รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแพร่กระจาย ค่าความชุกและ สัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจ บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย

The Distribution, Prevalence and Morphological Features of Parasitic in Commercial Marine shrimps from the Eastern Coast of Thailand

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์
อาจารย์ ดร.สาลินี ขจรพิสิฐศักดิ์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560
มหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแพร่กระจาย ค่าความชุกและ สัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจ บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย

The Distribution, Prevalence and Morphological Features of Parasitic in Commercial Marine Shrimps from the Eastern Coast of Thailand

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์
อาจารย์ ดร.สาลินี ขจรพิสิฐศักดิ์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560/25

สัญญาเลขที่ 25/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแพร่กระจาย ค่าความชุก และสัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจ บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย

The Distribution, Prevalence and Morphological Features of Parasitic in Commercial Marine Shrimps from the Eastern Coast of Thailand

ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และคณะ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 (เพิ่มเติม) มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 25/2560

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงได้เพราะได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนจากบุคคลหลายฝ่าย ได้แก่ อาจารย์เพื่อนร่วมงาน เจ้าหน้าที่ ผู้ช่วยวิจัย นิสิตที่ทำปัญหาพิเศษ และวิทยานิพนธ์ จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา รวมทั้งทุกท่านที่มีส่วนให้ความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี

Acknowledgement

This work was financially supported by the Research Grant of Burapha University through National Research Council of Thailand (Grant no. 25/2017)

บทคัดย่อ

การศึกษาการแพร่กระจาย ค่าความชุก และ สัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย พบการระบาดของปรสิตในกุ้งจำนวน 2 ชนิดคือ โปรโตซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* และสกุล *Cephalolobus* โดยพบว่าการระบาดของโปรโตซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* ในกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยมีค่ามากที่สุดในเดือนมิถุนายนถึงเดือนสิงหาคมโดยมีหลายจุดเก็บตัวอย่างที่มีค่าความชุก 100% เช่นที่หาดวอนนภา และอ่างศิลา อ่าวศรีราชา ช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี และท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง หลังจากเดือนสิงหาคม ค่าความชุกของการระบาดจะลดลงและต่ำสุดในเดือน ธันวาคมถึงเดือนมกราคมโดยมีค่าต่ำสุด ณ จุดเก็บตัวอย่างอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี โดยพบค่าความชุกของการระบาดในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 10% ในส่วนของโปรโตซัวปรสิตสกุล *Cephalolobus* พบว่ามีการระบาดไม่มากนักโดยพบการระบาดทั้งในกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยเฉพาะในเขตจังหวัดชลบุรี โดยพบการระบาดมากที่สุดในเดือนมิถุนายน ถึงเดือนกรกฎาคม และค่าความชุกของการระบาดค่อยๆ ลดลง และไม่พบการระบาดเลยในเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนพฤษภาคม

การศึกษาด้านสัณฐานวิทยาและจุลกายวิภาคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า *Nematopsis* มีลักษณะเป็นทรงกระบอกขนาดความกว้าง 20-38 µm มีขนาดความยาว 45-760 µm โดยจะมีส่วนหัวที่เรียกว่า protomerite มีลักษณะกลม-รี และมีส่วน epimerite ยื่นออกมาทางด้านหน้าของส่วนหัว ส่วนลำตัว deutomerite จะมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก และมีนิวเคลียส 1 อันรูปร่างกลม นอกจากนี้อาจมีการเชื่อมต่อกันของ trophozoites ตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไปเรียกระยะนี้ว่า Association ส่วนบนเรียกว่า primite ส่วนนี้ประกอบด้วยส่วนหัวคือ protomerite อาจมีหรือไม่มี epimerite ก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของ *Nematopsis* ส่วนลำตัว deutomerite มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกมีนิวเคลียส 1 อัน ส่วนที่ 2 คือ ส่วน satellite มีลักษณะเป็นทรงกระบอก มาเชื่อมต่อกันมีนิวเคลียส 1อันอยู่ค่อนไปทางด้านท้ายของลำตัว นอกจากนี้ยังพบ *Nematopsis* ระยะ gametocyst ซึ่งระยะนี้เกิดจากการหลอมรวมกันของระยะ syzygy ขดเป็นวงกลมแล้วมีการสร้างผนังหุ้มตัวเอง ระยะ gametocyst จะมีสีดำหรือสีน้ำตาล ภายในมี gymnospores บรรจุอยู่เป็นจำนวนมาก จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีการระบาดของโปรโตซัวปรสิตในสกุล *Cephalolobus* ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ *Nematopsis* มาก แต่ต่างกันบริเวณส่วนของ Epimerite ของ *Cephalolobus* จะมีการพัฒนาไปเป็น Holdfast สำหรับยึดเกาะผนังทางเดินอาหารของ host โดยพบว่ามีการระบาดทั้งในกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยแต่พบค่าการระบาดน้อยกว่า *Nematopsis*

คำสำคัญ : ปรสิต กุ้งทะเล ค่าความชุก สัณฐานวิทยา

Abstract

The study of the prevalence and morphology of parasites infected on economic prawns and shrimps in Thailand's eastern seacoast revealed the prevalence of two types of protozoan infections: one caused by *Nematopsis* protozoans, and the other caused by *Cephalolobus* protozoans. The prevalence of the infection caused by *Nematopsis* protozoans was found to be the highest in black tiger prawns and in banana shrimps from June to August, with the prevalence of 100% in the sample collections from some Chonburi and Rayong locations such as Won Napa Beach, Ang Sila, Sri Racha Bay, Samaesarn channel (Chonburi) and Ban Pae Pier (Rayong). After August the prevalence was gradually decreased and reached the lowest in December and January in the sample collection from Sri Racha Bay, with the infection prevalence of 10% in banana shrimps. The infection caused by *Cephalolobus* protozoans on black tiger prawns and banana shrimps was found to be relatively low on both black tiger prawns and banana shrimps particularly in Chonburi. The prevalence was found to be the highest in June and July and then gradually decreasing, with no infection prevalence from February to May.

The morphological and ultrastructural studies on *Nematopsis* by light microscope and electron microscope revealed the spherical shape of *Nematopsis* with 20-38 μm in width and 45-760 μm in length, consisting of the upper section, or primite, and the body section, or satellite. The two parts may be connected with at least 2 trophozoites and this stage is called association. The upper section, or primate, consists of the head called protomerite, and the body section called deutomerite. The head section is round and oval shaped, with or without epimerite protruding from the side of the head, depending on the kind of *Nematopsis*. The body section is spherical with a round nucleus. The lower section or satellite is spherical with one nucleus close to the end of the section. Gametocysts may be founded by the curling formation of syzygy to create self-wrapping walls. Gametocysts, the stage with the appearance of black or brown coloring, consist of a large number of gymnospores. The infections caused by *Nematopsis* and *Cephalolobus* were found to be in similar manner. The difference is that the epimerite of *Cephalolobus* was found to develop to hold fast to the host's gastrointestinal wall. The infection was found in both black tiger prawns and banana shrimps, but with less prevalence than the infection caused by *Nematopsis* protozoans.

Keywords: Parasite, Marine shrimps, Prevalence, Morphology

สารบัญ

สารบัญตาราง

หน้า

สารบัญภาพ

หน้า

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

1. บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ภาคตะวันออกของประเทศไทยพื้นที่ส่วนใหญ่อยู่ติดกับทะเล อาชีพของประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพประมงตามแนวชายฝั่ง มีการทำฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำตามชายฝั่งอย่างมากมาย เช่น ฟาร์มเลี้ยงหอยแครง หอยแมลงภู่ และหอยนางรม นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งจับสัตว์น้ำที่สำคัญ ตลอดจนเป็นแหล่งเพาะเลี้ยงกุ้งที่สำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด สามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรเป็นจำนวนมาก

การศึกษาทางด้านชีววิทยาของสัตว์น้ำในประเทศไทยมีการศึกษากันมากพอสมควร โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาที่เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยง ส่วนการศึกษาทางด้านโรคพยาธินั้น ยังมีการศึกษากันน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคพยาธิที่เกิดจากการระบาดของพวกโปรโตซัวปรสิต จากรายงานการวิจัยในต่างประเทศพบว่าโรคพยาธิที่เกิดจากการระบาดของพวกโปรโตซัวปรสิต สามารถทำให้เกิดความเสียหายแก่ฟาร์มหอยและหอยที่อยู่ตามธรรมชาติเป็นจำนวนมาก เช่น โปรโตซัวปรสิต *Marteilia refringens* เป็นโปรโตซัวปรสิตที่พบในกระเพาะอาหารและ เฮพพาโตแพนเครียสในหอยนางรม *Ostrea edulis* โดยปรสิตชนิดนี้จะทำให้หอยไม่เจริญเติบโต เฮพพาโตแพนเครียสมีสีซีดจางลง ปรสิตชนิดนี้เป็นสาเหตุของการตายของหอยนางรมที่ประเทศฝรั่งเศสเป็นจำนวนมาก (Sprague, 1979) นอกจากนี้ยังมีโปรโตซัวปรสิตชนิดอื่นๆอีกที่ระบาดในหอยและทำให้เกิดความเสียหายเช่น โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* spp. ปรสิตชนิดนี้ ตัวอ่อนจะอาศัยอยู่ในทุกส่วนของหอย พบมากบริเวณเหงือก ส่วนตัวเต็มวัยจะอาศัยอยู่บริเวณทางเดินอาหารของกุ้ง จะทำให้กุ้งโตช้า เกิดบาดแผลในทางเดินอาหาร การกินอาหารลดลง และถูกโรคอื่นเข้าแทรกได้ง่าย (Canestri-Trotti *et al*.,1998; Canestri-Trotti et al., 2000)

การศึกษาโปรโตซัวปรสิตในสัตว์น้ำเศรษฐกิจของประเทศไทย มีการศึกษากันน้อยมาก จากรายงานการสำรวจของ Tuntiwaranuruk *et al*. (2004) โดยสำรวจโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* spp. ในหอยบริเวณชายฝั่งของจังหวัดชลบุรีจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ หอยนางรม หอยเสียบ หอยตลับ หอบแมลงภู่ หอยแครง กะพง และหอยลาย พบว่ามีการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในหอย 4 ชนิด ได้แก่ หอยลาย หอยแครง หอยกะพง และหอยแมลงภู่ และเป็นที่น่าตกใจ คือพบว่ามีการระบาดในเปอร์เซ็นต์ที่สูงมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในหอยกะพงมีการระบาดกว่า 90% นอกจากนี้ยังมีรายงานการสำรวจของ ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรัญญา ศุภพรโกมล. (2545) สำรวจพบโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* spp. ในกุ้งแชบ๊วย (*Litopenaeus merquiensis*) ที่รวบรวมจากท่าเทียบเรืออ่างศิลา จังหวัดชลบุรี โดยพบว่ามีค่าการระบาดสูงถึง 93.33 %

จากการตรวจสอบเอกสารพบว่า ในต่างประเทศเริ่มมีการศึกษาปรสิตชนิดนี้กันบ้างแล้วแต่ยังไม่มากนัก ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการสำรวจ และรายงานเกี่ยวกับการพบ ชนิดใหม่ๆ เท่าที่สำรวจเอกสารมีเพียงรายงานเดียว ที่รายงานเกี่ยวกับวงชีวิต โดย Lee *et. al*. (1985) รายงานการศึกษาวงชีวิตของ *Nematopsis ostrearum* ที่ระบาดบริเวณชายฝั่ง Atlantic พบว่า โปรโตซัวปรสิตชนิดนี้มีหอยนางรม *Crassostrea virginica* เป็น intermediate host โดยมีปู *Panopeus herbsti* , *Eurypanopeus depressus* , *Eurytium limosum* และ *Neopanope texana* เป็น definitive host นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาของ Jimenez *et al*. (2002) สำรวจพบโปรโตซัวปรสิต (*Nematopsis marinus*) ซึ่งเป็น *Nematopsis* ชนิดใหม่ที่เพิ่งค้นพบในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ในประเทศ Ecuador โดยมีค่าการระบาด ตั้งแต่ 50-80% และมีค่า intensity of infection ตั้งแต่ 10 ตัวจนถึงมากกว่า 5,000 ตัว

ซึ่งคาดว่า โปรโตซัวปรสิตชนิดนี้น่าจะทำความเสียหายให้กับอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งในประเทศต่างๆใน อนาคตอันใกล้นี้

ฉะนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีความสำคัญมากโดยเป็นการศึกษา การแพร่กระจาย และจัดจำแนกชนิด โดยศึกษาสัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจในภาคตะวันออกของประเทศไทย ซึ่งเรายังมีการศึกษากันน้อยมาก เท่าที่ มีรายงานเป็นเพียงการสำรวจเฉพาะบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และเป็นการสำรวจเพียงสัตว์น้ำบางชนิด ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นการขยายการสำรวจทั่วภาคตะวันออกของประเทศไทย ทั้งนี้ประเทศไทยก็เป็นหนึ่งในประเทศผู้ส่งออกสัตว์น้ำรายใหญ่ของโลก จึงควรที่จะต้องเน้นศึกษาปรสิตในสัตว์น้ำเศรษฐกิจให้มากขึ้นเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันและกำจัดต่อไป โดยการศึกษาจะเป็นการสำรวจการระบาดในรอบปี ในกุ้งเศรษฐกิจของประเทศไทย เช่น กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย กุ้งม้าลาย ซึ่งเป็นกุ้งที่เราจับได้มาก และยังมีการเพาะเลี้ยงกุ้งเหล่านี้เป็นสัตว์น้ำส่งออก ทำรายได้ให้ประเทศไทยเป็นจำนวนมาก โดยจะทำการเก็บตัวอย่างกุ้งที่ถูกระบาดโดยปรสิต ศึกษาการแพร่กระจายของปรสิต ตลอดจนสัณฐานวิทยาภายนอกของปรสิต (morphology) และจุลกายวิภาค (ultrastructure) เพื่อการบ่งชี้และจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้อง และเป็นฐานข้อมูลสากลของสัตว์น้ำและปรสิตของไทยต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อทราบถึงชนิด การแพร่กระจาย และ ค่าความชุกของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจในภาคตะวันออกของประเทศไทย
2. เพื่อทราบถึงลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจของไทย

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาชนิด การแพร่กระจาย ค่าความชุก และสัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งเศรษฐกิจของประเทศไทย เช่น กุ้งแชบ๊วย กุ้งกุลาดำ กุ้งม้าลาย และกุ้งเศรษฐกิจอื่นๆ ในแหล่งเลี้ยงตามธรรมชาติที่มีการทำประมงพื้นบ้าน และบริเวณสะพานปลา ในเขตจังหวัดที่อยู่ติดกับทะเล คือ จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และจังหวัดตราด โดยกำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างทั้งหมด 7 สถานีดังนี้

1. สะพานปลาอ่างศิลา และสะพานปลาหาดวอนนภา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
2. สะพานปลาอ่าวศรีราชา อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี
3. หมู่บ้านประมงช่องแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี
4. สะพานปลาบ้านเพ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง
5. สะพานปลาหาดจ้าวหลาว อ่าวคุ้งกระเบน อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
6. หมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอ ขลุง จังหวัดจันทบุรี
7. สะพานปลาแหลมงอบ อำเภอแหลมงอบ จังหวัดตราด

โดยทำการเก็บตัวอย่างกุ้งเดือนละ 1 ครั้ง ครั้งละ 3-4 สถานี รวมออกเก็บตัวอย่างทั้งหมด 12 ครั้ง พร้อมกับวัดค่าคุณภาพของน้ำบริเวณแหล่งเลี้ยง อาทิเช่น ค่าความเค็ม อุณหภูมิ และ ค่า pH

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

กุ้ง เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีการนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย อีกทั้งประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตและส่งออกลำดับต้นๆ ของโลก การศึกษาโรคพยาธิ และปรสิตที่ระบาดในกุ้งจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งในประเทศไทยเรามีการศึกษาปรสิตที่ระบาดในกุ้งกันน้อยมาก เราเน้นศึกษาไปในด้านการเพาะเลี้ยงเป็นหลัก ฉะนั้นการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นการเพิ่มเติมฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของปรสิตที่มีการระบาดใน

กุ้งเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยหน่วยงานที่สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และสำนักความหลากหลายทางชีวภาพ สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ด้านวิชาการ

ได้ฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจที่จับได้ตลอดแนวชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย

2. ด้านนโยบาย

ได้แนวทางเลือกในการพัฒนาการทำประมงที่ดีและเหมาะสม (GAP) เพื่อลดหรือป้องกันปัญหาการกีดกันทางการค้าสินค้าทางการประมงที่อาจเกิดขึ้นได้ในอนาคต อันเนื่องมากจากผลผลิตทางการประมงของไทยไม่ได้มาตรฐานเนื่องจากมีโรคพยาธิ และทำให้ประเทศไทยสามารถส่งออกได้อย่างไร้การกีดกันทางการค้า

3. ด้านสังคมและชุมชน

นำผลการวิจัยเผยแพร่ต่อชุมชนและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยหน่วยงานที่สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และสำนักความหลากหลายทางชีวภาพ สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

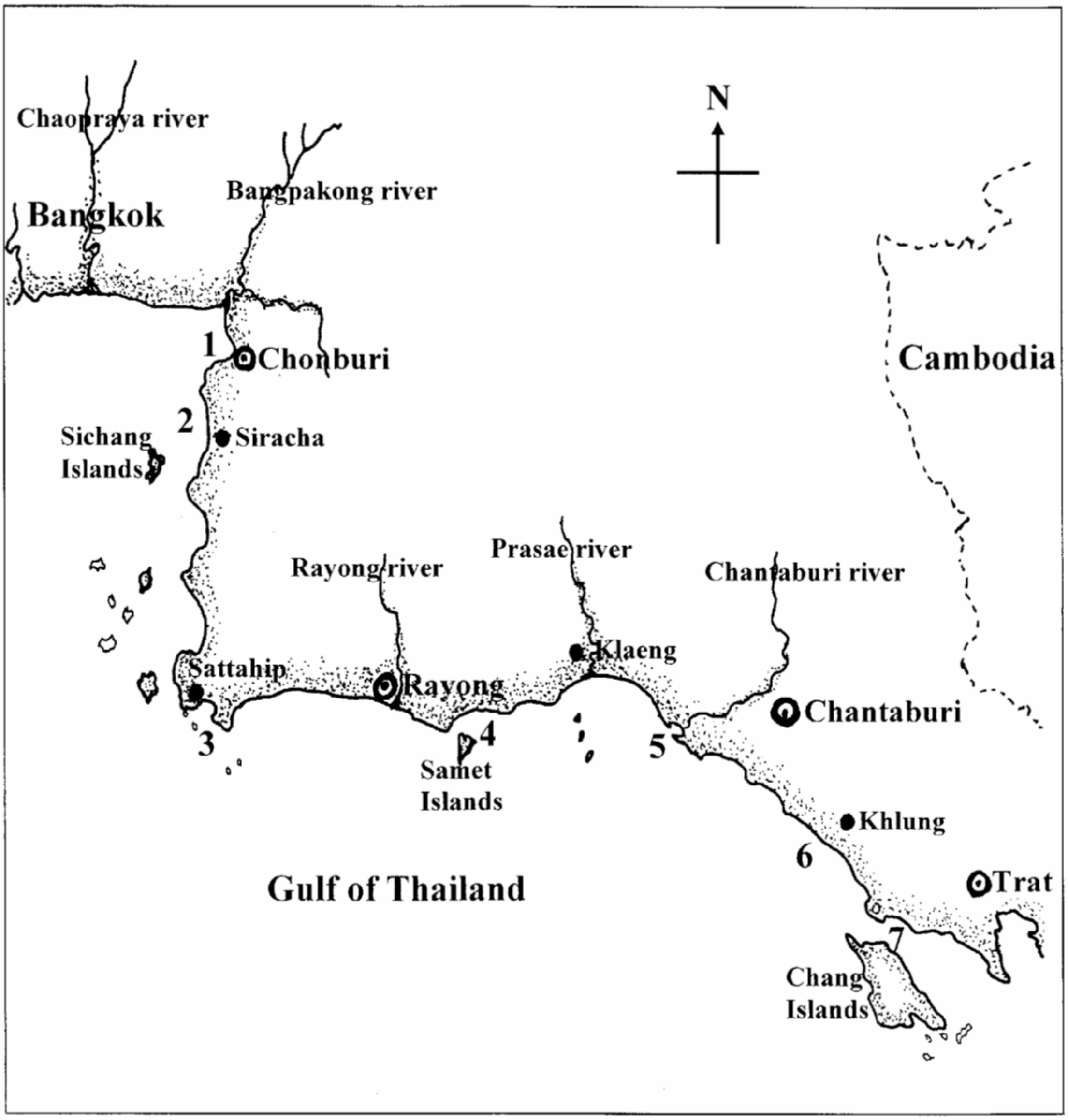
4. เป็นองค์ความรู้ในการต่อยอดงานวิจัยต่อไป

เป็นข้อมูลพื้นฐานต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์ในการที่จะหาวิธีกำจัดโรคพยาธิก่อนที่จะนำผลผลิตออกสู่ตลาด

2. รายละเอียดเกี่ยวกับวิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งเก็บตัวอย่าง

ออกสำรวจและกำหนดจุดเก็บตัวอย่าง กุ้งแชบ๊วย กุ้งกุลาดำ กุ้งม้าลาย และกุ้งเศรษฐกิจอื่นๆ ในแหล่งเลี้ยงตามธรรมชาติที่มีการทำประมงพื้นบ้าน และบริเวณสะพานปลา ในเขตจังหวัดที่อยู่ติดกับทะเล คือ จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และจังหวัดตราด โดยกำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างทั้งหมด 7 สถานี ดังนี้ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 สถานีเก็บตัวอย่างกุ้ง หมายเลข (1) สะพานปลาอ่างศิลา และสะพานปลาหาดวอนนภา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี หมายเลข (2) สะพานปลาอ่าวศรีราชา อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี หมายเลข (3) ชายทะเลหมู่บ้านประมงช่องแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี หมายเลข (4) ท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง หมายเลข (5) สะพานปลาหาดจ้าวหลาว อ่าวคุ้งกระเบน หมายเลข (6) หมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี และ หมายเลข (7) ท่าเทียบเรือแหลมงอบ จังหวัดตราด

สถานีที่เก็บตัวอย่างกุ้ง

1. สะพานปลาอ่างศิลา และสะพานปลาหาดวอนนภา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
2. สะพานปลาอ่าวศรีราชา อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี
3. หมู่บ้านประมงช่องแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี
4. สะพานปลาบ้านเพ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง
5. สะพานปลาหาดจ้าวหลาว อ่าวคุ้งกระเบน อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี
6. หมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอ ขลุง จังหวัดจันทบุรี
7. สะพานปลาแหลมงอบ อำเภอแหลมงอบ จังหวัดตราด

วิธีทำการวิจัย

1. ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งเดือนละ 1 ครั้ง ครั้งละ 3-4 สถานี รวมออกเก็บตัวอย่างทั้งหมด 12 ครั้ง พร้อมกับวัดค่าคุณภาพของน้ำบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่าง อาทิเช่น ค่าความเค็ม อุณหภูมิ และ ค่า pH
2. ทำการตรวจหาปรสิตที่ระบาดในทางเดินอาหารของกุ้ง บันทึกค่าความชุก พร้อมกับศึกษาสัณฐานวิทยา (morphology) วัดขนาด และบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์
3. นำตัวอย่างปรสิตมาทำเป็นสไลด์ถาวร เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาโดยละเอียด และเก็บไว้เป็นตัวอย่างอ้างอิงของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจที่สำรวจพบในประเทศไทย

การเตรียมตัวอย่างศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อวิทยา

ทำการตรวจหาปรสิตในกระเพาะอาหาร และทางเดินอาหารของกุ้งทะเลเศรษฐกิจ เมื่อตรวจพบปรสิตแล้ว นำตัวอย่างมาทำตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. fixed ด้วย Bouin's fixative		10 นาที
2. ล้างด้วย	น้ำ จนกระทั่งไม่มีสี	
3. ย้อมด้วยสี Haematoxylin		10 นาที
4. ล้างด้วย	น้ำ	10 นาที
5. แช่ใน	10 % alc.	30 นาที
6. แช่ใน	20 % alc.	30 นาที
7. แช่ใน	30 % alc.	30 นาที
8. แช่ใน	50 % alc.	30 นาที
9. แช่ใน	70 % alc.	30 นาที
10. Destained เพื่อให้สีจางลงด้วย 1% HCl ใน 70% alc.		
11. Stop destained ใน 1% NaOH ใน 70% alc.		
12. แช่ใน	70 % alc.	30 นาที
13. แช่ใน	85 % alc.	30 นาที
14. แช่ใน	95 % alc.	30 นาที
15. แช่ใน	2 95 % alc. : 1 N-butyl	30 นาที
16. แช่ใน	1 95 % alc. : 1 N-butyl	30 นาที
17. แช่ใน	1 95 % alc. : 2 N-butyl	30 นาที
18. แช่ใน	N-butyl	30 นาที

