

การศึกษาปรสิตมิคโซสปอริเดียในปลาทะเลและปลาน้ำกร่อยในบริเวณ
ทะเลสาบสงขลาตอนนอก

The Studies of Parasitic Myxosporidia in Marine and Brackish Water Fish
in the Outer Part of Songkla Lake



รังสฤษฎ์ รุกกมล

Rungsun Rukkamol

๑

เลขที่	01368.118. 762 9544 ค. 2
Bib Key	211261
	2.6 ส.ย. 2544

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Aquatic Science

Prince of Songkla University

2544

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาปฏิกิริยาเคมีของโพลีเอทิลีนในปลาทะเลและปลาน้ำจืดในบริเวณ
ทะเลสาบสงขลาตอนนอก
ผู้เขียน นายรังสฤษดิ์ รักกมล
สาขาวิชา วาริชศาสตร์

คณะกรรมการที่ปรึกษา
..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กิจการ ศุภมาตย์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จินตมาศ สุวรรณจรัส)

คณะกรรมการสอบ
..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กิจการ ศุภมาตย์)

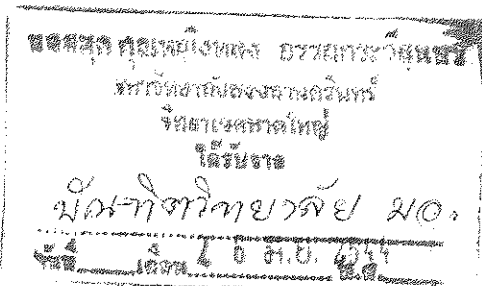
..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จินตมาศ สุวรรณจรัส)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ไพโรจน์ สิริมนตาภรณ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับเป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปิติ ทฤษฎีคุณ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาปรสิตมิโทสปอร์ริเดียในปลาทะเลและปลาน้ำกร่อยในบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก
ผู้เขียน	นายรังสัจญ์ รักกมล
สาขาวิชา	วาริชศาสตร์
ปีการศึกษา	2543

บทคัดย่อ

การศึกษาปรสิตมิโทสปอร์ริเดียในปลาทะเลและปลาน้ำกร่อยบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอกจำนวน 32 ชนิด จากตัวอย่างปลาทั้งหมด 946 ตัว พบปลาที่ติดเชื้อปรสิตมิโทสปอร์ริเดีย 8 ชนิด โดยแยกตามอวัยวะที่ติดเชื้อ คือ ปลาที่ติดเชื้อในถุงน้ำดี ได้แก่ ปลาหัวอ่อน พบ *Zschokkella* sp. และ *Ceratomyxa* sp. ชนิด A จำนวน 32.93 และ 24.39 เปอร์เซ็นต์ ปลาตะกรับ พบ *Myxidium* sp. ชนิด A, *Thelohanellus* sp. และ *Ceratomyxa* sp. ชนิด B จำนวน 11.11, 5.55 และ 3.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลาแป้นเล็ก พบ *Sphaeromyxa* sp. จำนวน 14.66 เปอร์เซ็นต์ ปลาบู่หัว พบ *Myxidium* sp. ชนิด B จำนวน 21.42 เปอร์เซ็นต์ และปลากระทุงเหวปากแดง พบ *Ceratomyxa* sp. ชนิด C จำนวน 18.18 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการติดเชื้อปรสิตแตกต่างกัน สามารถจัดหมวดหมู่ตามหลักอนุกรมวิธานได้ในระดับสกุล การติดเชื้อไม่ส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อแต่มีผลทำให้น้ำดีเปลี่ยนสีและมีความหนืดเพิ่มขึ้น ส่วนปลาที่ติดเชื้อปรสิตในไต ท่อปัสสาวะและเหงือก พบว่าปรสิตที่ตรวจพบทั้งหมดเป็น ระยะเวลาสโมเดียมหรือระยะก่อนสร้างสปอร์ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ ซึ่งพบในไตและท่อปัสสาวะของปลาตะกรับ จำนวน 1.55 และ 12.96 เปอร์เซ็นต์ พบในไตของปลาปักเป้าลายเสือ จำนวน 36.36 เปอร์เซ็นต์ พบในท่อปัสสาวะของปลาบู่ทอง จำนวน 18.75 เปอร์เซ็นต์ และพบในไตและเหงือกของปลากระบอก จำนวน 8.34 และ 16.66 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการติดเชื้อปรสิตส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในช่องว่างของอวัยวะและไม่ส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อ ยกเว้นชนิดที่พบในไตของปลาตะกรับและเหงือกของปลากระบอกซึ่งอยู่รวมกันคล้ายกลุ่มก้อนที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมห่อหุ้มโดยรอบ สำหรับการศึกษาลักษณะโครงสร้างทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของปรสิต *Zschokkella* sp. ที่มีปริมาณการติดเชื้อสูงและประกอบด้วยปรสิตจำนวนมาก พบว่าระยะก่อนสร้างสปอร์ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์และออร์แกเนลล์ชนิดต่างๆแพร่กระจายทั่วไปในชุดพลาสมาโมเดียม ส่วนระยะสร้างสปอร์เซลล์ดังกล่าวมีการพัฒนาการเจริญเติบโตทำหน้าที่ต่างกัน ซึ่งสามารถสังเกตได้ชัดเจนเมื่อ

การผลิตเข้าสู่ระยะสปอร์เต็มวัย คือ ประกอบด้วยเซลล์สร้างเปลือกหุ้มสปอร์ เซลล์สร้างโพลาร์แคปซูล และเซลล์สร้างสปอร์โพลัสซิม

Thesis Title The Studies of Parasitic Myxosporidia in Marine and Brackish Water
Fish in the Outer Part of Songkla Lake

