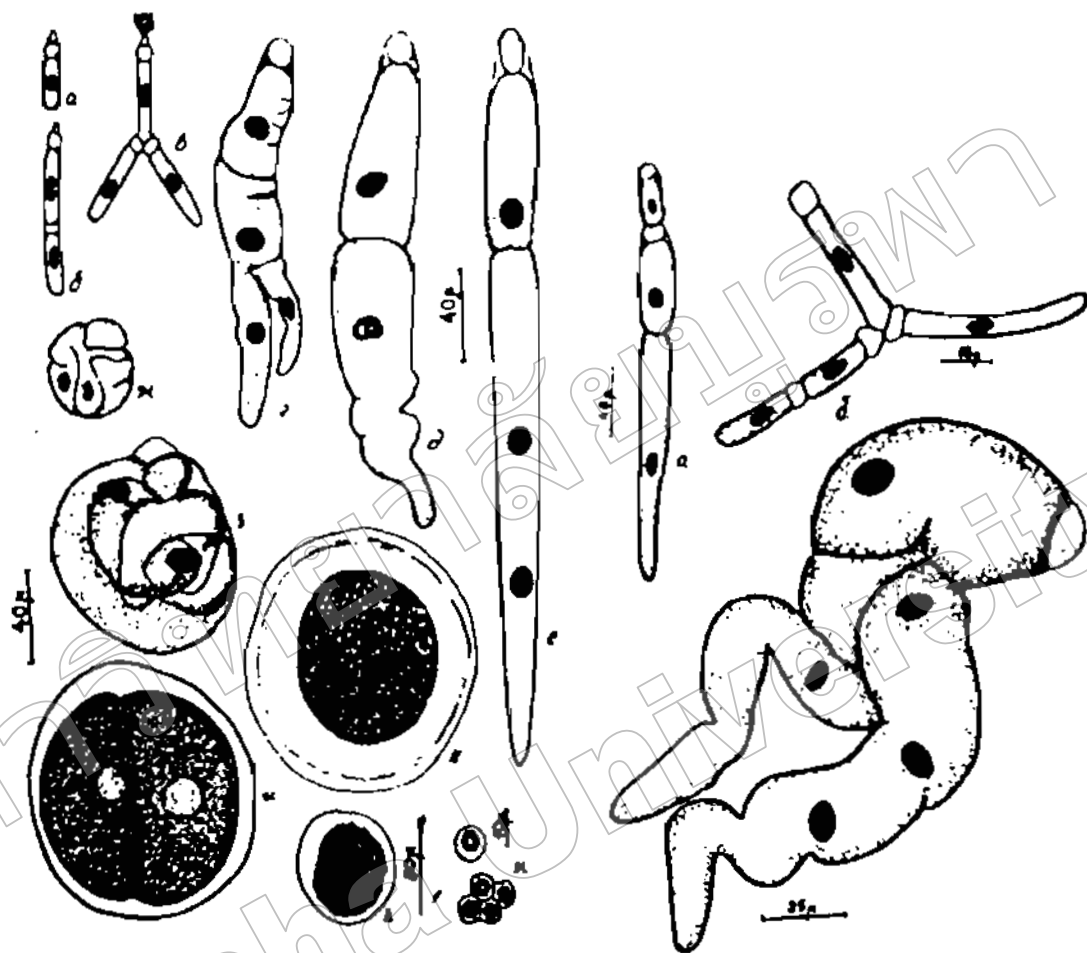
สัณฐานวิทยาของ *Nematopsis* sp.

รายงานการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะของ *Nematopsis* sp. ที่พบในสัตว์กลุ่ม dcapods มีด้วยกันหลายระยะเช่น gamont syzygy และ gametocyst (ภาพที่ 2-3)

Nematopsis sp. ระยะ gamont ลำตัวมีลักษณะเป็นทรงกระบอก ส่วนบนโป่งออก ส่วนท้ายมีขนาดเล็กลง บริเวณส่วนหัว (protomerite) มีลักษณะเป็นรูปทรงกลมรี หรือ pear-shaped บางชนิดมี epimerite อยู่ส่วนหน้าสุด ส่วนลำตัว (deutomerite) มีนิวเคลียส 1 อัน ลักษณะทรงกลมอยู่ก่อนไปทางด้านท้ายของลำตัว จะมีเยื่อเกี่ยวพันระหว่างส่วน protomerite และ deutomerite (ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรีัญญา สุภาพร โกมล, 2545; ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และชนัญญา เสมศรี, 2548; Chakraborti & Bandyapadhyay, 2010; Jimenez, Barniol, & Machuca, 2002)

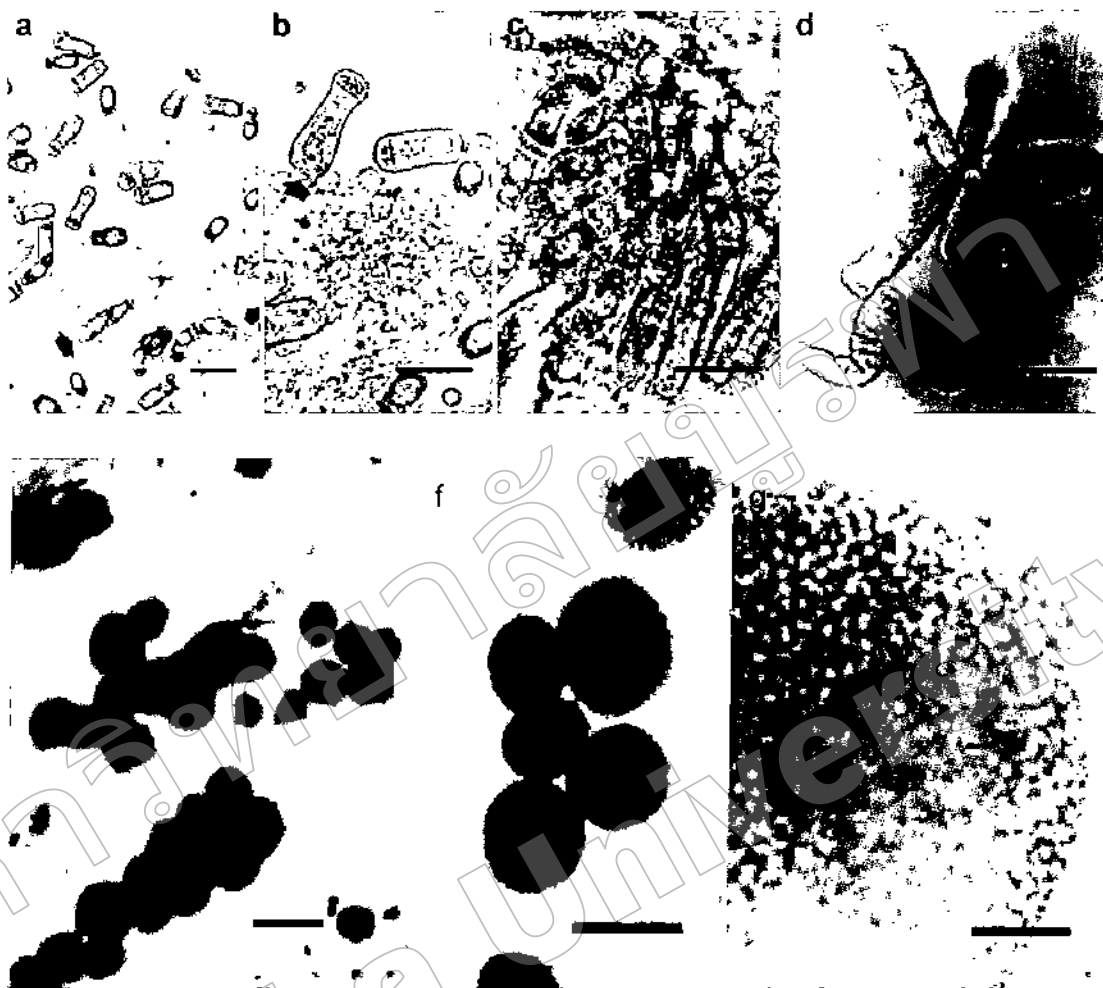
Nematopsis sp. ระยะ syzygy เป็นระยะที่มีการเชื่อมต่อกันระหว่าง gamont ตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไป ลำตัวเป็นทรงกระบอก ผั่นด้านนอกบาง ลำตัวแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ primite และ satellite ส่วนบนเรียกว่า primite ประกอบด้วยส่วน protomerite และ deutomerite โดย protomerite มีลักษณะเป็นรูปทรงกลมรี ส่วน deutomerite มีลักษณะเป็นทรงกระบอกยาว ภายในพบมีนิวเคลียส 1 อัน ลักษณะทรงกลม ส่วนท้ายของ deutomerite มีลักษณะโป่งพองออกตรงบริเวณที่ต่อกับ satellite โดยส่วนของ satellite มีลักษณะเป็นทรงกระบอกและยาวเรียวเล็กลงในตอนท้าย มีนิวเคลียส 1 อันก่อนอยู่ทางด้านท้ายของลำตัว (ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรีัญญา สุภาพร โกมล, 2545; ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และชนัญญา เสมศรี, 2548; ธิดาพร จวีภักดิ์ ลิลา เรืองแป้น และวริษฐา หนูปิ่น, 2549; Chakraborti & Bandyapadhyay, 2010; Jimenez, Barniol, & Machuca, 2002)

