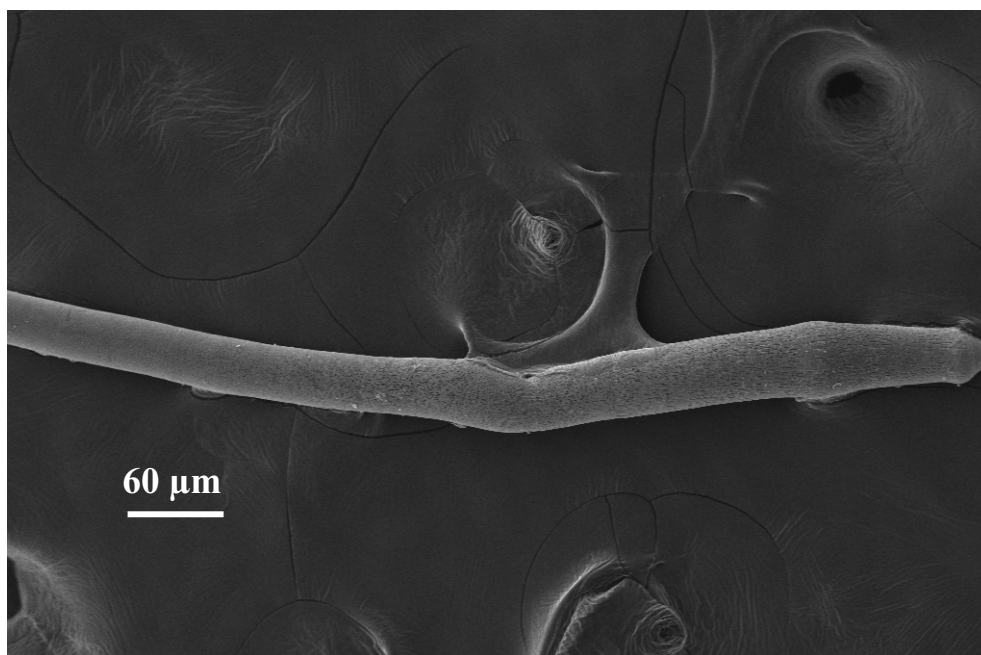
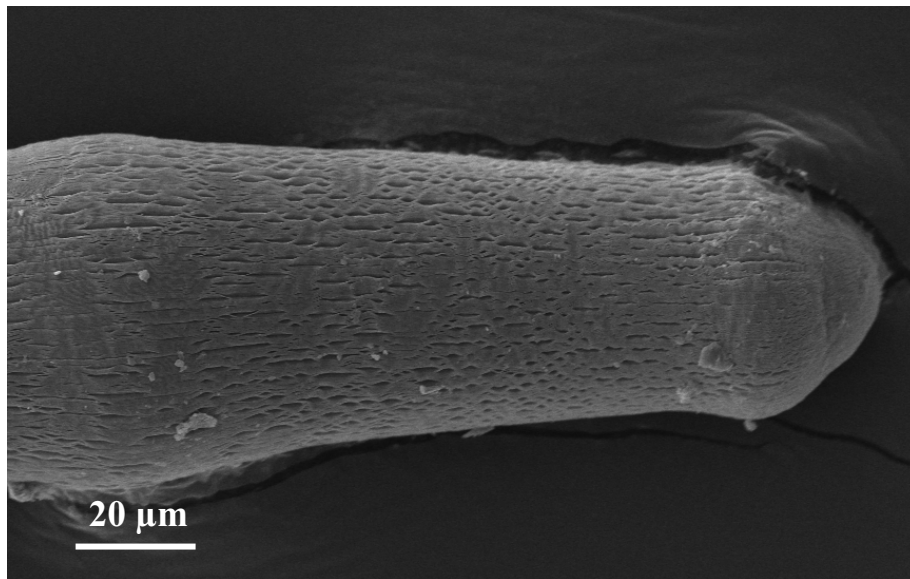


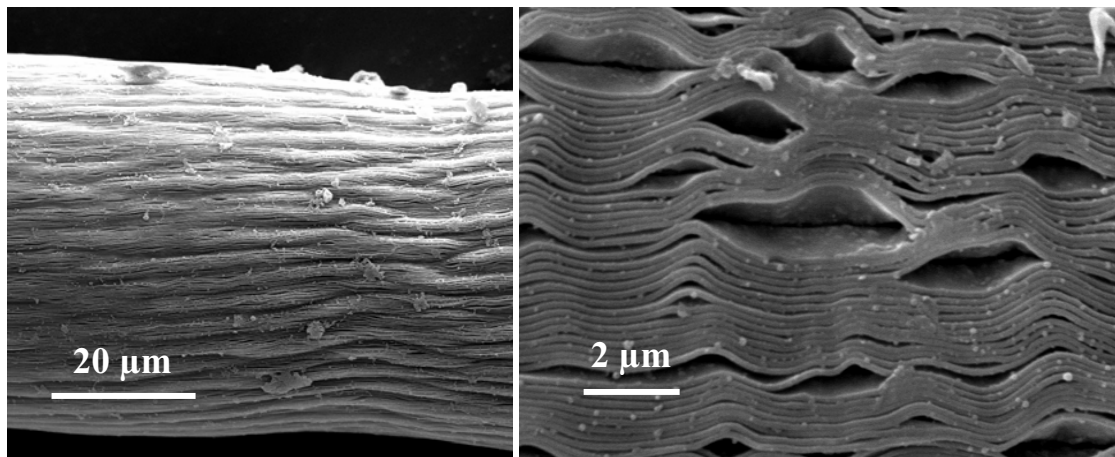
การศึกษาทางด้าน ultrastructure โดยศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด โดยการศึกษาตัวอย่างของ *Nematopsis* ในระยะตัวเต็มวัย (trophozoite) ที่ระบาดในทางเดินอาหารของกิ้งกูดดำ จากแหล่งตัวอย่างท่าเทียบเรืออ่างศิลา อ.เมือง จ.ชลบุรี พบว่า *Nematopsis* sp. มีลักษณะทรงกระบอก (ภาพที่ 33) ส่วนหัวมีลักษณะเป็นครึ่งทรงกลมคล้ายปุ่มยื่นออกมาเล็กน้อย (ภาพที่ 34) ลำตัวมีลักษณะคล้ายมีรอยต่อประมาณ 2-3 ท่อนตรงรอยต่อจะนูนขึ้นมาเล็กน้อย ผนังลำตัวมีลักษณะเป็นแผ่นเรียงตัวตามแนวยาวอย่างเป็นระเบียบ (ภาพที่ 35) ส่วน *Nematopsis* ในระยะ gametocyst ซึ่งเป็นระยะนี้จะพบว่ามีภาระบาดบริเวณตอนปลายของลำไส้ของกิ้ง (rectum) โดยระยะนี้มีลักษณะเป็นถุงกลม (ภาพที่ 36) มีผนังบาง (ภาพที่ 37) ภายในบรรจุ gymnospires ขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก ซึ่งแต่ละ gymnospire จะประกอบด้วย oocyst รูปร่างคล้ายกระสวย เป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 38) และจากการศึกษาด้วยการตัด section เป็นแผ่นบางๆ แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่า gymnospires ประกอบด้วยเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายกระสวยเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 39) โดยภายในแต่ละเซลล์ประกอบด้วย nucleus 1 อันอยู่บริเวณกลางเซลล์บริเวณปลายจะมีลักษณะเป็นถุง secretory granule ขนาดเล็ก 8-10 ถุง (ภาพที่ 40)



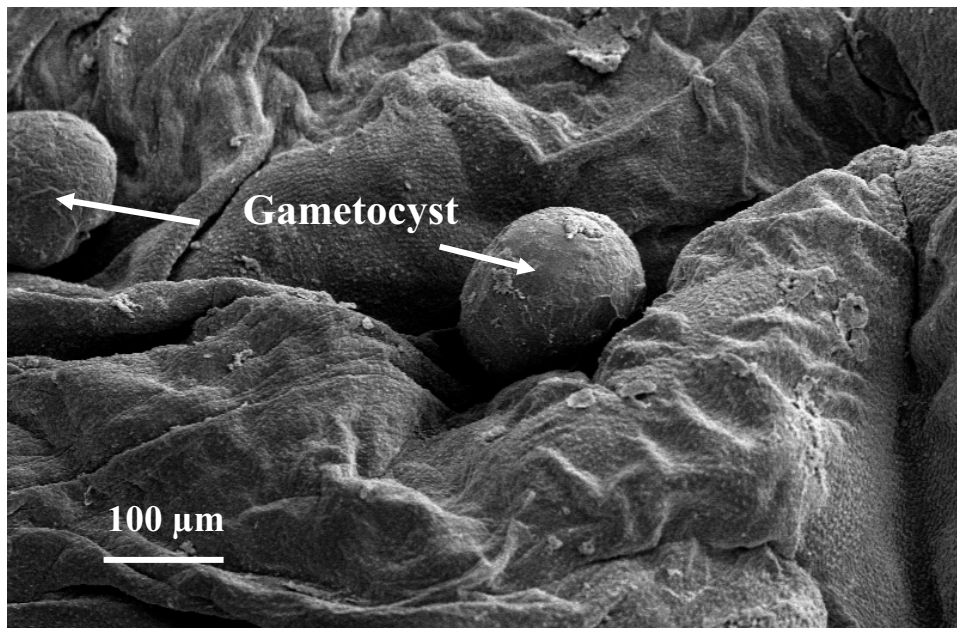
ภาพที่ 33 *Nematopsis* ระยะ trophozoite ที่ระบาดในทางเดินอาหารของกิ้งกูดดำ