Author Mr. Rungsun Rukkamol

Major Program Aquatic Science

Academic Year 2000

Abstract

The study of parasitic myxosporidia in marine and brackish water fishes in the outer part of Songkla lake was carried out by collecting 946 fish samples belonging to 32 species. Eight species of myxosporidia were identified in various organs, i.e. the gall bladder of *Osteogeneiosus militaris* where *Zschokkella* sp. and *Ceratomyxa* sp. type A with prevalence rate 32.92 and 24.39 percents were recorded. *Scatophagus argus* were infested *Myxidium* sp. type A, *Thelohanellus* sp. and *Ceratomyxa* sp. type B with prevalence rate 11.11, 5.55 and 3.70 percents, respectively. *Leiognathus brevirostris* were infested *Sphaeromyxa* sp. with prevalence rate 14.66 percents, *Acentrogobius cyanomos* were infested *Myxidium* sp. type B with prevalence rate 21.42 percents and infestation of *Ceratomyxa* sp. type C with prevalence rate 18.88 percents in *Hemiramphus gaimardi*. These parasites do not classified and cause any pathological changes of the gall bladder. The stage of infected parasites in the renal tubules and gills of fish were plasmodium or presporogonic stage of unidentified were found in kidney and urinary tract particularly in *Scatophagus argus* with prevalence rate 5.55 and 12.96 percents, infestation in the renal tubules of *Tetraodon fluviatilis* with prevalence rate 36.36 percents, in the urinary tracts of *Glossogobius giuris* with prevalence rate 18.75 percents and in the renal tubules and gills of *Liza subviridis* with prevalence rate 8.34 and 16.66 percents. Most of the parasites reside in the cavity of organs causing no effects on the tissue except type C and F with infection in the kidney of *Scatophagus argus* and gills of *Liza subviridis*. Parasites remain together forming bundles surrounded by connective tissue and phagocytotic cells. The studies of ultrastructure of *Zschokkella* sp. with highly infection and amount showed that the early stage consisting of cell

aggregation and various organelles distributed in the pseudoplasmodium. Later on, the parasites developed in the spore-forming stage and the mature spores consisting of cells that form the spore cases, polar capsules and sporoplasm.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์และได้รับการแนะนำจากบุคคลหลายฝ่ายด้วยกัน ซึ่งเหมาะแก่การยกย่องสรรเสริญและขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. กิจการ ศุภมาตย์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ให้โอกาสทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ โดยคอยชี้แนะการวางแผนการค้นคว้าวิจัย การเขียนรายงานและแก้ไขเพื่อให้ได้มาซึ่งวิทยานิพนธ์ฉบับที่สมบูรณ์ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ จินตมาศ สุวรรณจรัส กรรมการที่ปรึกษาที่คอยชี้แนะการดำเนินการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชูติมา ตันตีกิตติ และคณาจารย์ภาควิชาวาริชศาสตร์ทุกท่านที่คอยชี้แนะและให้กำลังใจมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง กรรมการผู้แทนภาควิชาวาริชศาสตร์ และอาจารย์ ไพโรจน์ สิริมนตาภรณ์ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร. ธีรวุฒิ เลิศสุทธิขวาล และคณาจารย์ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์นครศรีธรรมราช สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ที่คอยแนะนำประสบการณ์การทำวิจัยและคอยเป็นกำลังใจให้แก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ คุณลาภล สุวลักษณ์ และ คุณอารมณ สมบัติมาก ซึ่งเป็นเจ้าหน้าที่หน่วยจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยเอื้อเฟื้อเครื่องมืออุปกรณ์ และสถานที่ทำการวิจัย

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยช่วยเหลือด้านทุนการศึกษา คอยแนะนำและให้กำลังใจในการศึกษาของข้าพเจ้า ขอขอบคุณ คุณนรสิงห์ เพ็ญประไพ คุณวีระพงษ์ เทพอักษร ที่คอยอำนวยความสะดวกในการเก็บรวบรวมตัวอย่างปลา ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ช่วยเหลือทุนอุดหนุนการวิจัย สุดท้ายขอขอบคุณ คุณจวีร์รัตน์ ปานมณี คุณพฤษภา เอนกเมธีพฤษภา คุณสุภาวดีศรีรัฐนิคม คุณนเรศ ช้วนยุค คุณอภิญา ส่งประดิษฐ์ คุณนพดล รักษ์จันทร์ คุณชัยยุทธ อุทิศธรรม นักศึกษาปริญญาโทและนักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาวาริชศาสตร์ และอีกหลายท่านที่มีได้กล่าวนาม ซึ่งคอยส่งเสริม แนะนำ และให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้าด้วยดีเสมอมา คุณประโยชน์จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ข้าพเจ้าขอบแต่ผู้มีพระคุณดังกล่าว รวมทั้งสาธารณชนและประเทศชาติต่อไป

รังสัญ รักกมล

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการภาพ	(11)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(15)
บทที่	
1. บทนำ	
บทนำตั้งเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	2
1. ทะเลสาบสงขลา	2
2. สันฐานวิทยา องค์ประกอบและโครงสร้างของปรสิต มิกโซสปอริเดีย	3
3. ลักษณะทางอนุกรมวิธานของปรสิตมิกโซสปอริเดีย	5
4. วัฏจักรชีวิตและการติดต่อ	6
5. ระยะของปรสิตมิกโซสปอริเดียที่พบในปลา	8
6. การแพร่กระจายของปรสิตมิกโซสปอริเดีย	9
7. ปรสิตมิกโซสปอริเดียที่พบในอวัยวะต่างๆ และพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในปลา	10
8. ผลกระทบของปรสิตมิกโซสปอริเดียต่อการเพาะเลี้ยงปลา	15
9. การตรวจวินิจฉัยโรคที่มีสาเหตุจากปรสิตมิกโซสปอริเดีย	19
10. แนวทางการป้องกันกำจัดและรักษาโรคติดต่อปรสิตมิกโซสปอริเดีย	20
วัตถุประสงค์	23
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	24
	(8)

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
วัสดุ	24
อุปกรณ์	24
วิธีการ	25
1. การเก็บตัวอย่างปลาทดลอง	25
2. การศึกษาปรสิตмикโซสปอริเดีย	26
3. การศึกษาการแพร่กระจายและปริมาณการติดเชื้อปรสิต микโซสปอริเดีย	26
4. การจำแนกชนิดปรสิตмикโซสปอริเดียที่พบในปลาตัวอย่าง	26
5. การศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์ แบบธรรมดา	27
6. การศึกษาโครงสร้างของปรสิตмикโซสปอริเดีย ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	27
3. ผลการทดลอง	28
1. การแพร่กระจายและปริมาณการติดเชื้อปรสิตмикโซสปอริเดีย	28
2. การจำแนกปรสิตмикโซสปอริเดียที่พบในปลาตัวอย่าง	32
3. พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่เกิดจากการติดเชื้อปรสิตмикโซสปอริเดีย	56
4. การศึกษาโครงสร้างของปรสิตмикโซสปอริเดีย ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	69
4. วิจารณ์ผลการศึกษา	63
5. สรุปผลการศึกษา	76
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	90
ภาคผนวก ก. ตัวอย่างปลาที่เก็บรวบรวมได้จากบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก	91
ภาคผนวก ข. สารเคมีและวิธีการ	94
ประวัติผู้เขียน	104