Nematopsis sp. ระยะ gametocyst มีลักษณะเป็นทรงกลมมีผนังหุ้มภายในประกอบด้วย gymnosporc จำนวนมาก (ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรีัญญา สุภาพร โกมล, 2545; Chakraborti & Bandyapadhyay, 2010; Jimenez, Barniol, & Machuca, 2002)



ภาพที่ 2 ลักษณะวิทยาภายนอกของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis legeri* (Belofastova, 1996)

ระยะ gamont (a) ระยะ syzygy (b d z e α z) และระยะ gametocyst (x s y u v)



ภาพที่ 3 สัณฐานวิทยาภายนอกของ *Nematopsis marinus* ในกุ้ง *Litopenaeus vannamei* (Jimenez et al., 2002)

(a – b) *Nematopsis marinus* วัชพืช gamont

(c – d) *Nematopsis marinus* วัชพืช syzygy

(e – g) *Nematopsis marinus* วัชพืช gametocysts

วงจรชีวิตของ *Nematopsis* sp.

วงจรชีวิตของ *Nematopsis* sp. มีการสืบพันธุ์ 2 แบบสลับกันในวงจรชีวิตได้แก่ (ภาพที่ 4) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ คือการที่ตัวเต็มวัย 2 ตัวมารวมกัน โดยตัวที่อยู่ด้านบนเรียกว่า primitive และตัวที่อยู่ด้านล่างเรียกว่า satellite ซึ่งเกิดขึ้นในทางเดินอาหารของสัตว์ในกลุ่ม decapod ซึ่งเป็น definitive host และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เป็นการแบ่งตัว แยกหน่อ ซึ่งเป็นการแบ่งตัวให้ได้จำนวนมากเรียกว่า schizogony เกิดขึ้นในหอยซึ่งเป็น intermediate host การสืบพันธุ์ทั้ง 2 แบบแบ่งออกเป็น 14 ระยะ ดังนี้ (Lce, Hutner, & Bovce, 1985)

ระยะที่ 1 คือ ระยะที่ sporocyst ซึ่งมีตัวอ่อน sporozoite เจริญอยู่ใน oocyst บริเวณเหงือกหอย

ระยะที่ 2 คือ ระยะที่ sporozoite เริ่มออกจาก sporocyst ทางรูเปิด (operculum) เมื่อเข้าไปอยู่ในทางเดินอาหารของสัตว์จำพวก decapods

ระยะที่ 3-7 คือ ตัวอ่อน sporozoite พัฒนาไปเป็น gamont

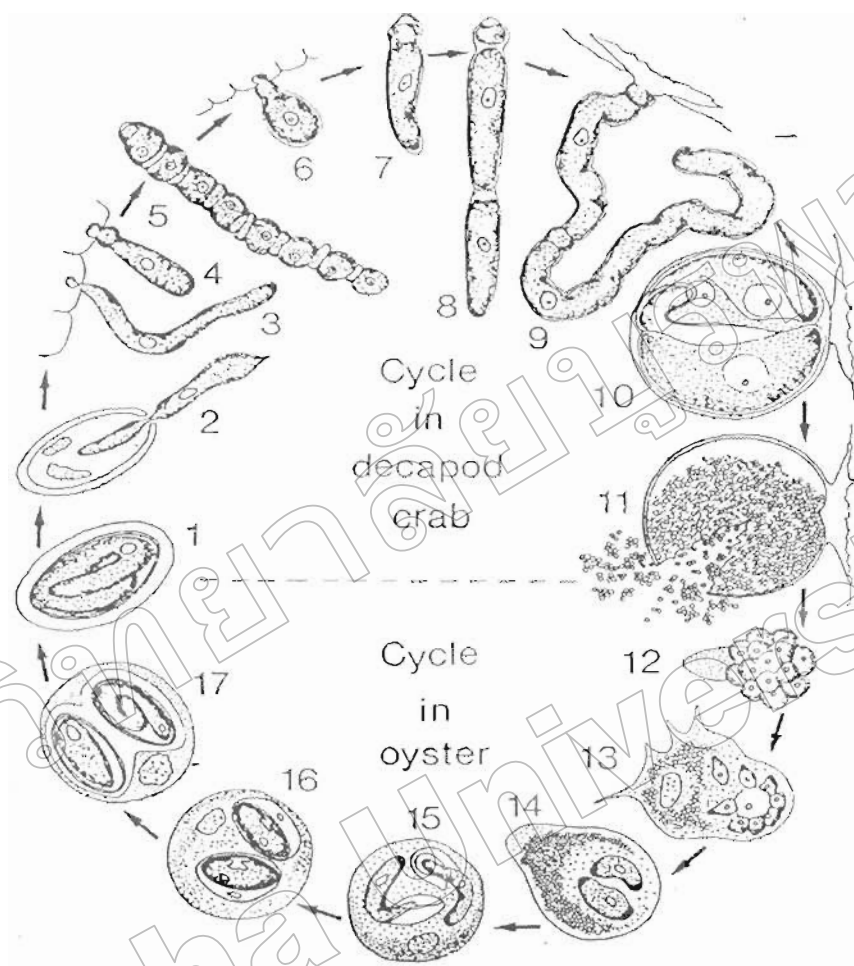
ระยะที่ 8-9 คือ ระยะ syzygy ซึ่งเกิดจาก gamont ตั้งแต่ 2 ตัวมาต่อกันแบบหัวต่อหาง

ระยะที่ 10 คือ ระยะที่ syzygy มีการขดตัวกลายเป็น gametocyst ซึ่งมีลักษณะกลมและมีผนังหุ้ม

ระยะที่ 11 คือ ระยะที่ gametocyst หลุดออกจากทางเดินอาหารของสัตว์พวก decapod และปล่อย gymnosporon สู่ทะเล

ระยะที่ 12 คือ ระยะ gymnosporon เดี่ยวเข้าไปเจริญในเหงือกหอย

ระยะที่ 13-17 คือ ระยะที่ gymnosporon เจริญเป็น sporozoites ภายใน sporocyst



ภาพที่ 4 วงชีวิตของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis ostrearum* (Lee et al., 1985)

1. Sporocyst ที่มีตัวอ่อนอยู่ภายใน 2. Sporozoite เริ่มออกจาก sporocyst 3-7. ตัวอ่อน
- ระยะ Gamonts 8-9. ระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบ Syzygy 10. ระยะ Gametocyst 11. ระยะที่
- gametocyst ปล่อย gametospore 12. ระยะ gametospore เดี่ยว 13-17. ระยะที่ gametospore
- เจริญเป็น sporozoites