19. แช่ใน 2 N-butyl : 1 Xylene 30 นาที
20. แช่ใน 1 N-butyl : 1 Xylene 30 นาที
21. แช่ใน 1 N-butyl : 2 Xylene 30 นาที
22. แช่ใน Xylene 30 นาที
23.ทำการ Mount ด้วย permount แล้วปิด cover glass นำไปวางบน hot plate เพื่อไล่ฟองอากาศ

การวินิจฉัย

นำสไลด์ถาวรที่ได้มาศึกษาสัณฐานวิทยาของปรสิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยทำการวัดขนาดและศึกษาสัณฐานวิทยา พร้อมทั้งบันทึกภาพไว้เป็นหลักฐาน เพื่อจัดจำแนกชนิดต่อไป

การเตรียมตัวอย่างศึกษาทางด้านจุลกายวิภาค

การศึกษาทางจุลกายวิภาค (ultrastructure) ของปรสิตชนิดต่างๆ ที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบกับข้อมูลด้านสัณฐานวิทยาภายนอกในการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ และจัดจำแนกชนิดของปรสิตที่พบกุ้งทะเลเศรษฐกิจในประเทศไทย โดยวิธีการดังต่อไปนี้

การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

นำปรสิตที่ตรวจพบบริเวณทางเดินอาหารของกุ้งแต่ละชนิด มาผ่านกระบวนการดังต่อไปนี้

1. Fix Karnovsky 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศา
2. Rinsed fixing buffer ครั้งที่ 1 1 ชั่วโมง
   ครั้งที่ 2 1 ชั่วโมง
   ครั้งที่ 3 1 ชั่วโมง
3. Post fixed Osmium 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศา
4. Wash in washing buffer ครั้งที่ 1 1 ชั่วโมง
   ครั้งที่ 2 1 ชั่วโมง
   ครั้งที่ 3 1 ชั่วโมง
5. Dehydrated alc. 30 % 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
   alc. 50 % 24 ชั่วโมง
6. Phosphotunstic 1 % + Uranyl acetated 0.5% in alc. 70 % 24 ชั่วโมง
7. Dehydrated acl. 90 % 24 ชั่วโมง
8. Dehydrated acl. 95 % 24 ชั่วโมง
9. Dehydrated acl. 100 % 24 ชั่วโมง
10. Propreline oxide 24 ชั่วโมง
11. Propreline oxide : Epon-812 +DDSA
    2 : 1 24 ชั่วโมง
    1 : 1 24 ชั่วโมง
    1 : 2 24 ชั่วโมง
12. Epon 812 + DDSA 24 ชั่วโมง

13. Fixed เนื้อเยื่อลงใน Capsule
14. Incubated

อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง

15. นำ capsule ไปตัด ultrathin sections ทำการย้อมสีด้วย uranyl acetate และ lead citrate
16. นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน

<u>การวินิจฉัย</u>

ศึกษาสัณฐานวิทยาของปรสิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องผ่าน โดยทำการวัดขนาดของ ดูสภาพเนื้อเยื่อ พร้อมทั้งบันทึกภาพไว้เป็นหลักฐาน นำผลการศึกษาที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูล สรุปผลการศึกษา เขียนรายงานผลการศึกษา

<u>การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด</u>

ทำการผ่าตัดกุ้ง โดยใช้กรรไกรตัดส่วนเปลือกกุ้งบริเวณกลางหลังโดยเริ่มตั้งแต่ปลายสุดของหางไปจนถึงปลายสุดของหัวกุ้ง แล้วจึงใช้คีมคีบดึงลำไส้ของกุ้งออกมา (ระวังอย่าให้ลำไส้แตกหรือขาด) ต่อมานำลำไส้กุ้งวางบนสไลด์ที่มีหยดน้ำทะเล ใช้เข็มเขี่ยฉีกลำไส้ออกจากกัน แล้วจึงตรวจหาโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ระยะ trophozoite ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และดูดเก็บตัวอย่างด้วย micropipette มาทำการรักษาสภาพโดยแช่ใน 2.5% glutaraldehyde ใน 0.1 M (PBS) pH 7.8 เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 °C ต่อมาล้างด้วย 0.1 M PBS, pH 7.8 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วแช่ใน 1% osmium tetroxide ใน 0.1 PBS pH 7.8 ประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย 0.1 M PBS, pH 7.8 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นอีกประมาณ 5 นาที จากนั้นทำการดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) โดยแช่ใน 70 % 80 % 90 % และ 95 % ethanol ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นละ 2 ครั้ง ครั้งละ 20 นาที และนำไปแช่ใน absolute ethanol เป็นเวลา 20 นาที โดยทุกขั้นตอนจะต้องทำที่อุณหภูมิ 4 °C บนเครื่องเขย่าความเร็ว 30 – 50 รอบ/นาที หลังจากนั้นจึงนำไปแช่ใน absolute ethanol อีก 2 ครั้ง ครั้งละ 20 นาที ซึ่งทำที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่าความเร็ว 30 – 50 รอบ/นาที แล้วจึงนำตัวอย่างไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้ง ณ จุดวิกฤต (Critical point drying) ติดตัวอย่างลงบน aluminum stub นำไปเคลือบทอง (ion sputtering) ที่ 10 KV แล้วจึงจะนำตัวอย่างไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

<u>การวินิจฉัย</u>

ศึกษาสัณฐานวิทยาของปรสิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยทำการวัดขนาดของ ดูสภาพเนื้อเยื่อผิวของปรสิต พร้อมทั้งบันทึกภาพไว้เป็นหลักฐาน นำผลการศึกษาที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูล สรุปผลการศึกษา เขียนรายงานผลการศึกษา

3. ผลการวิจัย

การศึกษาการแพร่กระจาย ค่าความชุก และ สัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยได้ทำการศึกษาในแหล่งต่างๆ บริเวณแหล่งการทำประมงพื้นที่ของจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และจังหวัดตราด โดยกำหนดจุดเก็บตัวอย่างใน 4 จังหวัด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สถานีเก็บตัวอย่างสัตว์ทดลอง จากจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และจังหวัดตราด

จังหวัด	สถานีเก็บตัวอย่าง
1. จังหวัดชลบุรี	1. สะพานปลาอ่างศิลา และสะพานปลาหาดวอนนภา อำเภอเมือง 2. สะพานปลาอ่าวศรีราชา อำเภอศรีราชา 3. หมู่บ้านประมงช่องแสมสาร อำเภอสัตหีบ
2. จังหวัดระยอง	1. สะพานปลาบ้านเพ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง
3. จังหวัดจันทบุรี	1. สะพานปลาหาดจ้าวหลาว อ่าวคุ้งกระเบน อำเภอท่าใหม่ 2. หมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอขลุง
4. จังหวัดตราด	1. สะพานปลาแหลมงอบ อำเภอแหลมงอบ

ทั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย และกุ้งม้าลายจากแหล่งเก็บตัวอย่าง (ภาพที่ 2) โดยเก็บตัวอย่าง 2 เดือนต่อ 1 ครั้งในแต่ละสถานี ตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2560 ถึงเดือน พฤษภาคม 2561 เป็นเวลา 12 ครั้ง พร้อมกับวัดค่าคุณภาพของน้ำบริเวณแหล่งเลี้ยง อาทิเช่น ค่าความเค็ม อุณหภูมิ และ ค่า pH

ภาพที่ 2 ชาวประมงกำลังคัดแยกกุ้งทะเลที่จับมาได้ วางขายบริเวณสะพานปลาหาดวอนนภา จังหวัดชลบุรี

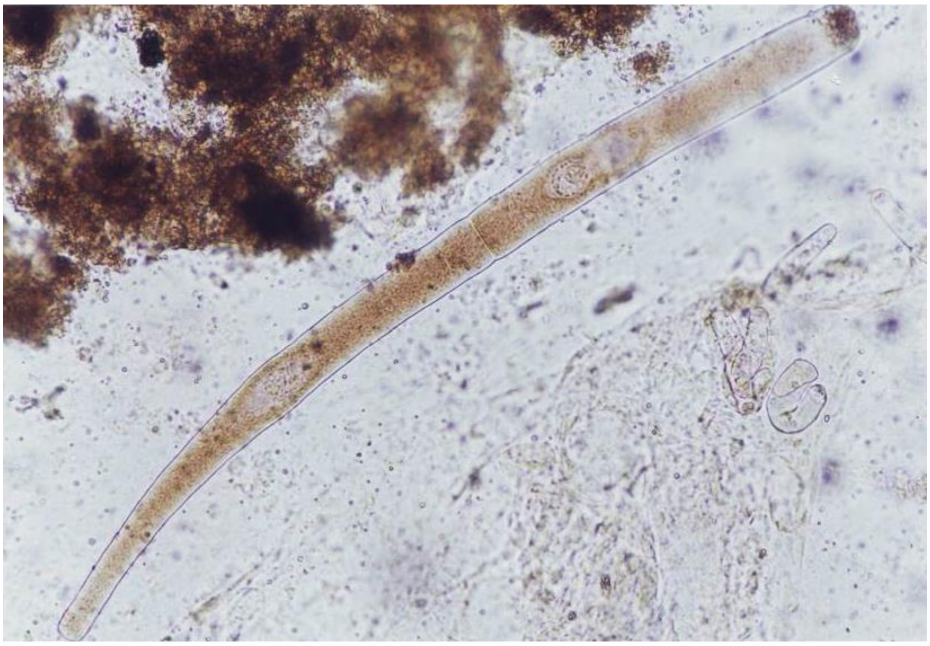
ชนิด และค่าการระบาดของปรสิตในกุ้งทะเลเศรษฐกิจ

จากการสำรวจปรสิตในทางเดินอาหารของกุ้งในครั้งนี้ เป็นการสำรวจในกุ้งแชบ๊วย (ภาพที่ 3) และ กุ้งกุลาดำ (ภาพที่ 4) ซึ่งเป็นกุ้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของแหล่งประมงในภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยรวบรวมตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงอ่างศิลา สะพานปลาหาดวอนนภา ท่าเรืออ่าวศรีราชา หมู่บ้านประมงช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี และ ท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง สะพานปลาหาดจ้าวหลาว อ่าวคุ้งกระเบน และหมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี และ ท่าเทียบเรือแหลมงอบ จังหวัดตราด

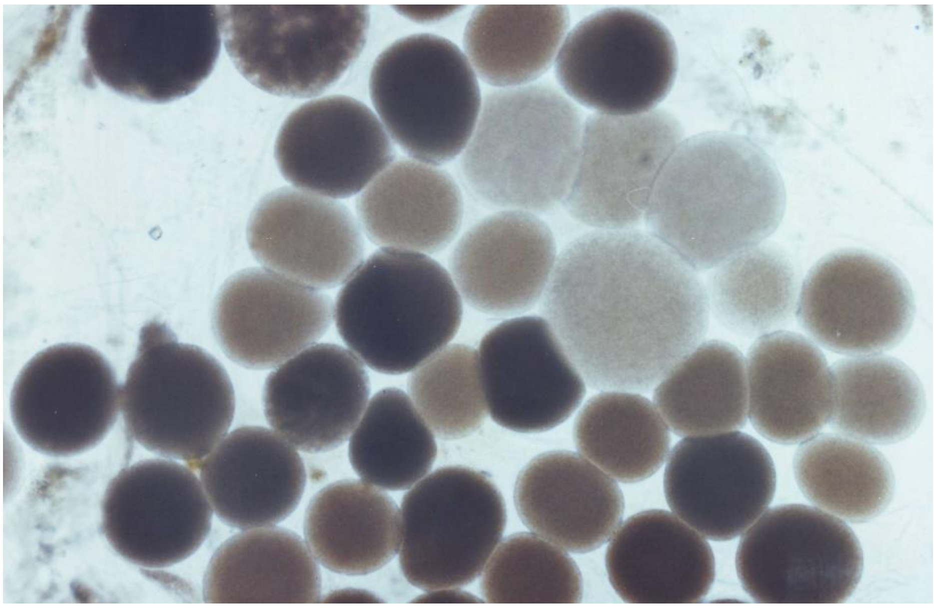
ภาพที่ 3 กุ้งแชบ๊วยที่ชาวประมงจับได้

ภาพที่ 4 กุ้งกุลาดำ

จากการสำรวจพบว่ามีการระบาดของโปรโตซัวปรสิตในสกุล *Nematopsis* เป็นส่วนใหญ่ โดยมีการระบาดในระยะ trophozoite (ภาพที่ 5) และระยะ gametocyst (ภาพที่ 6) ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย โดยตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงอ่างศิลาและสะพานปลาหาดวอนนภา มีการระบาดในกุ้งกุลาดำมีค่าความชุกเฉลี่ย 12 เดือนเท่ากับ 67.5 % และในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 75.8 % ตัวอย่างกุ้งจากอำเภอศรีราชา ระบาดในกุ้งกุลาดำเฉลี่ย 65.8 % ระบาดในกุ้งแชบ๊วยเท่ากับ 63.3 % ตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงช่องแสมสาร กุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 70.0 % กุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 60.8 % และตัวอย่างจากท่าเทียบเรือประมงบ้านเพ จังหวัดระยอง ในกุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 51.7% กุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 55.0 % ตัวอย่างจากอ่าวคุ้งกระเบน กุ้งแชบ๊วยมีการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* เฉลี่ย 12 เดือนมีค่าเท่ากับ 56.7 % กุ้งแชบ๊วยจากอำเภอขลุง มีค่าการระบาดเท่ากับ 52.5 % และมีค่าการระบาดเฉลี่ยในกุ้งกุลาดำ จากท่าเทียบเรือแหลมงอบ มีค่าเท่ากับ 55.8 % (ตางรางที่ 1)

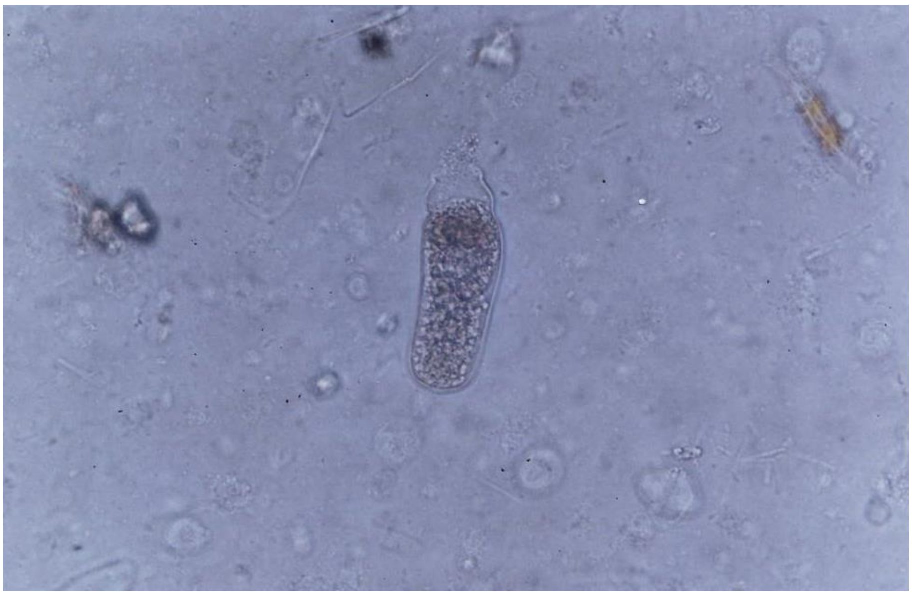


ภาพที่ 5 โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* sp. ระยะ trophozoite ที่ระบาด
ในทางเดินอาหารของกุ้ง แชบ๊วย



ภาพที่ 6 โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* sp. ระยะ gametocyst ที่ระบาด
ในทางเดินอาหารของกุ้ง แชบ๊วย

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีการระบาดของโปรโตซัวปรสิตในสกุล *Cephalolobus* (ภาพที่ 7-8) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ *Nematopsis* มาก แต่ต่างกันบริเวณส่วนของ Epimerite ของ *Cephalolobus* จะมีการพัฒนาไปเป็น Holdfast สำหรับยึดเกาะผนังทางเดินอาหารของ host โดยพบว่ามีการระบาดในกุ้งสองชนิดคือ กุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งสะพานปลาอ่างศิลา ศรีราชา และช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี ซึ่งการศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกที่พบ *Cephalolobus* ในประเทศไทย



ภาพที่ 7 โปรโตซัวปรสิต *Cephalolobus* sp. ระยะ gamont ที่ระบาดในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ

ภาพที่ 8 โปรโตซัวปรสิต *Cephalolobus* sp. ระยะ association ที่ระบาดในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ

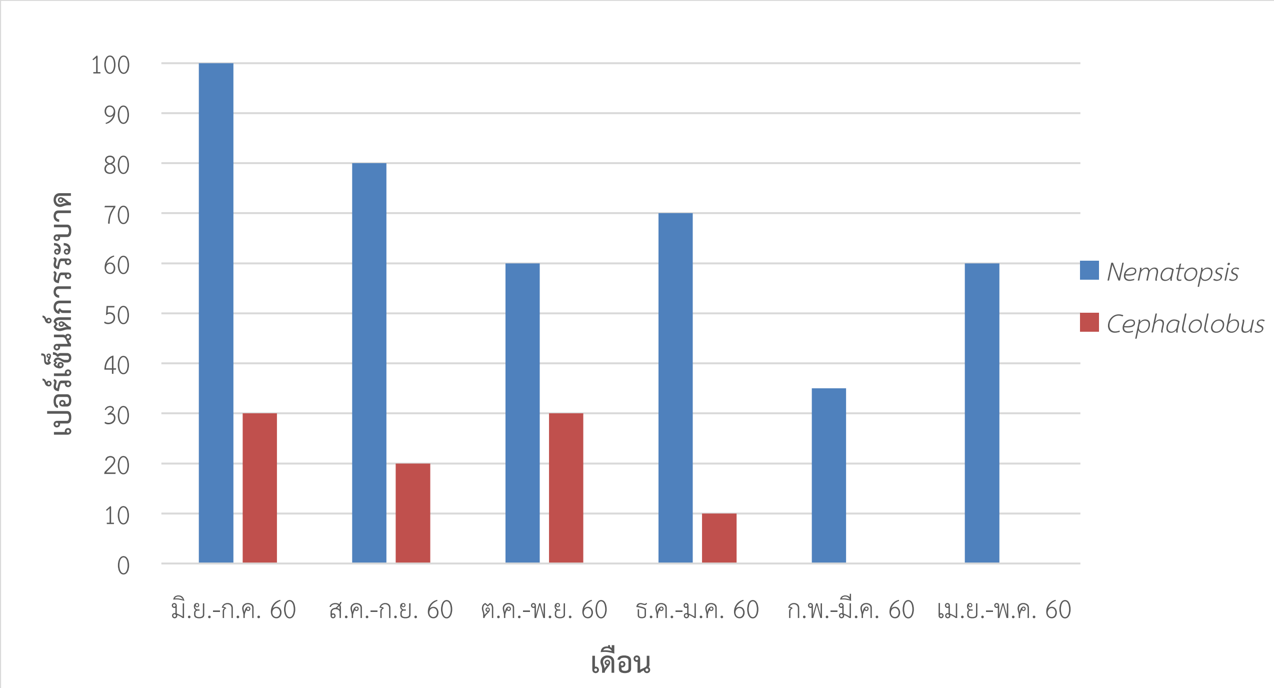
ตางรางที่ 2 แสดงชนิด และค่าความชุกของการระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งแต่ละชนิดจากแหล่งเก็บตัวอย่างใน 4 จังหวัดที่ทำการสำรวจในรอบ 12 เดือน

จังหวัด	ตัวอย่างกุ้งและแหล่งที่มา	ชนิดของปรสิตที่พบ	ค่าความชุก (%)						ค่าความชุกเฉลี่ย(%)
			มิ.ย.-ก.ค. 60	ส.ค.-ก.ย. 60	ต.ค.-พ.ย. 60	ธ.ค.-ม.ค.61	ก.พ.-มี.ค.61	เม.ย.-พ.ค.61	
ชลบุรี	<u>สะพานปลาอ่างศิลาและหาดวอนนภา</u>								
	กุ้งกุลาดำ	*Nematopsis* sp.	100.0	80.0	60.0	70.0	35.0	60.0	67.5
		Cephalolobus sp.	30.0	20.0	30.0	10.0	0.0	0.0	15.0
	กุ้งแชบ๊วย	*Nematopsis* sp.	100.0	100.0	55.0	85.0	40.0	75.0	75.8
		Cephalolobus sp.	20.0	35.0	10.0	0.0	0.0	0.0	10.8
	<u>อ่าวศรีราชา</u>								
	กุ้งกุลาดำ	*Nematopsis* sp.	100.0	90.0	65.0	35.0	45.0	60.0	65.8
		Cephalolobus sp.	40.0	35.0	10.0	0.0	0.0	0.0	14.2
	กุ้งแชบ๊วย	*Nematopsis* sp.	100.0	80.0	80.0	10.0	50.0	60.0	63.3
		Cephalolobus sp.	30.0	25.0	10.0	0.0	0.0	0.0	10.8
	<u>ช่องแสมสาร</u>								
	กุ้งกุลาดำ	*Nematopsis* sp.	85.0	90.0	70.0	65.0	50.0	60.0	70.0
		Cephalolobus sp.	30.0	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8.3
	กุ้งแชบ๊วย	*Nematopsis* sp.	100.0	70.0	45.0	50.0	40.0	60.0	60.8
ระยอง	<u>ท่าเทียบเรือบ้านเพ</u>								
	กุ้งกุลาดำ	*Nematopsis* sp.	70.0	80.0	30.0	30.0	45.0	55.0	51.7
	กุ้งแชบ๊วย	*Nematopsis* sp.	100.0	85.0	40.0	20.0	35.0	50.0	55.0
จันทบุรี	<u>อ่าวคุ้งกระเบน</u>								
	กุ้งแชบ๊วย	*Nematopsis* sp.	90.0	85.0	40.0	30.0	40.0	55.0	56.7
	<u>อำเภอขลุง</u>								
	กุ้งแชบ๊วย	*Nematopsis* sp.	70.0	75.0	20.0	35.0	50.0	65.0	52.5
ตราด	<u>ท่าเรือแหลมงอบ</u>								
	กุ้งกุลาดำ	*Nematopsis* sp.	85.0	90.0	25.0	35.0	30.0	70.0	55.8

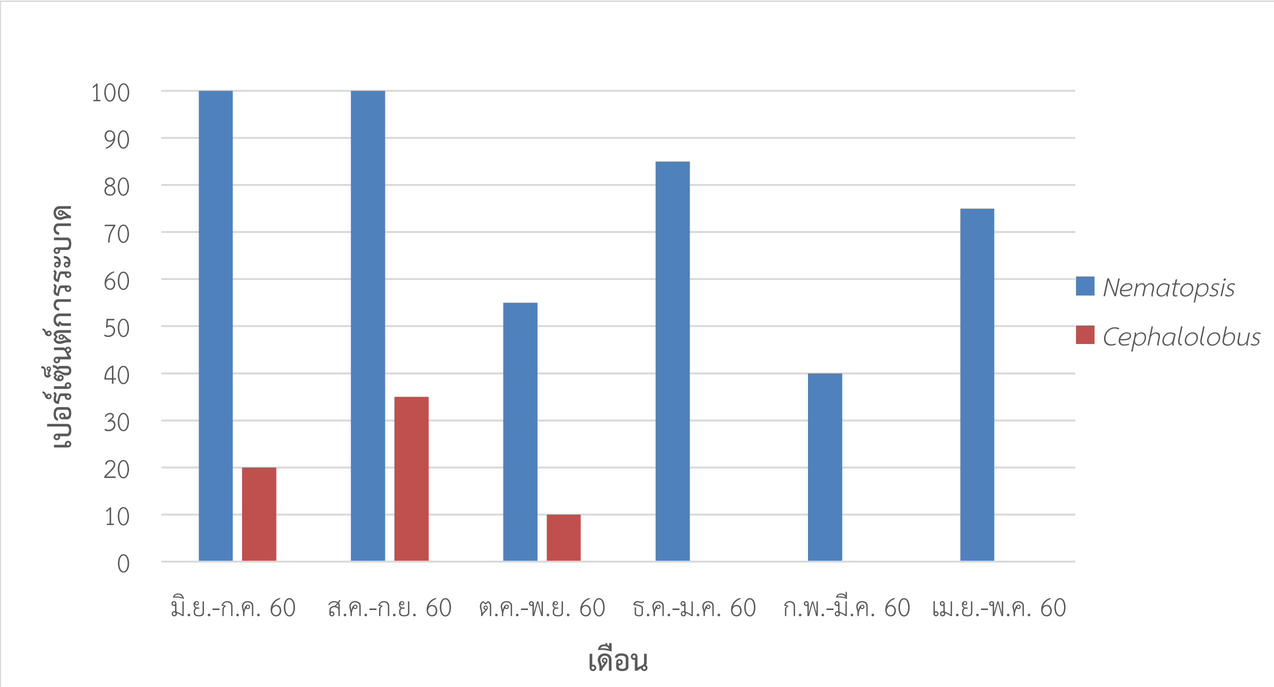
การสำรวจปรสิตในทางเดินอาหารของกุ้งทะเลเศรษฐกิจในครั้งนี้พบการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ และ กุ้งแชบ๊วย ที่รวบรวมตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงอ่างศิลาและสะพานปลาหาดวอนนภา หมู่บ้านประมงช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี ท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง สะพานปลาหาดจ้าวหลาว อ่าวคุ้งกระเบน อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี หมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอขลุง และสะพานปลาแหลมงอบ อำเภอแหลมงอบ จังหวัดตราด พบว่ามีการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในระยะ trophozoite ระยะ association และระยะ gametocyst ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย โดยตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงอ่างศิลา และสะพานปลาหาดวอนนภา มีการระบาดในกุ้งกุลาดำมีค่าความชุกเท่ากับ 67.5 % และในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 75.8 % ตัวอย่างจาก อ่าวศรีราชามีการระบาดในกุ้งกุลาดำมีค่าความชุกเท่ากับ 65.8 % และในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 63.3 % ตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงช่องแสมสาร ในกุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 70.0 % กุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 60.8% ตัวอย่างจากท่าเทียบเรือประมงบ้าน