รายการตาราง

หน้า

ตารางที่

1. ชนิดและปริมาณการติดเชื้อปรสิตมิกโซสปอริเดียในตัวอย่างปลา ที่รวบรวมได้จากทะเลสาบสงขลาตอนนอก	29
2. เปรียบเทียบปริมาณการติดเชื้อและการแพร่กระจายของปรสิต มิกโซสปอริเดียจากจุดเก็บตัวอย่างต่างกัน	31
3. เปรียบเทียบลักษณะปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในปลาหัวอ่อน กับปรสิต <i>Zschokkella tetrafluvi</i> ที่พบในปลาปักเป้าลายเสือ	68
4. เปรียบเทียบลักษณะปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในปลาหัวอ่อน กับปรสิต <i>Ceratomyxa acuta</i> ที่พบในปลา <i>Lateolabrax japonicus</i>	69
5. เปรียบเทียบลักษณะปรสิต <i>Myxidium</i> sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในปลาตะกรับ กับปรสิต <i>Myxidium ophicephali</i> ที่พบในปลาช่อน	69
6. เปรียบเทียบลักษณะปรสิต <i>Thelohanellus</i> sp. ที่ตรวจพบในปลาตะกรับ กับปรสิต <i>Thelohanellus pyriformis</i> ที่พบในปลาใน	70
7. เปรียบเทียบลักษณะปรสิต <i>Myxidium</i> sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในปลาบูหัวทุ๋ กับปรสิต <i>Myxidium bajacalifornium</i> ที่พบในปลา <i>Bajacalifornia burraei</i>	70
8. เปรียบเทียบลักษณะปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด C ที่ตรวจพบในปลา กระทุงเหวปากแดงกับปรสิต <i>Ceratomyxa porecta</i> ที่พบในปลา <i>Gymnacanthus herzenstein</i> และปลา <i>Myoxocephalus brandti</i>	71
ตารางภาคผนวก	
ภาคผนวก ก. ตัวอย่างปลาที่รวบรวมได้จากทะเลสาบสงขลาตอนนอก	91

รายการภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ลักษณะปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยระยะก่อนสร้างสปอร์ (ps) และระยะสร้างสปอร์ (ss)	32
2. ลักษณะปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยระยะสร้างสปอร์ (ss) ที่มี 2 สปอร์อยู่ในซิวโดพลาสโมเดียม (spl) และระยะสปอร์เต็มวัย (ms) ที่มีโพลาร์แคปซูล (pc) 2 อัน อยู่ตรงกันข้าม	33
3. ภาพหลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp)	33
4. ลักษณะปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยระยะก่อนสร้างสปอร์ (ps) ระยะสร้างสปอร์ (ss) และระยะสปอร์เต็มวัย (ms)	35
5. ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) อยู่บริเวณด้านหน้าของสปอร์ และเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) ที่มีลักษณะและขนาดแตกต่างกัน	36
6. ภาพหลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp)	36
7. ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต <i>Myxidium</i> sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกระสวย ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) อยู่ตรงกันข้าม และมีสปอร์โรพลาสซึม (sp) แทรกระหว่างกลาง	38
8. ภาพหลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต <i>Myxidium</i> sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp)	39
9. ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต <i>Thelohanellus</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ซึ่งมีลักษณะคล้ายลูกแพร์ ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) 1 อัน อยู่บริเวณด้านหน้าสปอร์ และสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่บริเวณด้านท้ายสปอร์	40

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
10. ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต <i>Thelohanellus</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp)	41
11. ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ซึ่งมีลักษณะโค้งคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) 2 อัน อยู่บริเวณด้านหน้าสปอร์ และสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่บริเวณทางด้านท้ายของสปอร์	42
12. ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp)	43
13. ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต <i>Sphaeromyxa</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาแป้นเล็ก ซึ่งมีลักษณะคล้ายกระสวย ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) 2 อัน อยู่ตรงกันข้าม และมีสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่ตรงกลางสปอร์	44
14. ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต <i>Sphaeromyxa</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาแป้นเล็ก ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp)	45
15. ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต <i>Myxidium</i> sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลานู๋หัวทุ๋ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกระสวย ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) อยู่ตรงกันข้าม และสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่ตรงกลางสปอร์	46
16. ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต <i>Myxidium</i> sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลานู๋หัวทุ๋ ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp)	47
17. ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด C ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลากระทุงเหวปากแดง ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) อยู่บริเวณด้านหน้าสปอร์ และเปลือกหุ้มสปอร์จะยื่นยาวและเรียวแหลม โดยมีสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่ภายใน	48

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
18. ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต <i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด C ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลากระทุงเหวปากแดง ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลามেন্ট (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp)	49
19. ลักษณะปรสิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด A ที่ตรวจพบในท่อไตของปลาน้ำจืดลายเสือ	50
20. ลักษณะปรสิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด B ที่ตรวจพบในท่อไตของปลากระบอก	51
21. ลักษณะปรสิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด C ที่ตรวจพบในไตของปลาตะกรับ	52
22. ลักษณะปรสิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด D ที่ตรวจพบในท่อปัสสาวะของปลาน้ำจืดทอง	53
23. ลักษณะปรสิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด E ที่ตรวจพบในท่อปัสสาวะของปลาตะกรับ	54
24. ลักษณะปรสิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด F ที่ตรวจพบในเหงือกของปลากระบอก	55
25. ลักษณะการติดเชื้อปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน โดยระยะพลาสโมเดียม (p) เกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว (ep) ถุงน้ำดี	57
26. ภาพขยายลักษณะการติดเชื้อปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน	57
27. ลักษณะการติดเชื้อปรสิต <i>Sphaeromyxa</i> sp. ในถุงน้ำดีของปลาเป็นเล็ก โดยระยะพลาสโมเดียม (p) เกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว (ep) และเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องว่างของถุงน้ำดีเมื่อเข้าสู่ระยะสปอร์เต็มวัย (ms)	58
28. ภาพขยายลักษณะการติดเชื้อปรสิต <i>Sphaeromyxa</i> sp. ในถุงน้ำดีของปลาเป็นเล็ก	58
29. ลักษณะระยะก่อนสร้างสปอร์ของปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเซลล์สร้างสปอร์ (sc1) 1-2 เซลล์ อยู่ภายในซูโพลัสโมเดียม (spl)	59