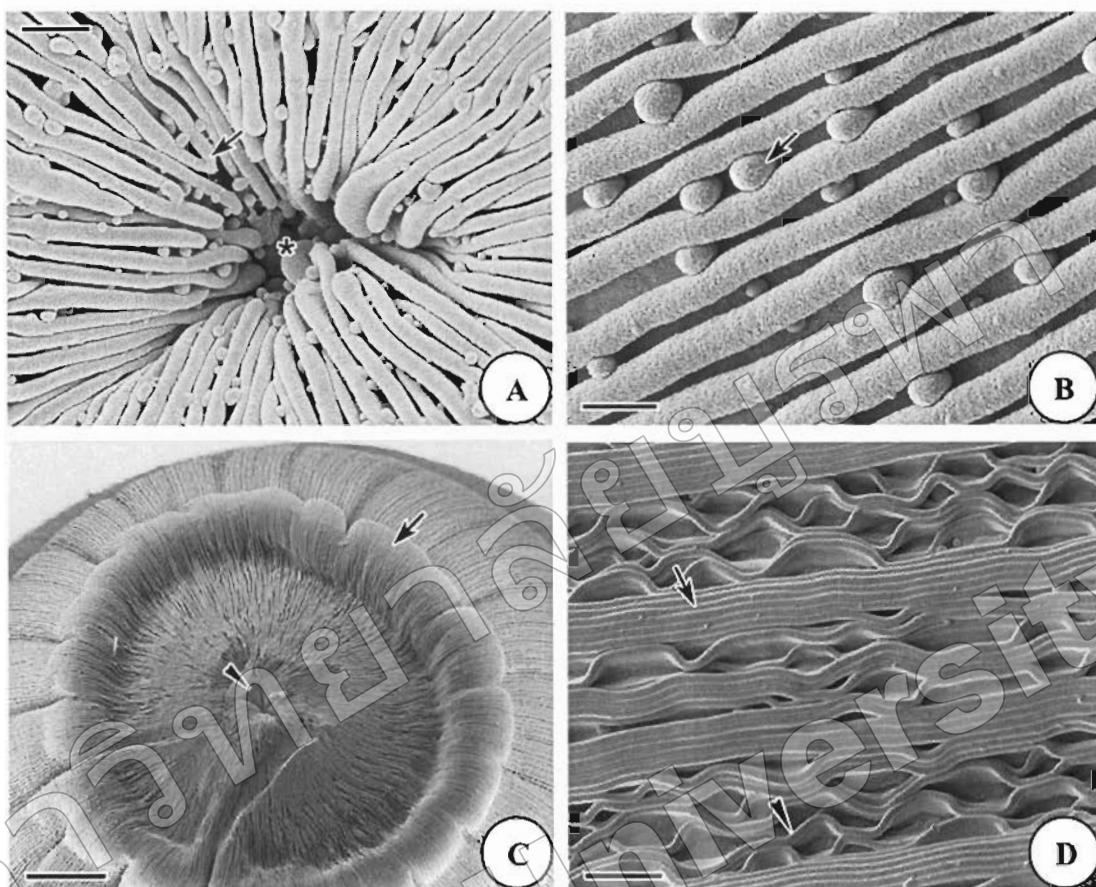
การศึกษาสัณฐานวิทยาของ Gregarine ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

จากรายงานการศึกษาสัณฐานวิทยาของ gregarine *Gregarina garnhami* บริเวณ epithelium ในทางเดินอาหารของ *Schistocerca gregaria* (Valigurova & Koudela, 2008) พบว่าพื้นผิวของ *Gregarina garnhami* มีลักษณะเป็น epicytic folds ตั้งแต่บริเวณปลายสุดของ protomerite ไปจนถึงปลายสุดของ deutomerite ลักษณะของ epicytic folds มีลักษณะเป็นเส้นตรง แต่บางบริเวณมีลักษณะเป็นคลื่น และบริเวณร่องระหว่าง epicytic folds พบ mucus drops บริเวณปลายสุดของ protomerite มีลักษณะเป็นสันเนิน มองเห็นเป็นหลุมลึกชัดเจนและพบ epicytic fold (ภาพที่ 5)

สัณฐานวิทยาของ *Gregarina polymorpha* ระยะ trophozoite บริเวณ epithelium ในทางเดินอาหารของ *Tenebrio molitor* (Valigurova, Michalkova, & Koudela, 2009) พบว่า *Gregarina polymorpha* ใช้ epimerite ยึดเกาะกับ epithelium ของ host และทำให้ epithelium ของ host มีลักษณะเป็นหลุม บริเวณ epimerite ของ *Gregarina polymorpha* มีลักษณะกลมและโป่งพอง มองเห็นรอยต่อระหว่าง epimerite กับ protomerite ชัดเจน บริเวณใกล้กับรอยต่อของ epimerite พบ plasma membrane พื้นผิวของ *Gregarina polymorpha* มีลักษณะเป็น epicytic folds ตั้งแต่บริเวณ protomerite ไปจนถึงปลายสุดของ deutomerite พบ septum ระหว่าง protomerite และ deutomerite (ภาพที่ 6)

สัณฐานวิทยาภายนอกของ gregarine ระยะ trophozoite ซึ่งพบในกิ้ง *Penaeus monodon* (Poulpanich & Withyachumnarnkul, 2009) พบว่า gregarine ประกอบด้วยส่วน protomerite และ deutomerite และส่วนของ deutomerite บริเวณที่พบ nucleus มีลักษณะโป่งพองกว้างกว่าบริเวณอื่น พื้นผิวของ gregarine มีลักษณะเป็น epicytic folds ขนานกันไปตั้งแต่บริเวณปลายสุดของ protomerite ไปจนถึงปลายสุดของ deutomerite และ epicytic folds มีความหนาประมาณ 0.1 μm (ภาพที่ 7)

สัณฐานวิทยาภายนอกของ *Nematopsis* ระยะ gametocyst ในกิ้ง *Penaeus monodon* (Meepool et al., 2008) พบว่า gametocysts ของ *Nematopsis* มีรูปร่างกลมขนาดประมาณ 110-12 μm ซึ่งภายในประกอบด้วย gymnospor และ membranous sacs จำนวนมาก ด้านนอกปกคลุมด้วย cyst wall บาง ๆ โดย gymnospor มีรูปร่างกลมขนาดประมาณ 6 μm ผิวด้านนอกปกคลุมด้วยโครงสร้างที่มีรูปร่างเป็นแท่งเรียงตัวกันในแนวรัศมี ซึ่งโครงสร้างนี้มีขนาดประมาณ 0.6 μm ในขณะที่ membranous sac มีขนาดประมาณ 1.7 μm ภายในประกอบด้วย globular body ที่มีขนาดประมาณ 0.5 μm และ cyst wall หรือ capsule ประกอบด้วยรูขนาดประมาณ 5-6 μm จำนวน 1 รู (ภาพที่ 8)



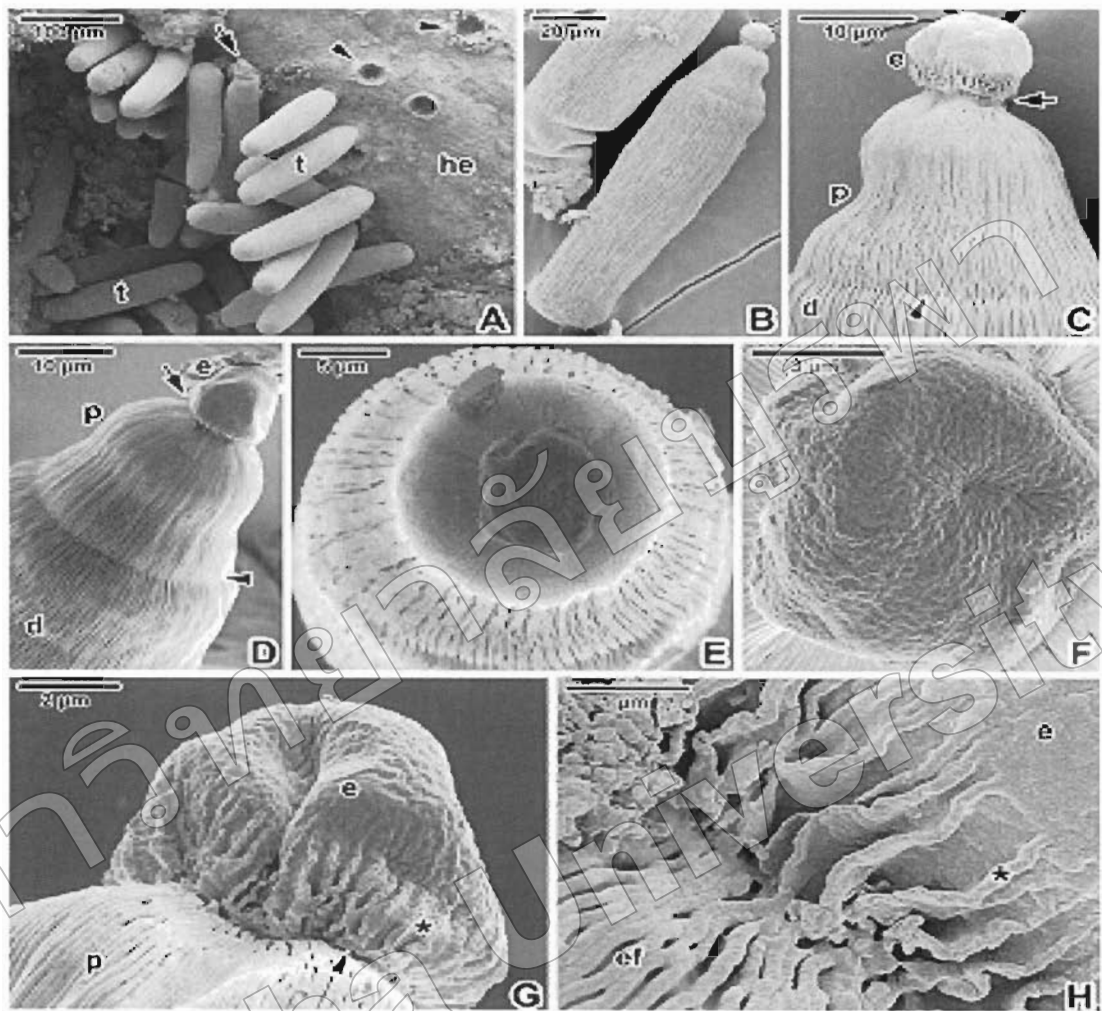
ภาพที่ 5 สัณฐานวิทยาภายนอกของ *Gregarina garnhami* ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Valigurova & Koudela, 2008)

