บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผล

การศึกษาความชุกของ *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาลาย

ผลการสำรวจ *Nematopsis* sp. ในลำไส้กุ้งกุลาลายที่ได้จากชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของอ่าวไทย ณ สะพานปลาอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี จำนวน 260 ตัว ตั้งแต่เดือนเมษายน 2553 ถึงเดือนเมษายน 2554 พบว่ามีการระบาดคิดเป็นร้อยละ 68.85 และตรวจพบปรสิตทุกเดือน โดยพบว่ามีค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. มากในเดือนสิงหาคม คิดเป็นร้อยละ 95 และมีค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. น้อยในเดือนตุลาคม, ธันวาคม และมกราคม คิดเป็นร้อยละ 40 เหมือนกับการรายงานของ ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรัญญาศุภพรโกมล (2545) ที่ศึกษาในกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merquiensis*) และชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และชนัญญา เสมศรี (2548) ที่ศึกษาในกุ้งทราย *Metapenaeosis* sp. โดยพบว่าช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายนมีค่าการระบาดของ *Nematopsis* sp. สูง จากตารางที่ 2 เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน พบว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. กับอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลมีความสัมพันธ์กันเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 แสดงว่าค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล นั่นคือเมื่ออุณหภูมิสูงค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. เพิ่มขึ้นและเมื่ออุณหภูมิต่ำค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. ลดลง โดยพบว่าช่วงอุณหภูมิ 29.5-32.5 ค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. มีค่าสูง และเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 29.5 ค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. ต่ำซึ่งเหมือนกับการรายงานของ Chakraborti and Bandyapadhyay (2011) พบว่าค่าการระบาดมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิโดยช่วงที่อุณหภูมิมากกว่า 30°C มีการระบาดของ gregarine สูง และเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 30°C พบการระบาดน้อย นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงอัตราการกินอาหารของกุ้งจึงลดลงทำให้มีการติดเชื้อน้อยลง (Turkmen, 2007)

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. กับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล พบว่าเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลเพิ่มขึ้นค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. มากและเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลลดต่ำลงพบว่าค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. ลดลงด้วย เหมือนกับรายงานของ Tuntiwaranuruk et al. (2004) พบว่าเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลลดต่ำลงค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. ในหอยแมลงภู่ลดลงด้วยจึงอาจส่งผลให้ความชุกของ *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาลายลดลงด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. กับความเค็มของน้ำทะเลด้วยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน พบว่าค่าสหสัมพันธ์ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 นั่นคือค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. ไม่มีความสัมพันธ์กับความเค็มของน้ำทะเล ซึ่งต่างจากการรายงานของ Jimenez et al. (2002) รายงานว่าที่ระดับความเค็มของน้ำทะเลสูงพบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* sp. มากกว่าที่ระดับความเค็มต่ำ โดยทำการศึกษาการระบาดของ *Nematopsis* sp. ตั้งแต่ปี 1990 – 1999 และพบว่าในปี 1998 ค่าความเค็มของน้ำทะเลต่ำกว่า 10 ppt ดั้งนั้นจึงเป็นไปได้ที่ความเค็มจะมีผลต่อการระบาด ซึ่งต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ที่ช่วงความเค็มมีค่าระหว่าง 18 – 33 ppt และช่วงที่ความเค็มต่ำเป็นเพียงช่วงสั้นๆ จึงเป็นไปได้ที่ไม่ส่งผลกระทบต่อการระบาดของ *Nematopsis* sp.

การศึกษาความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาลาย

จากการศึกษา พบว่า *Nematopsis* sp. ที่พบในลำไส้กุ้งกุลาลาย มี 3 ระยะคือ ระยะ gamont syzygy และ gametocyst เมื่อคิดค่าความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. เป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่า ระยะที่พบมากที่สุดคือ ระยะ syzygy คิดเป็น 51.24 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือระยะ gametocyst คิดเป็น 35.77 เปอร์เซ็นต์ และ ระยะ gamont พบน้อยที่สุด คิดเป็น 13.00 เปอร์เซ็นต์ ระยะ gamont พบน้อยช่วงเดือน มิถุนายน ถึง ตุลาคม จากนั้นจึงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ระยะ syzygy เป็นระยะที่พบมากมีเพียง 4 เดือนที่พบน้อยคือเดือน มิถุนายน กรกฎาคม สิงหาคม 2553 และ เมษายน 2554 ระยะ gametocyst พบมากที่สุดในเดือน สิงหาคม จากนั้นมีแนวโน้มลดลง และพบน้อยที่สุดในเดือน ธันวาคม หลังจากนั้นจึงเริ่มเพิ่มขึ้น การที่พบความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ระยะ gamont น้อยอาจเนื่องมาจากการเจริญแต่ละระยะแตกต่างกัน โดยช่วงเวลาตั้งแต่ gamont ออกจาก oocyst จนกระทั่งก่อนถึงระยะ syzygy ใช้เวลาประมาณ 15-20 ชั่วโมง และระยะเวลาตั้งแต่ระยะ syzygy จนถึงระยะ gametocyst ใช้เวลาประมาณ 14-21 วัน (Prytherch, 1940) เนื่องจากช่วงเวลาในระยะ gamont สั้นทำให้โอกาศที่พบน้อย แต่ระยะ syzygy จนถึงระยะ gametocyst ใช้ระยะเวลานานจึงทำให้มีโอกาสพบมากกว่า เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. กับค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 นั่นคือเมื่อ *Nematopsis* sp. มีความชุกมาก ความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. มากด้วย เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. กับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำทะเล พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ พบว่าความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาลายมีค่าน้อยตามไปด้วย เช่นเดียวกับการศึกษาของทิพย์สุดา ผลภายี (2550) ซึ่งได้ทำการศึกษาความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในหอยแครงโดย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

พบว่ามีความหนาแน่นน้อยเกือบตลอดทั้งปีและพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าต่ำกว่า 8.0 จากการที่ความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในหอยแครงมีค่าต่ำเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำอาจส่งผลให้ความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาลายต่ำตามไปด้วย แต่ค่าความชุกของ *Nematopsis* sp. มีความสัมพันธ์กับความเค็มเชิงลบเนื่องจากค่า Pearson correlation มีค่าเป็นลบและมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยที่เมื่อความเค็มต่ำความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. มีค่าสูง เมื่อดูจากข้อมูลพบว่าช่วงที่ความเค็มต่ำคือเดือนสิงหาคมถึงตุลาคมเหมือนกับรายงานของ Tuntiwaranuruk et al. (2004) พบว่าความเค็มมีแนวโน้มลดต่ำลงกว่า 30 ppt ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงพฤศจิกายนแต่การระบาดของ *Nematopsis* sp. ในหอย *Arcuatula arcuatula Anadara granosa Perna viridis* และ *Paphia undulata* มีค่าการระบาดสูงจึงเป็นไปได้ที่ส่งผลให้พบความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาลายสูงด้วย การศึกษาค่าความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. กับอุณหภูมิของน้ำทะเลพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันในทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 แต่เมื่อดูจากข้อมูลพบว่าแนวโน้มของความหนาแน่นลดลงเมื่ออุณหภูมิของน้ำทะเลต่ำกว่า 30 °C เช่นเดียวกับการศึกษาของ ทิพย์สุดา ผลภาษี (2550) ซึ่งได้ทำการศึกษาความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในหอยแครงโดยพบว่ามีความหนาแน่นน้อยช่วงที่อุณหภูมิของน้ำทะเลต่ำกว่า 30 °C จากการที่ความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในหอยแครงต่ำอาจส่งผลให้ความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ในกุ้งกุลาลายต่ำตามไปด้วย

การศึกษาสัณฐานวิทยาของ *Nematopsis* sp.

การศึกษาสัณฐานวิทยาของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* sp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบว่ามีหลายระยะเหมือนกับรายงานของ ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรัญญา ศุภพรโกมล (2545) ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และชนัญญา เสมศรี (2548) Lee et al. (1985) และ Jimenez et al. (2002) โดยพบ *Nematopsis* sp. ในระยะ gamont, syzygy และ gametocysts ระยะ gamont และ syzygy พบทั่วไปในลำไส้ของกุ้ง ส่วนระยะ gametocysts พบมากบริเวณตอนท้ายของลำไส้ ซึ่งจะถูกขับออกมาปนกับอุจจาระของกุ้งสู่น้ำทะเลและเข้าไปเจริญในหอยสองฝาต่อไป *Nematopsis* sp. ระยะ gamont ที่พบมีลำตัวเป็นทรงกระบอกมีลักษณะโปร่งใส ส่วนหัว (protomerite) เป็นรูปครึ่งวงกลม ส่วนของลำตัว (deutomerite) เป็นรูปทรงกระบอกมีนิวเคลียส 1 อันลักษณะทรงกลมอยู่ตรงกลางลำตัว ระยะ syzygy เป็นระยะที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของ gamont ตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไปเป็นระยะที่พบมากและมีขนาดค่อนข้างใหญ่มองเห็นชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ลำตัวมีลักษณะเป็นปล้องหลายปล้อง แต่ละปล้องมี 1 นิวเคลียส ระยะ gametocysts เป็นระยะที่ต่อจากระยะ syzygy

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

โดยเกิดจากการขดตัวของ syzygy เป็นก้อนกลมและมีการสร้างผนังหุ้มภายในประกอบด้วย gymnospores จำนวนมาก

การศึกษา *Nematopsis* sp. ระยะ syzygy ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดสส่องกราดพบว่า พื้นผิว membrane ของ *Nematopsis* sp. มีลักษณะเป็น cytoplasmic lamella ตั้งแต่ส่วน protomerite ไปจนถึงปลายสุดของ satellite และไม่พบส่วนของ epimerite ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับการศึกษาของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) ที่ศึกษา gregarine และพบว่ามีลักษณะเป็น lamella ตั้งแต่ส่วน protomerite ไปจนถึงปลายสุดของ satellitc แต่ต่างกันตรงที่ลำตัวบริเวณ nucleus ของ gregarinc ที่ Poulpanich and Withyachumnarnkul ศึกษามีลักษณะกว้างกว่าส่วนอื่น

การศึกษา *Nematopsis* sp. ระยะ syzygy ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดสส่องผ่านไม่พบส่วนของ epimerite บริเวณ protomerite มีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม มองเห็น septum ระหว่าง protomerite และ deutomerite ชัดเจนซึ่งบ่งบอกได้ว่าเป็น septate gregarine เหมือนกับรายงานของ Valigurova and Koudela (2008) และ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) บริเวณ protomerite พบ granule ขนาดใหญ่ที่ติดสีอ่อนจำนวนมาก พบ amylopectin granule ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับ amylopectin granule ใน gregarine *Leidyana ephestiae* จากรายงานของ Valigurova and Koudela (2005) ซึ่ง amylopcctin granule คือ polysaccharide ที่สะสมอยู่ใน cytoplasm เพื่อเป็นแหล่งพลังงาน (Guerardel et al., 2005) พบ largh granule และ small granule กระจายอยู่ทั่วไปทั้งใน protomeritc deutomeritc และ satellite เหมือนกับการศึกษาของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) บริเวณรอบ nucleus พบ mitochondria จำนวนมากซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ mitochondria ที่พบใน eugregarine *Gregarina granhami* จากรายงานของ Valigurova and Koudela (2008) โดยพบ mitochondria กระจายอยู่ทั่วไป เนื่องจาก mitochondria เป็นแหล่งพลังงานให้กับเซลล์ บริเวณ nuclear membranc พบ endoplasmic reticulum ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) โดย endoplasmic reticulum มีหน้าที่ในการสังเคราะห์โปรตีน ภายใน nucleus ประกอบด้วย heterochromatin และ euchromatin โดย heterochromatin จะไม่มี gene อยู่ แต่ euchromatin จะมี gene อยู่ด้วยซึ่งมีหน้าที่ในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม และพบ nucleolus จำนวนมากกระจายอยู่ใกล้กับ nuclear membrane nucleolus มีลักษณะเป็นก้อนติดสีย้อมเข้มกว่าบริเวณอื่น ๆ และเป็นแหล่งสังเคราะห์ RNA ซึ่งลักษณะของ chromatin และ nuclcolus ที่พบต่างจาก chromatin และ nucleolus ที่พบใน septate gregarine ระยะ trophozoite จากรายงานของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) บริเวณรอยต่อระหว่าง deutomerite และ satellite ซึ่งมองเห็น septum นั่นคือรอยต่อของบริเวณ protomerite ของ gamont ตัวแรก ที่มาต่อกับ gamont ตัวที่สองแบบหัวต่อหาง เมื่อมีการเชื่อมต่อกัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แล้วส่วนของ protomerite จะรวมกับส่วน deutomerite ของ gamont อีกตัวจึงทำให้บางบริเวณของ septum มองไม่เห็นรอยต่อระหว่าง deutomerite และ satellite นอกจากนี้บริเวณใกล้กับผนังเซลล์พบ microfilament และลักษณะที่คล้ายกับกระบวนการ phagocytocyst และ vacuoles จำนวนมาก ซึ่งเป็นกระบวนการในการขนส่งสารเข้าหรือออกนอกเซลล์ นอกจากนี้ยังพบ lamella ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น ภายในชั้นนอกสุดบริเวณปลาย lamella พบโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นท่อ microtubule 6-8 อัน ซึ่ง lamella เป็นโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของ *Nematopsis* sp. ซึ่งลักษณะของ lamella ต่างจากการศึกษาของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) ที่ศึกษา septate gregarine ในกุ้งกุลาดำ ตรงที่ภายในชั้นนอกสุดบริเวณปลาย lamella ของ septate gregarine ที่พบในกุ้งกุลาดำไม่พบโครงสร้างที่มีลักษณะคล้าย microtubule