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
30. ลักษณะระยะก่อนสร้างสปอร์ของปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเซลล์สร้างสปอร์ (sc1) 3-4 เซลล์ และมีอนุภาคไกลโคเจน (g) แพร่กระจายทั่วไปในซูโดพลาสโมเดียม (spl)	60
31. ลักษณะระยะก่อนสร้างสปอร์ของปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน โดยมีการยื่นเท้าเทียม (psp) เกาะยึดติดกับไมโครวิลไล (mv) ของเยื่อบุผิวถุงน้ำดี	60
32. ลักษณะระยะสร้างสปอร์ของปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ซึ่งทำหน้าที่ต่างกัน โดยสังเกตเห็นแคปซูลาร์โพรมอเดียม (cp) ได้ชัดเจน	61
33. ลักษณะระยะสร้างสปอร์ของปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วย 2 สปอร์ (s) อยู่ภายในซูโดพลาสโมเดียม (spl) โดยเซลล์ต่างๆ มีการเจริญเติบโตยังไม่สมบูรณ์เต็มที่	61
34. ลักษณะระยะสร้างสปอร์ของปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเซลล์สร้างเปลือกหุ้มสปอร์ (vc) เซลล์สร้างโพลาร์แคปซูล (cc) และเซลล์สร้างสปอร์โรพลาสซึม (sc2)	62
35. ลักษณะระยะสปอร์เต็มวัยของปรสิต <i>Zschokkella</i> sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp) แบบมี 2 นิวเคลียส	62

ตัวย่อและสัญลักษณ์

c	=	เกราะ
cp	=	แคปซูลาร์ไพรมอเดียม
cc	=	เซลล์สร้างโพลาร์แคปซูล
ct	=	เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน
ep	=	เยื่อบุผิว
g	=	ไกลโคเจน
ms	=	สปอร์เต็มวัย
mv	=	ไมโครวิลไล
op	=	ท่อปัสสาวะ
p	=	พลาสโมเดียม
pc	=	โพลาร์แคปซูล
pf	=	โพลาร์ฟีลาเมนต์
ph	=	เซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอม
ps	=	ระยะก่อนสร้างสปอร์
rt	=	ท่อไต
s	=	สปอร์
sc 1	=	เซลล์สร้างสปอร์
sc 2	=	เซลล์สร้างสปอร์โรพลาสซึม
ss	=	ระยะสร้างสปอร์
sp	=	สปอร์โรพลาสซึม
psl	=	ชุดพลาสโมเดียม
psp	=	เท้าเทียม
sv	=	เปลือกหุ้มสปอร์
vc	=	เซลล์สร้างเปลือกหุ้มสปอร์

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจัยหลักของการเกิดโรคในสัตว์น้ำประกอบด้วยสภาพแวดล้อมของแหล่งอาศัย ตัวสัตว์น้ำ และเชื้อโรค (pathogen) โดยสภาพแวดล้อมที่สัตว์น้ำอาศัยเกิดการเปลี่ยนแปลงในทางที่ไม่เหมาะสมส่งผลหรือเหนี่ยวนำให้สัตว์น้ำเกิดความเครียดและอ่อนแอ ประกอบกับเชื้อโรคต้องมีความรุนแรงทำให้เกิดโรคได้ ซึ่งมีหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ปรสิต ตลอดจนสารพิษต่างๆที่ตกค้างอยู่ในแหล่งน้ำ

ปรสิตมิโทสปอร์ริเดียจัดเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีความสำคัญและส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำโดยเฉพาะปลา สามารถก่อให้เกิดโรคในปลาน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ทั้งในกลุ่มที่มีการเพาะเลี้ยงและกลุ่มที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติทั่วโลก ลักษณะโครงสร้างทั่วไปของปรสิตจะเป็นพวกที่สร้างสปอร์ ประกอบด้วยหลายเซลล์ (multicellular) ภายในมีโพลาร์แคปซูล (polar capsule) ตั้งแต่ 1-7 อัน และสปอร์โรพลาสซึม (sporoplasm) ที่มีนิวเคลียสจำนวน 1 อัน (uninucleate) หรือ 2 อัน (binucleate) ปรสิตกลุ่มนี้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายในยุโรป อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ และญี่ปุ่น เนื่องจากก่อให้เกิดโรคและส่งผลเสียหายต่ออุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงปลาหลายชนิด เช่น โรคตัวหมุน (whirling disease) โรคไตบวม (proliferative kidney disease : PKD) และโรคเซอราโตมิโกซีซิส (ceratomyxosis) ในกลุ่มปลาแซลมอน (salmonids) สาเหตุเกิดจากปรสิต *Myxobolus cerebralis* ปรสิตมิโทสปอร์ริเดียระยะก่อนสร้างสปอร์ (presporogonic stage) ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ และปรสิต *Ceratomyxa shasta* ตามลำดับ (Kent and Hedrick, 1985; Hoffmaster et al., 1988; Lorz et al., 1989; Arkush and Hedrick, 1990; Brown et al., 1991) โรคถุงลมอักเสบ (swimbladder inflammation) ในปลาไน (common carp, *Cyprinus carpio*) เกิดจากปรสิต *Sphaerospora renicola* และโรคไตบวม (kidney enlargement disease : KED) ในปลาทอง (goldfish, *Carassius auratus*) เกิดจากปรสิต *Hoferellus carassii* (Molnar, 1988; Yokoyama et al., 1990a) ขณะเดียวกันในเขตร้อนก็สามารถพบการติดเชื้อและก่อให้เกิดโรคได้เช่นกัน ได้แก่ โรคเหงือกบวม (proliferative gill disease : PGD) ในปลากดอเม็กซิกัน (channel catfish, *Ictalurus punctatus*) เกิดจากปรสิต *Sphaerospora ictaluri* (Burtie et al., 1991) สำหรับในประเทศไทยมีการศึกษาปรสิตชนิดนี้กันบ้างเล็กน้อยในปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพียงไม่กี่ชนิดและปรสิต

ที่พบมักจะเป็นชนิดใหม่ ได้แก่ ปลาแรด (giant gorami, *Osphronemus goramy*) พบปรสิติ *Hennegoides longitudinalis* ปลากระรังปากแม่น้ำ (grouper, *Epinephelus malabaricus*) พบปรสิติ *Sphaerospora epinepheli* ปลากบเป้า (pufferfish, *Tetraodon palembangensis*) พบปรสิติ *Sinuolinea tetraodoni* ปลากบเป้าลายเสือ (pufferfish, *Tetraodon fluviatilis*) พบปรสิติ *Zschokkella tetrafluvi*, *Zschokkella pleomorpha* และปรสิติ *Ortholinea fluviatilis* (El-Matbouli and Hoffmann, 1990; Supamattya *et al.*, 1990; Lom *et al.*, 1991; Lom and Dykova, 1995) ขณะที่ในปลาเศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ รวมทั้งปลาที่อาศัยอยู่ประจำถิ่นในแหล่งน้ำธรรมชาติยังไม่มีรายงานการศึกษาปรสิติชนิดนี้เป็นที่ชัดเจนเท่าที่ควร