(A) แสดงบริเวณปลายสุดของ protomerite มองเห็นเป็นหลุมลึกชัดเจน (*) และ epicytic fold (ลูกศรชี้) Scale bar = 1 μ m

(B) แสดง protomerite epicytic folds และ mucus drops (ลูกศรชี้) Scale bar = 500 nm

(C) บริเวณปลายสุดของ protomerite ซึ่งมีลักษณะเป็นสันเนินชัดเจน (ลูกศรชี้) และมองเห็นหลุมชัดเจน (หัวลูกศร)

(D) แสดงบริเวณพื้นผิว ซึ่งมีลักษณะเป็นคลื่น (หัวลูกศร) และเป็นเส้นตรง (ลูกศรชี้) บริเวณ deutomerite



ภาพที่ 6 สัณฐานวิทยาภายนอกของ *Gregarina polymorpha* ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Valigurova, Michalkova, & Koudela, 2009)

(A) Trophozoites (t) ยึดเกาะอยู่กับ host intestinal epithelium (he) และบริเวณที่มีการยึดเกาะ (ลูกศรชี้)

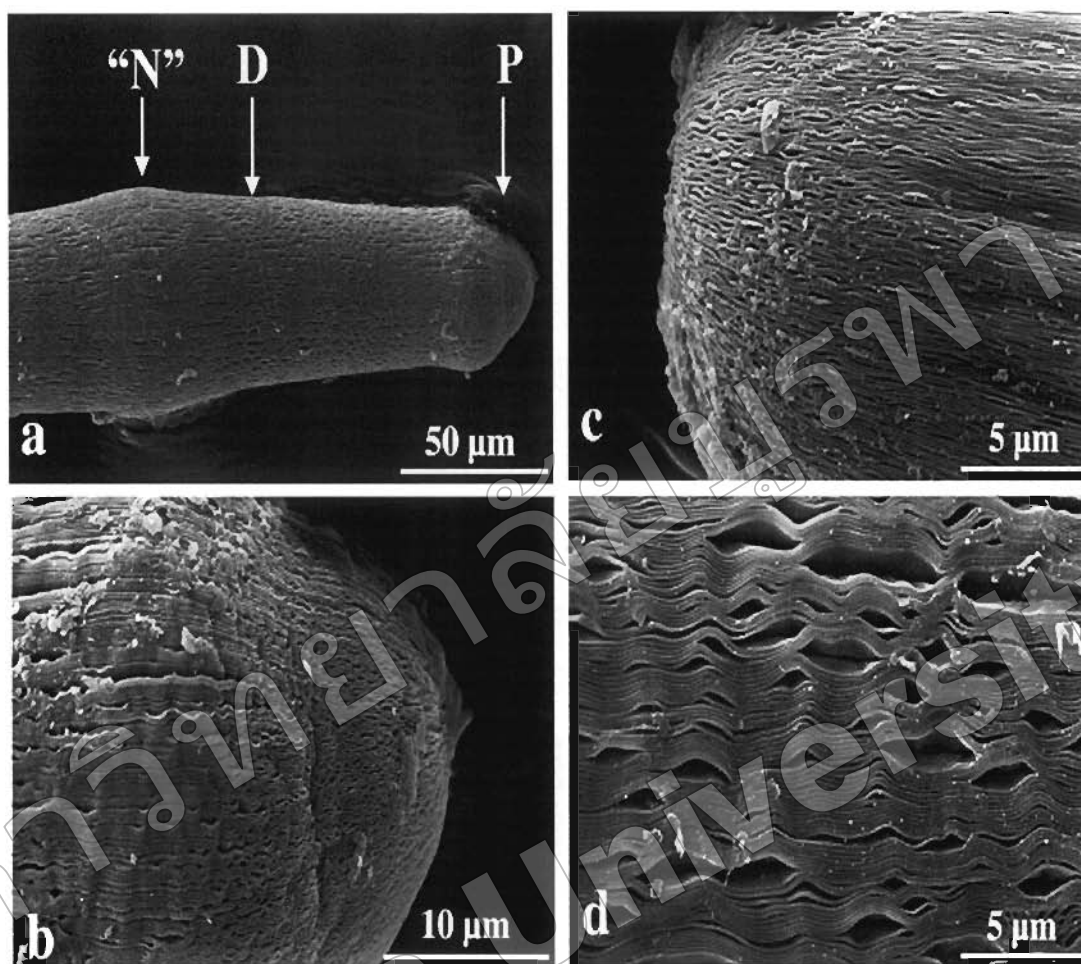
(B) Mature trophozoite

(C - D) ภาพกำลังขยายสูงบริเวณ epimerite (e) และ protomerite (p) บริเวณที่พื้นผิวเชื่อมต่อกัน (ลูกศรชี้) และ septum (หัวลูกศร) ระหว่าง protomerite และ deutomerite (d)

(E - F) ภาพด้านบนแสดงบริเวณ epimerite

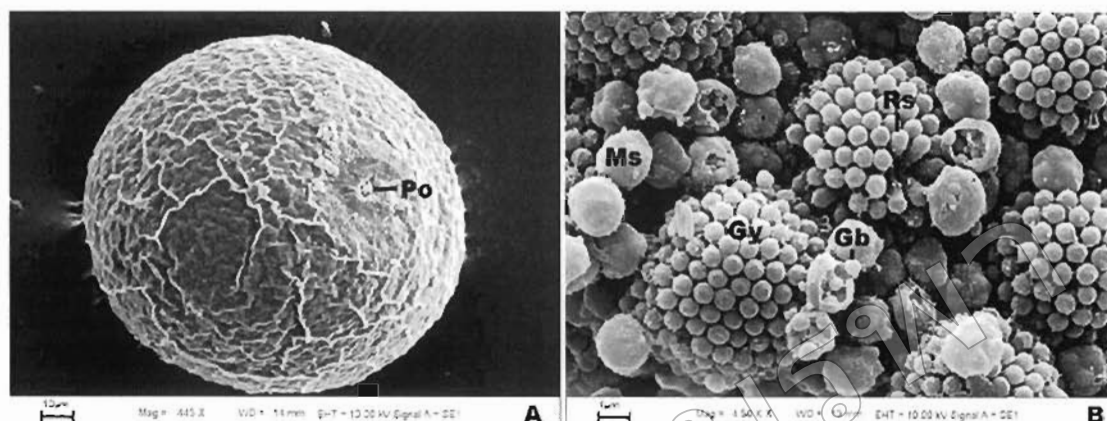
(G) ภาพตามยาวแสดงบริเวณ epimerite (e) บริเวณที่พื้นผิวหลอมรวมกัน (หัวลูกศร) และ epimerite plasma membrane (*)

(H) ภาพกำลังขยายสูงบริเวณ epimerite (e) protomerite epicytic folds (ef) และ epimerite plasma membrane (*)