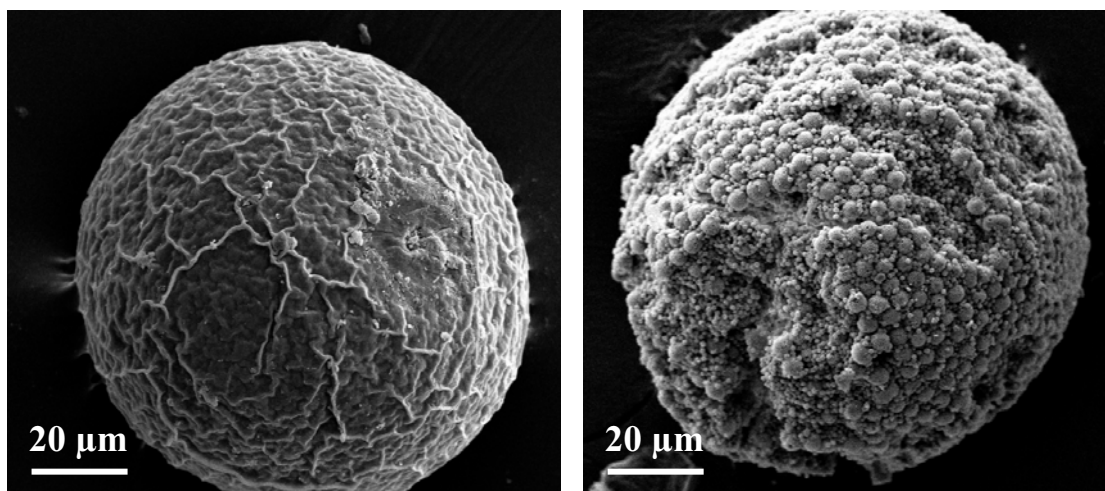
ภาพที่ 34 ส่วนหัวของ *Nematopsis* มีลักษณะเป็นปุ่มยื่นออกมาบริเวณส่วนปลายสุด



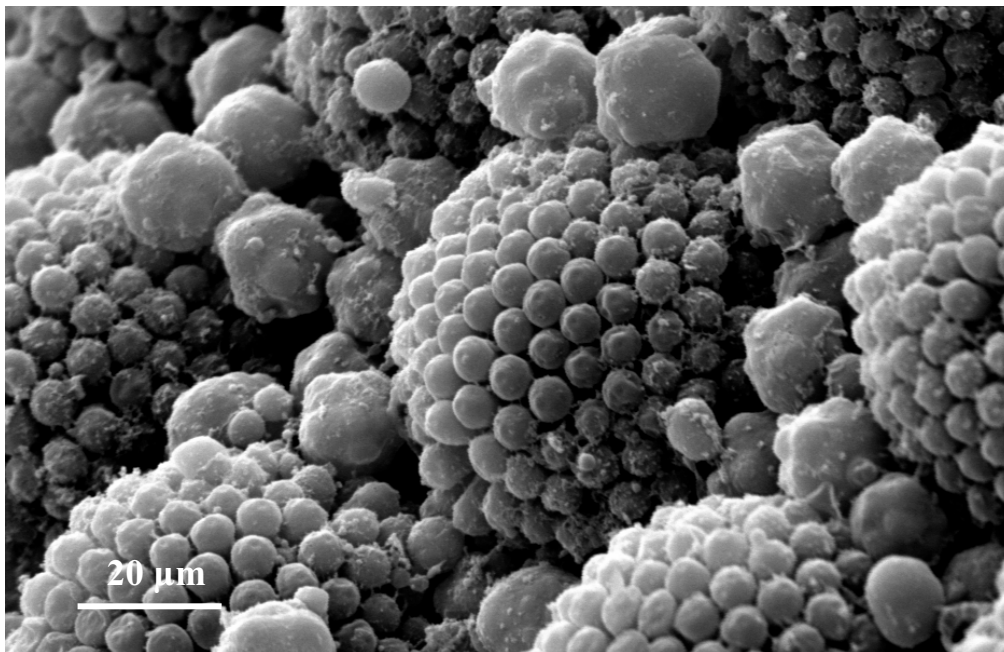
ภาพที่ 35 ส่วนลำตัวซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นขนาดเล็กเรียงตัวตามแนวยาวอย่างเป็นระเบียบ



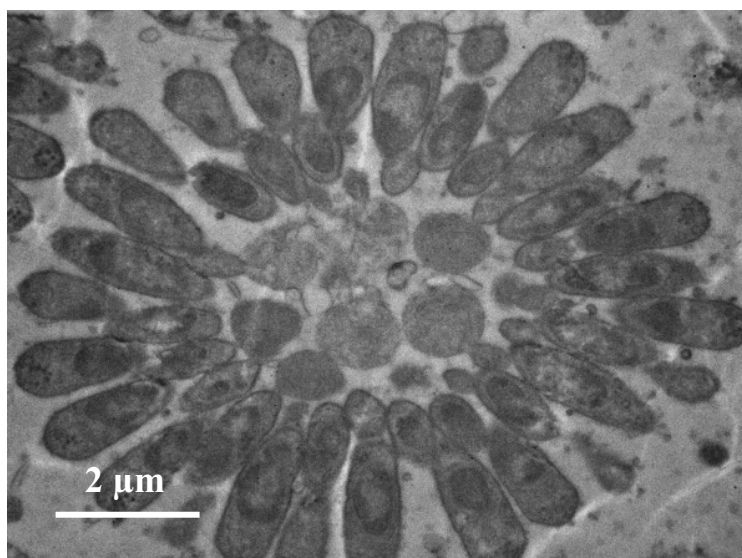
ภาพที่ 36 *Nematopsis* ในระยะ gametocyst ที่พบบริเวณตอนปลายของผนังลำไส้ของกิ้ง



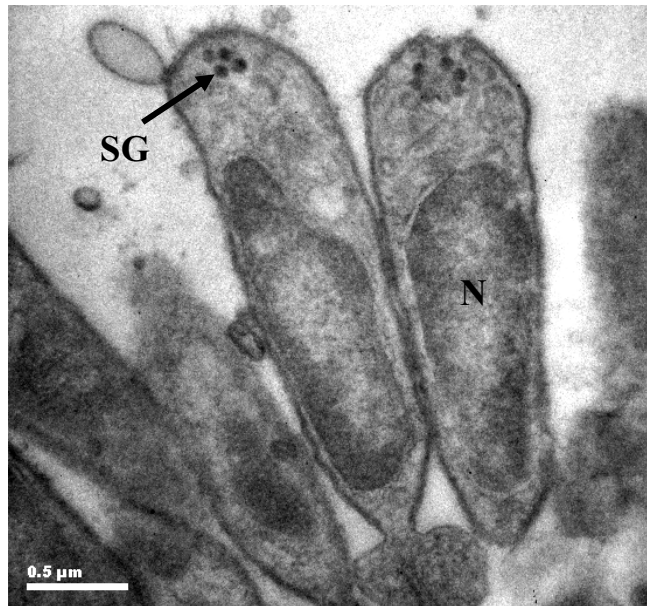
ภาพที่ 37 gametocyst มีลักษณะกลม มีผนังบาง ภายในบรรจุ gymnosporae เป็นจำนวนมาก



ภาพที่38 gametocyst ภายในบรรจุ gymnosporangia เป็นก้อนๆ และ gymnosporangia แต่ละก้อนประกอบด้วย oocyst รูปร่างคล้ายกระสวยขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก



ภาพที่ 39 gymnosporangia แต่ละก้อนประกอบด้วยเซลล์รูปร่างคล้ายกระสวยขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก



ภาพที่ 40 เซลล์ขนาดเล็กภายในประกอบด้วย nucleus (N) 1 อัน บริเวณด้านหน้าสุด ประกอบด้วยถุง secretory granule (SG) ขนาดเล็ก 8-10 ถุง

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

โปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* พบครั้งแรกในปี ค.ศ.1892 ในหอย Clam (*Solen vagina*) ประเทศฝรั่งเศส (Sprague, 1970) โดย *Nematopsis* ระบาดในสัตว์น้ำเศรษฐกิจ จำพวกกุ้ง ปู และหอยสองฝา ทำให้สัตว์เหล่านี้โตช้าและเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคแทรกได้ง่าย วงจรชีวิตมีกุ้งหรือปูเป็น definitive host และหอย เป็น intermediate host จากรายงานการศึกษาพบว่าปรสิตชนิดนี้มีการระบาดทั่วโลก

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษา ค่าความชุก และ สันฐานวิทยา ของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญ คือ หอยแมลงภู่ หอยแครง หอยนางรม กุ้งแชบ๊วย กุ้งกุลาดำ และปูม้า ในแหล่งเลี้ยงตามธรรมชาติที่มีการทำประมงพื้นบ้าน และบริเวณสะพานปลา ในเขตจังหวัดที่อยู่ติดกับทะเล คือ จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และจังหวัดตราด โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ระยะดังนี้

การทดลองระยะที่ 1 ทำการเก็บตัวอย่างกุ้ง ปู และหอย ในช่วงเดือน สิงหาคม 2550 ถึง กรกฎาคม 2551 โดยทำการเก็บตัวอย่างจากแหล่งเก็บตัวอย่าง 4 สถานี ใน 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดชลบุรี และจังหวัดระยอง โดยพบว่า มีการระบาดของ *Nematopsis* ระยะที่เป็น oocyst ในหอยแครง จากหมู่บ้านบางทราย จังหวัดชลบุรี โดยมีค่าความชุก (prevalence) เท่ากับ 55.8% และพบว่ามี การระบาดในหอยแมลงภู่ จากแหล่งเลี้ยงอ่างศิลา และแหล่งเลี้ยงอ่าวศรีราชา โดยมีค่าความชุกเท่ากับ 72.08% และ 60.4 % ตามลำดับ ส่วนผลการเก็บตัวอย่างคุณภาพน้ำทะเลในแต่ละเดือน เพื่อวัดค่า อุณหภูมิ และความเค็ม และ ค่า pH พบว่า คุณภาพของน้ำจากแหล่งเลี้ยงหอยทั้ง 3 แหล่ง อันได้แก่หมู่บ้านบางทราย หมู่บ้านอ่างศิลา อ่าวศรีราชา มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดทั้งปี ประมาณ 29.0 C° (26.5 – 32.5 C°) ค่าความเค็มมีค่าเฉลี่ยประมาณ 31.3 ppt (25 – 35 ppt) และค่า pH เฉลี่ย 8.11 (7.81 – 8.51)