การศึกษาในครั้งนี้เพื่อต้องการทราบถึงการแพร่กระจายและเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในปลาทะเลและปลาน้ำกร่อยในทะเลสาบสงขลาตอนนอก การตรวจสอบและจัดจำแนกชนิดปรสิติที่พบ ผลของปรสิติต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ โครงสร้างโดยละเอียดของปรสิติด้วยการศึกษาทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เพื่อใช้ข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลเบื้องต้นหรือพื้นฐานในการศึกษาทางด้านโรคสัตว์น้ำ ตลอดจนหาแนวทางป้องกันรักษาต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. ทะเลสาบสงขลา

ทะเลสาบสงขลาตั้งอยู่ระหว่างเส้นรุ้ง (latitude) ที่ 7 องศา 8 ลิปดา ถึง 7 องศา 50 ลิปดา เหนือ เส้นแวง (longtitude) ที่ 100 องศา 7 ลิปดา ถึง 100 องศา 37 ลิปดาตะวันออก ครอบคลุมพื้นที่ในจังหวัดสงขลา พัทลุง และนครศรีธรรมราช โดยแบ่งออกเป็น 3 ตอน ได้แก่ ทะเลน้อย ทะเลหลวง และทะเลสาบสงขลาตอนนอก (เริงชัย, 2535)

ทะเลสาบสงขลาตอนนอกมีอาณาเขตตั้งแต่ปากทะเลสาบบริเวณตำบลหัวเขาถึงช่องแคบปากอ่าว รวมพื้นที่ทั้งหมด 223 ตารางกิโลเมตร มีความลึกเฉลี่ย 1.5 เมตร ยกเว้นปากทะเลสาบมีลักษณะเป็นร่องลึกประมาณ 9.5 เมตร (ณรงค์ และคณะ, 2529) คุณสมบัติของน้ำจะเป็นน้ำเค็มหรือน้ำกร่อย โดยบริเวณตั้งแต่ตำบลหัวเขาถึงเกาะยอมีความเค็มอยู่ในช่วง 25-28 ส่วนในพันส่วน (ppt) และมีสภาพเป็นน้ำจืดในช่วงฤดูฝน เนื่องจากการไหลบ่าของน้ำจากทะเลสาบตอนกลาง ทะเลน้อยและลุ่มน้ำสาขาเข้ามาแทนที่ พื้นทะเลสาบมี 3 แบบ คือ ทรายปนโคลนเล็กน้อย โคลนปนทราย และโคลนเหลว อุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 25-33 องศาเซลเซียส (ไพโรจน์, 2533)

ทรัพยากรสัตว์น้ำจัดเป็นทรัพยากรที่สำคัญของทะเลสาบสงขลาตอนนอกซึ่งมีหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ กุ้ง หอย ปู และปลาชนิดต่างๆซึ่งรวมทั้งปลากระดุกอ่อนและปลากระดุกแข็ง

จากรายงานของ Sirimontaporn (1984) พบว่าปริมาณชนิดปลาที่การแพร่กระจายในบริเวณดังกล่าวมีจำนวนทั้งสิ้น 140 ชนิด โดยชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ ปลากะพงขาว (sea bass, *Lates calcarifer*) ปลากะรังปากแม่น้ำ ปลาดุกทะเล (marine catfish, *Plotosus canius*) ปลากะบอก (mugilids) ปลาจักรผาน (Indian halibut, *Psettodes erumei*) ปลาช่อนทราย (Northern whiting, *Sillago sihama*) ปลาจะละเม็ดดำ (black pomfret, *Parastromateus niger*) เป็นต้น

2. ฐานฐานวิทยา องค์ประกอบและโครงสร้างของปรสิตมิคโซสปอริเดีย

[ปรสิตไฟลัมมิคโซซัว (Myxozoa) มีจำนวนสมาชิกทั้งหมด 16 ครอบครั้ว โดยแต่ละครอบครั้วจะประกอบด้วยสมาชิกหลายชนิดที่มีลักษณะรูปร่างและขนาดแตกต่างกัน] คือ ปรสิตที่มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ ได้แก่ สกุล (genus) *Sphaerospora*, *Myxobolus* และ *Sinuolinea* ปรสิตที่มีลักษณะคล้ายกระสวย (fusiform) ได้แก่ สกุล *Myxidium*, *Sphaeromyxa* และ *Zschokkella* ปรสิตที่มีลักษณะคล้ายรูปดาว ได้แก่ สกุล *Kudoa* และ *Pentacapsula* ขณะที่บางสกุลคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ได้แก่ สกุล *Ceratomyxa* นอกจากนี้ยังมีบางสกุลที่มีเปลือกหุ้มสปอร์ (shell valve) มีการดัดแปลงยื่นยาวไปทางด้านข้างหรือด้านท้ายของสปอร์ ได้แก่ สกุล *Leptotheca*, *Henneguya* และ *Hoferellus* เป็นต้น (Lom and Arthur, 1989)

[ลักษณะโครงสร้างของปรสิตระยะสปอร์เต็มวัย (mature spore) ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ เปลือกหุ้มสปอร์ โพลาร์แคปซูล และสปอร์โรพลาสซึม โดยเปลือกหุ้มสปอร์มีจำนวน 2-7 ฝา แต่ละฝาประกบชนกันทำให้เกิดเป็นสันหรือแนวแกนสปอร์ (sutural line) บริเวณผิวเปลือกหุ้มสปอร์โดยส่วนใหญ่มีลักษณะเรียบ เช่น ปรสิต *Sphaerospora molnari* และ *Myxobolus bulbocordis* (Lom et al., 1983; Masoumian et al., 1996) แต่ในบางชนิด เช่น ปรสิต *Zschokkella heronensis* และ *Myxidium coryphaenoidium* มีลักษณะเป็นสันนูนเรียงตามความยาวสปอร์ (Noble, 1966; Moser et al., 1989) จากการศึกษาส่วนประกอบของเปลือกหุ้มสปอร์พบว่าส่วนใหญ่เป็นสารพวกเซลลูโลส (cellulose) ไคติน (chitin) และสารคล้ายวุ้น (jelly-like substance) ที่มีลักษณะเป็นผิวเมือกปกคลุมอยู่บริเวณชั้นนอกสุด โพลาร์แคปซูลจัดเป็นโครงสร้างที่อยู่ภายในบริเวณตำแหน่งด้านหน้าสปอร์ โดยมีลักษณะกลม รูปไข่หรือรียาว ภายในมีช่องว่างสำหรับบรรจุโพลาร์ฟิลาเมนต์ (polar filament) ประกอบด้วยสารพวกโปรตีนเรียงตัวเป็นชั้นโดยมีเซลล์ออสโมฟิลิคเมมเบรน (osmophilic membrane) ห่อหุ้มทำให้มีความทนทานต่อสารที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง จำนวนโพลาร์แคปซูลมีตั้งแต่ 1-7 อัน ขึ้นอยู่กับแต่ละชนิด ได้แก่ ปรสิตสกุล *Thelohanellus*, *Henneguya* หรือ *Myxobolus*, *Chloromyxum* หรือ *Trilospora*, *Kudoa*, *Pentacapsula*, *Hexacapsula* และสกุล