การศึกษาพยาธิสภาพลำไส้ของกุ้งกุลาลายที่มีการระบาดของ *Nematopsis* sp.

การศึกษาลักษณะพยาธิสภาพภายในลำไส้กุ้งกุลาลาย พบว่า *Nematopsis* sp. อยู่อย่างอิสระภายในลำไส้ของกุ้งไม่ได้ยึดเกาะกับผนังลำไส้และไม่พบว่าผนังลำไส้ถูกทำลาย ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Jimenez et al. (2002) และ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) ซึ่งพบ *Nematopsis* sp. ยึดเกาะอยู่กับผนังลำไส้ และเมื่อนำข้อมูลจำนวน *Nematopsis* sp. ที่พบในลำไส้น้ำหนัก และความยาวของกุ้งกุลาลายมาศึกษาหาความสัมพันธ์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม spss พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงว่า จำนวนของ *Nematopsis* sp. ไม่มีผลต่อน้ำหนักและความยาวของกุ้งกุลาลาย กุ้งกุลาลายที่มีความยาวเท่ากันถ้ามีการระบาดของ *Nematopsis* sp. จำนวนต่างกันย่อมส่งผลต่อน้ำหนักของกุ้ง แต่จาการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักและความยาวของกุ้งกุลาลายพบว่ามีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันคือกุ้งที่มีความยาวมากน้ำหนักมากตามไปด้วย

จากผลการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาของ *Nematopsis* sp. ไม่พบ epimerite ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการยึดเกาะกับผนังลำไส้ และการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของลำไส้กุ้งกุลาลายที่มีการระบาดของ *Nematopsis* sp. พบว่าลำไส้ไม่ได้ถูกทำลาย ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากความหนาแน่นของ *Nematopsis* sp. ที่พบมีน้อย และระยะที่พบนี้อาจเป็นช่วงระยะที่ไม่ได้ยึดเกาะกับผนังลำไส้ ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Jimenez et al. (2002)

สรุป *Nematopsis* sp. ที่พบในลำไส้กุ้งกุลาลายที่ศึกษาในครั้งนี้มีค่าความหนาแน่นน้อย และไม่พบว่าทำให้เกิดบาดแผลในลำไส้ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Jimenez et al. (2002) จึงอาจเป็นไปได้ว่า *Nematopsis* sp. ที่พบในครั้งนี้เป็นคนละชนิดกับ *Nematopsis marinus* จากการศึกษาของ Jimenez et al. (2002)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาสัณฐานวิทยาของ *Nematopsis* sp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาชนิดของ *Nematopsis* sp.

2. ควรมีการศึกษาชนิดของ *Nematopsis* sp. ที่มีการระบาดในหอยและกุ้งว่าเป็นชนิดเดียวกันหรือไม่เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการระบุชนิดของ *Nematopsis* sp. ต่อไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University