ภาพที่ 7 สัณฐานวิทยาภายนอกของ gregarine ระยะ trophozoite ในกุ้ง *Penaeus monodon* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Poulpanich & Withyachumnarnkul, 2009)

- (a) ภาพกำลังขยายต่ำแสดงบริเวณ protomerite (P) deutomerite (D) และ nucleus (N)
- (b) ภาพกำลังขยายสูงแสดงบริเวณ protomerite
- (c) ภาพบริเวณปลายสุดของ trophozoite
- (d) ภาพบริเวณตอนกลางของ deutomerite



ภาพที่ 8 ตัณฐานวิทยาภายนอกของ *Nematopsis* ระยะ gametocyst ในกุ้ง *Penaeus monodon* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Meepool et al., 2008)

(A) พื้นผิวด้านนอกของ gametocyst แสดงลักษณะของ cyst wall และ pore (Po)

(B) ลักษณะภายใน gametocyst ประกอบด้วย gymnosporous (Gy) ซึ่งปกคลุมด้วย rod-like structures (Rs) และกลุ่มของ globular bodies (Gb) ซึ่งอยู่ภายใน membranous sacs (Ms)

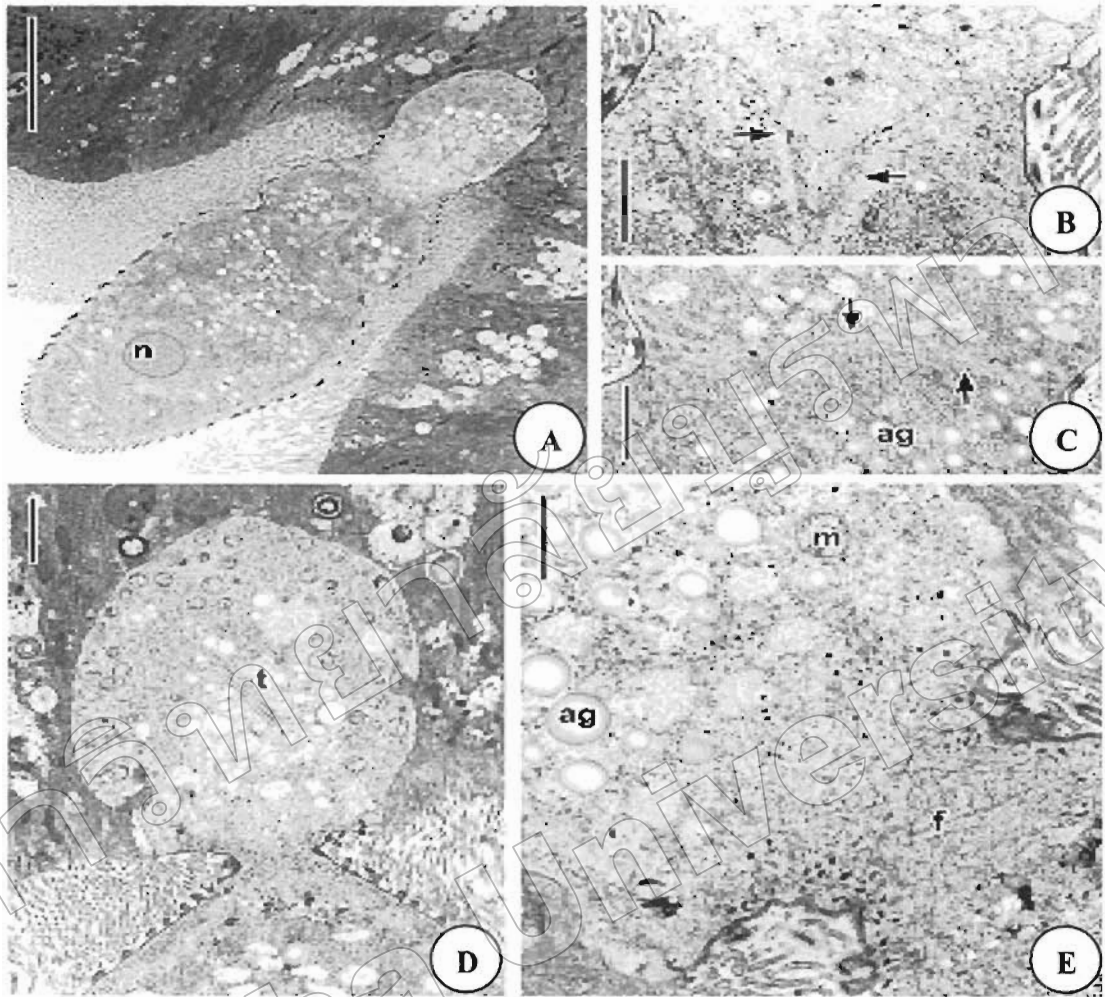
การศึกษาฐานวิทยาของ Gregarine ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน

จากรายงานการศึกษาลักษณะและองค์ประกอบของ gregarine *Leidyana ephestiae* ระยะ trophozoites ซึ่งพบในทางเดินอาหารของ *Ephestia kuehniella* (Valigurova & Koudela, 2005) พบว่าประกอบด้วยส่วน epimerite protomerite และ deutomerite บริเวณรอยต่อระหว่าง epimerite กับ protomerite ไม่พบ septum แต่พบ fibrils ซึ่งมองเห็นได้ชัดเจน บริเวณ epimerite พบ tubular structures บริเวณรอยต่อระหว่าง protomerite กับ deutomerite มองเห็น septum ชัดเจน บริเวณ deutomerite พบ nucleus ซึ่งมีลักษณะกลม พบ amylopectin granules ซึ่งมีลักษณะกลมบริเวณขอบติดสีเข้มและตรงกลางติดสีจาง กระจายอยู่ทั่วไป นอกจากนี้ยังพบ mitochondria (ภาพที่ 9)

โครงสร้างและองค์ประกอบของ *Gregarina garnhami* ระยะ trophozoite ซึ่งพบในทางเดินอาหารของ *Tenebrio molitor* (Valigurova & Koudela, 2008) พบว่า *Gregarina garnhami* ประกอบด้วยส่วน epimerite protomerite และ deutomerite พบ epimeritic septum ระหว่าง epimerite กับ protomerite และ septum ระหว่าง protomerite กับ deutomerite ภายใน epimerite ใกล้กับผนังเซลล์พบ mitochondria ซึ่งมีลักษณะกลมรีและยาวรี ภายใน deutomerite พบ nucleus ซึ่งมีลักษณะกลมขนาดใหญ่ บริเวณ epicytic folds มีลักษณะเป็น three-membrane complex และ พบ thin internal lamina (ภาพที่ 10)

โครงสร้างและองค์ประกอบของ gregarine ระยะ trophozoite ซึ่งพบในกิ้ง *Penaeus monodon* (Poulpanich & Withyachumnarnkul, 2009) ประกอบด้วยส่วน protomerite และ deutomerite พบ septum ระหว่าง protomerite และ deutomerite พบ ภายใน protomerite พบ vesicle ลักษณะกลมขนาดประมาณ 0.1-0.8 μm พบ small electron-dense granule มีขนาดประมาณ 10-20 nm และ large electron-dense granule มีขนาดประมาณ 0.1-0.3 μm ภายใน nucleus พบกลุ่มของ nucleolus อยู่บริเวณกลาง nucleus และพบ chromatin จำนวนมากซึ่งมีลักษณะกลมรีและติดสีเข้มบริเวณใกล้กับ nuclear membrane และบริเวณรอบ nuclear membrane พบ rough endoplasmic reticulum นอกจากนี้พบ microfilament อยู่ใกล้กับ epicytic folds (ภาพที่ 11)

โครงสร้างและองค์ประกอบของ gymnospor ของ *Nematopsis* ระยะ gametocyst (Noppharat-arphakul et al., 2009) พบว่า ภายใน gametocyst ประกอบด้วย gymnospor จำนวนมากและภายใน gymnospor พบ sporozoites ซึ่งอยู่ติดกับ central cytophore ภายใน sporozoites พบ nucleus อยู่ตรงกลาง พบ mitochondria และ secretory granules อยู่ใกล้กับผนังเซลล์ และบริเวณกลาง cytoplasm พบ endoplasmic reticulum (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของ gregarine *Leidyana ephestiae* ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (Valigurova & Koudela, 2005)

(A) ภาพตามยาวของ trophozoite แสดงส่วน epimerite protomerite deutomerite และ nucleus (n)