Septemcapsula ตามลำดับ โพลาร์ฟีลาเมนต์มีลักษณะเป็นเส้นยาวเรียวซึ่งในสภาวะปกติหรือขณะที่ปรสิตฝังตัวอยู่ในปลา ออร์กาเนลล์ (organelle) ส่วนนี้จะหดหมุนเรียงซ้อนทับกันเป็นเกลียว แต่เมื่อมีการปลดปล่อยสู่สภาพแวดล้อมและถูกกินโดยหนอนแดง สปอร์ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ (enzyme) ในระบบทางเดินอาหารมีผลทำให้โพลาร์ฟีลาเมนต์เกิดการเคลื่อนที่ออกมาและเกาะยึดติดกับเยื่อเมิวของลำไส้พร้อมทั้งปล่อยสปอร์โรพลาสซึมเข้าสู่เจ้าบ้าน สำหรับสปอร์โรพลาสซึมจัดเป็นโครงสร้างหรือออร์กาเนลล์ที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งสืบพันธุ์ของปรสิตกลุ่มนี้ โดยมีขนาดใหญ่และอยู่ในบริเวณตอนกลางของสปอร์ บางชนิดอยู่ในตอนท้ายของสปอร์ ได้แก่ ปรสิตสกุล *Ceratomyxa*, *Myxoproteus* และสมาชิกบางชนิดของสกุล *Leptotheca* (Kudo, 1920; Shulman, 1988) ภายในสปอร์โรพลาสซึมประกอบด้วยนิวเคลียสจำนวน 1-2 อัน ขึ้นอยู่กับแต่ละชนิด บริเวณตอนกลางมีลักษณะเป็นช่องว่างที่เรียกว่าไอโอดิโนฟิลัสหรือไกลโคเจน แวกคิวโอล (iodinophilus or glycogen vacuole) ที่มีคาร์โบไฮเดรตพวกเบตา-ไกลโคเจน (β -glycogen) แพร่กระจายอยู่อย่างหนาแน่น

โครงสร้างหรือองค์ประกอบเซลล์ของปรสิตตามรายงานของ Lom และ Dykova (1992) และ Supamattaya และคณะ (1991) คือ เซลล์วัลโวจีนิก (valvogenic cell) เซลล์แคปซูลोजีนิก (capsulogenic cell) และเซลล์สปอร์โรพลาสซึม (sporoplasm cell) โดยเซลล์ดังกล่าวจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับเซลล์สัตว์แบบมีนิวเคลียส (eukaryotic cell) ที่ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) และนิวเคลียส สามารถสังเกตเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (light microscope) แต่เมื่อทำการศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน (transmission electron microscope : TEM) พบว่าภายในไซโตพลาสซึมประกอบด้วยออร์กาเนลล์ที่มีเยื่อหุ้ม ได้แก่ ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) กอลจิคอมเพลกซ์ (golgi complex) เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (endoplasmic reticulum) ชนิดเรียบและหยาบ ไลโซโซม (lysosome) และที่ออร์กาเนลล์ที่ไม่มีเยื่อหุ้ม ได้แก่ นิวคลีโอลัส (nucleolus) เซนทริโอล (centriole) ไรโบโซม (ribosome) และไมโครทิวบูล (microtubule) นอกจากนี้ยังสามารถพบส่วนประกอบที่เป็นรงควัตถุและสารที่ไม่มีชีวิตแพร่กระจายอยู่ทั่วไป ได้แก่ เม็ดสี (pigment) อนุภาคไกลโคเจน และเม็ดแกรนูล (granule) นิวเคลียสมีเยื่อหุ้มเรียกว่านิวเคลียร์เมมเบรน (nuclear membrane) ภายในมีสารพันธุกรรม ได้แก่ กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid) อยู่บนโครโมโซม กรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic acid) และโครมาติน (chromatin) แพร่กระจายทั่วไปโดยเฉพาะบริเวณใกล้ขอบนิวเคลียส

3. ลักษณะทางอนุกรมวิธานของปรสิตมิโซสปอริเดีย

มีรายงานการค้นพบปรสิตมิโซสปอริเดียครั้งแรกในช่วงศตวรรษที่ 19 และมีการจัดหมวดหมู่ให้อยู่ในไฟลัม Protozoa ชั้น Sporozoa ที่มีสมาชิกประกอบด้วยปรสิตกลุ่ม Gregarina Coccidia และ Microsporidia (Shulman, 1988) ต่อมาเมื่อมีการค้นพบและรายงานปรสิตชนิดนี้ อย่างแพร่หลายจึงเป็นสาเหตุทำให้นักปรสิตวิทยาเกิดความสนใจและมีการจัดหมวดหมู่กันมากขึ้น โดย Kudo (1920) ทำการจัดแยกปรสิตกลุ่มนี้ออกจากชั้น Sporozoa โดยตั้งชั้นใหม่ขึ้นมา คือ Cnidosporida ที่ประกอบด้วย 3 อันดับ คือ Myxosporida, Actinosporida และ Microsporida โดยพิจารณาจากโครงสร้างและส่วนประกอบของสปอร์โดยเฉพาะโพลาร์แคปซูล แต่เมื่อทำการศึกษาอย่างละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าปรสิต Microsporidia มีเซลล์เดียว (unicellular) ขณะที่ปรสิต Myxosporida และ Actinosporida มีหลายเซลล์ ได้แก่ เซลล์วัยโจ๊นิก เซลล์แคปซูลโจ๊นิก และเซลล์สปอร์โพลลาสซึม ต่อมาในปี 1980 ก็ได้มีการจัดหมวดหมู่ชั้นใหม่อีกครั้งโดยหน่วยงานที่มีชื่อว่า Committee on Systematics and Evolution of the Society of Protozoologists ได้ทำการแยกปรสิต Microsporidia ออกจากปรสิต Myxosporida ให้อยู่ในไฟลัม Microsporida (Levine *et al.*, 1980) สำหรับการจัดหมวดหมู่ของปรสิตชนิดนี้ครั้งล่าสุดและเป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน คือ [การจัดของ Lom และ Noble (1984) โดยพิจารณาจากลักษณะรูปร่าง ขนาด ร่วมกับโครงสร้างและองค์ประกอบโดยละเอียด ได้แก่ ลักษณะและจำนวนของเปลือกหุ้มและรอยแนวแกนสปอร์ โพลาร์แคปซูลและโพลาร์ฟิลาเมนต์ และสปอร์โพลลาสซึม ซึ่งจากการจัดหมวดหมู่ตามรายงานดังกล่าวสามารถสรุปรายละเอียดทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Phylum	Myxozoa	Grasse, 1970
Class	Myxosporida	Butschli, 1881
Order	Bivalvulida	Shulman, 1959
Suborder	Sphaeromyxidae	- <i>Sphaeromyxa</i>
Suborder	Variisporina	Suborer n.
Family	Myxidiidae	- <i>Myxidium</i> , <i>Zschokkella</i>
Family	Ortholineidae	- <i>Ortholinea</i>
Family	Sinuolineidae	- <i>Sinuolinea</i> , <i>Myxoproteus</i>
Family	Febesporidae	- <i>Febespora</i>
Family	Ceratomyxidae	- <i>Ceratomyxa</i> , <i>Leptotheca</i>
Family	Sphaerosporidae	- <i>Sphaerospora</i> , <i>Mitraspora</i>