การสำรวจ *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย และปูม้า โดยรวบรวมตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงอ่างศิลา หมู่บ้านประมงช่องแสมสาร จังหวัดชลบุรี และ ทำเทียบเรือบ้านเพ จังหวัดระยอง พบว่ามี การระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในระยะ trophozoite และระยะ gametocyst ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย โดยตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงอ่างศิลามีการระบาดในกุ้งกุลาดำมีค่าความชุกเท่ากับ 70.1 % และในกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 72.0 % ตัวอย่างจากหมู่บ้านประมงช่องแสมสาร กุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 60.0 % กุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 68.7% และตัวอย่างจากทำเทียบเรือประมงบ้านเพ จังหวัดระยอง ในกุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 62.0% กุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 73.3% ส่วนการศึกษาในทางเดินอาหารของปูม้า ไม่พบว่ามี การระบาดของ *Nematopsis* เลย จากตัวอย่างทั้ง 3 แหล่ง

การทดลองระยะที่ 2 ทำการเก็บตัวอย่างกุ้ง ปู และหอย ในช่วงเดือน กรกฎาคม 2551 ถึง มิถุนายน 2552 โดยทำการเก็บตัวอย่างจากแหล่งเก็บตัวอย่าง 3 สถานี ใน 2 จังหวัด ได้แก่

จังหวัดจันทบุรี และจังหวัดตราด โดยพบว่ามีภาระระบาดของโปรโตซัวปรสิตในสกุล *Nematopsis* ระยะที่เป็น oocyst ในหอยแครงจากแหล่งเลี้ยงหอยแครงหมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอลือ จังหวัดจันทบุรี โดยมีค่าความชุกเท่ากับ 75.0% และพบว่ามีภาระระบาดในหอยแมลงภู่ จากแหล่งเลี้ยงเดียวกัน โดยมีค่าความชุกเท่ากับ 60.8% ผลการเก็บตัวอย่างน้ำทะเลในแต่ละเดือน เพื่อวัดค่า อุณหภูมิ และความเค็ม และ ค่า pH พบว่า อุณหภูมิของน้ำบริเวณแหล่งเลี้ยงหอยบ้านวันยาวล่างมีค่าเฉลี่ย 29.08°C ($27.0 - 31.0^{\circ}\text{C}$) ค่าความเค็มมีค่าเฉลี่ย 29.7 ppt ($27.5 - 32.0$ ppt) และค่า pH มีค่าเฉลี่ย 7.52 ($7.40 - 7.71$)

ส่วนการสำรวจ *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย และปูม้า จากสะพานปลาหาดเจ้าหลาว อำเภอวังกระแจะ จังหวัดจันทบุรี พบว่ามีภาระระบาดของโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำคิดเป็น 40.0% และระบาดในกุ้งแชบ๊วย คิดเป็น 43.0% และ ไม่พบว่ามีภาระระบาดในปูม้า ส่วนตัวอย่างจากสะพานปลาแหลมงอม จังหวัดตราดพบว่ามีภาระระบาดโดยมีค่าความชุก ในกุ้งกุลาดำมีค่าเท่ากับ 35.6 % และกุ้งแชบ๊วยมีค่าเท่ากับ 41.1% และไม่พบการระบาดในปูม้าเช่นกัน

จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาพบว่า oocyst ของ *Nematopsis* ที่พบในหอยแครงมีรูปร่าง กลม-รี มีขนาดความกว้าง $12.1-12.8\ \mu\text{m}$ มีขนาดความยาว $16.5-18.7\ \mu\text{m}$ บรรจุอยู่ในถุง phagocytes ที่หอยสร้างขึ้นมาเพื่อห่อหุ้มปรสิตเอาไว้ โดยมี oocyst ตั้งแต่ 5-32 ฟองต่อ 1 ถุง ส่วน oocyst ของ *Nematopsis* ที่ระบาดในหอยแมลงภู่พบว่า มีลักษณะกลม-รีคล้ายกับในหอยแครง มีขนาดความกว้าง $12.6-13.9\ \mu\text{m}$ มีขนาดความยาว $16.0-19.1\ \mu\text{m}$ phagocytes 1 ถุง มีจำนวน oocyst ตั้งแต่ 6-46 ฟอง ซึ่งลักษณะสัณฐานวิทยาของ oocyst ของ *Nematopsis* ที่พบในหอยแครงและหอยแมลงภู่ที่พบจากตัวอย่างจากหมู่บ้านวันยาวล่าง อำเภอลือ จังหวัดจันทบุรี ก็มีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในจังหวัดชลบุรี โดยในหอยแครงมีขนาดความกว้าง $12.5-13.1\ \mu\text{m}$ มีขนาดความยาว $16.2-17.9\ \mu\text{m}$ บรรจุอยู่ในถุง phagocytes โดยมี oocyst ตั้งแต่ 3-28 ฟองต่อ 1 ถุง ส่วน oocyst ของ *Nematopsis* ที่ระบาดในหอยแมลงภู่พบว่า มีลักษณะกลม-รีคล้ายกับในหอยแครง มีขนาดความกว้าง $12.8-13.6\ \mu\text{m}$ มีขนาดความยาว $16.8-18.7\ \mu\text{m}$ 1 ถุง phagocytes มีจำนวน oocyst ตั้งแต่ 3-42 ฟอง

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า *Nematopsis* ในระยะ trophozoite ที่พบในกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วยจากแหล่งสะพานปลาอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และสะพานปลาบ้านเพ จังหวัดระยอง มีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน ทั้งชนิด และจำนวนที่ระบาด โดยมีมีลักษณะเป็นทรงกระบอกมีขนาดความกว้าง $25-45\ \mu\text{m}$ มีขนาดความยาว $45-85\ \mu\text{m}$ โดยจะมีส่วนหัวที่เรียกว่าส่วน protomerite (Pro) ซึ่งจะมีลักษณะกลมหรือรี และมีส่วน epimerite (Epi) ยื่นออกมาทางด้านหน้าของส่วนหัว ส่วนลำตัวคือส่วน deutomerite (Deu) จะมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก และมีนิวเคลียส 1 อัน รูปร่างกลมหรือรี นอกจากนี้อาจมีการเชื่อมต่อกันของ trophozoites ตั้งแต่ 2 ตัวขึ้นไป บางครั้งเรียกว่าระยะ syzygy ระยะนี้将有ความยาวของลำตัว $45-760\ \mu\text{m}$ ส่วนบน เรียกว่า primitive (Pri) ส่วนนี้ประกอบด้วยส่วนหัวคือ protomerite อาจมีหรือไม่มี epimerite ก็ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของ *Nematopsis* ส่วนลำตัวคือ deutomerite มีรูปร่าง

เป็นทรงกระบอกมีนิวเคลียส 1 อัน ส่วนที่ 2 คือส่วน satellite (Sat) มีลักษณะเป็นทรงกระบอกมาเชื่อมต่อกัน ส่วนมากมักไม่พบ protomerite และ epimerite มีนิวเคลียส 1 อัน อยู่ก่อนไปทางด้านท้ายของลำตัว นอกจากนี้ยังพบ *Nematopsis* ระยะ gametocyst ซึ่งระยะนี้เกิดจากการหลอมรวมกันของ syzygy ขดเป็นวงกลมแล้วมีการสร้างผนังหุ้มล้อมรอบตัวเอง ระยะ gametocyst มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100-165 μm มีสีดำหรือสีน้ำตาล ภายในมี gymnospires บรรจุอยู่ในจำนวนมาก

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า *Nematopsis* ในระยะ trophozoite ในช่วงการทดลองที่ 2 โดยศึกษาจากตัวอย่างกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยจากสะพานปลาหาดเจ้าหลาว จังหวัดจันทบุรี และสะพานปลาแหลมงอบจังหวัดตราด พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกับที่พบในจังหวัดชลบุรี และจังหวัดระยอง โดย trophozoite มีลักษณะเป็นทรงกระบอกมีความกว้าง 20-30 μm มีขนาดความยาว 45-85 μm ส่วนระยะ associate หรือ ระยะ syzygy มีความยาว 55-650 μm นอกจากนี้ยังพบ *Nematopsis* ระยะ gametocyst มีลักษณะทรงกลม มีสีดำหรือสีน้ำตาล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90-150 μm ภายในมี gymnospires บรรจุอยู่ในจำนวนมาก

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาค่าความชุก (prevalence)

จากการสำรวจ *Nematopsis* ที่ระบาดในหอยแครง หอยแมลงภู่ และหอยนางรม ในท้องที่ของจังหวัดชลบุรี จังหวัดจันทบุรี ซึ่งเป็นแหล่งใหญ่ในการเพาะเลี้ยงหอยทั้ง 3 ชนิดนี้ พบว่ามีการระบาดของ *Nematopsis* ในหอย 2 ชนิด คือหอยแครง และหอยแมลงภู่ และไม่พบการระบาดในหอยนางรม ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Tuntiwaranuruk et al., 2004 ซึ่งศึกษาในแหล่งเลี้ยงหอยจากแหล่งเดียวกัน โดยไม่พบการระบาดในหอยนางรมเช่นกัน ส่วนการศึกษาค่าความชุกของการระบาดพบว่ามีค่าความชุกที่ใกล้เคียงกันในหอยแครงโดยมีรายงานค่าความชุกที่ 59.2% และการสำรวจครั้งนี้มีค่าเท่ากับ 55.8% และพบว่ามีค่าความชุกในหอยแมลงภู่มีค่าเพิ่มขึ้นโดยมีค่าเท่ากับ 72.08% เมื่อเทียบกับรายงานของ Tuntiwaranuruk et al., 2004 มีค่าเพียง 60.0% เมื่อดูจากค่าการระบาดในรอบปี พบว่า ค่าความชุกในหอยแครงจากแหล่งเลี้ยงบ้านบางทรายมีค่ามีค่าสูงสุดในเดือน มกราคมโดยมีค่า 100% และมีค่าต่ำสุดในเดือน มิถุนายนโดยมีค่า 25 % และค่าความชุกในหอยแมลงภู่ในรอบปีของหอยแมลงภู่จากแหล่งอ่างศิลา ก็มีค่าคล้ายกับหอยแครง โดยมีค่าสูงสุดในเดือน มกราคม และมีนาคม และจะเริ่มลดต่ำลงในเดือน มิถุนายน ซึ่งก็สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Jiminez et al. (2002) ซึ่งรายงานว่าค่าการระบาดของ *Nematopsis* จะลดลงเมื่อความเค็มของน้ำลดลง และจะไม่พบการระบาดเลยในน้ำจืด ซึ่งในประเทศไทยจะพบว่าช่วงเดือนมิถุนายน เป็นช่วงเริ่มเข้าสู่ฤดูฝน ซึ่งจะมีค่าความเค็มที่ต่ำลงมาก จึงทำให้มีค่าความชุกลดลง และจากข้อมูลในหอยแมลงภู่จากแหล่งอ่างศิลา พบว่ามีค่าความชุกเริ่มลดลงเช่นกันในช่วงเดือน สิงหาคม กันยายน และตุลาคม ซึ่งอาจ