เพ จังหวัดระยอง ในกุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 51.7% กุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 55.0% ตัวอย่างจากอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี มีการระบาดในกุ้งแชบ๊วย มีค่าความชุกเท่ากับ 56.7% ตัวอย่างจากอำเภอขลุงค่าความชุกเท่ากับ 52.5% และมีการระบาดในกุ้งกุลาดำจากท่าเทียบเรือแหลมงอบ จังหวัดตราด มีค่าความชุกเท่ากับ 55.8% นอกจากนั้นยังพบการระบาดของโปรโตซัวปรสิตในสกุล *Cephalolobus* ทั้งในกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย โดยพบในท้องที่ของจังหวัดชลบุรี จากทั้ง 3 แหล่งคือ ท่าเทียบเรืออ่างศิลาและท่าเทียบเรือหาดวอนนภาโดยมีค่าความชุกเฉลี่ยเท่ากับ 15.0% ในกุ้งกุลาดำ และ 10.8% ในกุ้งแชบ๊วย มีการระบาดเฉลี่ยในกุ้งกุลาดำจากอ่าวศรีราชา 14.2% และกุ้งแชบ๊วย 10.8% และยังมีการระบาดในกุ้งกุลาดำจากแหล่งหมู่บ้านประมง ช่องแสมสารมีค่าความชุกเฉลี่ยเท่ากับ 8.3% ซึ่งการพบการระบาดของโปรโตซัวปรสิตสกุล *Cephalolobus* เท่าที่การสำรวจเอกสาร ยังไม่พบการรายงานการพบในประเทศไทยมาก่อนเลย

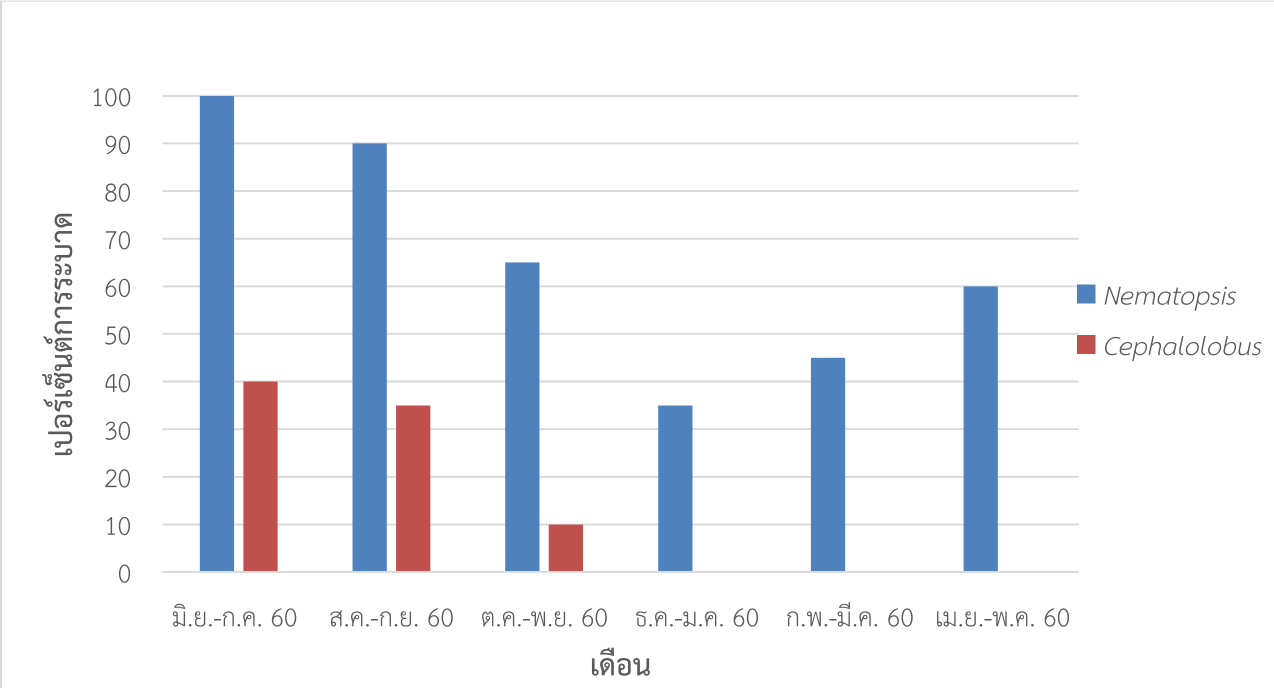
เมื่อจำแนกการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* กุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยเป็นรายเดือนในรอบ 1 ปี (ภาพที่ 9-19) พบว่าแนวโน้มการระบาดจะมีค่ามากที่สุดราวเดือนมิถุนายนถึงเดือนสิงหาคมโดยมีหลายจุดเก็บตัวอย่างที่มีค่าความชุกถึง 100% เช่นที่หาดวอนนภา และอ่างศิลา อ่าวศรีราชา ช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี และ ท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง หลังจากเดือนสิงหาคม ค่าความชุกของการระบาดก็จะลดลงและต่ำสุดจะอยู่ราวเดือน ธันวาคมถึงเดือนมกราคมโดยมีค่าต่ำสุด ณ จุดเก็บตัวอย่างอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี โดยพบการระบาดในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 10% และหลังจากนั้นมีแนวโน้มของค่าความชุกของการระบาดที่ค่อยๆสูงขึ้น ในส่วนของการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Cephalolobus* พบว่ามีการระบาดไม่มากนัก โดยพบการระบาดทั้งในกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยเฉพาะในเขตจังหวัดชลบุรี โดยพบการระบาดมากที่สุดในเดือนมิถุนายน ถึงเดือนกรกฎาคม และค่าความชุกของการระบาดค่อยๆ ลดลง และไม่พบการระบาดเลยในเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนพฤษภาคม



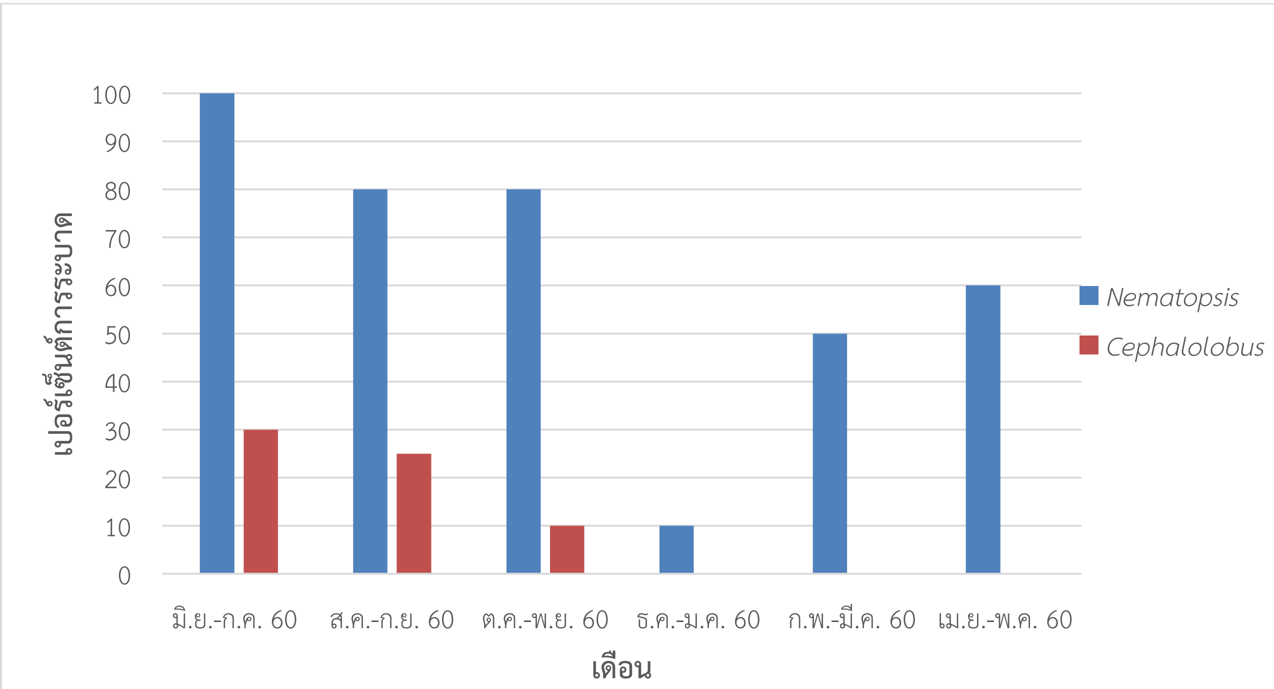
ภาพที่ 9 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งกุลาดำจากแหล่งเก็บตัวอย่างสะพานปลาอ่างศิลาและหาดวอนนภา จังหวัดชลบุรี



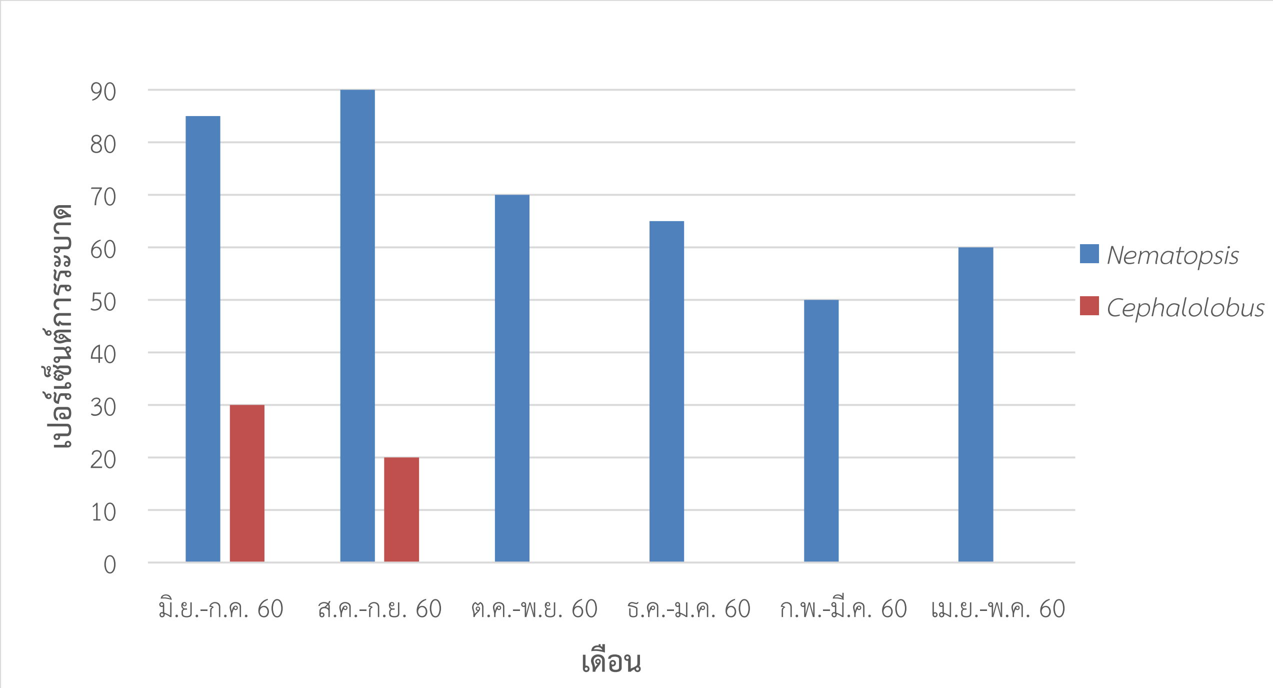
ภาพที่ 10 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งเก็บตัวอย่างสะพานปลาอ่างศิลาและหาดวอนนภา จังหวัดชลบุรี



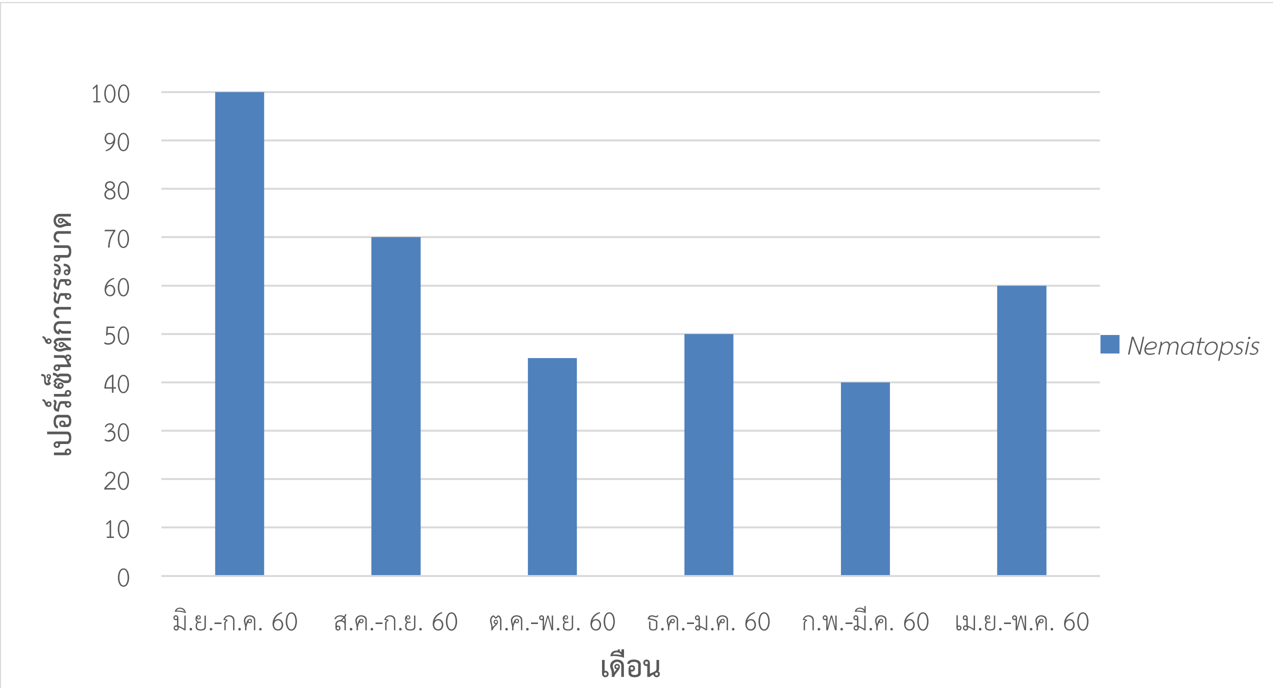
ภาพที่ 11 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งกุลาดำจากแหล่งเก็บตัวอย่างอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี



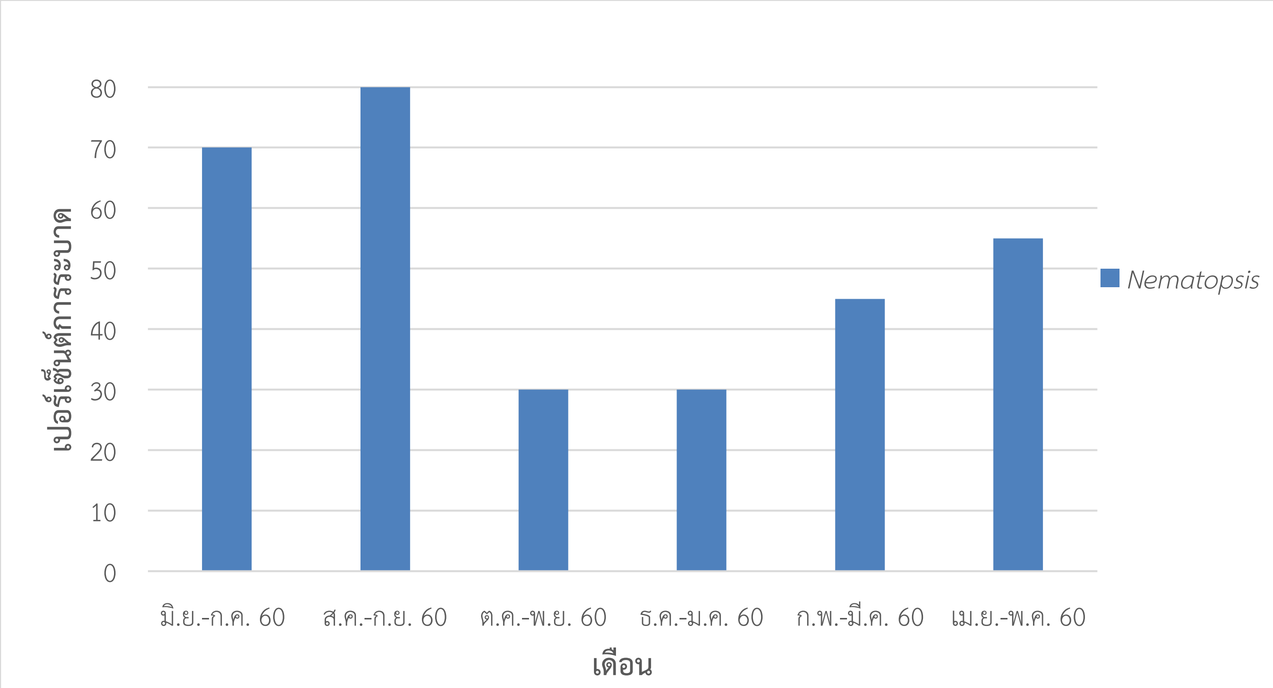
ภาพที่ 12 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งเก็บตัวอย่างอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี



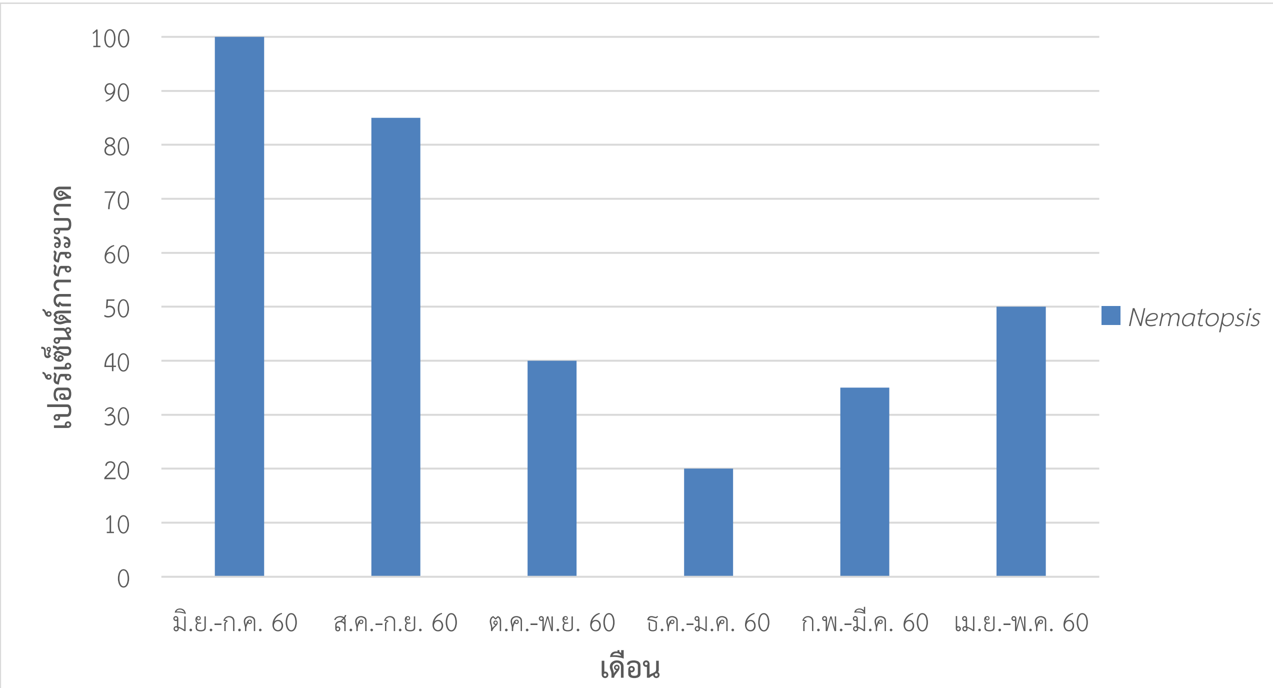
ภาพที่ 13 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งกุลาดำจากแหล่งเก็บตัวอย่างช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี



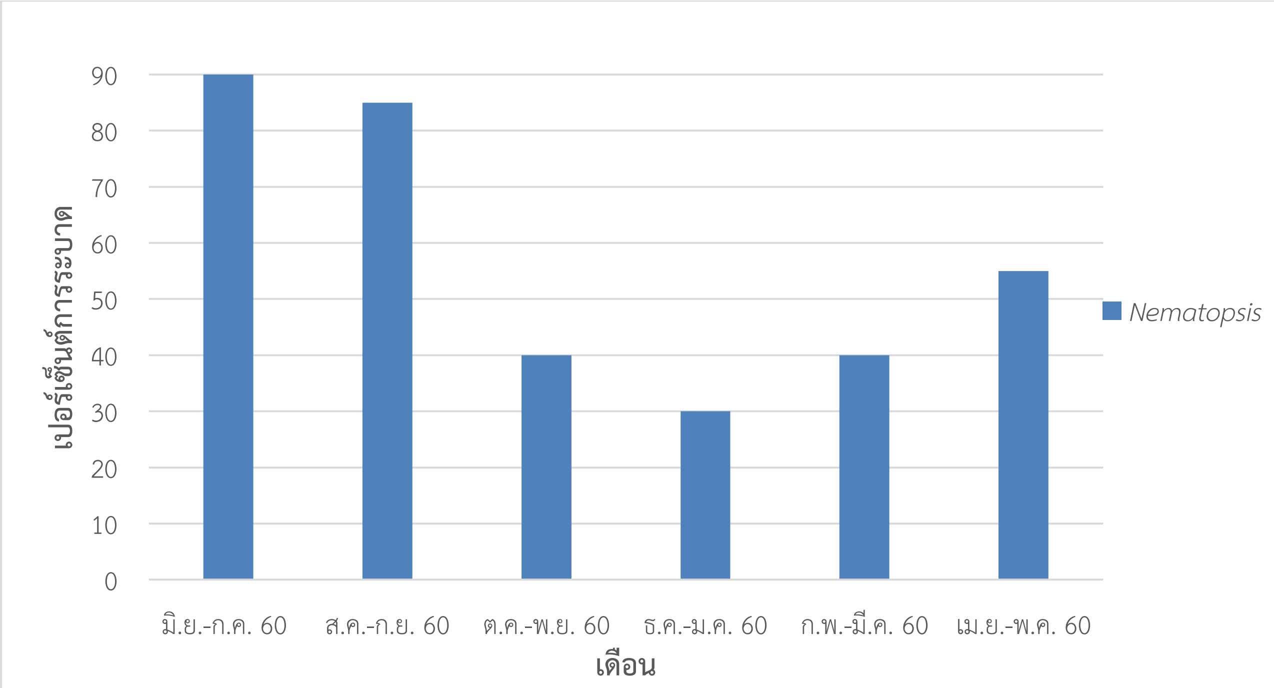
ภาพที่ 14 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งเก็บตัวอย่างช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี



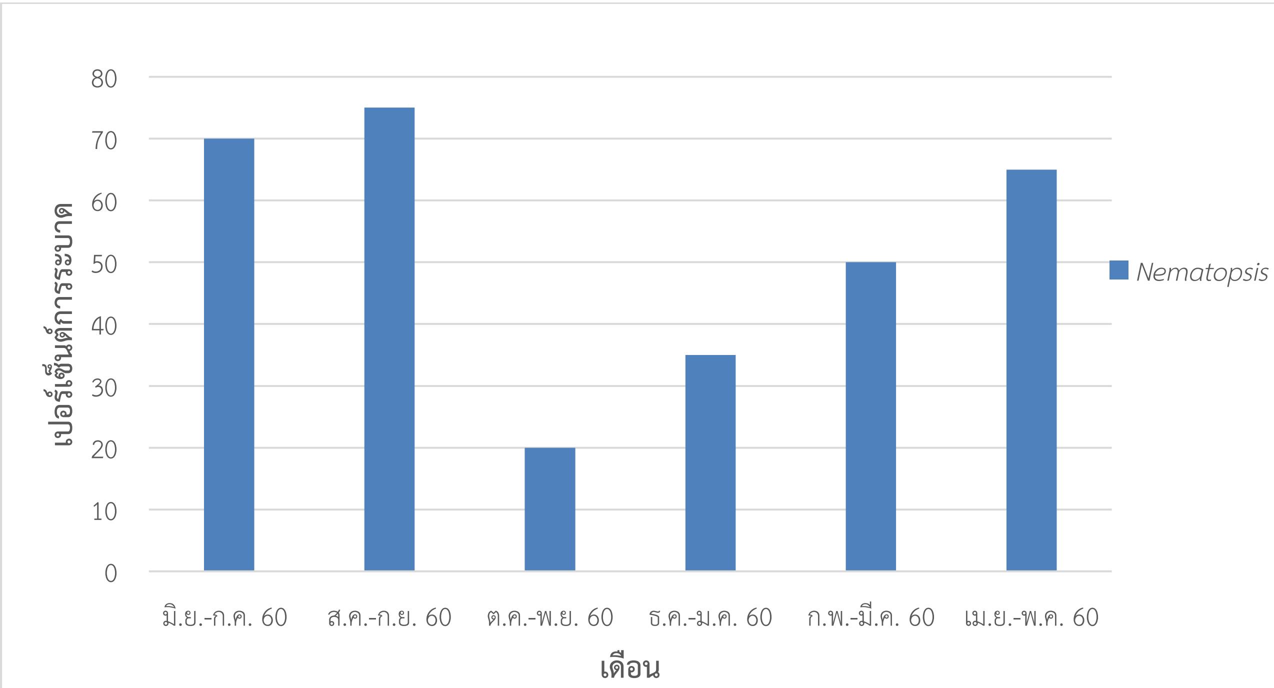
ภาพที่ 15 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งกุลาดำจากแหล่งเก็บตัวอย่างท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง



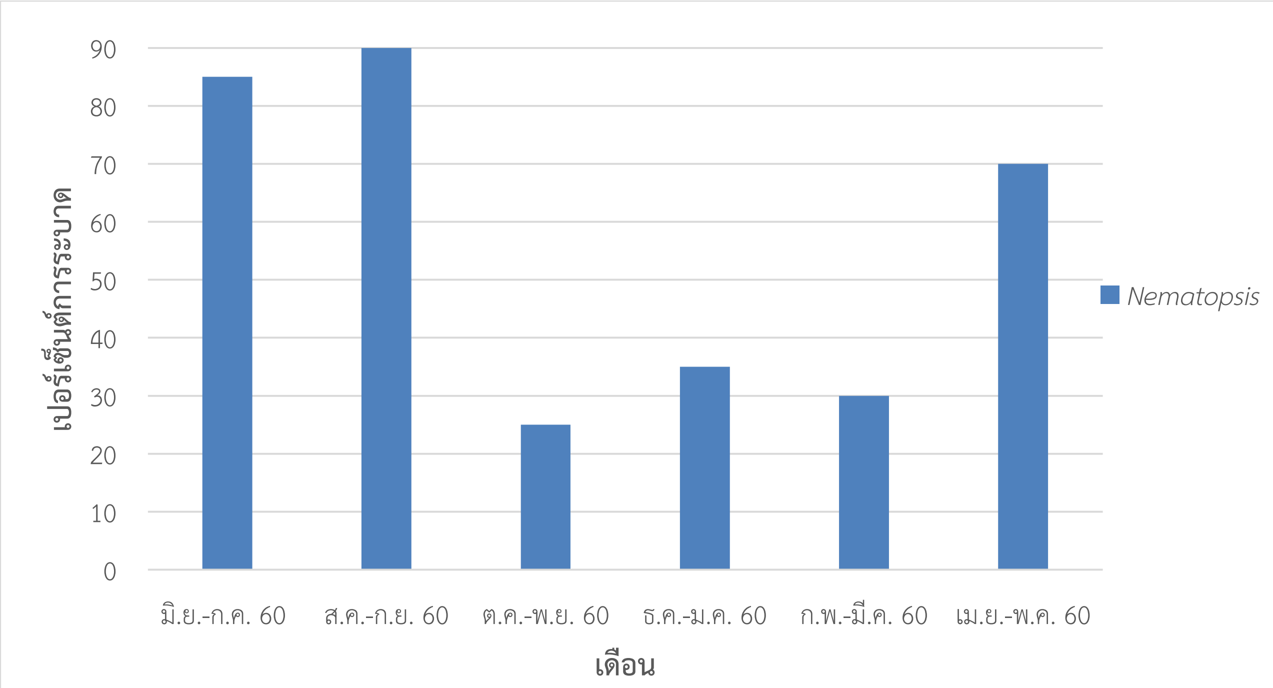
ภาพที่ 16 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งเก็บตัวอย่างท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง



ภาพที่ 17 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งเก็บตัวอย่างอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี



ภาพที่ 18 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งเก็บตัวอย่างอำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี



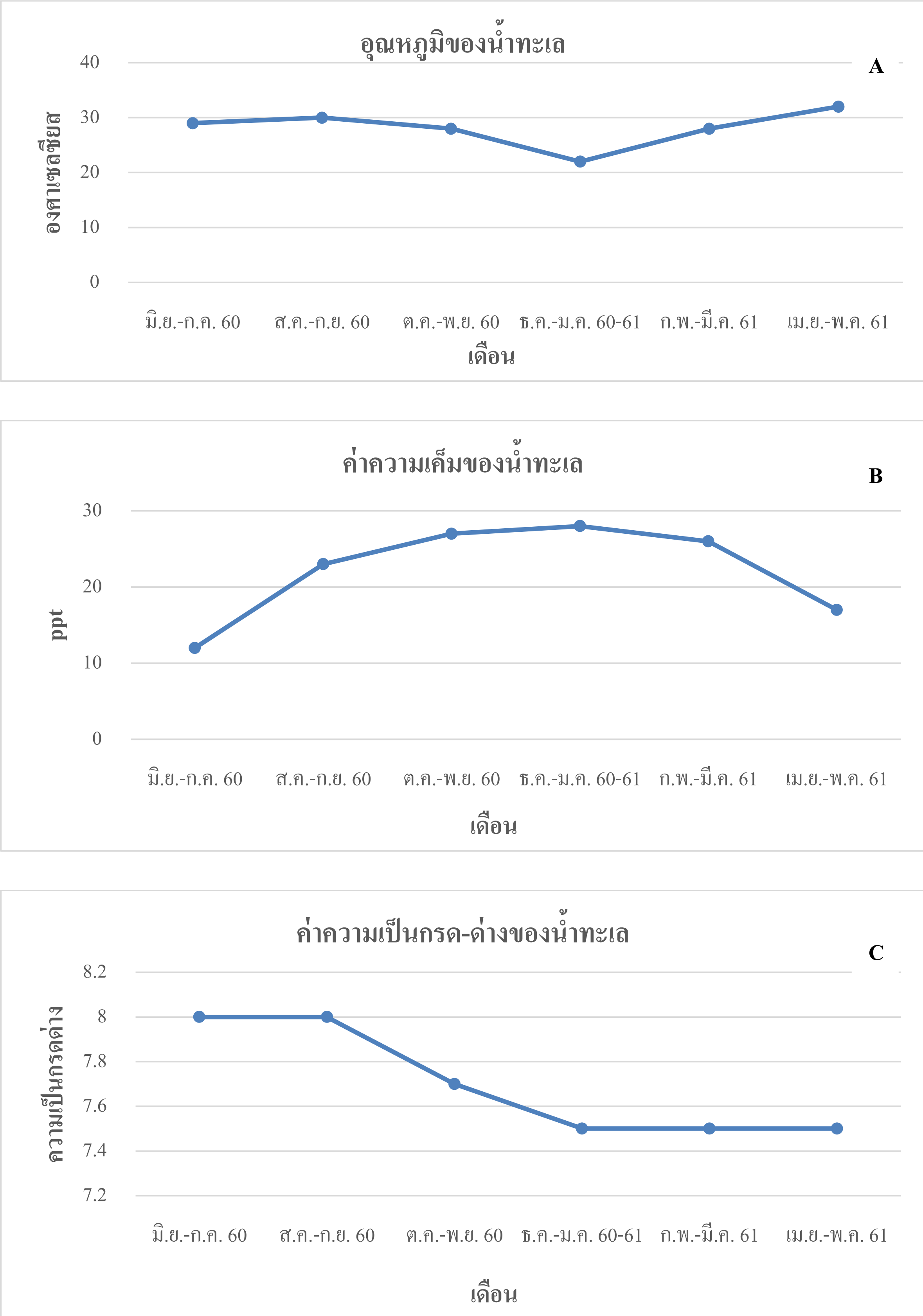
ภาพที่ 19 ค่าเปอร์เซ็นต์การระบาดของปรสิตที่พบในกุ้งกุลาดำจากแหล่งเก็บตัวอย่างท่าเรือแหลมงอบ จังหวัดตราด

การตรวจวัดคุณภาพของน้ำจากแหล่งเก็บตัวอย่าง

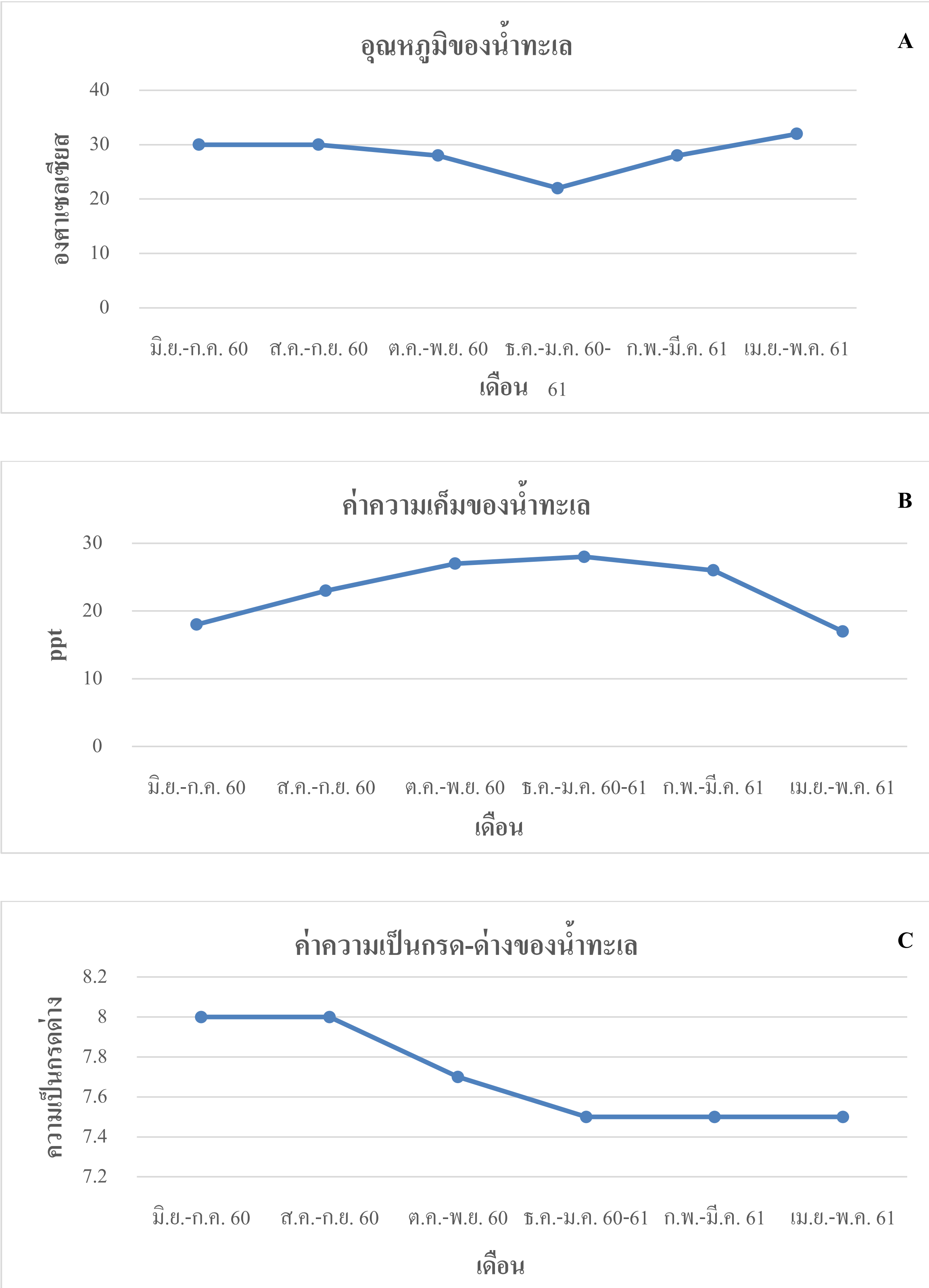
คุณภาพของน้ำทะเลในแต่ละช่วงเวลาของการทดลอง โดยวัดค่า อุณหภูมิ ความเค็ม และ ค่า pH พบว่าอุณหภูมิของน้ำบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่าง มีค่าเฉลี่ย 27.8 C° (22.0 – 32.0 C°) โดยมีค่าต่ำสุดบริเวณสะพานปลาอ่างศิลา และเกาะลอยศรีราชา จังหวัดชลบุรีในช่วงเดือน ธันวาคม 2560 ถึงเดือน มกราคม 2561 มีค่าเท่ากับ 22.0 C° และมีค่าสูงสุดบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่าง สะพานปลาอ่างศิลา และเกาะลอยศรีราชา จังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือน เมษายน ถึงเดือน พฤษภาคม 2561 มีค่าเท่ากับ 32.0 C° ค่าความเค็มมีค่าเฉลี่ย 26.5 ppt (12.0 – 31.0 ppt) โดยมีค่าต่ำสุดบริเวณสะพานปลาอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี มีค่าเท่ากับ 12.0 ppt ในช่วงเดือน มิถุนายน ถึง กรกฎาคม 2560 และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 31.0 ppt บริเวณแหล่งเก็บตัวอย่างอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึงเดือน กรกฎาคม 2560 และค่า pH มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.7 (7.5 – 8.0) โดยมีค่าใกล้เคียงกันในเกือบทุกจุดของแหล่งเก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 3) (ภาพที่ 20-26)

ตารางที่ 3 ค่าคุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่าง

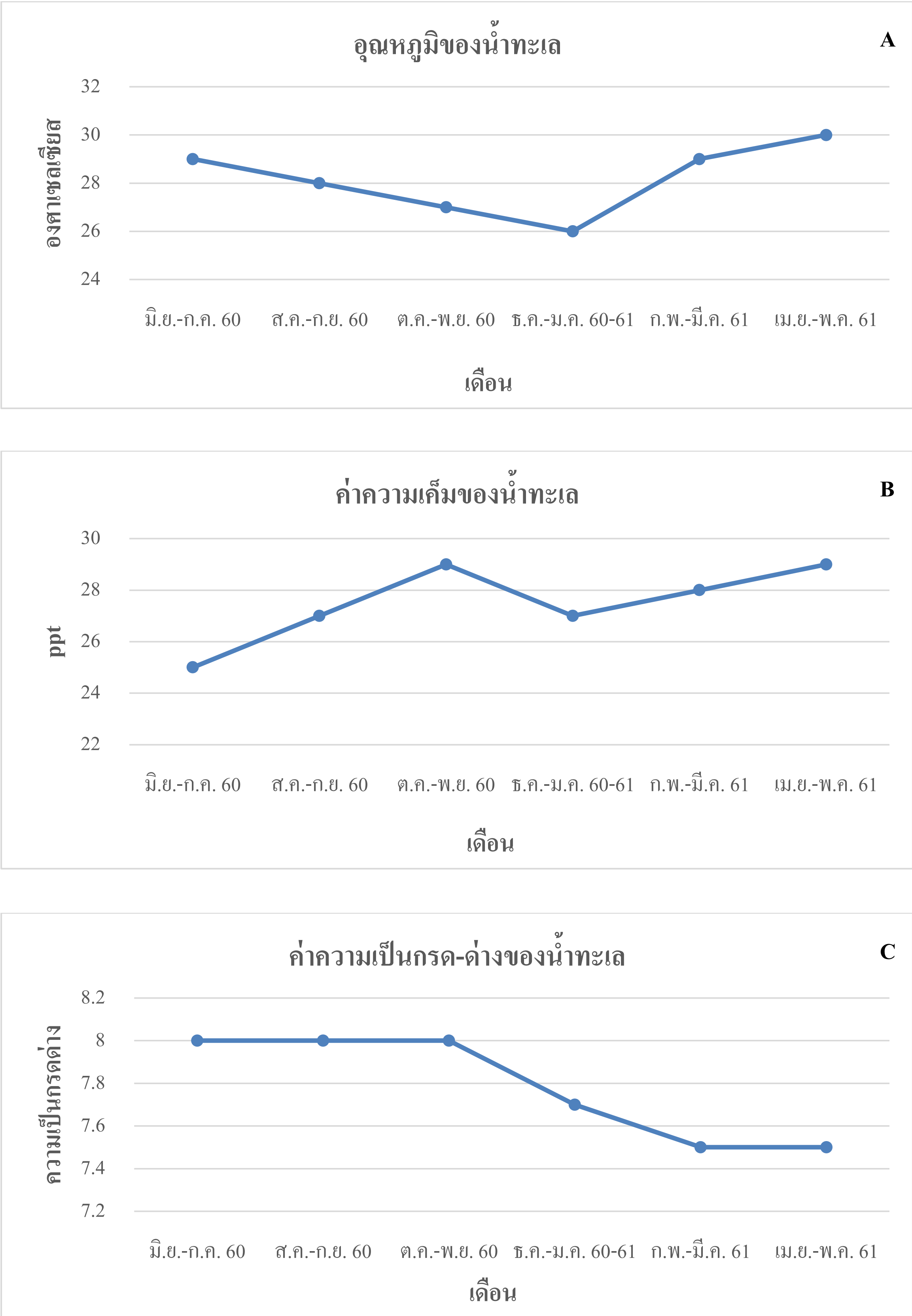
แหล่งเก็บตัวอย่าง	คุณภาพน้ำ	มิ.ย.-ก.ค. 60	ส.ค.-ก.ย. 60	ต.ค.-พ.ย. 60	ธ.ค.-ม.ค. 60-61	ก.พ.-มี.ค. 61	เม.ย.-พ.ค. 61	เฉลี่ย
ท่าเทียบเรือ อ่างศิลา ชลบุรี	Temp (C°)	29	30	28	22	28	32	28.1
	Salinity(ppt)	12	23	27	28	26	17	23.8
	pH	8	8	7.7	7.5	7.5	7.5	7.7
เกาะลอย อ่าวศรีราชา ชลบุรี	Temp (C°)	30	30	28	22	28	32	28.3
	Salinity(ppt)	18	23	27	28	26	17	23.2
	pH	8	8	7.7	7.5	7.5	7.5	7.7
ช่วงแสมสาร สัตหีบ ชลบุรี	Temp (C°)	29	28	27	26	29	30	28.2
	Salinity(ppt)	25	27	29	27	28	29	27.5
	pH	8	8	8	7.7	7.5	7.5	7.8
ท่าเทียบเรือ บ้านเพ ระยอง	Temp (C°)	29	30	28	23	26	29	27.5
	Salinity(ppt)	30	26	25	29	25	23	26.3
	pH	8	8	7.5	7.5	7.5	7.5	7.7
อ่าวคุ้งกระเบน จันทบุรี	Temp (C°)	28	28	29	27	30	29	28.5
	Salinity(ppt)	31	30	29	27	27	29	28.8
	pH	8	8	7.7	7.6	7.7	7.5	7.6
อำเภอขลุง ตราด	Temp (C°)	28	30	29	27	25	26	27.5
	Salinity(ppt)	30	28	30	28	29	26	28.5
	pH	8	8	7.7	7.6	7.5	7.5	7.7
ท่าเทียบเรือ แหลมงอบ ตราด	Temp (C°)	24	28	29	25	24	28	26.3
	Salinity(ppt)	28	26	30	28	28	26	27.7
	pH	8	8	7.5	7.5	7.5	7.5	7.7



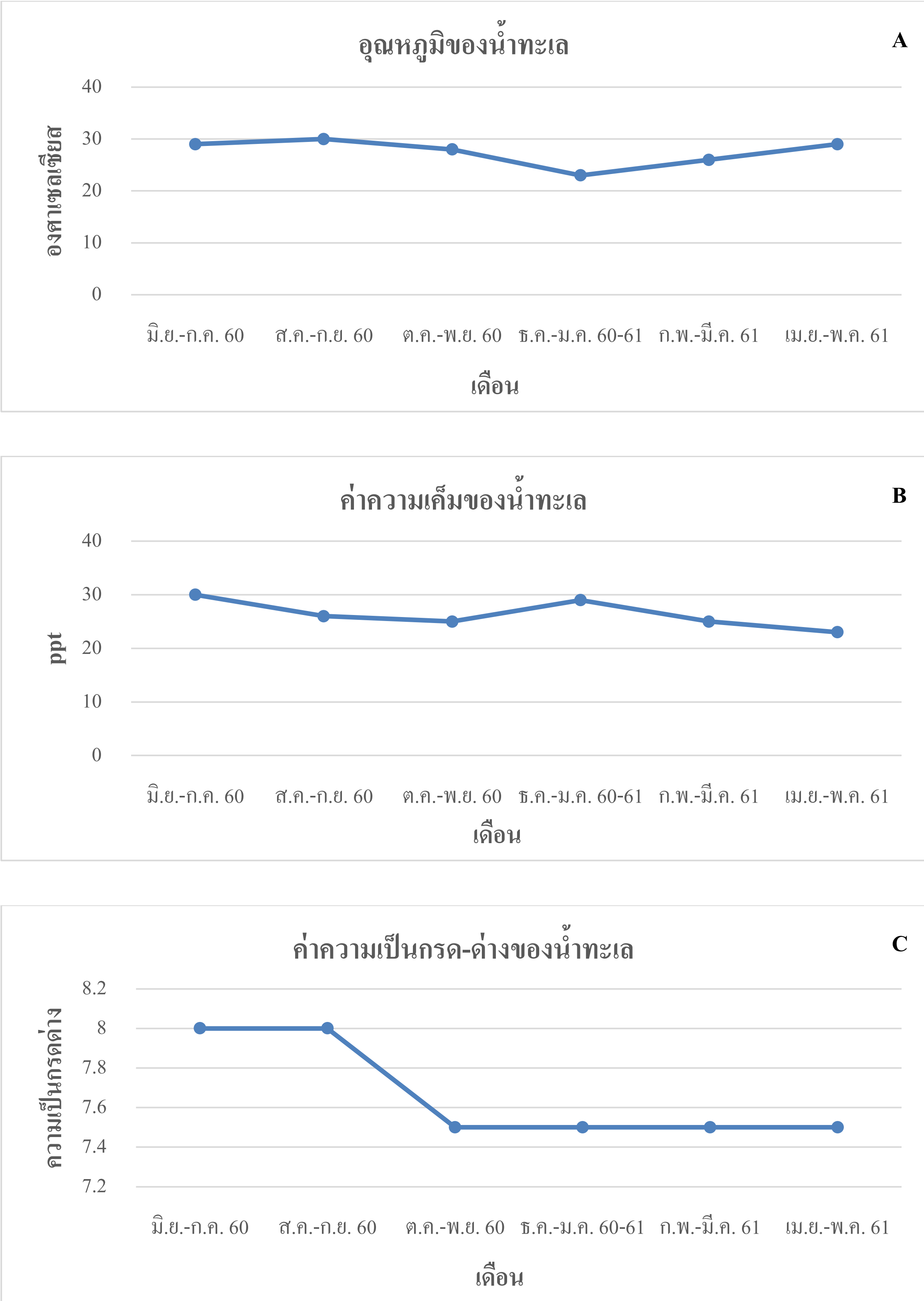
ภาพที่ 20 คุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่างท่าเทียบเรืออ่างศิลา ชลบุรี ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (A) อุณหภูมิ, (B) ค่าความเค็ม และ (C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง



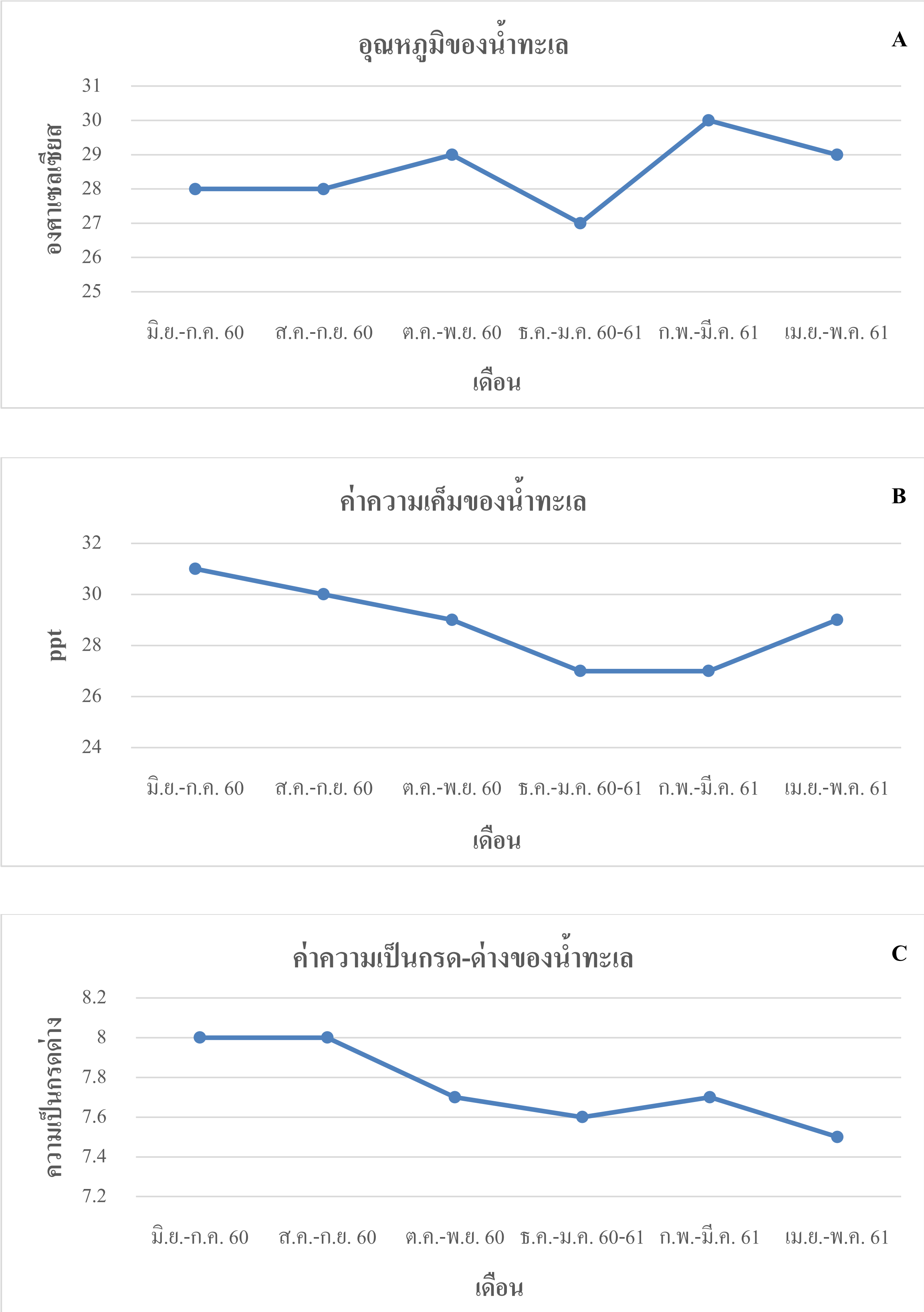
ภาพที่ 21 คุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่างเกาะลอย อ่าวศรีราชา ชลบุรี ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (A) อุณหภูมิ, (B) ค่าความเค็ม และ (C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง



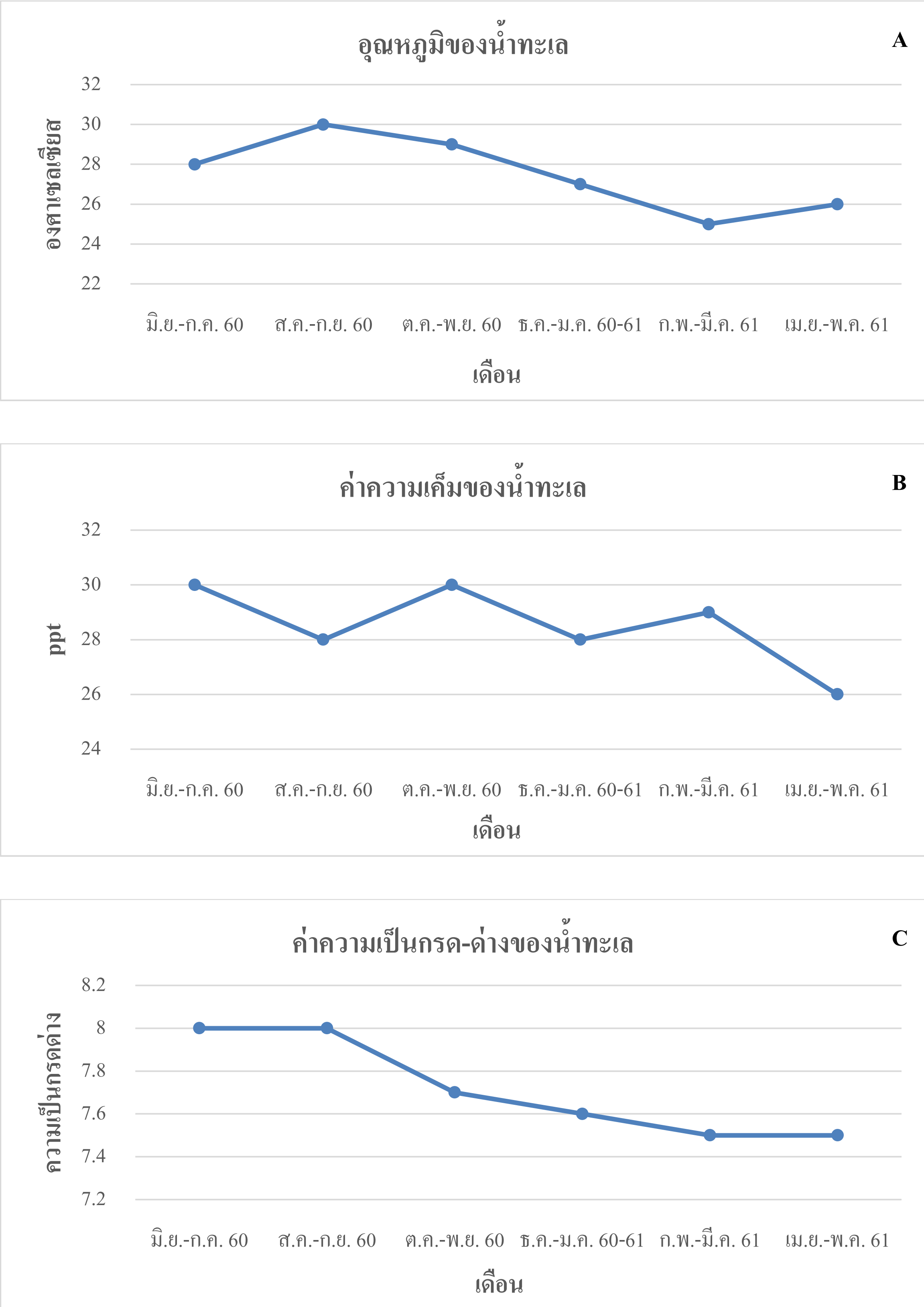
ภาพที่ 22 คุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่างช่วงแสมสาร สัตหีบ ชลบุรี ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (A) อุณหภูมิ, (B) ค่าความเค็ม และ (C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง



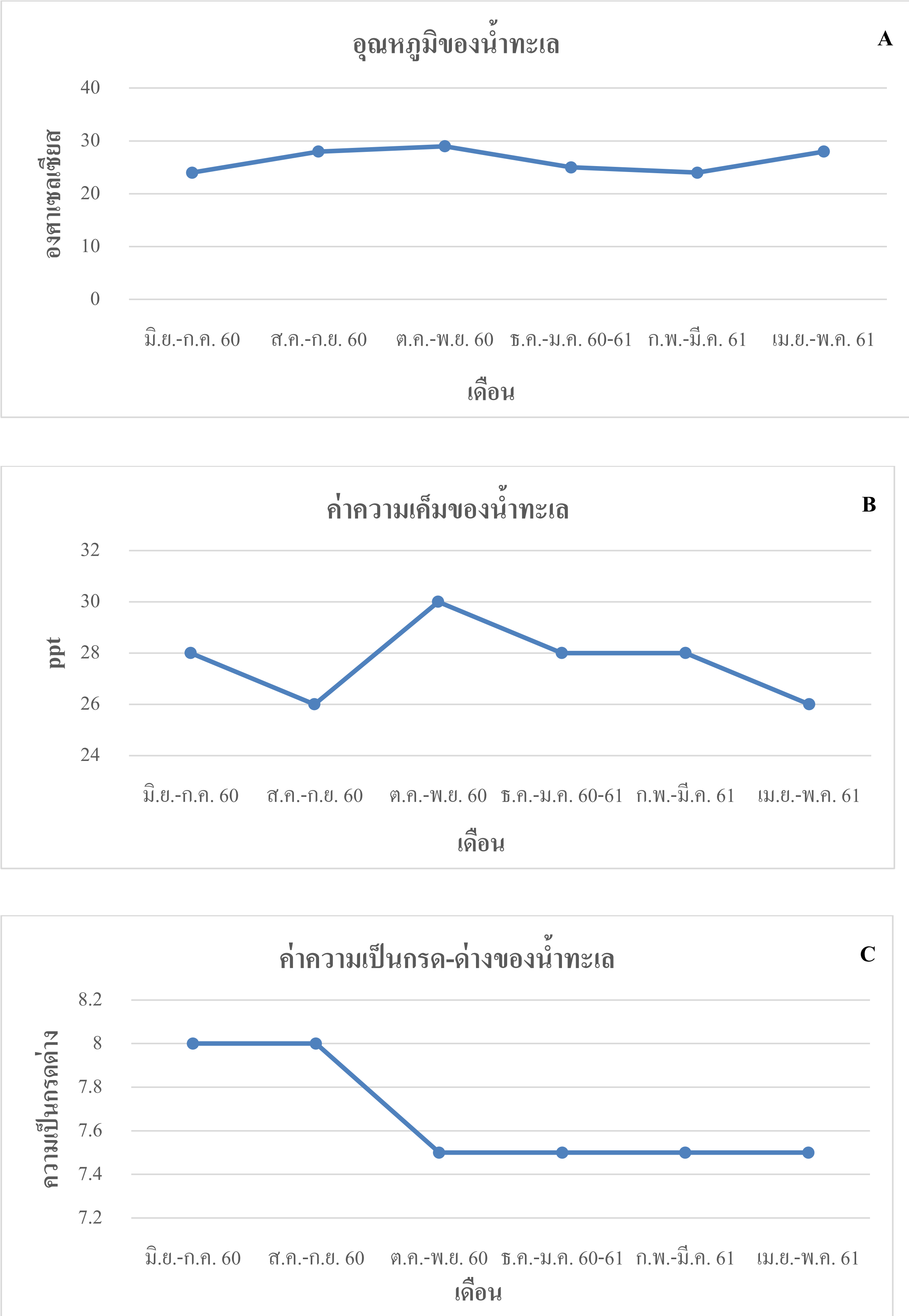
ภาพที่ 23 คุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่างท่าเทียบเรือบ้านเพ ระยอง ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (A) อุณหภูมิ, (B) ค่าความเค็ม และ (C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง



ภาพที่ 24 คุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่างอ่าวคุ้งกระเบน จันทบุรี ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (A) อุณหภูมิ, (B) ค่าความเค็ม และ (C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง



ภาพที่ 25 คุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่างอำเภอขลุง ตราด ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (A) อุณหภูมิ, (B) ค่าความเค็ม และ (C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง

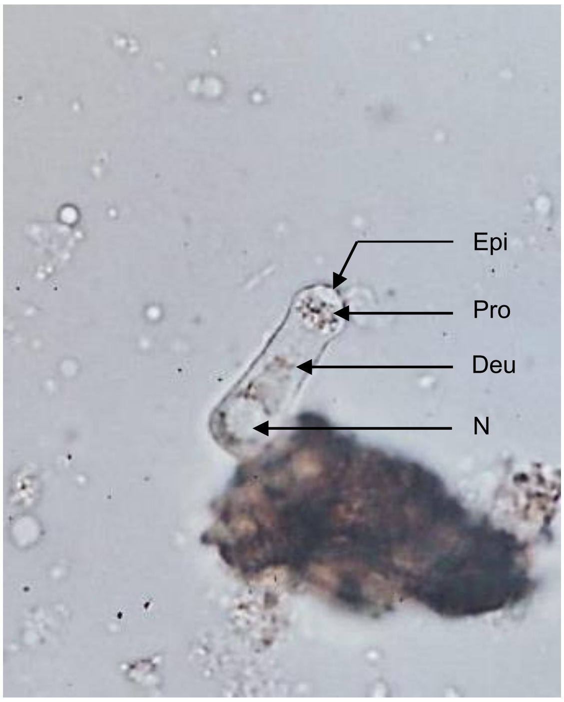


ภาพที่ 26 คุณภาพน้ำทะเลบริเวณแหล่งเก็บตัวอย่างท่าเทียบเรือแหลมงอบ ตราด ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา (A) อุณหภูมิ, (B) ค่าความเค็ม และ (C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง

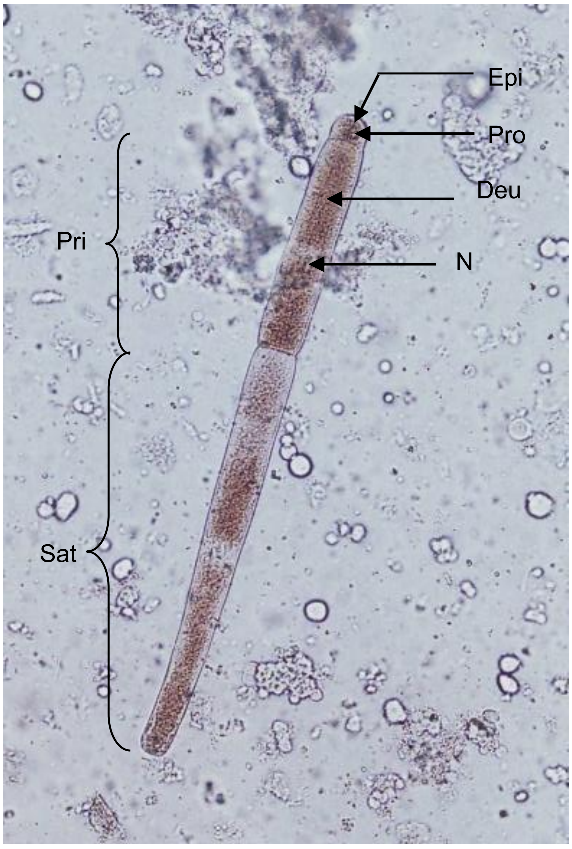
สัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งเศรษฐกิจ

1. โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis*

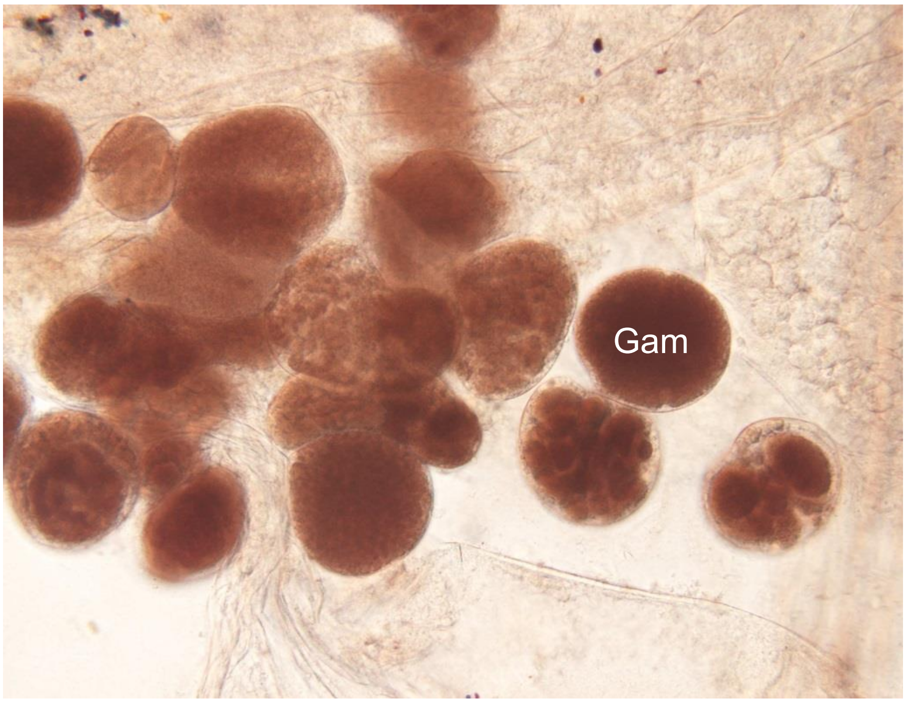
จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า *Nematopsis* ในระยะ trophozoite หรือระยะ Gamont (ภาพที่ 27) มีลักษณะเป็นทรงกระบอกมีขนาดความกว้าง 20-38 µm มีขนาดความยาว 45-760 µm โดยจะมีส่วนหัวที่เรียกว่าส่วน protomerite (Pro) ซึ่งจะมีลักษณะกลมหรือรี และมีส่วน epimerite (Epi) ยื่นออกมาทางด้านหน้าของส่วนหัว ส่วนลำตัวคือ ส่วน deutomerite (Deu) จะมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก และมีนิวเคลียส 1 อัน รูปร่างกลมหรือรี นอกจากนี้อาจมีการเชื่อมต่อกันของ trophozoites ตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไปเรียกระยะนี้ว่า Association (ภาพที่ 28) (บางครั้งเรียกว่าระยะ syzygy) ส่วนบนเรียกว่า primite (Pri) ส่วนนี้ประกอบด้วยส่วนหัวคือ protomerite อาจมีหรือไม่มี epimerite ก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของ *Nematopsis* ส่วนลำตัวคือ deutomerite มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกมีนิวเคลียส 1 อัน ส่วนที่ 2 คือ ส่วน satellite (Sat) มีลักษณะเป็นทรงกระบอก มาเชื่อมต่อกัน ส่วนมากมักไม่พบ protomerite และ epimerite มีนิวเคลียส 1 อัน อยู่ค่อนไปทางด้านท้ายของลำตัว นอกจากนี้ยังพบ *Nematopsis* ระยะ gametocyst (ภาพที่ 29) ซึ่งระยะนี้เกิดจากการหลอมรวมกันของ syzygy ขดเป็นวงกลมแล้วมีการสร้างผนังหุ้มล้อมรอบตัวเอง ระยะ gametocyst จะมีสีดำหรือสีน้ำตาล ภายในมี gymnospores บรรจุอยู่ภายในจำนวนมาก



ภาพที่ 27 โปรตัวซัวปรสิต *Nematopsis* ระยะ trophozoite โดยปลายส่วนหัวพบ Epimerite (Epi) มีลักษณะกลม-รีขนาดเล็ก ส่วน Protomerite (Pro) กลม และส่วนของ Deutomerite เป็นทรงกระบอก บรรจุ Nucleus (N) อยู่ภายใน 1 อัน



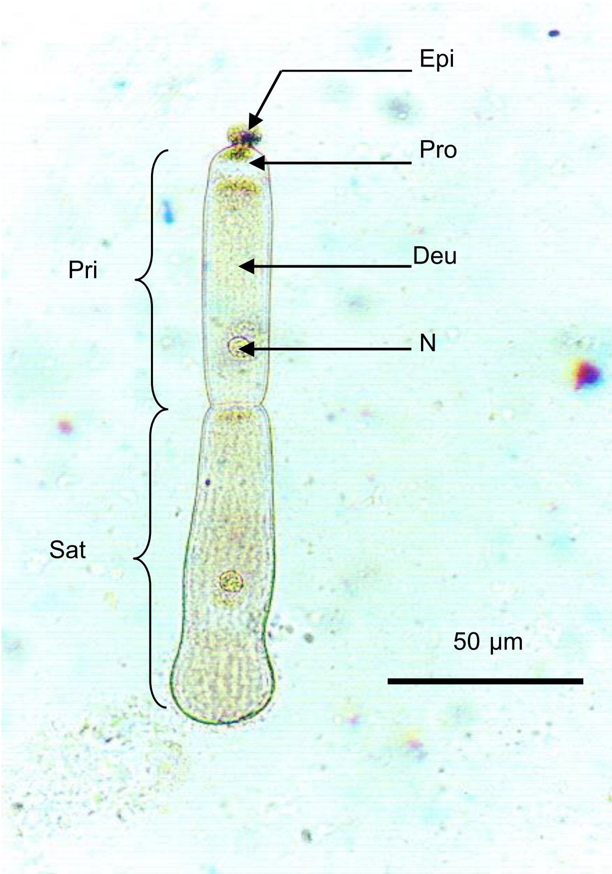
ภาพที่ 28 โปรตัวซัวปรสิต *Nematopsis* ระยะ Association หรือ syzygy ประกอบด้วย trophozoite สองตัวมาต่อกัน ส่วนแรกเรียก Primite (Pri) ส่วนที่สองเรียก Satellite (Sat)



ภาพที่ 29 โปรตัวซัวปรสิต *Nematopsis* ระยะ Gametocyst (Gam) เกิดจากการหลอมตัวของ *Nematopsis* ระยะ Association โดยมีการสร้างผนังหุ้มตัวเอง

2. โปรโตซัวปรสิต *Cephalolobus*

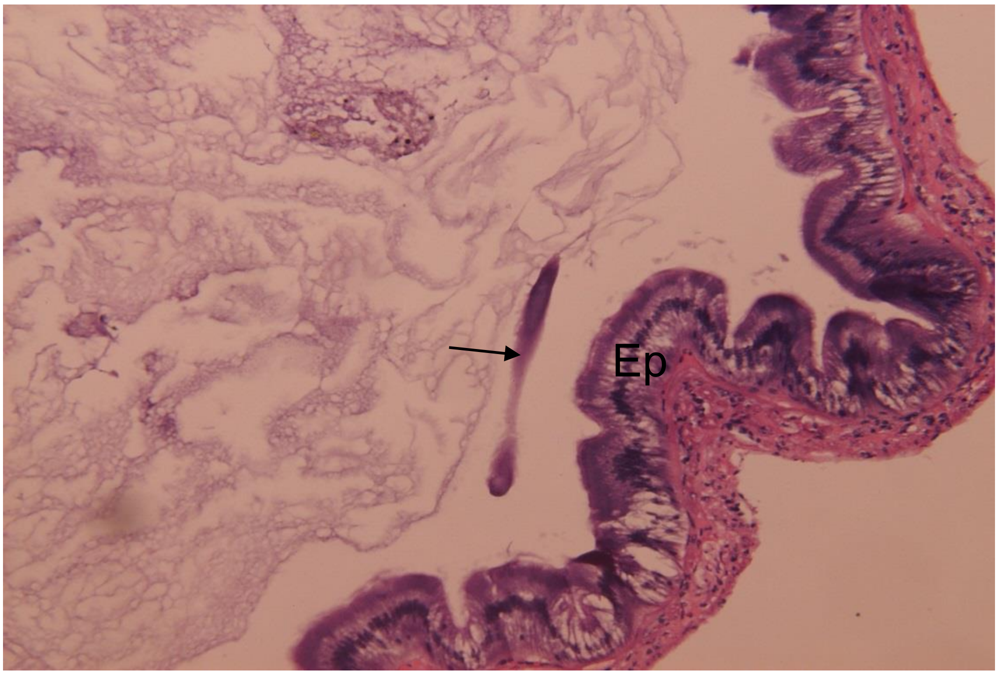
จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีการระบาดของโปรโตซัวปรสิตในสกุล *Cephalolobus* (ภาพที่ 30) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ *Nematopsis* มาก แต่ต่างกันบริเวณส่วนของ Epimerite ของ *Cephalolobus* จะมีการพัฒนาไปเป็น Holdfast สำหรับยึดเกาะผนังทางเดินอาหารของ host โดยพบว่ามีการระบาดในกุ้งทั้งสองชนิด



ภาพที่ 30 โปรโตซัวปรสิตในสกุล *Cephalolobus* ลำตัวประกอบด้วยส่วนของ Primite (Pri) และส่วนของ Satellite (Sat) ด้านหน้าสุดเป็นส่วน Epimerite (Epi) บานออกเป็นร่ม Protomerite (Pro) กลม-รี Deutomerite (Deu) เป็นรูปทรงกระบอกบรรจุ Nucleus (N) 1 อัน

การศึกษาพยาธิสภาพลำไส้ของกุ้งที่มีการระบาดของ *Nematopsis*

การศึกษาลักษณะพยาธิสภาพภายในลำไส้กุ้งที่มีการระบาดของ *Nematopsis* โดยการตัดลำไส้กุ้งกุลาดำ ที่พบว่ามีการติดเชื้อ *Nematopsis* มาทำการรักษาสภาพตามกระบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยา แล้วนำไปย้อมสี Hematoxylin & Eosin พบว่า *Nematopsis* อยู่อย่างอิสระภายในลำไส้ของกุ้งไม่ได้ยึดเกาะกับผนังลำไส้ และพบว่าเนื้อเยื่อบริเวณผนังลำไส้กุ้งไม่ได้ถูกทำลาย (ภาพที่ 31)