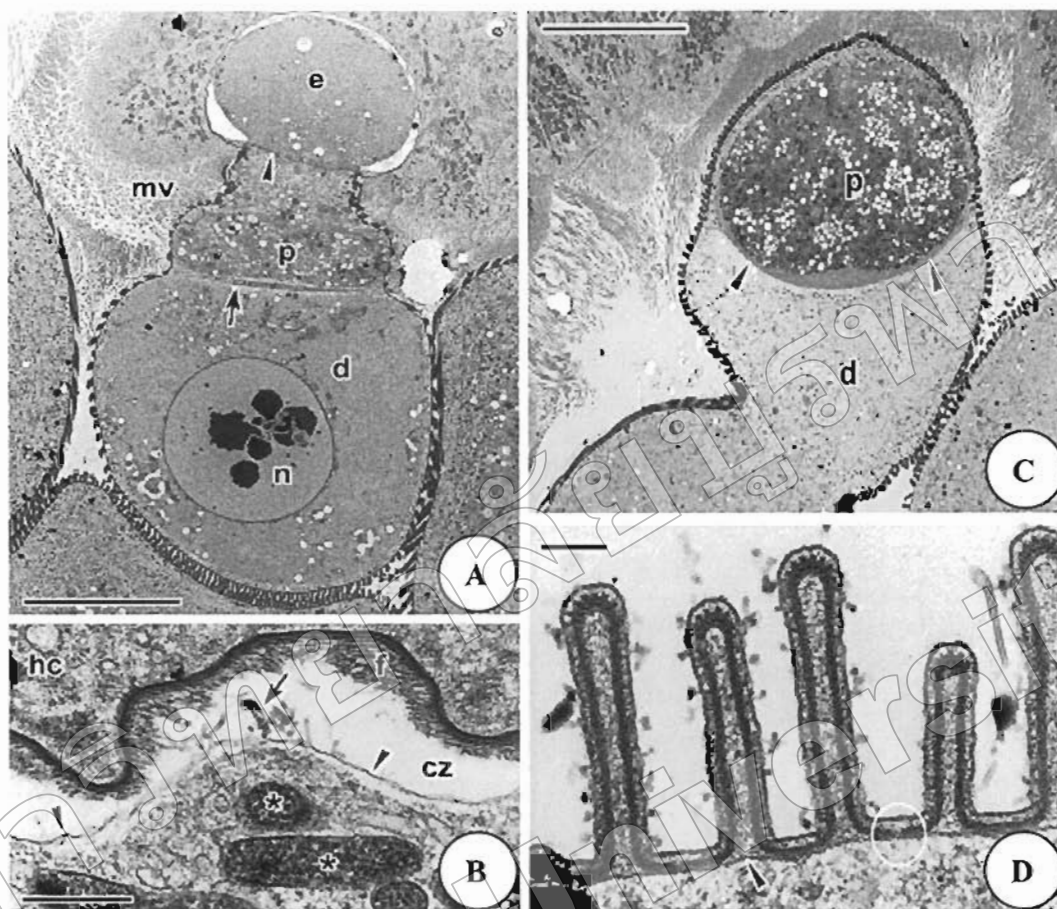
(B) ภาพกำลังขยายสูงบริเวณรอยต่อระหว่าง epimerite กับ protomerite ซึ่งไม่พบ septum แต่มองเห็น fibrils ชัดเจน (ลูกศรชี้) Scale bar = 2 μ m

(C) แสดงรายละเอียดบริเวณรอยต่อระหว่าง protomerite กับ deutomerite มองเห็น septum ชัดเจน และพบ amylopectin granules (ag) Scale bar = 2 μ m

(D) บริเวณกลาง epimerite พบ tubular structures (t) and amylopectin granules

(E) ภาพกำลังขยายสูงบริเวณรอยต่อระหว่าง epimerite กับ protomerite พบ fibrils (f)

Mitochondria (m) และ amylopectin granules (ag) Scale bar = 1 μ m



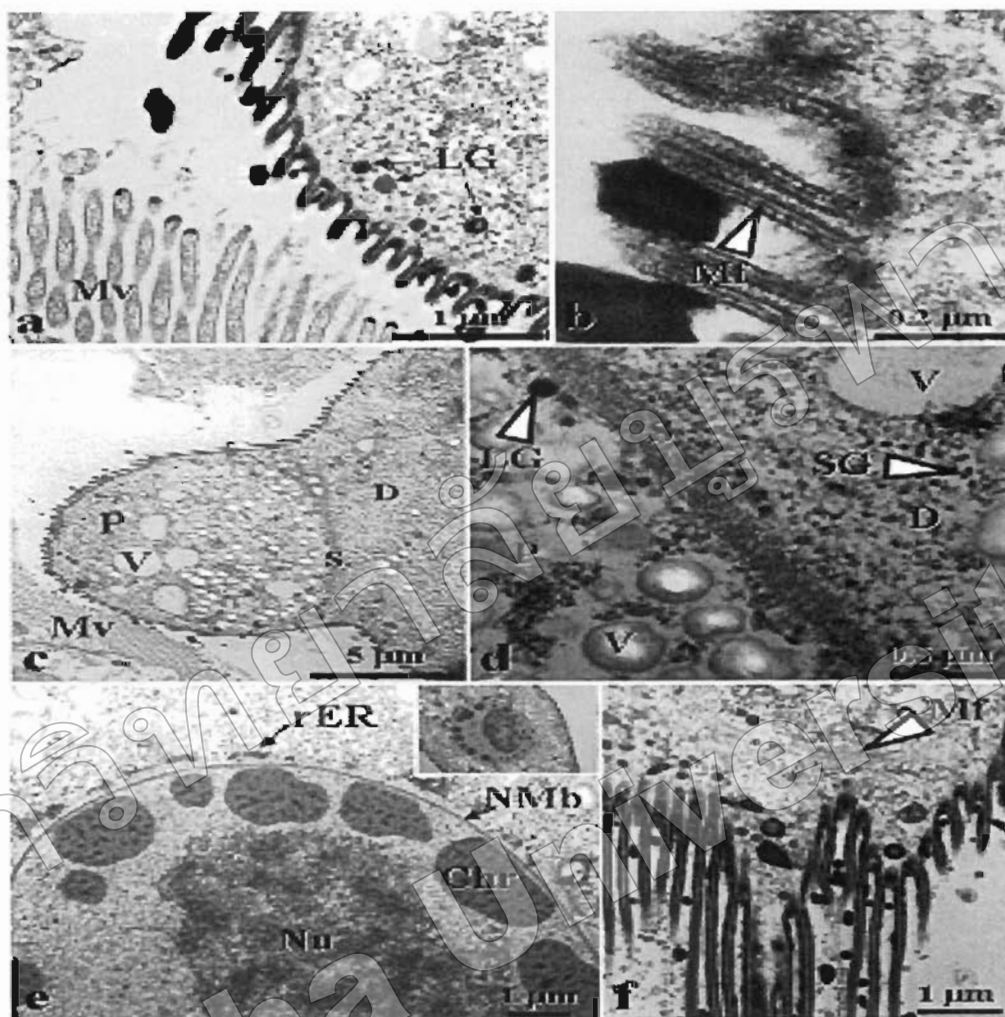
ภาพที่ 10 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของ *Gregarina garnhami* ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (Valigurova & Koudela, 2008)

(A) ภาพตามยาวของ trophozoite แสดงส่วน epimerite (e) microvilli (mv) epimeritic septum ระหว่าง epimerite กับ protomerite (p) (หัวลูกศร) และ septum ระหว่าง protomerite กับ deutomerite (d) (ลูกศรชี้) และ nucleus (n) Scale bar = 10 μ m

(B) ภาพกำลังขยายสูงแสดง host cell (hc) กับ epimerite บริเวณ cortical zone (cz) filaments (f) tubular structures (ลูกศรชี้) membrane-like structure (หัวลูกศร) และ mitochondria (*) Scale bar = 500 nm