เนื่องมาจากปัจจัยในด้านการเลี้ยงของแต่ละแหล่ง โดยพบว่าการเลี้ยงหอยแมลงภู่มิบริเวณหมู่บ้านอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี มักจะเริ่มลงหลักไม้ไผ่เพื่อให้หอยลงเกาะมักจะเริ่มราวเดือนตุลาคม และใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 8-10 เดือนถึงจะเริ่มเก็บเกี่ยวผลผลิต และจะเก็บเกี่ยวจนหมดราวเดือน กันยายน ซึ่งช่วงเดือน กันยายน ถึง ตุลาคม ปริมาณหอยที่อยู่ในแหล่งเลี้ยงจะหมดไป จึงอาจเป็นไปได้ที่ปรสิต *Nematopsis* จะขาด host จึงทำให้จำนวนปรสิตลดลงในช่วงเวลาดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับ ค่าการระบาดของหอยแมลงภู่มิจากแหล่งเลี้ยงอำเภอสัตร์ราชาด้วยเช่นกัน โดยพบว่ามีค่าลดลง 2 ช่วง คือช่วงที่เข้าสู่ฤดูฝน ซึ่งน้ำทะเลลดความเค็มลง และอีกช่วง 1 คือช่วงหลังการเก็บเกี่ยว โดยพบว่าการเลี้ยงหอยแมลงภู่มิที่อำเภอสัตร์ราชา จะมีช่วงของการเก็บเกี่ยวช้ากว่าแหล่งเลี้ยงอ่างศิลาประมาณ 1-2 เดือน ดังจะเห็นได้จากค่าความชุกของการระบาดในหอยจากแหล่งเลี้ยงอำเภอสัตร์ราชา เริ่มลดลงช้ากว่าที่อ่างศิลา คือลดลงในเดือน พฤศจิกายนโดยมีค่าความชุก 30% และจะมีค่าลดลงในช่วงเข้าสู่ฤดูฝนด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในช่วงที่ 2 โดยการเก็บตัวอย่างหอยแครง และหอยแมลงภู่มิจากแหล่งเลี้ยงบ้านวันยาวล่างอำเภอลำทะลุ จังหวัดจันทบุรี พบว่ามีค่าการระบาดลดลง 2 ช่วงคือ ช่วงที่เข้าสู่ฤดูฝน และ ช่วงหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต

การระบาดของ *Nematopsis* ในกึ่งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย และปูม้า พบว่าการศึกษารังนี้ไม่พบการระบาดเลยในปูม้าในทุกแหล่งของการทดลอง และมีการระบาดของ *Nematopsis* ในระยะ trophozoites และระยะ gametocysts ในกึ่งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยจากตัวอย่างในทุกแหล่ง โดยมีการระบาดในทุกฤดูกาล สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ ธิติพร และ คณะ (2550) โดยรายงานการสำรวจพบการระบาดของ *Nematopsis* spp. ในกุ้งแชบ๊วยจากอ่าวไทยภาคตะวันออก โดยพบการระบาด 95 – 100% ในทุกฤดูกาล แต่จากการสำรวจครั้งนี้พบการระบาดโดยมีค่าความชุกน้อยกว่า โดยมีการระบาดทั้งในกุ้งแชบ๊วยเฉลี่ย 71.3 % และกึ่งกุลาดำ 64.7% และเมื่อเปรียบเทียบค่าความชุกกับคุณภาพของน้ำ พบว่าไม่มีความเกี่ยวข้องกันอย่างเห็นได้ชัดเจนนัก โดยพบว่ากึ่งกุลาดำจะมีช่วงการระบาดสูงในเดือนเมษายน ถึง พฤษภาคม และมีการระบาดน้อยที่สุดในช่วงเดือน ตุลาคม ถึง ธันวาคม ซึ่งก็คล้ายกับการระบาดในกุ้งแชบ๊วยโดยมีการระบาดสูงในช่วงเดือน พฤษภาคม และน้อยสุดในเดือน ธันวาคม เช่นกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าภาวะการระบาดของอาจเกี่ยวข้องกับวงจรชีวิตของกุ้งมากกว่า คุณภาพของน้ำ เนื่องจากกุ้งเป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถเคลื่อนที่และเปลี่ยนที่อยู่อาศัยได้ จึงทำให้คุณภาพของน้ำไม่มีผลมากนัก นอกจากนี้อาจมีความสัมพันธ์กับแหล่งอาหารของกุ้ง เช่นช่วงของการเพาะเลี้ยงหอยต่างๆ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของกุ้งนั้น ในแต่ละท้องที่ มีการเลี้ยงในช่วงเวลาที่เหลื่อมเวลากันจึงทำให้การเจริญของกุ้ง และ ช่วงของการระบาดไม่เท่ากัน ทั้งนี้เห็นได้จากการทดลองในช่วงที่ 2 พบว่าการระบาดของ *Nematopsis* ในกึ่งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยในจังหวัดจันทบุรี และจังหวัดตราด มีช่วงของการระบาดไม่เหมือนกัน โดยพบว่ามีการระบาดมากที่สุดกลับเป็นช่วงเดือนกุมภาพันธ์ แต่มีการระบาดน้อยที่สุดคล้ายกันคือ ช่วงเดือน ธันวาคม

สัณฐานวิทยาของ *Nematopsis*

สัณฐานวิทยาของ oocyst ของ *Nematopsis* ที่พบในหอยแครงและหอยแมลงภู่ที่ทำการศึกษา ในทุกแหล่งตัวอย่าง พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน โดย oocyst มีลักษณะ กลม-รี ในหอยแครงมีขนาดความยาว $16.7 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ขนาดความกว้าง $12.5 \pm 0.4 \mu\text{m}$ ในหอยแมลงภู่ มีขนาดความยาว $17.4 \pm 0.9 \mu\text{m}$ ขนาดความกว้าง $12.6 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ซึ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของ oocyst ของ *Nematopsis* ที่ได้มีผู้ค้นพบก่อนหน้านี้ พบว่ามีขนาดใหญ่กว่าอย่างเห็นได้ชัดเจน (ตารางที่ 7) โดยเปรียบเทียบกับรายงานของ Belofastova, 1996, Canestri-trotti *et al.*, 2000, Padovan *et al.*, 2003, Azevedo & Padovan, 2004 ซึ่งมีเพียงรายงานของ Azevedo & Padovan, 2004 ที่มีขนาดใหญ่กว่า คือ *Nematopsis gigas* เป็นการพบในหอยฝาเดียว *Nerita ascencionis* ซึ่งเป็นรายงานครั้งแรกในโลกที่มีการพบในหอยฝาเดียว นับว่ามีความจำเพาะสูงมาก และจากการค้นพบครั้งนี้ พบว่ามีลักษณะจำเพาะหลายประการที่มีความแตกต่างจากชนิดอื่นที่มีการค้นพบมาก่อน เช่นจำนวนที่พบในแต่ละ phagocyte มีจำนวนของ oocysts จำนวนมาก บาง phagocyte อาจพบถึง 46 oocysts ซึ่งผู้วิจัยคาดว่า น่าจะเป็น *Nematopsis* ชนิดใหม่ที่ค้นพบในประเทศไทย ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องนำตัวอย่างไปศึกษาทางด้านจุลกายวิภาค (ultrastructure) ซึ่งเป็นแนววินิจฉัยใหม่โดย Dr.Azevedo จากมหาวิทยาลัย Porto โดยดูจากความหนาของเปลือก oocyst ขนาดของรู micropyle ตลอดจนลักษณะของ microfibril ที่พบบริเวณด้านนอกของเปลือก oocyst และที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่ใช้ในการบ่งบอกว่าเป็นชนิดใหม่ คือความจำเพาะของ host ในแหล่งต่างๆ ซึ่งการค้นพบในหอยแครง และหอยแมลงภู่ครั้งนี้ก็เป็นรายงานครั้งแรกในประเทศไทย และภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จากการศึกษาในหอยแมลงภู่จากแหล่งอ่างศิลา อ่าวศรีราชา ของจังหวัดชลบุรี และหอยแมลงภู่จากบ้านวันยาวล่าง อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี พบว่ามีขนาดและรูปร่างของ oocyst เหมือนกัน จึงคิดว่าน่าจะเป็นชนิดเดียวกันทั้งอ่าวไทย ซึ่งเป็นการกระจายการระบาดในพื้นที่ ที่กว้างมาก และน่าจะเป็นชนิดเดียวกันกับที่พบในหอยแครงที่พบทั้งจากตัวอย่างบ้านบางทราย จังหวัดชลบุรี และหอยแครงจากบ้านวันยาวล่าง อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี เพราะมีขนาดแล้วรูปร่างใกล้เคียงกันมาก และจากการศึกษาครั้งนี้ ได้พบการระบาดของ oocyst ของ *Nematopsis* ในเพรียงเจาะไม้(หอยสองฝาชนิดหนึ่ง) จากบ้านน้ำเขียว จังหวัดตราด พบว่ามีขนาดใกล้เคียงกัน แต่มีความหนาของเปลือก oocyst หนากว่าอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 7 แสดงขนาดของ oocyst ของ *Nematopsis* ที่มีผู้รายงานการค้นพบในหอยแต่ละชนิดจากแหล่งต่างๆ