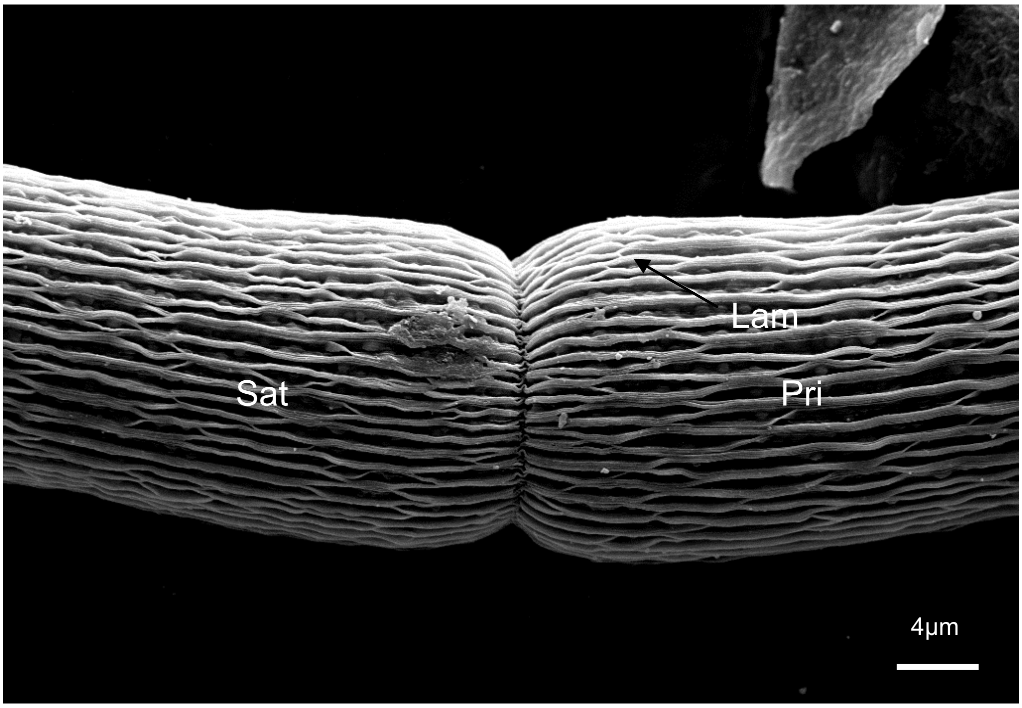


ภาพที่ 31 Cross section ทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำแสดงส่วนของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ระยะ Association ที่ระบาดในทางเดินอาหาร Ep= Epithelium cell

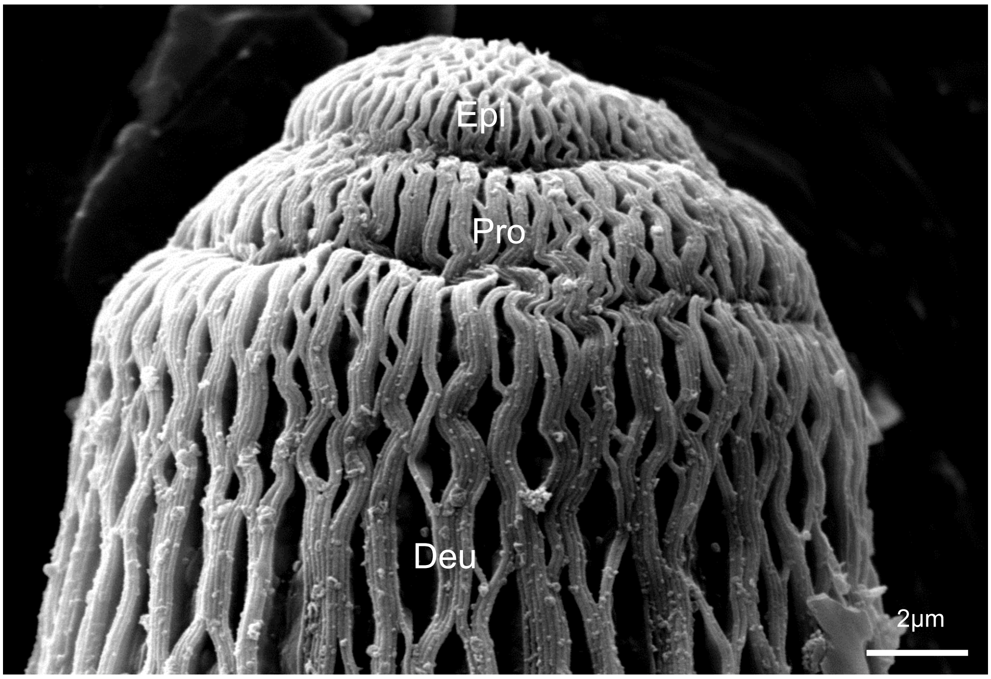
การศึกษาสัณฐานวิทยาของ *Nematopsis* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM)

จากการนำ *Nematopsis* ในระยะ syzygy มาศึกษาด้วยกล้อง SEM พบว่าลำตัวประกอบด้วยส่วน Primite และ Satellite (ภาพที่ 32) พื้นผิวของ *Nematopsis* มีลักษณะเป็น lamella ตั้งแต่ปลายสุดจาก Primite ไปจนถึงปลายสุดของ Satellite แต่ละ lamella ไม่ได้หลอมรวมกัน และพบว่าลักษณะของ lamella บริเวณรอยต่อระหว่าง Primite และ Satellite มีการคอดตัวลงเห็นเป็นรอยต่ออย่างชัดเจน ส่วนของ lamella มีทั้งที่เชื่อมต่อเป็นแนวเดียวกันและไม่เชื่อมต่อกัน (ภาพที่ 33) บริเวณส่วนหัวประกอบด้วย Epimerite อยู่ปลายสุด มีขนาดเล็กลักษณะเป็นครึ่งวงกลม ถัดมาเป็นส่วน Protomerite ลักษณะครึ่งวงกลมเหมือนกันแตมีขนาดใหญ่ เป็นฐานของ Epimerite ถัดเข้ามาเป็นส่วน Deutomerite (ภาพที่ 34) มีลักษณะเป็นทรงกระบอกยาวเกือบครึ่งของความยาวลำตัวทั้งหมด ซึ้งทั้งรวมกันเรียกเป็นส่วนของ Primite และปลายจะมีลักษณะคอดลง เป็นส่วนที่ gamont อีกตัวหนึ่งเข้ามาเชื่อมต่อโดยการหลอมส่วนหัวเข้าไปในส่วนของ Deutomerite ตัวแรก ส่วนที่มาต่อเรียกว่า Satellite ซึ่งปลายหางจะมีลักษณะเรียวเล็กลงเล็กน้อย ผนังลำตัวบริเวณผิวเป็นส่วนของ lamella ทั้งหมด (ภาพที่ 35)

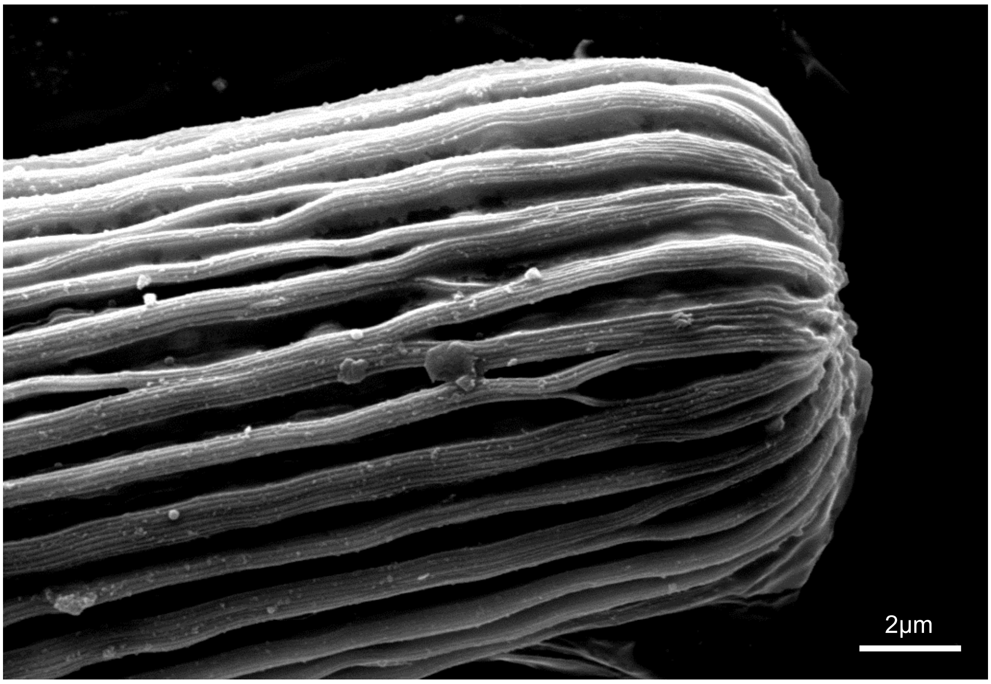
ภาพที่ 32 โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ที่พบในกุ้งกุลาดำ ลำตัวทรงกระบอก ส่วนแรก Primite (Pri) และส่วนที่มาต่อ Satellite (Sat)



ภาพที่ 33 โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ภาพบริเวณที่ 2 ตัวมาต่อกันส่วนแรก Primite (Pri) และส่วนที่มาต่อ Satellite (Sat) ผิวเซลล์ประกอบด้วย Cytoplasmic lamella (Lam)



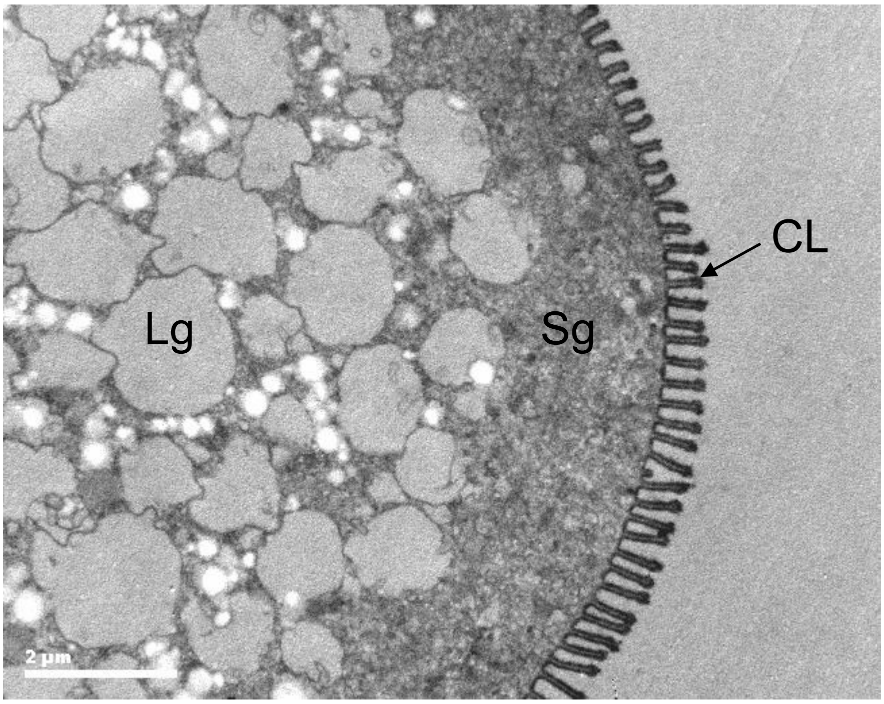
ภาพที่ 34 โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ภาพบริเวณส่วนหัวแสดงส่วนปลายสุด Epimerite (Epi) ส่วน Protomerite (Pro) และส่วนลำตัว Deutomerite (Deu)



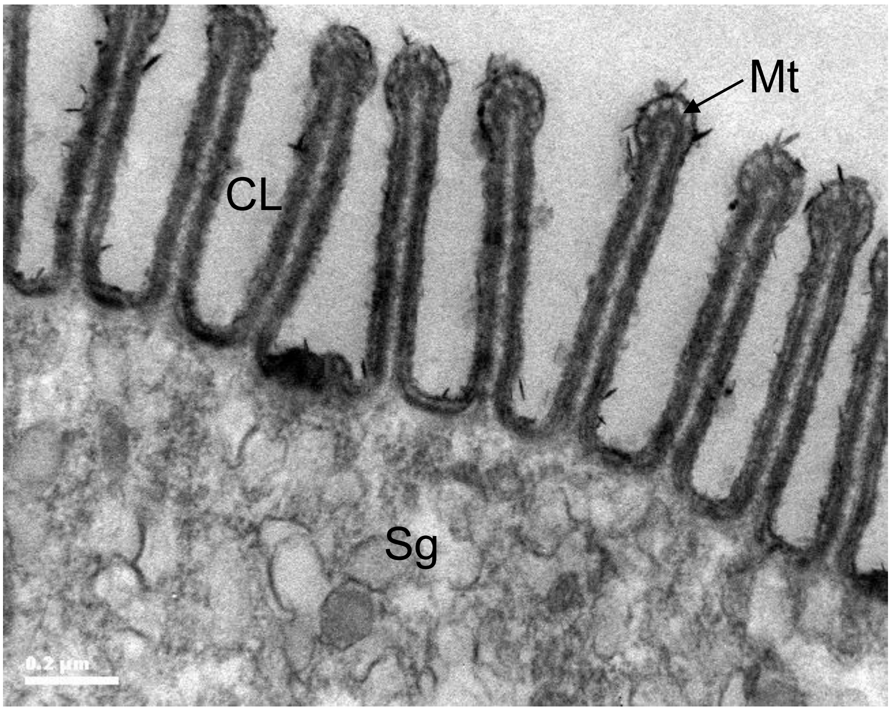
ภาพที่ 35 โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* แสดงส่วนปลายสุดของลำตัว

การศึกษาสัณฐานวิทยาของ *Nematopsis* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (TEM)

การศึกษาโครงสร้างของ *Nematopsis* โดยการตัด semithin section และย้อมสีด้วย 1% methylene blue ในน้ำ แล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และการตัด thin section แล้วย้อมสีด้วย uranyl acetate และ lead citrate จากนั้นนำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน พบว่าบริเวณ protomerite และ deutomerite เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบว่าบริเวณ protomerite ติดสีจางกว่าบริเวณ deutomerite และบริเวณใกล้กับผนังเซลล์จะติดสีจางกว่าบริเวณกลางเซลล์ ซึ่งบริเวณผนังลำตัวทั้งหมดมีลักษณะเป็นแผ่น lamella ปกคลุมทั้งหมด ภายใน protomerite และ deutomerite ประกอบด้วย granule ซึ่งมีทั้ง granule ขนาดใหญ่ (Large granule) และ ขนาดเล็ก (Small granule) (ภาพที่ 36) โครงสร้างที่มีลักษณะเป็น lamella ประกอบด้วย membrane 3 ชั้นและที่ส่วนปลายภายในเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดพบโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นท่อขนาดเล็ก (Microtubule) 6-8 อัน นอกจากนี้บริเวณใกล้ฐานของ lamella พบโครงสร้างขนาดเล็กๆ Small granule กระจายอยู่เป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 37)



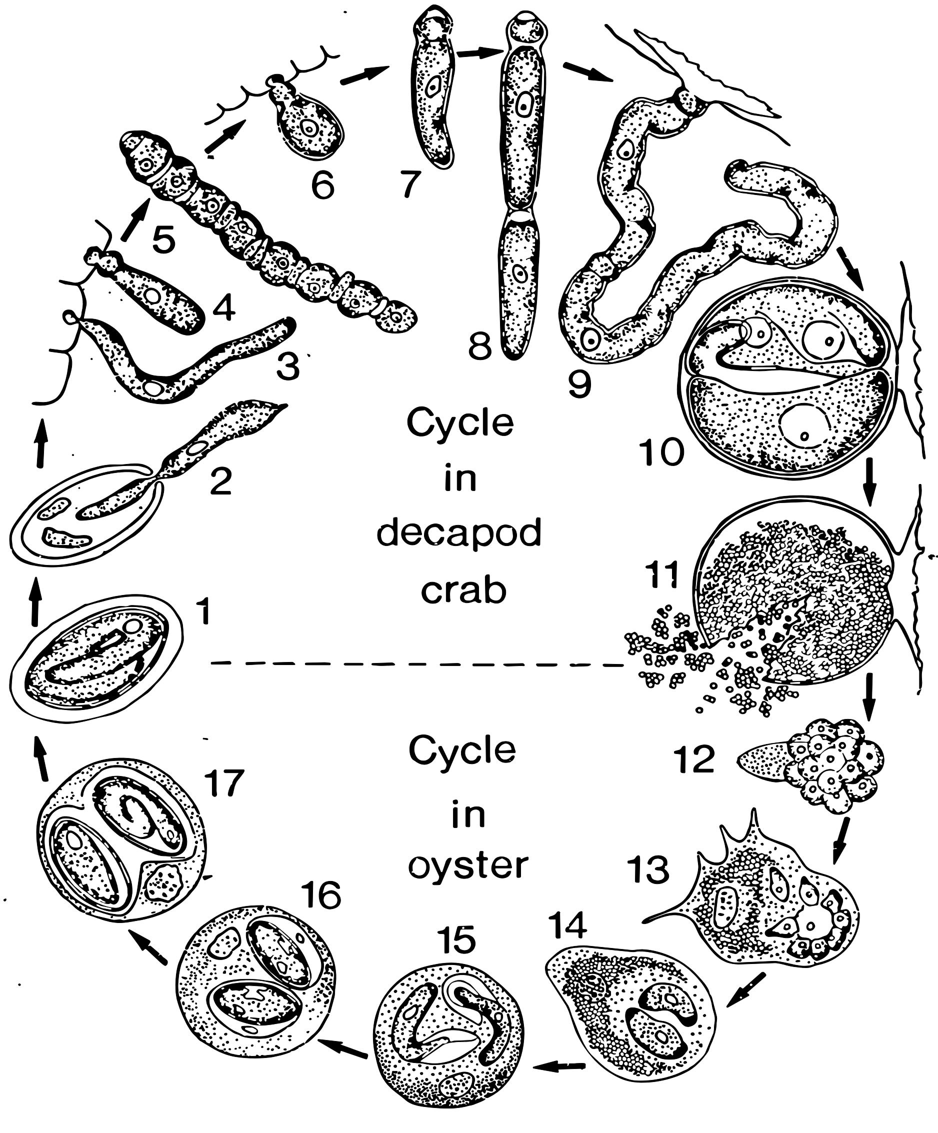
ภาพที่ 36 Cross section โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ระยะ Association ผนังลำตัวประกอบด้วยแผ่น Cytoplasmic Lamella (CL) เป็นจำนวนมาก ภายในเซลล์ประกอบด้วย Large granule (Lg) และ Small granule (Sg)



ภาพที่ 37 ลักษณะผนังลำตัวประกอบด้วยแผ่น Cytoplasmic Lamella (CL) เป็นจำนวนมากบริเวณส่วนปลาย lamella พบ Microtubule (Mt) 6-8 อัน บริเวณฐาน Cytoplasmic Lamella ประกอบด้วย Small granule (Sg) กระจายอยู่เป็นจำนวนมาก

4. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* พบครั้งแรกในปี ค.ศ.1892 ในหอย Clam (*Solen vagina*) ประเทศฝรั่งเศส (Sprague, 1970) โดย *Nematopsis* ระบาดในสัตว์น้ำเศรษฐกิจ จำพวกกุ้ง ปู และหอยสองฝา ทำให้สัตว์เหล่านี้โตช้าและเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคแทรกได้ง่าย วงจรชีวิตมีกุ้งหรือปูเป็น definitive host และหอยเป็น intermediate host จากรายงานการศึกษาพบว่าปรสิตชนิดนี้มีการระบาดทั่วโลก มีรายงานการศึกษาวงชีวิตของ *Nematopsis* โดย Lee *et al*. 1985 (ภาพที่ 38)



ภาพที่ 38 วงชีวิตของ *Nematopsis* , 1: Sporocyst ที่มีตัว อ่อนอยู่ภายใน, 2: Sporozoite เริ่มออกจาก Sporocyst 3-7: ตัวอ่อนระยะ gamont, 8-9: ระยะที่มีการสืบพันธุ์ แบบ syzygy, 10 : ระยะ gametocyst, 11 : ระยะ gametocyst ปล่อย oocyst, 12 : ระยะ gymnospore เดี่ยว,13 : ระยะ gymnospore เจริญเป็น sporozoite, 14-17 sporogon

การศึกษาค่าการระบาดของปรสิตในกุ้งทะเลเศรษฐกิจ

การสำรวจปรสิตในทางเดินอาหารของกุ้งทะเลเศรษฐกิจในครั้งนี้พบการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ และ กุ้งแชบ๊วย ที่รวบรวมตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงอ่างศิลา และสะพานปลาหาดวอนนภา หมู่บ้านประมงช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี ท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง สะพานปลาหาดจ้าวหลาว อ่าวคุ้งกระเบน อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี หมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอขลุง และ สะพานปลาแหลมงอบ อำเภอแหลมงอบ จังหวัดตราด พบว่ามีการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย โดยตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงอ่างศิลา และสะพานปลาหาดวอนนภา มีการระบาดในกุ้งกุลาดำมีค่าความชุกเท่ากับ 67.5 % และในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 75.8 % ตัวอย่างจาก อ่าวศรีราชามีการระบาดในกุ้งกุลาดำมีค่าความชุกเท่ากับ 65.8 % และในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 63.3 % ตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงช่องแสมสาร ในกุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 70.0 % กุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 60.8% ตัวอย่างจากท่าเทียบเรือประมงบ้านเพ จังหวัดระยอง ในกุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 51.7% กุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 55.0% ตัวอย่างจากอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี มีการระบาดในกุ้งแชบ๊วย มีค่าความชุกเท่ากับ 56.7% ตัวอย่างจากอำเภอขลุงค่าความชุกเท่ากับ 52.5% และมีการระบาดในกุ้งกุลาดำจากท่าเทียบเรือแหลมงอบ จังหวัดตราด มีค่าความชุกเท่ากับ 55.8% และพบการระบาดของโปรโตซัวปรสิตในสกุล *Cephalolobus* ทั้งในกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย โดยพบในท้องที่ของจังหวัดชลบุรี จากทั้ง 3 แหล่งคือ ท่าเทียบเรืออ่างศิลาและท่าเทียบเรือหาดวอนนภาโดยมีค่าความชุกเฉลี่ยเท่ากับ 15.0% ในกุ้งกุลาดำ และ 10.8% ในกุ้งแชบ๊วย มีการระบาดเฉลี่ยในกุ้งกุลาดำจากอ่าวศรีราชา 14.2% และกุ้งแชบ๊วย 10.8% และยังมีการระบาดในกุ้งกุลาดำจากแหล่งหมู่บ้านประมง ช่องแสมสารมีค่าความชุกเฉลี่ยเท่ากับ 8.3% ซึ่งการพบการระบาดของโปรโตซัวปรสิตสกุล *Cephalolobus* เท่าที่สำรวจในวารสารวิชาการต่างๆ ยังไม่พบการรายงานการพบในประเทศไทยมาก่อน

เมื่อจำแนกการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* กุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยเป็นรายเดือนในรอบ 1 ปี พบว่าแนวโน้มการระบาดจะมีค่ามากที่สุดราวเดือนมิถุนายนถึงเดือนสิงหาคมโดยมีหลายจุดเก็บตัวอย่างที่มีค่าความชุกถึง 100% เช่นที่หาดวอนนภา และอ่างศิลา อ่าวศรีราชา ช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี และ ท่าเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง หลังจากเดือนสิงหาคม ค่าความชุกของการระบาดก็จะลดลงและต่ำสุดจะอยู่ราวเดือน ธันวาคมถึงเดือนมกราคมโดยมีค่าต่ำสุด ณ จุดเก็บตัวอย่างอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี โดยพบการระบาดในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 10% และหลังจากนั้นมีแนวโน้มของค่าความชุกของการระบาดที่ค่อยๆ สูงขึ้นเหมือนกับการรายงานของ ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรัญญาศุภพรโกมล (2545) ที่ศึกษาในกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merquiensis*) และชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และชนัญญา เสมศรี (2548) ที่ศึกษาในกุ้งทราย *Metapenaeosis* sp. โดยพบว่าช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายนมีค่าการระบาดของ *Nematopsis* สูง เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ พบว่าค่าสัมพันธ์ระหว่างค่าความชุกของ *Nematopsis* กับอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลมีความสัมพันธ์กันเชิงบวก แสดงว่าค่าความชุกของ *Nematopsis* มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล นั่นคือเมื่ออุณหภูมิสูงค่าความชุกของ *Nematopsis* เพิ่มขึ้น และเมื่ออุณหภูมิต่ำค่าความชุกของ *Nematopsis* ลดลง โดยพบว่าช่วงอุณหภูมิ 29.0-32.0 ค่าความชุกของ *Nematopsis* มีค่าสูง และเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 29.0 ค่าความชุกของ *Nematopsis* ต่ำซึ่งเหมือนกับการรายงานของ Chakraborti and Bandyapadhyay (2011) พบว่าค่าการระบาดมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิโดยช่วงที่อุณหภูมิมากกว่า 30°C มีการระบาดของ gregarine สูง และเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 30°C พบการระบาดน้อย นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงอัตราการกินอาหารของกุ้งจึงลดลงทำให้มีการติดเชื้อน้อยลง (Turkmen, 2007)