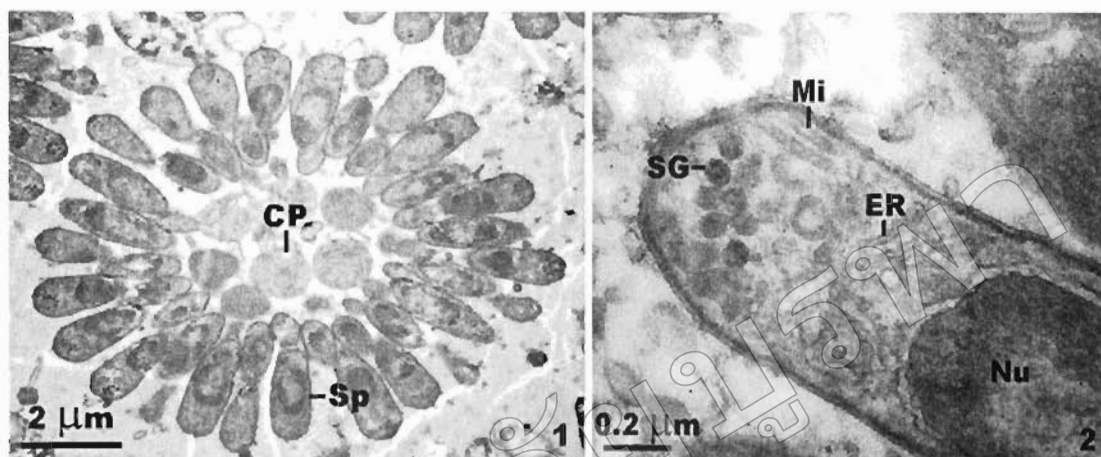
(C) ภาพตัดตามขวางมองเห็น septum ระหว่าง protomerite กับ deutomerite ชัดเจน (หัวลูกศร) Scale bar = 10 μ m

(D) แสดงบริเวณ epicytic folds ซึ่งมีลักษณะเป็น three-membrane complex และ thin internal lamina (หัวลูกศร)



ภาพที่ 11 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของ gregarine ระยะ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (Poulpanich & Withyachumnarnkul, 2009)

- (a) แสดง trophozoite ซึ่งอยู่ใกล้กับ microvilli (Mv) ของกึ่ง และ large electron-dense granule (LG)
- (b) ภาพกำลังขยายสูงแสดง pellicle และ microfilament (Mf)
- (c) แสดงรอยต่อระหว่าง protomerite (P) กับ deutomerite (D) มองเห็น septum (S) ชัดเจน และพบ vesicles (V)
- (d) ภาพกำลังขยายสูงแสดงบริเวณรอยต่อระหว่าง protomerite กับ deutomerite พบ small electron-dense granule (SG) และ large electron-dense granule (LG)
- (e) บริเวณ nucleus ประกอบด้วย nuclear membranenucleus (NMb) rough endoplasmic reticulum (rER) nucleolus (Nu) และ chromatin (Chr)
- (f) บริเวณส่วนท้ายของ deutomerite พบ microfilaments (Mf)



ภาพที่ 12 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของ gymnosporangium ของ *Nematopsis* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (Noppharat-arphakul et al., 2009)

- (1) ภาพกำลังขยายต่ำของ gymnosporangium แสดงลักษณะของ sporozoites (Sp) ซึ่งอยู่ติดกับ central cytophore (CP)
- (2) ภาพกำลังขยายสูงของ sporozoites แสดง nucleus (Nu) mitochondria (Mi) rough endoplasmic reticulum (ER) และ secretory granules (SG)

การจำแนกชนิดของ *Nematopsis* sp.

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าข้อมูลที่ใช้ในการจำแนกชนิดของ *Nematopsis* sp. ประกอบด้วยขนาดความยาวของระยะที่มีการ association ความยาวรวมของส่วน primitive วัดความยาว ความกว้าง ของ protomerite deutomerite และ satellite วัดอัตราส่วนความยาวของ protomerite กับความยาวรวมของส่วน primitive และ protomerite กับ deutomerite อัตราส่วนความกว้างของ protomerite กับ deutomerite นอกจากนี้ยังวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ gametocyst และความสามารถในการเคลื่อนที่ของ *Nematopsis* sp. ด้วย ดังแสดงในตารางที่ 1

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลที่ใช้ในการจำแนกชนิดของ *Nematopsis* sp. ประกอบด้วย ขนาดความยาว ความกว้าง อัตราส่วนระหว่างความยาวกับความกว้างของส่วน protomerite deutomerite satellite ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ gametocyst และความสามารถในการเคลื่อนที่

	AL	Protomerite						SD	SW	GD	Motile	References
		TL	PL	PW	DL	DW	PL:TL	PW:DW	PL:DL			
<i>N. auriticum</i>	259-616	154	19	22	133	59	1:10	4:10	1:7	62	None	Belofastova, 1996
<i>N. legeri</i>	24-338	75	14	14	61	27	1:5	1:2	1:4.1	27	None	Belofastova, 1996
<i>N. portuinarum</i>	-	416	41	47	325	73	1:10	7:10	1:7.9	81	None	Belofastova, 1996
<i>N. messor</i>	114-178	72.7	18.6	34	21.4	40.3	1:3.9	1:1.1	1:2.16	68	None	Prasad and Janardanan, 2001
<i>N. quadratum</i>	404-678	285.3	59.7	90.8	142.9	128.1	1:4.8	1:1.1	1:3.25	207.3	None	Prasad and Janardanan, 2001
<i>N. annulipes</i>	213-317	138.4	28.5	39.9	30	59	1:4.9	1:1.3	1:4	49.2	None	Prasad and Janardanan, 2001
<i>N. sundarbanensis</i>	11.5-50.5	15.19	3.22	5.95	11.92	8.97	1:4.7	1:1.5	1:3.9	7.78	None	Chakraborti and Bandyopadhyay, 2010
<i>N. marinus</i>	160-400	650	-	-	-	32.5	-	-	-	-	Highly motile	Jimenez <i>et al.</i> , 2002
<i>N. brasiliensis</i>	155-1170	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Free in lumen	Feigenbaum, 1975
<i>N. duorari</i>	92-716	-	-	-	-	-	-	-	-	-	None	Kruse, 1966
<i>N. sinaloensis</i>	880	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Free in lumen	Feigenbaum, 1975
<i>N. vannamei</i>	330-750	-	-	-	-	-	-	-	-	-	None	Feigenbaum, 1975
<i>N. penaeus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	None	Sprague, 1954
<i>N. indicus</i>	494-1047	-	-	-	-	-	-	-	-	-	None	Prerna and Janardanan, 1990

(TL – total length; PL – protomerite length; PW – protomerite width; DL – deutomerite length; DW – deutomerite width; PL:TL – ratio of protomerite length and total length; PW:DW – ratio of protomerite width and deutomerite width; PL:DL – ratio of protomerite length and deutomerite length; SL – satellite length; SW – satellite width; GD – gametocyte diameter)

การแพร่ระบาด

การสำรวจการแพร่ระบาดชนิดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* spp. โดย Schneider (1982) พบว่าสัตว์กลุ่มครัสเตเชียนและหอยเป็นตัวกลางสำคัญ คือเป็นเจ้าบ้าน (host) ให้โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* spp. อาศัย ซึ่งทำให้เกิดโรค

การระบาดในหอย

การสำรวจปรสิตในหอยแครง (*Cerastoderma edule*) จากบริเวณชายฝั่งทะเล Galicia ในประเทศสเปน โดย Carballal, Iglesias, Santamarina, Ferrosoto, and Villalba (2001) ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2542 จำนวน 1,020 ตัว จากแหล่งต่าง ๆ 34 แหล่ง พบว่ามีการระบาดของปรสิตหลายชนิด คือ Neoplasia, Bacterial Organisms, protozoa และ Metazoa ในจำนวนปรสิตที่สำรวจพบมีการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* sp. ในทุก ๆ แหล่งที่ทำการศึกษา โดยมีค่าการระบาดรวมร้อยละ 76

Azevedo and Cachola (1992) ศึกษาโครงสร้างของ oocyst ของปรสิตในกลุ่ม Apicomplexa ที่พบในเหงือกและกล้ามเนื้อของหอยสองฝา *Cerastoderma edule* และ *Ruditapes decussatus* ที่ประเทศโปรตุเกส oocysts จะมีผนังหนา 0.35 ไมโครเมตร เป็นรูปกระสวย ภายในมีตัวอ่อนระยะ vermiform 1 ตัว มีนิวเคลียส 1 อัน ส่วนตัวอ่อนระยะ sporozoite มีขนาด 13.3 x 4.5 ไมโครเมตร มีฝาปิดรูปกรวย (conical operculum) ผนังด้านนอกหุ้มด้วยเมือกบาง ๆ และมีส่วนของ microfibrils เกาะติดอยู่กับผนังกับเซลล์ของเจ้าบ้าน