Authors	Site	<i>Nematopsis</i> type	Mollusk hosts	Size of oocysts	
				length	width
Belofastova, 1996	Black sea, Ukraine	<i>N. incognito</i>	<i>Chamelea gallina</i>	15.7±0.5µm	11.7±0.5µm
			<i>Spisula subtruncata</i>	16.3±0.5µm	11.8±0.5µm
		<i>N. legeri</i>	<i>Mytilus</i>	15.4±0.5µm	7.7±0.5µm
			<i>galloprovincialis</i>	12.7±0.5µm	8.1±0.5µm
			<i>Ostrea edulis</i>	15.6±0.5µm	8.1±0.5µm
			<i>Rissoa splendida</i>	16.5±0.5µm	8.1±0.5µm
			<i>Chamelea gallina</i>		
		<i>N.portunidarum</i>	<i>Cerastoderma lamarcki</i>	14.9±0.6µm	8.9±0.3µm
			<i>Chamelea gallina</i>	10.6±0.2µm	6.8±0.2µm
Canestri-trotti et al., 2000	Italy	<i>Nematopsis</i> sp.	<i>Callista chione</i>	8.1-16.6 µm	5.3-11.1 µm
Padovan et al., 2003	Brazil	<i>N. mytella</i>	<i>Mytella falcata</i>	13.2 µm	8.4 µm
Azevedo & Padovan, 2004	Brazil	<i>N. gigas</i>	<i>Nerita ascencionis</i>	21.9±0.5µm	11.5±0.6µm
This study	Thailand	.	<i>Perna viridis</i>	18.6±0.5µm	12.3±0.5µm
			<i>Anadara granosa</i>	16.7±0.2µm	12.5±0.4µm

สัณฐานวิทยาของ trophozoite ของ *Nematopsis* ที่พบในกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย จากการศึกษาค้นคว้านี้ ไม่มีความแตกต่างกันในกุ้งทั้ง 2 ชนิด โดยพบ *Nematopsis* มีลักษณะคล้ายกันในกุ้งทั้ง 2 ชนิด และสัณฐานวิทยาของ trophozoite ที่พบนั้นมีหลายรูปแบบ แต่ด้วยเหตุที่ผู้วิจัยยังขาดเอกสารเกี่ยวกับ สัณฐานวิทยาภายนอกของ *Nematopsis* แต่ละชนิด ดังนั้นการศึกษาค้นคว้านี้ผู้ทดลองจึงไม่สามารถที่จะจำแนก *Nematopsis* ที่พบ ว่าเป็นชนิดใดบ้าง อีกทั้งยังมีความยุ่งยากเกี่ยวกับรูปแบบของ trophozoite ที่มีอายุต่างกันซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างตลอดเวลา รวมทั้งตำแหน่งของ nucleus ในส่วนของ deutomerite จากการสังเกตพบว่า ตำแหน่งของ nucleus จะเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ซึ่งจะทำให้การวินิจฉัยไม่ตรงกับความเป็นจริง และจากการตรวจสอบเอกสารพบว่ายังมีความขัดแย้งกันในกลุ่มของผู้ที่ศึกษาเรื่องนี้ ซึ่งยังมีการศึกษากันน้อยมาก และส่วนหนึ่งที่ตั้งเป็น species ใหม่คือความจำเพาะของ *Nematopsis* ใน host แต่ละชนิด ซึ่งจากการศึกษาค้นคว้านี้ ก็เป็นรายงานครั้งแรกที่พบ *Nematopsis* ในกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย (ตารางที่ 8) ซึ่งผู้วิจัยกำลังรวบรวมข้อมูลที่มีอยู่ทั้งหมดเพื่อตีพิมพ์เป็น *Nematopsis* ชนิดใหม่ที่พบในประเทศไทยต่อไป

ตารางที่ 8 รายงานการค้นพบ ชนิดของ *Nematopsis* ที่พบในกุ้งแต่ละชนิด

Species	Hosts	Authors
<i>N. penaeus</i>	<i>Farfantepenaeus aztecus</i>	Sprague (1954 cited in Jimenez <i>et al.</i> ,2002)
<i>N. duorari</i>	<i>Farfantepenaeus duorarum</i>	Kruse (1966 cited in Sprague, 1970)
<i>N. brasiliensis</i>	<i>Farfantepenaeus brasiliensis</i>	Feigenbaum (1975 cited in Jimenez <i>et al.</i> ,2002)
<i>N. sinaloensis</i>	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Feigenbaum (1975 cited in Jimenez <i>et al.</i> ,2002)
<i>N. vannamei</i>	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Feigenbaum (1975 cited in Jimenez <i>et al.</i> ,2002)
<i>N. indicus</i>	<i>Fenneropenaeus indicus</i>	Prema and Janardanan (1990)
<i>N. marinus</i>	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Jimenez <i>et al.</i> (2002)
<i>Nematopsis</i> spp.	<i>Penaeus monodon</i> <i>Penaeus merquiensis</i>	This study

การศึกษาด้านจุลกายวิภาค (ultrastructure)

จากการศึกษาด้านจุลกายวิภาค โดยนำตัวอย่าง oocyst ที่ระบาดในหอยแมลงภู่มาทำการตัดเป็นแผ่นบาง แล้วนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน และจากการศึกษาพบมีความแตกต่างจากรายงานการศึกษาของ Azevedo & Cachola, 1992, Azevedo & Matos, 1999, Padovan *et al.*, 2003 และ Azevedo & Padovan, 2004 (ตารางที่ 9) โดยพบว่าส่วนสำคัญที่ใช้เป็นกลังวินิจฉัยจำแนกชนิดนั้นมีขนาดที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน เช่นค่าความหนาของเปลือก oocyst มีความหนาถึง 1.2 μm นับว่ามีความหนามากกว่าที่ได้เคยมีการรายงานไว้เกือบ 2-5 เท่าของ นอกจากนี้ ขนาดของรู micropyle ก็มีขนาดใหญ่กว่าชนิดอื่นๆเกือบ 2 เท่า คือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางถึง 1.8 μm ซึ่งชนิดอื่นมีขนาด .8-1.2 μm นับว่า oocyst ของ *Nematopsis* ชนิดที่พบในประเทศไทยครั้งนี้ มีความโดดเด่น และมีขนาดใหญ่กว่าที่ได้เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ และไม่เคยมีรายงานการค้นพบในหอยแมลงภู่มาก่อนเลย จึงคิดว่า น่าจะเป็นชนิดใหม่ โดยได้ทำการฝากตัวอย่าง paratype ไว้กับองค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ และทำการตีพิมพ์เผยแพร่ต่อไป

ตารางที่ 9 ขนาดความหนาของผนัง และขนาดความกว้างของรู micropyle ของ oocyst ที่พบในหอยแต่ละชนิดที่มีผู้รายงานการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน

Authors	Site	<i>Nematopsis</i> type	Mollusk hosts	Wall thickness	Micropyle diameter
Azevedo & Cachola, 1992	Portugal	<i>Nematopsis</i> sp.	<i>Cerastoderme edule</i> <i>Ruditapes decussatus</i>	0.35 µm	None reported
Azevedo & Matos, 1999	Brazil	<i>N. mytella</i>	<i>Mytella quyanensis</i>	0.7 µm	0.9 µm
Padovan et al., 2003	Brazil	<i>N. mytella</i>	<i>Mytella falcate</i> <i>Crassostea rizophorae</i>	0.6 µm	0.8 µm
Azevedo & Padovan, 2004	Brazil	<i>N. gigas</i>	<i>Nerita ascencionis</i>	0.18-0.25 µm	1.0-1.2 µm
This study	Thailand	<i>N. viridis</i>	<i>Perna viridis</i>	1.2 µm	1.8 µm

ส่วนการศึกษาด้านจุลกายวิภาคใน *Nematopsis* ตัวเต็มวัยที่พบในกังกุลดำ และกังแซบว้ย ได้ทำการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทั้งแบบส่องผ่าน และแบบส่องกลาด ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ ถือได้ว่าเป็นการศึกษาที่ได้เห็นโครงสร้างภายนอกและโครงสร้างภายใน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโครงสร้างของ *Nematopsis* ระยะ gametocyst เป็นครั้งแรก ซึ่งไม่เคยมีใครรายงานมาก่อน โดยเห็นโครงสร้างขนาดเล็กของ gymnospor และ gymnospor แต่ละอันยังประกอบด้วยเซลล์รูปกรวยขนาดเล็กอีกเป็นจำนวนมากซึ่งแต่ละเซลล์ก็มีโครงสร้างภายในที่ประกอบด้วย nucleus 1 อัน อยู่กลางเซลล์ และบริเวณส่วนหัวของเซลล์จะเป็นถุงขนาดเล็ก 8-10 ถุง ภายในบรรจุ secretory granule ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของโปรโตซัว ในกลุ่ม Apicomplexa ที่เป็นปรสิตที่ระบาดในสัตว์ทั่วไป นอกจากนี้ยังได้เห็นโครงสร้างภายนอกของผิว ของ trophozoite ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นบางๆ วางเรียงกันอย่างเป็นระเบียบในแนวตลอดความยาวของลำตัว ซึ่งเป็นภาพที่ได้เห็นครั้งแรกเช่นกัน