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

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความชุกของ *Nematopsis* กับความเค็มของน้ำทะเลพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน นั่นคือค่าความชุกของ *Nematopsis* ไม่มีความสัมพันธ์กับความเค็มของน้ำทะเล ซึ่งต่างจากการรายงานของ Jimenez *et al*. (2002) รายงานว่าที่ระดับความเค็มของน้ำทะเลสูงพบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* มากกว่าที่ระดับความเค็มต่ำ โดยทำการศึกษาการระบาดของ *Nematopsis* ตั้งแต่ปี 1990 – 1999 และพบว่าในปี 1998 ค่าความเค็มของน้ำทะเลต่ำกว่า 10 ppt ดั้งนั้นจึงเป็นไปได้ที่ความเค็มจะมีผลต่อการระบาด ซึ่งต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ที่ช่วงความเค็มมีค่าระหว่าง 12 – 33 ppt และช่วงที่ความเค็มต่ำเป็นเพียงช่วงสั้นๆเนื่องจากก่อนการเก็บตัวอย่างน้ำมีฝนตกลงมา แต่เมื่อดูจากค่าเฉลี่ยในทุกๆเดือน ส่วนใหญ่ค่าความเค็มจะมีค่าเฉลี่ยประมาณ 26.5 ppt ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าที่ Jimenez *et al*. (2002) ได้รางงานไว้ว่า ถ้าความเค็มของน้ำทะเลต่ำกว่า 10 ppt จะไม่พบการระบาดของ *Nematopsis* เลย จึงเป็นไปได้ที่ไม่ส่งผลกระทบต่อการระบาดของ *Nematopsis* ในครั้งนี้

ในส่วนของการระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Cephalolobus* พบว่ามีการระบาดไม่มากนักโดยพบการระบาดทั้งในกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยเฉพาะในเขตจังหวัดชลบุรี โดยพบการระบาดมากที่สุดในเดือนมิถุนายน ถึงเดือนกรกฎาคม และค่าความชุกของการระบาดค่อยๆ ลดลง และไม่พบการระบาดเลยในเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนพฤษภาคม

การศึกษาสัณฐานวิทยาของ *Nematopsis*

การศึกษาสัณฐานวิทยาของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบว่ามีหลายระยะเหมือนกับรายงานของ Lee *et al*. (1985) และ Jimenez *et al*. (2002) โดยพบ *Nematopsis* ทั้ง 3 ระยะคือ trphozoite หรือ gamont, syzygy หรือ association และระยะ gametocysts ซึ่งระยะ gamont และ syzygy พบทั่วไปในลำไส้ของกุ้ง ส่วนระยะ gametocysts พบมากบริเวณตอนท้ายของลำไส้ซึ่งจะถูกขับออกมาปนกับอุจจาระของกุ้งสู่น้ำทะเลและเข้าไปเจริญในหอยสองฝาต่อไป *Nematopsis* ระยะ gamont ที่พบมีลำตัวเป็นทรงกระบอกมีลักษณะโปร่งใส ส่วนหัว (protomerite) เป็นรูปครึ่งวงกลม ส่วนของลำตัว (deutomerite) เป็นรูปทรงกระบอกมีนิวเคลียส 1 อันลักษณะทรงกลมอยู่ตรงกลางลำตัว ระยะ syzygy เป็นระยะที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของ gamont ตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไปเป็นระยะที่พบมากและมีขนาดค่อนข้างใหญ่มองเห็นชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ลำตัวมีลักษณะเป็นปล้อง 1 ปล้อง หรือมากกว่า 1 เท่าที่เห็นสูงสุด 3 ปล้อง แต่ละปล้องมี 1 นิวเคลียส 1 อัน ระยะ gametocyst เป็นระยะที่ต่อจากระยะ syzygy โดยเกิดจากการขดตัวของ syzygy เป็นก้อนกลมและมีการสร้างผนังหุ้ม ภายในประกอบด้วย gymnospores จำนวนมาก

การศึกษา *Nematopsis* ระยะ syzygy ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องกราดพบว่าพื้นผิว membrane ของ *Nematopsis* มีลักษณะเป็น cytoplasmic lamella ตั้งแต่ส่วน protomerite ไปจนถึงปลายสุดของ satellite บางตัวพบ epimerite บางตัวไม่พบส่วนของ epimerite ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับการศึกษาของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) ที่ศึกษา gregarine ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดา และพบว่ามีลักษณะเป็น lamella ตั้งแต่ส่วน protomerite ไปจนถึงปลายสุดของ satellite แต่

ต่างกันตรงที่ลำตัวบริเวณ nucleus ของ gregarine ที่ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) ศึกษามีลักษณะกว้างกว่าส่วนอื่น

การศึกษา *Nematopsis* ระยะ syzygy ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องผ่านพบส่วนของ epimerite ติดอยู่กับบริเวณ protomerite ซึ่ง 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 ขนาดใหญ่ที่ติดสีอ่อนจำนวนมากและ granule ขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไปทั้งใน protomerite, deutomerite และ satellite เหมือนกับการศึกษาของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) จากรายงานของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) บริเวณรอยต่อระหว่าง deutomerite และ satellite ซึ่งมองเห็น septum นั่นคือรอยต่อของบริเวณ protomerite ของ gamont ตัวแรก ที่มาต่อกับ gamont ตัวที่สองแบบหัวต่อหาง เมื่อมีการเชื่อมต่อกันแล้วส่วนของ protomerite จะรวมกับส่วน deutomerite ของ gamont อีกตัวจึงทำให้บางบริเวณของ septum มองไม่เห็นรอยต่อระหว่าง deutomerite และ satellite นอกจากนี้บริเวณใกล้กับผนังเซลล์พบ microfilament และลักษณะที่คล้ายกับกระบวนการ phagocytocyst และ vacuoles จำนวนมากซึ่งเป็นกระบวนการในการขนส่งสารเข้าหรือออกนอกเซลล์ นอกจากนี้ยังพบ lamella ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น ภายในชั้นนอกสุดบริเวณปลาย lamella พบโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นท่อ microtubule 6-8 อัน ซึ่ง lamella เป็นโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ของ *Nematopsis* ซึ่งลักษณะของ lamella ต่างจากการศึกษาของ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) ที่ศึกษา septate gregarine ในกุ้งกุลาดำ ตรงที่ภายในชั้นนอกสุดบริเวณปลาย lamella ของ septate gregarine ที่พบในกุ้งกุลาดำไม่พบโครงสร้างที่มีลักษณะคล้าย microtubule

การศึกษาพยาธิสภาพลำไส้ของกุ้งที่มีการระบาดของ *Nematopsis*

การศึกษาลักษณะพยาธิสภาพภายในลำไส้กุ้งกุลาดำ พบว่า *Nematopsis* อยู่อย่างอิสระภายในลำไส้ของกุ้งไม่ได้ยึดเกาะกับผนังลำไส้และไม่พบว่าผนังลำไส้ถูกทำลายซึ่งต่างจากการศึกษาของ Jimenez *et al*. (2002) และ Poulpanich and Withyachumnarnkul (2009) ซึ่งพบ *Nematopsis* ยึดเกาะอยู่กับผนังลำไส้ และการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของลำไส้กุ้งที่มีการระบาดของ *Nematopsis* พบว่าลำไส้ไม่ได้ถูกทำลาย ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากความหนาแน่นของ *Nematopsis* ที่พบมีน้อยและระยะที่พบนี้อาจเป็นช่วงระยะที่ไม่ได้ยึดเกาะกับผนังลำไส้ ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Jimenez *et al*. (2002)

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัย

1. ควรมีการศึกษาชนิดของ *Nematopsis* ที่มีการระบาดในหอยที่เคยศึกษามาก่อน และที่มีการระบาดในกุ้งว่าเป็นชนิดเดียวกันหรือไม่เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการระบุชนิดและความเชื่อมโยงในระบบนิเวศวิทยาของ *Nematopsis* ในแหล่งน้ำตามชายฝั่งภาคตะวันออกของประเทศไทย
2. งานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาค่าความชุก และสัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในสัตว์น้ำเศรษฐกิจ ใน 4 จังหวัดภาคตะวันออก ซึ่งยังไม่ครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งของประเทศไทย ที่มีการทำประมงตามชายฝั่ง ดังนั้น ถ้าเป็นไปได้ควรทำการศึกษาให้ครอบคลุมทั้งหมดทั่วประเทศ

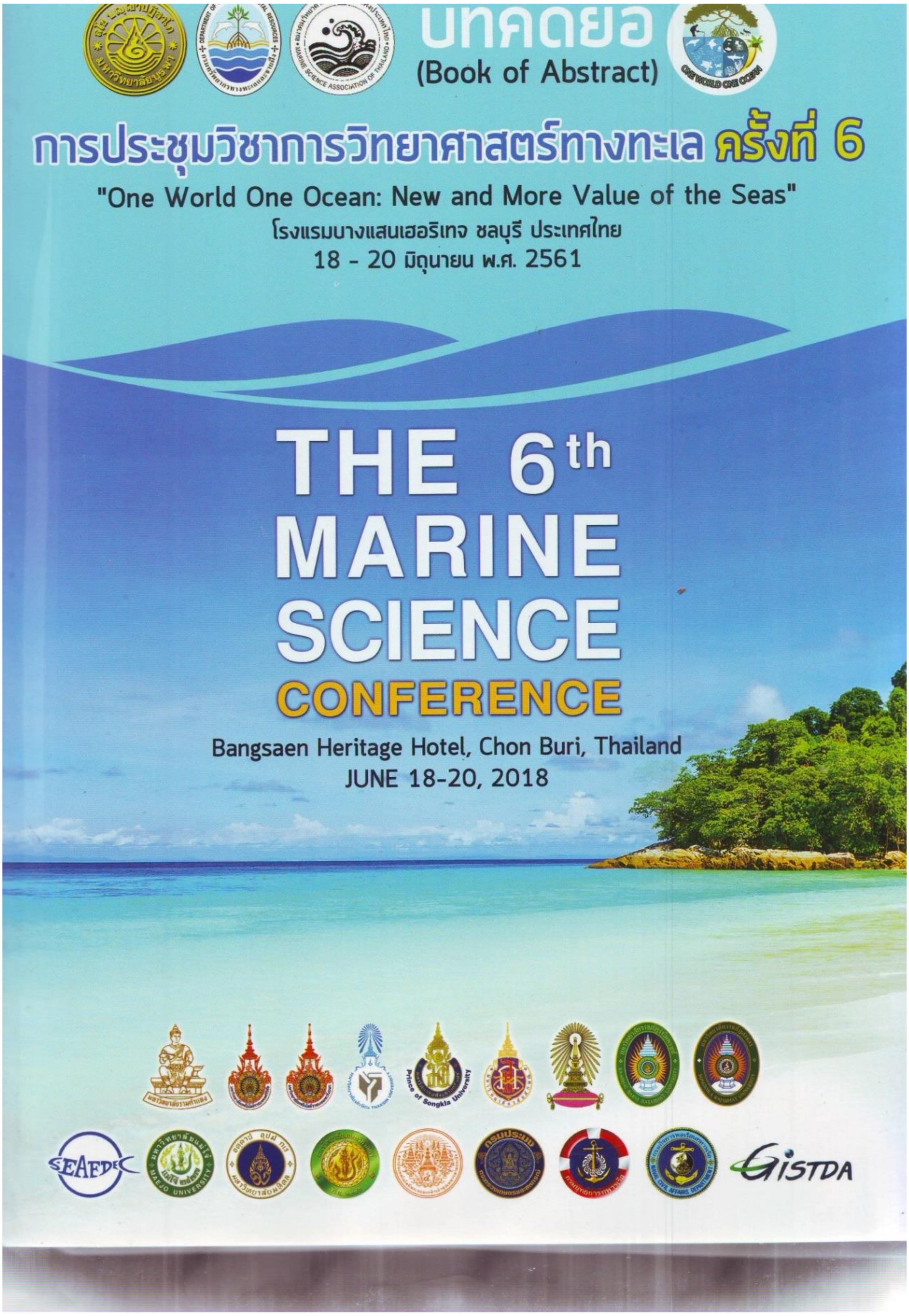
ผลผลิต(Output)

ผลิตบัณฑิต: ผลิตบัณฑิตระดับปริญญาตรี : วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) 2 คน คือ

- นางสาวธิดารัตน์ แก้วสายตา
- นางสาววงเดือน จันทร์พงษ์

ผลงานเชิงวิชาการ: ได้มีการนำเสนอผลงานทางวิชาการ ในที่ประชุมวิชาการ “การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 6 มหาวิทยาลัยบูรพา” ระหว่างวันที่ 18-20 มิถุนายน 2561 ณ โรงแรมบางแสนเฮอริเทจ บางแสน อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

ผลงานตีพิมพ์: ธิดา แก้วสายตา, สาลินี ขจรพิสิฐศักดิ์ และชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์. (2561). การสำรวจโพรโทซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merquiensis*) จากท่าเรือหาดวอนนภา บางแสน จังหวัดชลบุรี. *การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเลครั้งที่ 6 มหาวิทยาลัยบูรพา 18-20 มิถุนายน 2561* (หน้า 472-479). ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา.
(เอกสารแนบ)


บทคัดย่อ
(Book of Abstract)
การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 6
"One World One Ocean: New and More Value of the Seas"
โรงแรมบางแสนเฮอริเทจ ชลบุรี ประเทศไทย
18 - 20 มิถุนายน พ.ศ. 2561
THE 6th
MARINE
SCIENCE
CONFERENCE
Bangsaen Heritage Hotel, Chon Buri, Thailand
JUNE 18-20, 2018
SEAFDEC
GISTDA

AF007P

การสำรวจโพรโทซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) จากท่าเรือหาดวอนนภา บางแสน จังหวัดชลบุรี

Survey of parasitic protozoan genus *Nematopsis* in the intestine of banana prawn (*Penaeus merguiensis*) from Wonnapa Beach Pier, Bangsaen, Chonburi Province, Thailand

ธิดารัตน์ แก้วสายตา, สาลินี ขจรพิสิฐศักดิ์ และ ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์

Thidarat Kaewsayt, Salinee Khachonpisitsak and Chanawat Tuntiwaranuruk*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

การสำรวจโพรโทซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วย จากท่าเรือหาดวอนนภา บางแสน จังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือนกรกฎาคม 2560 ถึงเดือน มกราคม 2561 จำนวน 96 ตัว พบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* คิดเป็นร้อยละ 77.1 โดยพบว่ากุ้งแชบ๊วยเพศผู้มีการระบาดของ *Nematopsis* ร้อยละ 80.4 ใกล้เคียงกับเพศเมียที่มีการระบาดร้อยละ 74.0 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยยะสำคัญ 0.05 และจากการศึกษาช่วงระยะการเจริญของ *Nematopsis* ที่ระบาดในกุ้ง พบว่ามี 3 ระยะ คือ gamont, syzygy และ gametocyst โดยพบว่ามีการระบาดมากที่สุดในระยะ gametocyst โดยมีค่าการระบาดร้อยละ 66.7 รองลงมาได้แก่ ระยะ syzygy ร้อยละ 57.3 และ ระยะ gamont ร้อยละ 39.6

คำสำคัญ : โพรโทซัว, ปรสิต, *Nematopsis*, กุ้งแชบ๊วย, *Penaeus merguiensis*

Abstract

A survey of parasitic protozoan genus *Nematopsis* in the intestine of Banana Prawn (*Penaeus merguiensis*) from Wonnapa beach pier, Bangsaen, Chonburi Province has been conducted during July 2017 and January 2018. Out of the 96 samples examined, 74 (77.1%) were infected by *Nematopsis*. In details, the prevalence of *Nematopsis* infection found in male and female samples of *P. merguiensis* was 80.4% and 74.0%, respectively. There was also no significant difference in the prevalence of *Nematopsis* infection between male and female samples (p>0.05). From this study, a few different stages of *Nematopsis* infection in *Penaeus merguiensis* could be divided into three stages: gamont, syzygy and gametocyst. Gametocyst of *Nematopsis* was very common with the highest prevalence (66.7%), followed by syzygy (57.3%) and gamont (39.6%)

Keywords : Protozoa, Parasite, *Nematopsis*, Banana prawn, *Penaeus merguiensis*

---

*Corresponding author. E-mail : chanawat@buu.ac.th

บทนำ

กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis* de Man, 1883) เป็นกุ้งประจำถิ่นของประเทศไทย มีแหล่งอาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งจนถึงทะเลลึกในพื้นที่ที่มีลักษณะเป็นโคลนปนทราย มีรายงานการกระจายอยู่ในเขตเวสต์อินโดแปซิฟิค ตั้งแต่อ่าวเปอร์เซีย ปากีสถาน อินเดีย มาเลเซีย และไทย อยู่ได้ในความเค็มระหว่าง 10-35 พีพีที (Hall, 1962) แหล่งที่จับกุ้งแชบ๊วยมากที่สุดในประเทศไทยได้แก่บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกบริเวณ จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด

กุ้งแชบ๊วยในประเทศไทยมีการศึกษาด้าน ชีววิทยา และด้านการเพาะเลี้ยงกันมากพอสมควร แต่การศึกษาด้านโรคปรสิตมีการศึกษากันน้อย ทั้งที่ปรสิตบางชนิดเช่น โพรโทซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* ซึ่งเป็นปรสิตที่มีการระบาดในทางเดินอาหารของกุ้งทำให้กุ้งโตช้า ส่งผลให้กุ้งมีขนาดเล็ก อ่อนแอ ทำให้เกิดมีโรคอื่นแทรกได้ง่าย (Miller *et al*., 1994)

จากการตรวจสอบเอกสารพบว่า ในต่างประเทศมีการศึกษาปรสิตชนิดนี้กันบ้างแล้วแต่ยังไม่มากนัก ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการสำรวจและรายงานเกี่ยวกับการพบชนิดใหม่ เท่าที่สำรวจเอกสารมีเพียงรายงานเดียวที่รายงานเกี่ยวกับวงชีวิต โดย Lee *et. al*. (2000) รายงานการศึกษาวัฏจักรชีวิตของ *Nematopsis ostrearum* ที่ระบาดบริเวณชายฝั่ง Atlantic พบว่า โพรโทซัวปรสิตชนิดนี้มีหอยนางรม *Crassostrea virginica* เป็น intermediate host โดยมีปู *Panopeus herbsti*, *Eurypanopeus depressus*, *Eurytium limosum* และ *Neopanope texana* เป็น definitive host นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาของ Jimenez *et al*. (2002) สำรวจพบโพรโทซัวปรสิต (*Nematopsis marinus*) ซึ่งเป็น *Nematopsis* ชนิดใหม่ที่เพิ่งค้นพบในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ในประเทศ Ecuador โดยมีค่าการระบาด ตั้งแต่ 50-80% และมีค่าความรุนแรงของการติดเชื้อ (intensity of infection) ตั้งแต่ 10 ตัวจนถึงมากกว่า 5,000 ตัว ซึ่งคาดว่าโพรโทซัวปรสิตสกุลนี้สามารถทำความเสียหายให้กับอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งในประเทศต่าง ๆ รวมถึงประเทศไทยได้

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีความสำคัญมากโดยเป็นการศึกษาค่าการระบาดและการจัดจำแนกชนิดโดยศึกษาสัณฐานวิทยาของโพรโทซัวปรสิต *Nematopsis* ที่ระบาดในกุ้งแชบ๊วยจากท่าเทียบเรือหาดวอนนภา ชายฝั่งทะเลบางแสน จังหวัดชลบุรี ซึ่งเรายังมีการศึกษากันน้อยมาก ทั้งนี้ประเทศไทยก็เป็นหนึ่งในประเทศผู้ส่งออกสัตว์น้ำรายใหญ่ของโลก จึงควรที่จะต้องเน้นศึกษาปรสิตในสัตว์น้ำเศรษฐกิจให้มากขึ้นเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันและกำจัดต่อไป โดยการศึกษาจะเป็นการสำรวจการระบาดของโพรโทซัวปรสิต *Nematopsis* ในกุ้งแชบ๊วย ซึ่งเป็นกุ้งที่เราจับได้มากและยังมีการเพาะเลี้ยงกุ้งเหล่านี้เป็นสัตว์น้ำส่งออก ทำรายได้ให้ประเทศไทยเป็นจำนวนมาก โดยจะทำการเก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยที่ถูกระบาดโดยปรสิต ศึกษาค่าการระบาดของโพรโทซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* ที่ระบาดในกุ้งแชบ๊วยที่รวบรวมจากท่าเรือหาดวอนนภา บางแสน จังหวัดชลบุรี เพื่อการบ่งชี้และจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้องและเป็นฐานข้อมูลสากลของสัตว์น้ำและปรสิตของประเทศไทยต่อไปในอนาคต

วิธีการ

ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งแชบ๊วยจากบริเวณท่าเรือหาดวอนนภา บางแสน จังหวัดชลบุรี โดยทำการเก็บตัวอย่างกุ้งเดือนละ 1 ครั้ง ๆ ละ 20 ตัว ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2560 ถึงเดือนมกราคม 2561 เป็นเวลา 7 เดือน วัดขนาดพร้อมบันทึกเพศของกุ้ง ทำการผ่าตัดโดยการใช้กรรไกรตัดที่บริเวณส่วนหางของกุ้งทิ้งไป หลังจากนั้นใช้กรรไกรตัดเปลือกกุ้งบริเวณกลางหลัง ซึ่งจะเริ่มตั้งแต่ปลายด้านหางไปจนถึงปลายสุดของหัวกุ้ง แล้วจึงใช้คีมคีบดึงเอาส่วนลำไส้ออกมา

(ระวังอย่าให้ขาด) เมื่อได้ส่วนลำไส้ที่ต้องการแล้ว นำมาวางบนแผ่นสไลด์และใช้หลอดหยด หยดน้ำกลั่นประมาณ 1-2 หยด ใช้เข็มเขี่ยขยี้เนื้อเยื่อให้ละเอียดแล้วแยกเอาเศษเนื้อเยื่อชิ้นใหญ่ออก ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายต่ำก่อน เพื่อตรวจหาตำแหน่งของปรสิต หากพบแล้วให้ใช้กำลังขยายที่สูงขึ้น เพื่อดูลักษณะสัณฐานของปรสิตพร้อมกับถ่ายภาพไว้เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

ผลและอภิปราย

ผลการสำรวจโพรโทซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วยที่ได้จากท่าเทียบเรือหาดวอนนภา บางแสน จังหวัดชลบุรี จำนวน 96 ตัว ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2560 ถึงเดือนมกราคม 2561 โดยแบ่งกุ้งแชบ๊วยออกเป็นเพศผู้จำนวน 46 ตัว เพศเมียจำนวน 50 ตัว พบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* ทั้งหมด 74 ตัว คิดเป็น 77.1% โดยพบในกุ้งเพศผู้ 37 ตัว คิดเป็น 80.4% และกุ้งเพศเมีย 37 ตัว คิดเป็น 74.0% (ตารางที่ 1) จากการตรวจสอบค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยยะสำคัญ 0.05 โดยปรสิตที่พบมี 3 ระยะการเจริญ คือ ระยะ gamont, syzygy และ gametocysts โดยพบระยะ gametocysts จำนวน 66.7% ระยะ syzygy จำนวน 57.3% และ ระยะ gamont จำนวน 39.6% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ระยะเวลาเก็บตัวอย่าง และเปอร์เซ็นต์ การระบาดของ *Nematopsis* ในกุ้งเพศเมียและเพศผู้

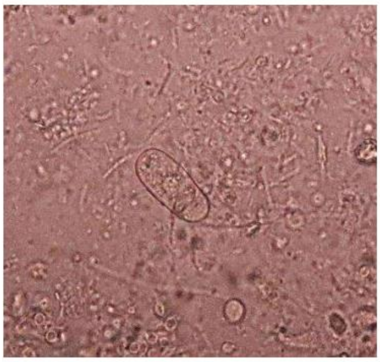
เดือน/ปี	ค่าการระบาดในกุ้งแชบ๊วย			การระบาดในกุ้งเพศเมีย			การระบาดในกุ้งเพศผู้		
	จำนวนกุ้งที่ตรวจ	พบปรสิต	ค่าการระบาด (%)	จำนวนกุ้งที่ตรวจ	พบปรสิต	ค่าการระบาด (%)	จำนวนกุ้งที่ตรวจ	พบปรสิต	ค่าการระบาด (%)
กรกฎาคม/2560	20	20	100.0	10	10	100.0	10	10	100.0
สิงหาคม/2560	20	20	100.0	10	10	100.0	10	10	100.0
พฤศจิกายน/2560	20	11	55.0	7	3	42.9	13	8	61.5
ธันวาคม/2560	20	17	85.0	10	9	90.0	10	8	80.0
มกราคม/2561	16	6	37.5	13	5	38.4	3	1	33.3
รวม	96	74	77.1	50	37	74.0	46	37	80.4