Family	Chloromyxidae	- <i>Chloromyxum</i>
Family	Auerbachiiidae	- <i>Aeurbachia</i>
Family	Alatosporidae	- <i>Alatospora</i>
Family	Parvicapsulidae	- <i>Parvicapsula</i>
Suborder	Platysporina	Kudo, 1919
Family	Myxobolidae	- <i>Myxobolus</i> , <i>Henneguya</i>
Order	Multivalvulida	Shulman, 1959
Family	Trilosporidae	- <i>Unicapsula</i>
Family	Kudoidae	- <i>Kudoa</i>
Family	Pentacapsulidae	- <i>Pentacapsula</i>
Family	Hexacapsulidae	- <i>Hexacapsula</i>

การจัดแยกชนิดของปรสิตชนิดนี้ในปัจจุบันมีการจัดทำอย่างละเอียดและถูกต้องแม่นยำมากขึ้น โดยใช้ข้อมูลพื้นฐานของโครงสร้างและองค์ประกอบของสปอร์ร่วมกับคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ การตรวจกรดอะมิโน (amino acid) ลักษณะความจำเพาะเจาะจงของแอนติบอดีโดยใช้วิธีโมโนโคลนัลหรือโพลีโคลนัล แอนติบอดี (monoclonal or polyclonal antibody) รวมทั้งการตรวจสอบสารพันธุกรรมโดยอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (polymerase chain reaction) มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจวินิจฉัยโรคตัวหมุน โรคไตบวม และโรคเซอราโตมิกโซซิสที่เกิดการแพร่ระบาดในกลุ่มปลาแซลมอน (Markiw and Wolf, 1978; Adams *et al.*, 1992; DeMateo *et al.*, 1993; DeMateo *et al.*, 1997; Saulnier and DeKinkelin, 1997)

4. วัฏจักรชีวิตและการติดต่อของปรสิตมิโซสปอริเดีย

การศึกษาวัฏจักรชีวิตของปรสิตมิโซสปอริเดียในระยะแรกมีนักปรสิตวิทยาหลายท่านทำการศึกษาทดลองและได้ข้อสรุปว่าปรสิตชนิดนี้เจริญเติบโตจากระยะวัยอ่อนถึงระยะเต็มวัยอยู่ในเจ้าบ้าน (host) เพียงตัวเดียว ได้แก่ สัตว์มีกระดูกสันหลังจำพวกปลาเป็นส่วนใหญ่และพบบ้างเล็กน้อยในสัตว์เลื้อยคลาน สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ รวมทั้งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ได้แก่ หนอนตัวแบน และสัตว์กลุ่มแมลง ปรสิตเข้าสู่เจ้าบ้านโดยการกินสปอร์เข้าไปโดยตรงและถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารมีผลทำให้สปอร์โรพลาสซึมถูกปล่อยออกมาเกาะและแทรกซึมผ่านผนังลำไส้ไปสู่อวัยวะเป้าหมายด้วยตัวเองหรือถูกพัดพาไปตามกระแสเลือด หลังจากนั้นปรสิตมีการเจริญเติบโตด้วยการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนพัฒนากลายเป็นสปอร์เต็มวัย สำหรับการติดต่อไปยังเจ้าบ้านตัวอื่น

โดยการกินปลาติดเชื้อหรือสปอร์ที่ถูกปลดปล่อยเป็นอิสระอยู่ในแหล่งน้ำ ทฤษฎีดังกล่าวนี้มีการเข้าใจและยึดถือเป็นเวลานานหลายปี (Bauer, 1962; Hoffmann and Meyer, 1974 ; Kudo, 1977)