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

งานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาการกระจายค่าความชุก และสัณฐานวิทยาของโปรโตซัวปรสิตที่ระบาดในสัตว์น้ำเศรษฐกิจใน 4 จังหวัดภาคตะวันออก ซึ่งยังไม่ครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งของประเทศไทย ที่มีการทำประมงตามชายฝั่ง ดังนั้น ถ้าเป็นไปได้ควรทำการศึกษาให้ครอบคลุมทั้งหมดทั่วประเทศ แต่ไม่จำเป็นต้องมีความถี่มากเพราะจะต้องใช้เวลาเก็บข้อมูลมาก ส่วนการศึกษาในกุ้ง จากรายงานนี้เราพบว่า มีการระบาดในกุ้งธรรมชาติ ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงและระบาดในทุกฤดู หากเป็นไปได้ควรทำการศึกษาในกุ้งที่เลี้ยงตามฟาร์มต่างๆด้วยเพราะยังขาดข้อมูลในส่วนนี้ และการศึกษาเกี่ยวกับวงจรชีวิตของปรสิตชนิดนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ควรที่จะต้องทำการศึกษาต่อไป

ผลงานตามที่ได้คาดไว้ในสัญญาโครงการ

โครงการวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาโปรโตซัวปรสิต *Nematopsis* ซึ่งปรสิตชนิดนี้มีผู้ทำการศึกษากันน้อยมากดังนั้นข้อมูลพื้นฐานที่จะใช้เปรียบเทียบจึงมีน้อยมาก ต้องใช้เวลารวบรวมข้อมูลจากแหล่งต่างๆ จึงทำให้ไม่สามารถตีพิมพ์ได้ทันในช่วงเวลาที่กำหนด และขณะนี้ อยู่ระหว่างดำเนินการ 2 เรื่อง

1. รายงานการค้นพบ new species ในเมืองไทย

Description of *Nematopsis viridis* n. sp. (apicomplexa), Parasite of the Green

Mussel *Perna viridis* (Mytilidae) form Sriracha Bay, Gulf of Thailand

(วารสารที่กำลังติดต่อลงตีพิมพ์ European Journal of Protistology)

2. รายงานการศึกษา gametocyst ด้วยกล้อง TEM และ SEM ซึ่งยังไม่เคยมีใครศึกษามาก่อน

Surface topography and ultrastructure of gametocyst of *Nematopsis* sp.

(วารสารที่กำลังติดต่อลงตีพิมพ์ Diseases of Aquatic Organisms)

(ดั่งตัวอย่างเอกสารแนบ)

Description of *Nematopsis viridis* n. sp. (apicomplexa), Parasite of the Green Mussel *Perna viridis* (Mytilidae) from Sriracha Bay, Gulf of Thailand

Chanawat Tuntiwaranuruk¹, Ardool Meepool², Kashane Chalermwat³, Praparsiri
Kanchanopas-Barnette³, Edward Suchart Upatham²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi, Thailand,
chanawat@buu.ac.th

² Department of Medical Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi,
Thailand

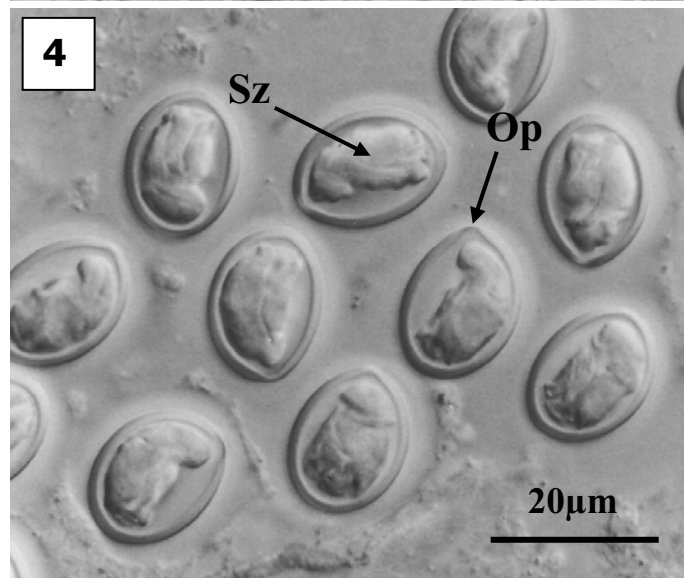
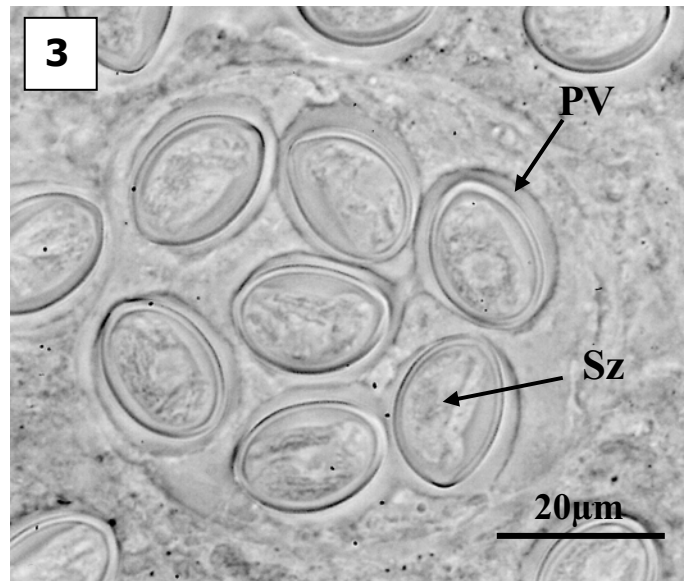
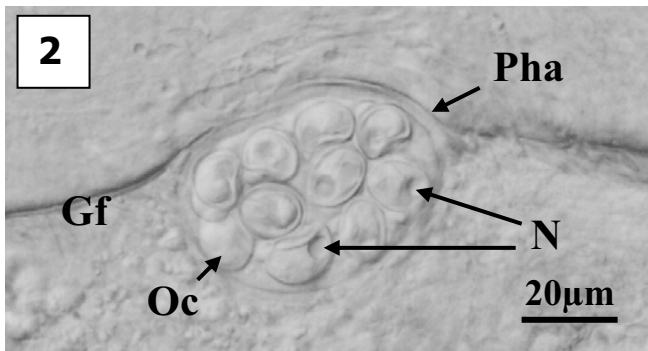
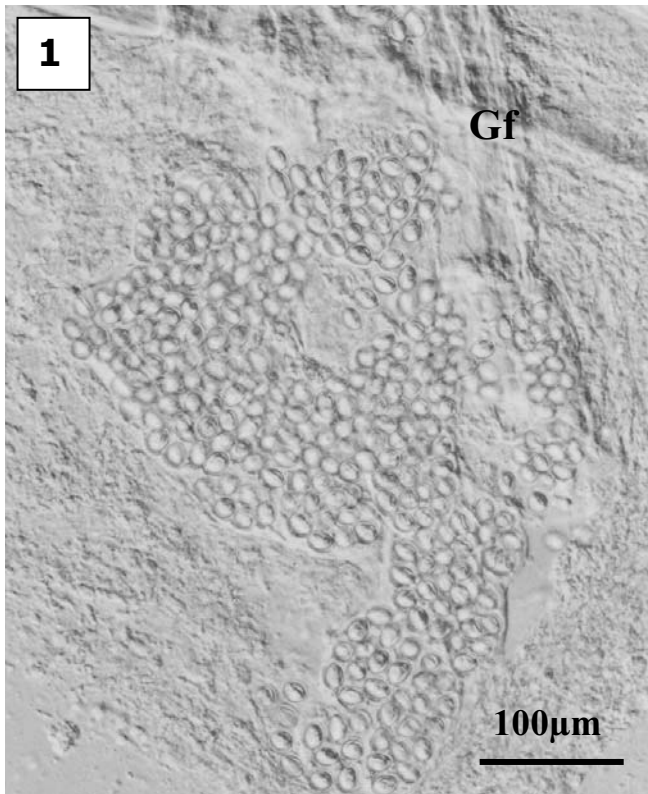
³ Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi,
Thailand,