ตารางที่ 2 ค่าการระบาดของ *Nematopsis* ในกุ้งแชบ๊วยแยกตามระยะของปรสิต

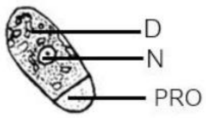
ระยะที่ทำศึกษาของ *Nematopsis*	ค่าการระบาดในกุ้งแชบ๊วย			ค่าการระบาดในกุ้งเพศเมีย			ค่าการระบาดในกุ้งเพศผู้		
	จำนวนกุ้งที่ตรวจ	พบปรสิต	ค่าการระบาด (%)	จำนวนกุ้งที่ตรวจ	พบปรสิต	ค่าการระบาด (%)	จำนวนกุ้งที่ตรวจ	พบปรสิต	ค่าการระบาด (%)
Gamont	96	38	39.6	50	19	38.0	46	19	41.3
Syzygy	96	55	57.3	50	25	50.0	46	30	65.2
Gametocyst	96	64	66.7	50	32	64.0	46	32	69.6

จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของ *Nematopsis* ที่พบในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วย พบว่ามีลักษณะรายละเอียดดังต่อไปนี้

Nematopsis ระยะ trophozoites หรือ gamont (ภาพที่ 1) ลำตัวมีรูปทรงกระบอก มีขนาดความยาว 110-160 ไมครอน ขนาดความกว้าง 33-70 ไมครอน (n=10) ผนังด้านนอกบาง ส่วนหัว (protomerite: PRO) เป็นรูปทรงกลม โปร่งใส มีขนาดความยาว 30-40 ไมครอน ขนาดความกว้าง 18-30 ไมครอนส่วนของลำตัว (deutomerite: D) เป็นรูปทรงกระบอกมีขนาดความยาว 70-140 ไมครอน ขนาดความกว้าง 50-59 ไมครอน มีนิวเคลียส (N) 1 อัน เป็นลักษณะทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์ 18-20 ไมครอน อยู่ค่อนไปทางด้านท้ายของตัว



ก

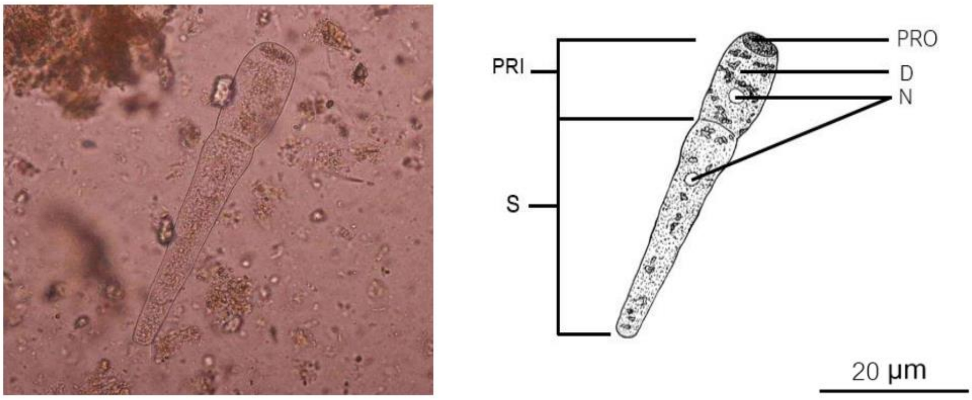


10 µm

ข

ภาพที่ 1 *Nematopsis* ในระยะ gamont ก. ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และ ข. ภาพวาด

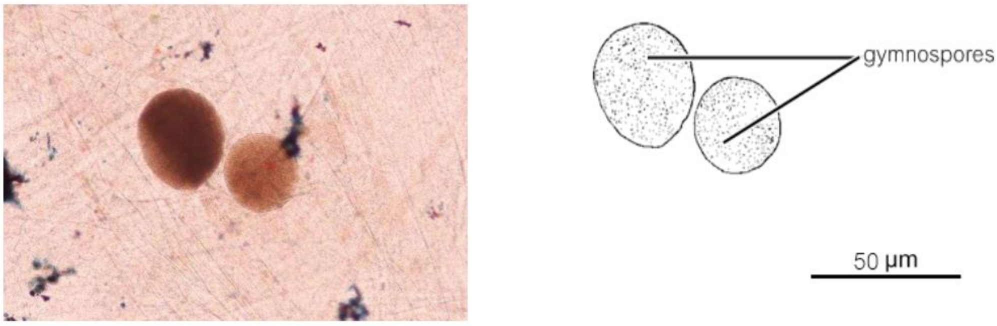
Nematopsis ระยะ Syzygy (ภาพที่ 2) ซึ่งระยะนี้เป็นระยะที่มีการมาเชื่อมต่อกันระหว่าง gamont ตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไป ลำตัวเป็นรูปทรงกระบอกมีขนาดความยาว 350-850 ไมครอน ผนังด้านนอกบาง ลำตัวแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนบนเรียกว่า Primite (PRI) ประกอบไปด้วยส่วนหัว (protomerite: PRO) เป็นรูปทรงกลมหรือรีเล็กน้อย มีสีน้ำตาลเข้มใส มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 17-30 ไมครอน ส่วนของลำตัว (deutomerite: D) เป็นรูปทรงกระบอกยาวและป่องออกทางด้านท้ายตรงรอยต่อกับ satellite มีขนาดความยาว 120-130 ไมครอน ขนาดความกว้าง 40-50 ไมครอน มีนิวเคลียส 1 อัน ลักษณะทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง16-20 ไมครอน อยู่ค่อนไปทางด้านท้ายของลำตัว Satellite (S) เป็นส่วนของ trophozoites ตัวอื่นที่มาต่อเชื่อมกันซึ่งอาจจะต่อกันมากกว่า 2 ตัวก็ได้ โดยส่วนหัว (protomerite: PRO) จะหลอมหายไป satellite มีลักษณะเป็นทรงกระบอกและเรียวเล็กลงไปในตอนท้าย มีขนาดความยาว 210-710 ไมครอน ขนาดความกว้าง 30-60 ไมครอน มีนิวเคลียส 1 อันขนาด 15-20 ไมครอน อยู่ค่อนไปทางด้านท้ายของลำตัว



ก ข

ภาพที่ 2 *Nematopsis* ในระยะ syzygy ก. ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และ ข. ภาพวาด

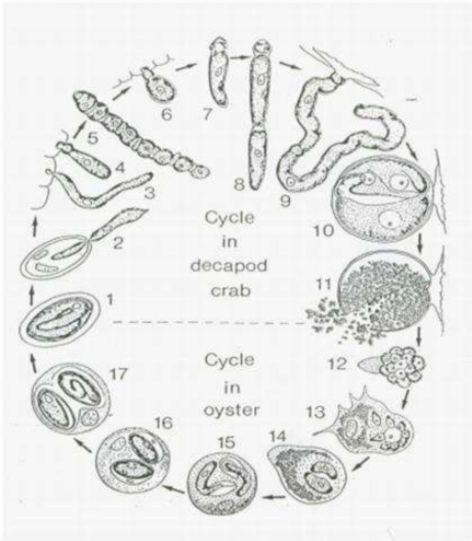
Nematopsis ระยะเข้าสู่ gametocyst (ภาพที่ 3) เป็นระยะที่มีการหลอมรวมกันของ syzygy เป็นทรงกลม แล้วมีการสร้างผนังหุ้มล้อมรอบ gametocyst จะมีสีดำหรือสีน้ำตาล ภายในมี gymnospores บรรจุอยู่เป็นจำนวนมาก โดย gametocyst จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 180-220 ไมครอน เมื่อ gametocyst แตกออก ก็จะปล่อย gymnospores ออกสู่ภายนอก



ก ข

ภาพที่ 3 *Nematopsis* ในระยะเข้าสู่ gametocysts ก. ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และ ข. ภาพวาด

วัฏจักรชีวิตของ *Nematopsis* (Apicomplexa: porosporidae) จะมีการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สลับกันไป Lee *et. al.* (2000) รายงานการศึกษาวัฏจักรชีวิตของ *Nematopsis ostrearum* ที่ระบาดบริเวณชายฝั่ง Atlantic พบว่า โพรโทซัวปรสิตชนิดนี้มีหอยนางรม *Crassostrea virginica* เป็น intermediate host โดยมีปู *Panopeus herbsti, Eurypanopeus depressus, Eurytium limosum* และ *Neopanope texana* เป็น definitive host



ภาพที่ 4 วัฏจักรชีวิต *Nematopsis*, 1: Sporocyst ที่มีตัวอ่อนอยู่ภายใน, 2: Sporozoite เริ่มออกจาก Sporocyst, 3-7:

ตัวอ่อนระยะ gamont, 8-9: ระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบ syzygy, 10: ระยะ gametocyst, 11: ระยะที่มีการปล่อย gymnospore, 12: ระยะ gymnospore เดี่ยว,13-17: ระยะที่ gymnospore เจริญเป็น sporozoites (ที่มา: Lee *et. al*. 2000)

จากการศึกษาในครั้งนี้พบการระบาดของ *Nematopsis* ใน 3 ระยะ คือ ระยะ gamont ลำตัวมีรูปทรงกระบอก มีขนาดความยาว 110-160 ไมครอน ขนาดความกว้าง 33-70 ไมครอน ผนังด้านนอกบาง ส่วนหัว (protomerite : PRO) เป็นรูปทรงกลม โปร่งใส ส่วนของลำตัว (deutomerite :D) เป็นรูปทรงกระบอกมีขนาดความยาว 70-140 ไมครอน ขนาดความกว้าง 50-59 ไมครอน มีนิวเคลียส (N) 1 อัน เป็นลักษณะทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์ 18-20 ไมครอน อยู่ค่อนไปทางด้านท้ายของตัว

ระยะ syzygy เป็นระยะที่พบมากมีขนาดค่อนข้างใหญ่ มองใต้กล้องจุลทรรศน์เห็นได้ชัดเจนเป็นระยะที่ trophozoites หรือ gamont ตั้งแต่ 2 ตัวมาต่อเชื่อมกัน ซึ่งคล้ายกับเป็นการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยตัวต่อท้ายจะมีการหลอมส่วนหัวหายไปเหลือแต่ส่วนของลำตัว ซึ่งระยะนี้เมื่อมองดูแล้วจะพบว่ามีลำตัวค่อนข้างยาวและมีหลายปล้อง แต่ละปล้องก็จะมีนิวเคลียส 1 อัน และ ระยะ gametocysts ระยะนี้เป็นระยะต่อจาก syzygy โดยจะมีการคอดหดตัวของ syzygy เป็นก้อนกลม ๆ และมีการหลอมตัวของโปรโตพลาสซึม ของ syzygy ทั้งหมด และมีการสร้างผนังหุ้ม (gametocysts wall) ขึ้นมาหุ้มใหม่ และเมื่อเจริญเต็มที่แล้ว gametocysts ก็จะแตกออก จิมโนสปอร์ก็จะหลุดออกมาปนกับอุจจาระพร้อมกับการขับถ่ายของเสียของกุ้งต่อไป ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบระยะ gametocysts ส่วนใหญ่อยู่ในลำไส้ส่วนท้ายกุ้งซึ่งก็คล้ายกับที่ Lee *et. al*. (2000) ที่ได้เคยรายงานไว้ จากการศึกษาครั้งนี้เราพบปรสิตในระยะ gametocysts มากที่สุด รองลงมาระยะ syzygy ส่วนระยะ gamont พบน้อยที่สุด อาจเนื่องมาจากระยะ gamont เป็นระยะแรกที่เริ่มออกจาก oocyst ซึ่งเป็นระยะที่เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วใช้เวลาในการพัฒนาน้อยและเริ่มเข้าสู่ระยะ syzygy อย่างรวดเร็ว จึงทำให้พบระยะนี้น้อยที่สุด ส่วนระยะ gametocysts เป็นระยะที่พบมากที่สุด ซึ่ง

ระยะนี้น่าจะเป็นระยะที่ใช้เวลาในการพัฒนานานกว่าระยะอื่น จึงทำให้พบมากที่สุด และโดยมากก็จะพบบริเวณลำไส้ส่วนท้ายของกุ้ง

จากการสำรวจพบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* ในช่วงของเดือนกรกฎาคมและเดือนสิงหาคม ซึ่งมีค่าการระบาดร้อยละ 100.0 เนื่องจากเป็นช่วงฤดูฝนกุ้งมีการเจริญเติบโตเต็มที่ช่วงนี้มีการจับกุ้งในปริมาณมากดังนั้นช่วงนี้ปรสิตก็จะมีการเจริญเติบโตมาก อาจบ่งบอกได้ว่ามีความชุกสูงของโพรโทซัวปรสิต *Nematopsis* มากเช่นกัน และพอเข้าช่วงเดือนพฤศจิกายน ธันวาคม และมกราคม มีค่าการระบาดร้อยละ 55.0, 85.0 และ 37.5 ตามลำดับเนื่องจากเป็นช่วงฤดูหนาวความชุกของโพรโทซัวปรสิต *Nematopsis* ค่อนข้างต่ำอาจเนื่องมาจากอุณหภูมิของน้ำที่ต่ำลงไม่เหมาะกับการเจริญเติบโตของปรสิต เมื่อเทียบกับการศึกษาของ ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และ ศรัญญา ศุภพรโกมล (2545) พบว่ามีค่าการระบาดที่ใกล้เคียงกัน โดยมีการระบาดของโพรโทซัวปรสิต *Nematopsis* คิดเป็นร้อยละ 92.7 ในกุ้งแชบ๊วยที่ได้จากท่าเทียบเรืออ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

จากการสำรวจโพรโทซัวปรสิตในครั้งนี้ ทางผู้สำรวจไม่สามารถบันทึกข้อมูลของเดือนกันยายน และเดือนตุลาคม 2560 ได้ เนื่องจากช่วงสองเดือนนี้ ชาวประมงไม่สามารถจับกุ้งแชบ๊วยได้ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าช่วงนี้เป็นช่วงที่กุ้งแชบ๊วยมีจำนวนน้อยเป็นวัฏจักรชีวิตของกุ้งแชบ๊วยในอ่าวไทย แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าส่งผลต่อวัฏจักรชีวิตของ *Nematopsis* หรือไม่ เนื่องจากกุ้งแชบ๊วยไม่ได้เป็น host ชนิดเดียวของ *Nematopsis* ยังมีปู และกุ้งชนิดอื่นที่เป็น host ได้ด้วยเช่นกุ้งกุลาดำ และกุ้งทราย (ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และชนัญญา เสมศรี, 2548) และจากการศึกษาในครั้งนี้ทางผู้สำรวจไม่สามารถจัดจำแนกชนิดของ *Nematopsis* ที่พบในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วยได้ จึงไม่สามารถบ่งบอกได้ว่าเป็นโพรโทซัวปรสิต *Nematopsis* ชนิดเดียวกันกับที่เคยมีรายงานมาก่อนหรือไม่ เนื่องจากการจัดจำแนกชนิดของ *Nematopsis* ต้องใช้ความรู้และความชำนาญในการจำแนก เช่นดูลักษณะสัณฐานวิทยา ขนาดลำตัว ตำแหน่งของนิวเคลียสภายในเซลล์ เทียบอัตราส่วนต่าง ๆ ตลอดจนความจำเพาะของ host แต่ละชนิด อย่างไรก็ตามทางผู้ทำการศึกษาจะพยายามศึกษาและสอบถามแลกเปลี่ยนความรู้ความชำนาญกับผู้เชี่ยวชาญทางด้านโพรโทซัวปรสิตที่อาศัยอยู่ในสัตว์น้ำ และหวังว่าคงจะจัดจำแนกชนิดของโพรโทซัวปรสิตที่พบในสัตว์น้ำของไทยได้ภายในระยะเวลาอันใกล้นี้

บทสรุป

ผลจากการสำรวจโพรโทซัวปรสิตสกุล *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วยที่ทำการศึกษาใน 3 ระยะ คือ ระยะ gamont, syzygy และ gametocysts จากท่าเรือหาดวอนนภา บางแสน จังหวัดชลบุรีในช่วงเดือนกรกฎาคม 2560 ถึงเดือนมกราคม 2561 จำนวน 96 ตัว พบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* คิดเป็นร้อยละ 77.1 กุ้งแชบ๊วยเพศเมียมีการมีการระบาดของ *Nematopsis* คิดเป็นร้อยละ 74.0 ส่วนในกุ้งแชบ๊วยเพศผู้พบว่ามีการระบาดร้อยละ 80.4 และมีการระบาดของปรสิตใน 3 ระยะ ได้แก่ ระยะ gamont, syzygy และ gametocysts ซึ่งระยะ gametocysts มีการระบาดมากที่สุดโดยมีค่าการระบาด 66.7% ระยะ syzygy (57.3 %) และ น้อยที่สุดในระยะ gamont มีค่าการระบาด 39.6%

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 25/2560

เอกสารอ้างอิง

ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรัญญา ศุภพรโกมล. (2545). การระบาดของโพรโทซัวปรสิต Nematopsis ในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วย (Penaeus merquiensis). *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ* 5(1-2): 1-8.

ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และชนัญญา เสมศรี. (2548). การสำรวจโพรโทซัวปรสิต (*Nematopsis* spp.) ในทางเดินอาหารของกุ้งทราย (*Metapenaeosis* sp.). *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา* 10(1-2): 34-39

Hall, D.N.F.1962. Observation on the taxonomy and biology of some Indo West Pacific Penaeidae. *Fishery Publication Colonial Office London* 17: 1-229.

Jimenez R., Barniol L. and Machuca M., 2002. *Nematopsis marinus* n.sp., a new septate gregarine from cultured penaeoid shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone), in Ecuador. *Aquaculture Research* 33, 231-240.

Lee, J.J., Leedale, G.F. and Bradbury, P. (2000). *The illustrated guide to the protozoa*. second Edition. Society of Protozoologists, Allen Press, USA p.224-225.

Miller, D.J., Criollo, F. and Moro, O. 1994. A practical diagnostic method for determining intestinal Gregarine infection in *Penaeus vannamei* on a commercial shrimp farm. *World-Aquaculture* 25, 65-66.

Pavanelli, G.C., J.C. Eiras, R.M. Takemoto M.J.T.R. Paiva and Magalhães, A.R.M. 2000. Sanidade de peixes, rãs, crustáceos e moluscos. Pages 197-245 In Wagner Valenti, editor. Aqüicultura no Brasil – Bases para um desenvolvimento sustentável. Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília. Brasil.

Villalba, A., S. G. Mourelle, M. C. López, M. J. Carballal and Azevedo, C. 1993. Marteiliasis affecting cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* of Galicia (NW Spain). I etiology, phases of the infection, and temporal and spatial variability in prevalence. *Diseases of Aquatic Organisms* 16, 61-72.

ส่วนประกอบตอนท้าย

1. รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย (NRMS 13 หลัก)................................ สัญญาเลขที่ 25/2560
โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 (เพิ่มเติม) มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การแพร่กระจาย ค่าความชุกและ สัณฐานวิทยาของปรสิตที่ระบาดในกุ้งทะเลเศรษฐกิจ บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย
ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์
รายงานในช่วงตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึงวันที่ 25 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2562

<u>รายรับ</u>

จำนวนเงินที่ได้รับ
งวดที่ 1 (50%) 200,000.00 บาท เมื่อ 20 มิถุนายน 2560
งวดที่ 2 (40%) 160,000.00 บาท เมื่อ 5 มีนาคม 2561
งวดที่ 3 (10%) 40,000.00 บาท อยู่ระหว่างการส่งรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ยังไม่ได้ทำเรื่องเบิกจ่าย
รวม 400,000.00 บาท (สี่แสนบาทถ้วน)

<u>รายจ่าย</u>

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงิน คงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	36,000.00	36,000.00	0
2. ค่าจ้าง	153,300.00	153,300.00	0
3. ค่าวัสดุ	19,700.00	19,700.00	0
4. ค่าใช้สอย	151,000.00	151,000.00	0
5. ค่าครุภัณฑ์	0	0	0
6. ค่าสาธารณูปโภค	40,000.00	40,000.00	0
รวม	400,000.00	400,000.00	0

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์)
ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

2. บรรณานุกรม

ชนวัฒน์ ตันติวรานุรักษ์ และศรัญญา ศุภพรโกมล. (2545). การระบาดของโปรโตซัวปรสิต (*Nematopsis* spp.) ในทางเดินอาหารของกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*). *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ*, *5*(1-2), 1-8.

Azevedo, C. and Cachola, R. (1992) Fine structure of the apicomplexa oocyst of *Nematopsis* sp. of two marine bivalve molluscs. *Diseases of Aquatic Organisms* 14:69-73.

Belofastova, I.P. (1996a) Two species of Genus *Cephaloidophora* (Eugreoarinida, Cepahloidophoridae) Parazites of the Black Sea crabs. *Parasitilogia* 30(3): 270-274.

Belofastova, I.P. (1996b) Gregarines of the genus *Nematopsis* (Eugregarinida: Porosporidae), parasites of the Black Sea molluscs. *Parazitologiya* p.159-173.

Canestri-Trotti,G., Baccarani, E.M; and Paesanti, F. (1998). Gregarines of the genus *Nematopsis*(Apicomplexa:porosporidae) in bivalve molluscs of the Adriatic Sea. *Bollettino-Societa-Italiana-di-PatologiaIttica*, 10(23): 58-66

Canestri-Trotti,G., Baccarani, E.M.; Paesanti, F. and Turolla, E. (2000) Monitoring of infections by Protozoa of the genera *Nenatopsis, Perkinsus* and *Porospora* in the smooth venus clam *Callista chione* from North-Western Adriatic Sea (Italy). *Diseases of Aquatic Organisms*. Vol.42:157-161.

Chakraborti, J., & Bandyapadhyay, P. K. (2010). First record of a parasitic septate gregarines (Apicomplexa: Sporozoea) in the shrimp *Penaeus monodon* in Sundarbans of West Bangal. *Journal parasit Diseases*, *34*(1), 40-43.

___________. (2011).Seasonal incidence of protozoan of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) of Sundarbans, West Bangal, India. *Journal parasit Diseases*, *35*(1), 61-65.

Jimenez, R., Barniol, L., & Machuca, M. (2002). *Nematopsis marinus* n. sp., a new septate Gregarine from cultured penaeoid shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone), in Ecuador. *Aquaculture Research*, *33*, 231-240.

Lee, J.J., Hutner, S.H., & Bovee, E.C. (1985). *An illustrated guide to the protozoa*. Society of Protozoologists, Allen Press, USA, 334-374.

Luna, L.G. (1960). *Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed, New York: McGraw-Hill, USA.

Mavrodiali P.A. (1908) The barnacles of the Black Sea and their gregarine parasites. Preliminary note. Zapiski Novoross. Obsh. *Estestrois* 32: 101-132.

Miller,D.J. Criollo,F.; and Mora, O. (1994). A practical diagnostic method for determining intestinal gregarine infection in *Penaeus vannamei* on a commercial shrimp farm. *World Aquaculture 25*, 65-66.

Poulpanich, N., & Withyachumnarnkul, B. (2009). Fine structure of a septate gregarine trophozoite in the black tiger shrimp Penaeus monodon. *Diseases of Aquatic Organisms*, *86*, 57–63.

Prasadan,P.K. and Janardanan,K.P. (2001). Three new species of gregarines (Apicomplexa: Sporozoea: Porosporidae) in the Estuarine crabs from Kerala, India. *Acta Protozoologica, 40*, 303-309.

Prytherch, H.F. (1940). The life cycle and morphology of *Nematopsis ostrearum*, sp. nov. a gregarine parasite of the mud crab and oyster. *Journal of Morphology 66*, 39-65.

Sprague, V. (1979) *Some protozoan parasites and hyperparasites in marine decapod crustacea*, p 416-430, In: Stanislas, F. and Sniezko,C. eds., A symposium on diseases of fishes and shellfishes. Special Publication No 5., American Fisheries Society, Washington D.C.

Sprague, V. and Orr, P.E. Jr. (1955). *Nematopsis ostreum* and *N. prytherchi* (Eugregarina: Porosporidae) with special reference to the host-parasite relations. *J. Parasitology*, *41*, 89-104

Tuntiwaranuruk, C., Chalermwat, K., Upatham, E. S., Kruatrachue, M., & Azevedo, C. (2004). Investigation of *Nematopsis* spp. oocysts in 7 species of bivalves from Chonburi Province, Gulf of Thailand. *Diseases of Aquatic Organisms*, *58*, 47-53.

Turkmen, G. (2007). Pond culture of *Penaeus semisulcatus* and *Marsupenaeus japonicas*(Decapoda, Penaeidae) on the west coast of Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *7*, 7-11.

Valigurova, A., & Koudela, B. (2008). Morphological analysis of the cellular interactions between the eugregarine *Gregarina garnhami* (Apicomplexa) and the epithelium of its host, the desert locust *Schistocerca gregaria*. *European Journal of Protistology*, *44*, 197-207.