Canestri-Trotti, Pacsanti, and Turolla (2000) สำรวจปรสิตในตัวอย่างหอยสองฝา ณ เมือง Chioggia และเมือง Goro ทั้งหมด 375 ตัว พบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* spp. 149 ตัว คิดเป็นร้อยละ 39.7 ซึ่งโปรโตซัวที่พบนั้น มาจากบริเวณเหงือก และแมนเทิลของหอยสองฝา

Tuntiwaranuruk, Chalermwat, Upatham, Kruatrachue, and Azevedo (2004) ได้ทำการสำรวจ oocysts ของ *Nematopsis* spp. ในหอยสองฝา 7 ชนิด ได้แก่ *Arcuatula arcuatula*, *Anadara granosa*, *Perna viridis*, *Paphia undulate*, *Donax faba*, *Meretrix meretrix* และ *Saccostrea cucullata* บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของอ่าวไทย ณ จังหวัดชลบุรี พบว่า มีการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* spp. มากที่สุดในหอยสองฝาพวก *Arcuatula arcuatula* คิดเป็นร้อยละ 91.8 และน้อยที่สุดในหอยสองฝาพวก *Anadara granosa* คิดเป็นร้อยละ 59.2

ลักษณะการก่อโรคในหอย

ทิพย์สุดา ผลภายี (2550) ทำการศึกษาโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในหอยแครง (*Anadara granosa*) จากแหล่งเลี้ยง อำเภอลำลูกเกด จังหวัดจันทบุรี พบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* sp. และจากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาโดยทำการเปรียบเทียบเนื้อเยื่อทั้ง epithelial cell และ connective tissue ของเนื้อเยื่อหอยที่มีการระบาดโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* sp. พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันในกรณีที่มีการระบาดปริมาณน้อย แต่ในกรณีที่มีการระบาดปริมาณมาก พบว่าเนื้อเยื่อส่วน epithelial cell และ connective tissue บริเวณที่มีการระบาดมากจะมีการเรียงตัวของเซลล์ไม่เป็นระเบียบ และเซลล์บริเวณนี้ cilia จะหายไป และทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดของหอยได้บริเวณที่เซลล์เปลี่ยนแปลงรูปไป

การระบาดในกุ้งและปู

ชนวัฒน์ ดันดีวรานุรักษ์ และศรีัญญา สุภพร โกมล (2545) ได้ทำการสำรวจโปรโตซัวปรสิตพวก *Nematopsis* spp. ในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วย จากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของอ่าวไทย ณ แหล่งสะพานปลาอ่างศิลา พบว่า มีการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* spp. คิดเป็นร้อยละ 92.7 และเมื่อศึกษาการระบาดโดยแบ่งเป็นส่วนภายในทางเดิน พบว่ามีการระบาดมากที่สุดที่บริเวณลำไส้คิดเป็นร้อยละ 86.7 หลอดอาหารคิดเป็นร้อยละ 26.0 กระเพาะอาหารคิดเป็นร้อยละ 12.0 และทวารหนักคิดเป็นร้อยละ 11.3

ชนวัฒน์ ดันดีวรานุรักษ์ และชนัญญา เสมศรี (2548) ได้ทำการสำรวจกุ้งทราย (*Metapenaeopsis* spp.) จากสะพานปลาอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2546 ถึงเดือนตุลาคม 2546 จำนวน 255 ตัว พบค่าความชุกของ *Nematopsis* spp. คิดเป็นร้อยละ 82.4 เมื่อพิจารณาค่าความชุกของปรสิตโดยการแยกเพศของกุ้ง พบว่ามีการระบาดในกุ้งเพศผู้คิดเป็นร้อยละ 87.50 และระบาดในกุ้งเพศเมียคิดเป็นร้อยละ 82.86 และเมื่อศึกษาการระบาดโดยแบ่งเป็นส่วนภายในทางเดินอาหาร พบว่ามีการระบาดมากที่สุดที่บริเวณลำไส้คิดเป็นร้อยละ 77.6 กระเพาะอาหารคิดเป็นร้อยละ 40.4 และทวารหนักคิดเป็นร้อยละ 22.7

Jimenez et al. (2002) ได้ทำการสำรวจในกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* จากฟาร์มกุ้งในประเทศ Ecuador ระหว่าง ค.ศ. 1991 – 1999 โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 2000 ตัวอย่าง พบว่ามี *Nematopsis marinus* n.sp. ระบาดจำนวนมากคิดเป็นร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 และมีจำนวนการระบาดตั้งแต่ 10 ตัว ถึงมากกว่า 5000 ตัว ต่อกุ้ง 1 ตัว นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะภายนอกของ *Nematopsis marinus* ต่างจากชนิดอื่น ๆ คือ ในระยะ gamonts จะสามารถเคลื่อนที่แบบคลื่นได้

Prasadan and Janardanan (2001) สำรวจปูน้ำกร่อย 3 ชนิด คือ *Metapograpus messor*, *Sesarma quadratum* และ *Uca annulipes* ณ เมืองตริลา ประเทศอินเดีย พบโปรโตซัวปรสิตกลุ่ม *Cephaline gregarine* ชนิดใหม่ 3 ชนิด ซึ่งมีลักษณะรูปร่างและขนาดแตกต่างกันไปและเป็นการค้นพบครั้งแรกในปูทั้ง 3 ชนิด และลักษณะของ *gregarine* ที่พบมีการเจริญอยู่ภายนอกเซลล์และมีการสร้าง *gymnospor* จึงจัดอยู่ใน Family *Porosporidac* และ Family *Porosporidae* ประกอบด้วย Genus *Porospora* และ *Nematopsis* แต่เนื่องจากไม่เคยมีรายงานว่าพบ Genus *Porospora* ในปูจึงระบุให้ *gregarine* ที่พบอยู่ใน Genus *Nematopsis* และระบุชนิดเป็น *Nematopsis messor* N. *quadratum* และ *N. annulipes*

ลักษณะการก่อโรคในกุ้ง

Jimenez et al. (2002) พบว่าการระบาดของ *Nematopsis marinus* ในกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* จากฟาร์มกุ้งในประเทศ Ecuador โดยพบว่ามีจำนวนการระบาดตั้งแต่ 10 ตัว ถึงมากกว่า 5000 ตัว ต่อกุ้ง 1 ตัว และระยะของ *Nematopsis marinus* ที่พบมากที่สุดคือระยะ gamonts โดยพบว่า gamont ซึ่ติดกับผนังทางเดินอาหารส่วนกลาง และพบกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดภายใต้ชั้น epithelium นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการบวมพองของชั้น epithelium ซึ่งเกิดจากการเคลื่อนที่แบบคลื่นไกลของ *Nematopsis marinus*

การรักษา

Fajer – Avila et al. (2005) ได้ทำการศึกษาผลของยาปฏิชีวนะ Elancoban™ และ Avimix-ST™ ที่มีผลต้าน *Nematopsis* sp. ที่ระบาดในกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* ที่เลี้ยงด้านฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิก ในประเทศเม็กซิโก พบว่า Elancoban™ ช่วยลดจำนวน *Nematopsis* sp. ที่ระบาดในกุ้งขาวได้ร้อยละ 92 ส่วน Avimix-ST™ ช่วยลดจำนวน *Nematopsis* sp. ที่ระบาดในกุ้งขาวได้ร้อยละ 85

การศึกษาโดยใช้กระเทียมสดบดละเอียดในอัตราส่วน 10 กรัม คลุกผสมอาหารกุ้งชนิดเม็ด 1 กิโลกรัม ให้กุ้งวัยอ่อนที่พบ *gregarine* กินวันละ 5 มื้อ ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน และทำการตรวจสอบโดยการเก็บตัวอย่างกุ้งจำนวน 20 ตัว ทุกสัปดาห์ทั้งก่อนและหลังการรักษาด้วยกระเทียมสดบดละเอียด จากการตรวจสอบตัวอย่างทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่า จำนวน *gregarine* ที่พบในตัวกุ้งลดลงภายใน 2 สัปดาห์ และตรวจไม่พบหลังจากทำการรักษาไปได้ 30 วัน (กรมประมง, 2546)