Key Words. *Nematopsis viridis*, new species, oocyst, phagocyte, ultrastructure

Abstract

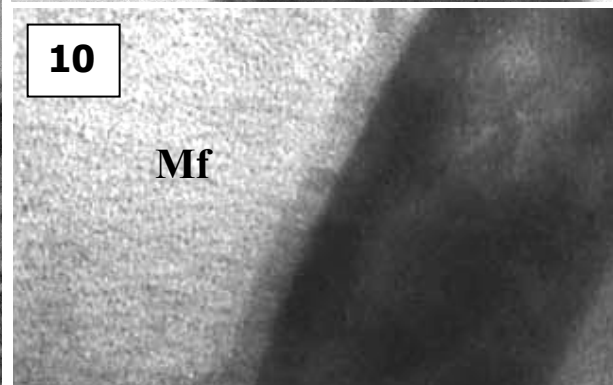
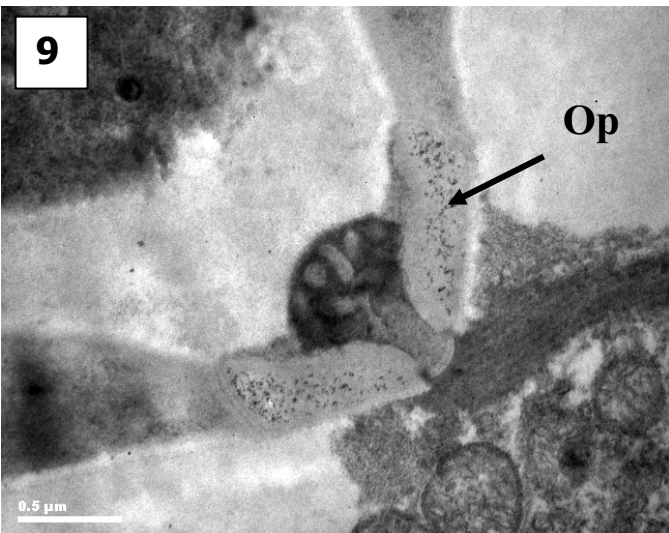
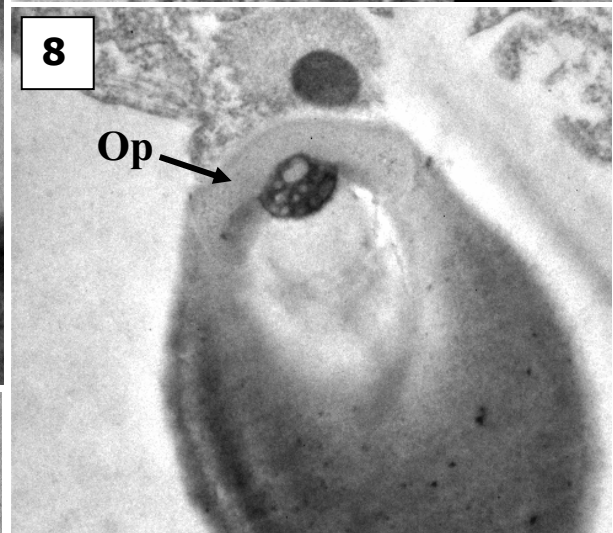
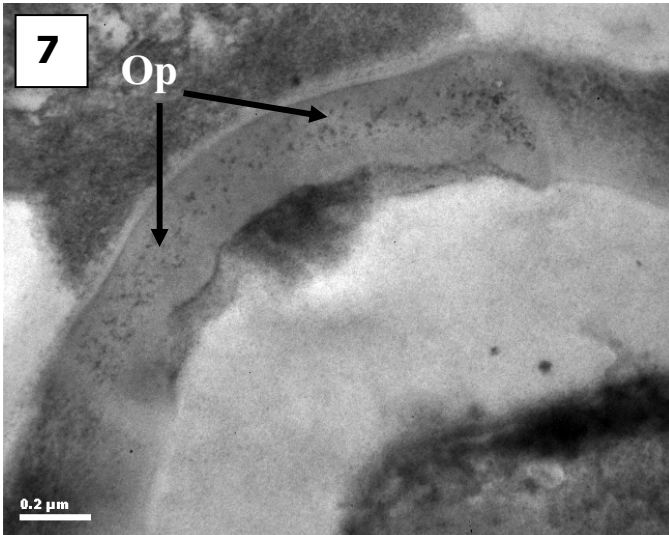
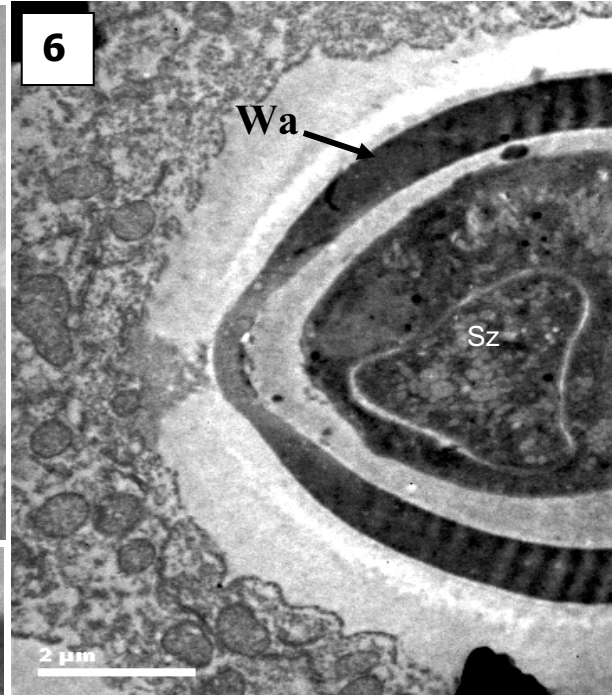
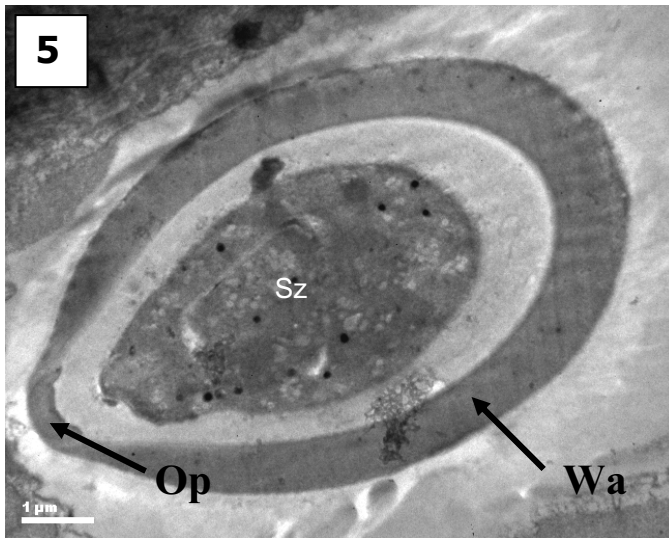
Oocysts of *Nematopsis viridis*, an apicomplexa gregarine parasite of the green mussel *Perna viridis* (Mytilidae) were collected from Sriracha Bay, Gulf of Thailand. The oocysts were examined by the light and transmission electron microscopy. Numerous oocysts, each contained in a parasitophorous vacuole, were found in the cytoplasm of phagocytes in the gill filament of the host. The phagocytes were surrounded by a thin wall composed of lucent material, with each phagocyte containing 6- 46 oocysts (usually 12-24). The oocyst ($18.6 \pm 0.5 \mu\text{m}$ long, and $12.3 \pm 0.5 \mu\text{m}$ wide) consisted of an external wall $1.2 \mu\text{m}$ thick surrounded by an internal, uninucleated sporozoite. The apical region of the wall of each oocyst contained a circular micropyle $1.7 \mu\text{m}$ in diameter covered by an opeculum. The oocyst wall was connected to the PV membrane by a complex network of anastomosed microfibrils and contained 1-2 dense bodies.

On the basis of the data obtained by light and transmission electron microscopy and host specificity, this gregarine was named *Nematopsis viridis* n. sp. and the morphological characteristics of its oocysts were described. This parasite became the first record of *Nematopsis* species in mussel of Thailand.



Gf = Gill filament
 Sz = Sporozoite
 Pha = Phagocyte
 Op = Operculum

PV = Parasitophorous Vacuole
 Oc = Oocyst
 N = Nucleus



Sz = Sporozoite
W = Wall

Op = Operculum
Mf = Microfibrils

Surface topography and ultrastructure of *Nematopsis* sp. gametocyst

Chanawat Tuntiwaranuruk^{1*}, Ardool Meepool², Kashane Chalermwat³ and Edward Suchart Upatham²

¹Department of Biology, ²Department of Medical Sciences, ³Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi, 20131, Thailand.

* Corresponding author: chanawat@buu.ac.th

Abstract

The gametocysts of *Nematopsis* are ball shape and has a diameter of about 110-120 μm . The cyst wall or capsule of gametocyst is winkle surface with a circular bare area at the one pole, which is containing a circular pore with a size of about 5-6 μm in the center. The interior of the gametocyst composed of numerous gymnospires and membranous sacs. The gymnospire is composed of numerous cone shape sporozoites that are radial arrangement as a ball shape structure, and has an average diameter of about 6 μm . The sporozoite, has an average width about 0.6 μm , points the rostral part outward and the caudal part inward, which is connecting to the residual cytoplasm in the centre of the gymnospire. The rostral part of the sporozoite contains predominantly with rough endoplasmic reticulum, mitochondria and a group of secretory granules, whereas the other parts of the cytoplasm contain only the endoplasmic reticulum. The membranous sac is a cytoplasmic island that has an average size of about 1.7 μm , and contains two types of globular bodies: dens spherical and electron lucid granules.

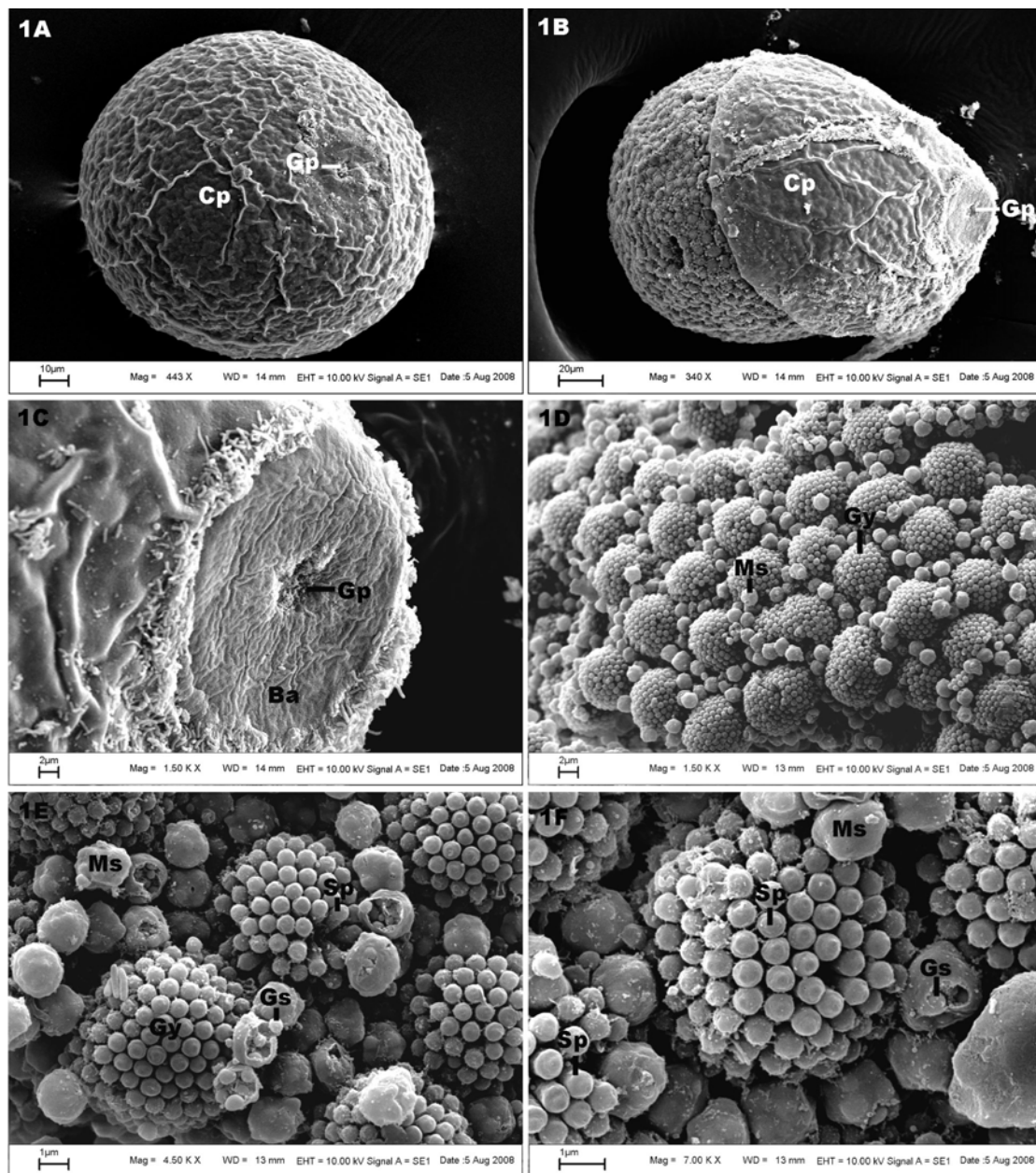


Figure 1

A-B) Low magnification SEM micrographs of normal (A) and ruptured (B) gametocysts of *Nematopsis* protozoa show the external surface of the cyst wall or capsule (Cp) and the gametopore (Gp).

C) A higher magnification SEM micrograph of the gametocyst of the *Nematopsis* protozoa shows the gametopore surrounded by the bare area

D-F) Low (D) medium (E) and high (F) magnification SEM micrographs of the internal part of the gametocyst of the *Nematopsis* protozoa shows numerous gymnospor (Gy) that are composed of a lot of sporeozoites (Sp) and membraneous sac (Ms) containing several globular structure (Gs).

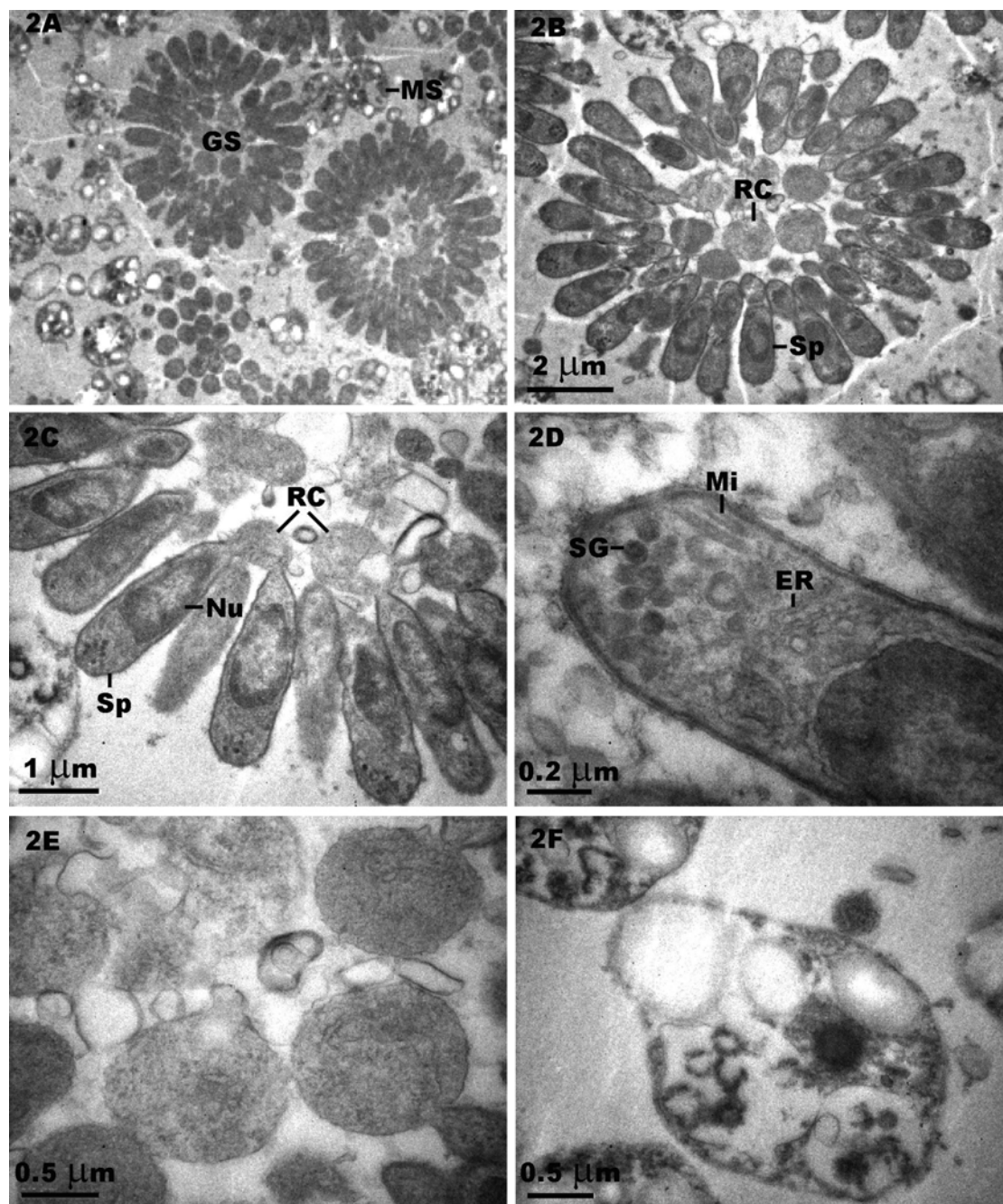


Figure 2

เอกสารอ้างอิง

- ธิดาพร ฉวีภักดิ์, ลีลา เรือนแป้น และ วริษฐา หนูปิ่น. 2552. ปรสิต และแบคทีเรียวิบริโอ ในกุ้งแชบ๊วยธรรมชาติ (*Penaeus merquiensis*) จากบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออก. *เอกสารการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 45* หน้า 592-602.
- Azevedo, C., & Cachola, R. (1992). Fine structure of the apicomplexa oocyst of *Nematopsis* sp. of two marine bivalve molluscs. *Diseases of Aquatic Organisms*, 14, 69-73.
- Azevedo, C., & Matos, E. (1999). Description of *Nematopsis mytella* n. sp. (Apicomplexa), parasite of the mussel *Mytella guyanensis* (Mytelidae) from the Amazon Estuary and description of its oocysts. *European Journal Protistology*, 35, 427-433.
- Azevedo, C., & Padovan, I. P. (2004). *Nematopsis gigas* n. sp. (Apicomplexa), a parasite of *Nerita ascencionis* (Gastropoda, Neritidae) from Brazil. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51, 214-219.
- Belofastova, I. P. (1996). Gregarines of the genus *Nematopsis* (Eugregarinida: Porosporidae), parasites of the Black Sea molluscs. *Parazitologiya*, 30, 159-173.
- Canestri-trotti, G., Bacarani, E. M., & Paesanti, F. (1998). Gregarines of the genus *Nematopsis* (Apicomplexa: porosporidae) in bivalve molluscs of the Adriatic Sea. *Bollettino-Societa-Italiana-di-Patologia-Ittica*, 10, 58-66.
- Canestri-trotti, G., Bacarani, G., Paesanti, F., & Turolla, E. (2000). Monitoring of infections by Protozoa of the genera *Nematopsis*, *Perkinsus* and *Porospora* in the smooth venus clam *Callista chione* from the North-Western Adriatic Sea (Italy). *Diseases of Aquatic Organisms*, 42, 157-161.
- Elston, R.A. 1990. Bonamiasis of the Eurpoean flat oyster. p. 17-21. In: R.A. Elston. Mollusc diseases: guide for the shellfish farmer. University of Washington Press, Seattle.
- 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., Leedale, G. F., & Bradbury, P. (2000). *An illustrated guide to the protozoa* (2nd ed., pp.190-369). USA: Society of Protozoologists, Allen Press.

- Leethochavalit, S., Upatham, S. E., Choi, K-S., Sawangwong, P., Chalermwat, K., & Kruatrachue, M. (2003) Ribosomal RNA characterization of non-transcribed spacer and two internal transcribed spacers with 5.8S ribosomal RNA of *Perkinsus* sp. Found in undulated surf clams (*Paphia undulata*) from Thailand. *Journal of Shellfish Research*, 22, 431-434.
- Padovan, I. P., Tavares, L. A., Corral, L., Padovan, P. A., & Azevedo, C. (2003). Fine structure of the oocyst of *Nematopsis mytella* (Apicomplexa, Porosporidae), a parasite of the mussel, *Mytella falcata* and of the oyster *Crassostrea rizophorae* (Mollusca, Bivalvia) from the Northeastern atlantics coast of Brazil. *Brazil Journal of Morphology Science*, 20(3), 141-145.
- Sprague, V. (1970). Some protozoan parasites and hyperparasites in marine bivalve molluscs. In: F. Stanislas, and C. Snieszko (Eds.), A symposium on diseases of fishes and shellfishes, special publication no.5 (pp. 511-526). Washington D.C.: American Fisheries Society.
- Tuntiwaranuruk, C., Chalermwat, K., Upathum, 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.
- Tuntiwaranuruk, C., & Suppaporngomol, S. (2002). Infection of the protozoa parasite *Nematopsis* in the digestive tract of banana prawn (*Penaeus merquiensis*). *Thaksin Journal*, 5, 1-8. (in Thai).
- Tuntiwaranuruk, C., Chalermwat, K., Pongsakchat, V., Meepool, A., Upathum, E. S., & Kruatrachue, M. 2008. Infection of *Nematopsis* oocysts in different size classes of the farmed mussel *Perna viridis* in Thailand. *Aquaculture*, 281, 12-16.