Taylor และ Lott (1978) เกิดข้อสงสัยและตั้งสมมุติฐานว่านกกินปลาและสิ่งมีชีวิตหน้าดินขนาดเล็กอาจเป็นสาเหตุการแพร่ระบาดของโรคตัวหมอนที่เกิดขึ้นในกลุ่มปลาเซลมอน จึงทำการศึกษาโดยใช้มูลเป็ดมัลลาร์ด (mallard ducks, *Anas platyrhynchos* และมูลนกเฮอรอน (*Heron, Nyctycorax nycticorax*) ที่มีสปอร์ของปรสิต *Myxobolus cerebralis* ปะปนอยู่ผสมอาหารให้ปลา กิน พบว่าปลาทดลองที่ได้รับมูลเป็ด มูลนกพร้อมกับโคลนซึ่งนำมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติเกิดการติดเชื้อทั้งหมด ขณะที่กลุ่มปลาทดลองที่ได้รับมูลเป็ด มูลนกหรือโคลนเพียงอย่างเดียวไม่พบการติดเชื้อหลังจากเลี้ยงนาน 7 เดือน จากการทดลองดังกล่าวทำให้นักปรสิตวิทยาเข้าใจวัฏจักรชีวิตที่แท้จริงของปรสิตชนิดนี้ซึ่งจำเป็นเจ้าบ้านตัวกลาง (intermediate host) เพื่อให้ปรสิตเข้าไปพัฒนา ระยะและเจริญเติบโตก่อนที่จะเข้าไปอาศัยในเจ้าบ้านตัวสุดท้าย (definitive host) ซึ่งประสบความสำเร็จโดย Wolf และ Markiw (1984) ทำการศึกษาวัฏจักรชีวิตของปรสิต *Myxobolus cerebralis* พบว่าปรสิตต้องการเจ้าบ้านถึง 2 ชนิดด้วยกัน โดยที่เจ้าบ้านตัวกลาง ได้แก่ หนอนแดง (*Tubifex tubifex*) ระยะปรสิตที่พบ คือ แอคติโนสปอร์เรีย (actinosporea) ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Actinomyxon gyrosalmo* จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าหลังจากปลาเทราท์ติดเชื้อโรคตัวหมอนตายลงก็ปลดปล่อยสปอร์ของปรสิตลงสู่สภาพแวดล้อมโดยเฉพาะบริเวณพื้นโคลนใต้น้ำ และถูกกินโดยหนอนแดง ช่วงดังกล่าวปรสิตมีการเจริญเติบโตพัฒนาตัวเองอยู่ในผนังลำไส้ของหนอนแดงกลายเป็นระยะแอคติโนสปอร์เรียซึ่งจัดเป็นระยะติดต่อกันและเคลื่อนย้ายออกสู่แหล่งน้ำ เข้ายึดเกาะเหงือก เกิด ครีบ หรือถูกปลากินโดยตรงขณะอยู่ในหนอนแดง เมื่อปรสิตเจริญเติบโตกลายเป็นสปอร์เต็มวัยมีผลทำให้ปลาเจ้าบ้านแสดงอาการของโรคออกมา คือ เกิดการสะสมของเม็ดสีบริเวณคอดหาง มีลักษณะเป็นสีดำ เกิดการคดงอและบิดเบี้ยวของกระดูกสันหลัง ขากรรไกร และกระดูกปิดเหงือก ระยะสุดท้ายเป็นช่วงที่มีการติดเชื้ออย่างรุนแรงพบว่าปรสิตทำลายกระดูกอ่อนบริเวณสมองมีผลทำให้ปลาสูญเสียการทรงตัว วายน้ำหนมนควงส่วและตายในที่สุด รวมระยะเวลาทั้งหมดตลอดวัฏจักรชีวิตประมาณ 8 เดือน

หลังจากมีการนำเอาทฤษฎีวัฏจักรชีวิตแบบใหม่มานำเสนอเป็นรายงานทางวิชาการ ทำให้นักปรสิตวิทยาศึกษาวิจัยมากขึ้นเพื่อพิสูจน์และยืนยันสนับสนุน โดย El-Matbouli และ Hoffmann (1989) ศึกษาการยอมรับเชื้อปรสิต *Myxobolus cotti* ในปลาบูลล์เฮด (bullhead, *Cottus gobio*) โดยให้ปลากินหนอนแดงที่มีตัวอ่อนปรสิต *Triactinomyxon* sp. เมื่อทำการตรวจสอบพบว่าเกิดการติดเชื้อระยะพลาสโมเดียม (plasmodium stage) และสปอร์เต็มวัยในบริเวณเนื้อเยื่อประสาทและสมอง ขณะเดียวกัน Yogyama และคณะ (1991) รายงานการติดเชื้อปรสิต *Myxobolus* sp.

ในเหงือกปลาทอง หลังจากได้รับเชื้อโดยการกินหนอนแดงชนิด *Branchiura sowerbyi* ที่มีตัวอ่อนปรสิตชนิด *Rabeia* sp. ประมาณ 30 วัน และ 90 วัน สามารถพบพลาสโมเดียมและสปอร์เต็มวัยตามลำดับ สำหรับการศึกษานี้ในปรสิตชนิดอื่น ได้แก่ Molnar และ Kovacs-Gayer (1986) รายงานการติดต่อของปรสิต *Sphaerospora renicola* อันเป็นสาเหตุของโรคถุงลมอักเสบในปลาไนโดยใช้เลือดและไตของปลาป่วยบดละเอียดที่มีปรสิตระยะวัยอ่อนเป็นส่วนประกอบฉีดเข้าท้องปลาทดลอง เมื่อทำการตรวจสอบสามารถพบปรสิตระยะสร้างสปอร์จำนวนมากในบริเวณท่อไตหลังได้รับเชื้อนาน 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นมีการดัดแปลงวิธีการดังกล่าวไปใช้ศึกษาการติดต่อของปรสิต *Ceratomyxa shasta* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเซอราโตมิกโซซิสในปลาเรนโบว์เทราท์ (rainbow trout, *Salmo gairdneri*) โดยใช้ของเหลวในช่องท้องปลาป่วยฉีดให้ปลาทดลอง พบว่าหลังจากเลี้ยงนาน 3 เดือน จึงแสดงอาการของโรคออกมา (Bartholomew et al., 1989)

5. ระยะของปรสิตมิโกสปอร์ริเดียที่พบในปลา

หลังจากปลาได้รับเชื้อโดยการกินหรือการเข้ายึดเกาะของปรสิตระยะแอคติโนสปอร์เรียในบริเวณครีบ ผิวหนัง ช่องทางเดินอาหาร พบว่าปรสิตมีการปลดปล่อยสปอร์โรพลาสซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อเจ้าบ้าน และมีการแบ่งตัวแบบพหุภาค (mitosis) ภายใน 8 ชั่วโมง พัฒนาการการเจริญเติบโตกลายเป็นไซโกต (zygote) ที่มีลักษณะคล้ายอมีบาเรียกว่าอมีบูลา (amebula) ระยะดังกล่าวมีการเคลื่อนที่ด้วยตัวเองหรือถูกพัดพาไปตามกระแสเลือดแทรกตัวเข้าไปในเนื้อเยื่อเจ้าบ้าน เมื่อพบบริเวณที่เหมาะสมก็เจริญเติบโตเป็นโทรโฟซอยท์ (trophozoite) ด้วยการแบ่งนิวเคลียสหลายครั้งและสร้างไซโตพลาสซึมใหญ่ขึ้นจนกระทั่งเข้าสู่ระยะพลาสโมเดียมหรือซูโดพลาสโมเดียม (pseudoplasmodium) ภายในประกอบด้วยเซลล์แม่ (primary cell) เซลล์ลูก (secondary cell) และเซลล์หลาน (tertiary cell) โดยจำนวนเซลล์เหล่านี้แตกต่างกันตามชนิดของปรสิต Lom และคณะ (1985) รายงานปรสิต *Sphaerospora gobionis* ในปลาบู๊กัดเจียน (gudgeon, *Gobio gobio*) พบว่าซูโดพลาสโมเดียมประกอบด้วยเซลล์แม่ขนาด 16 ไมครอน ที่มีผนัง (membrane) หุ้มภายในมีเซลล์ลูกและเซลล์หลานอย่างละ 8 เซลล์ ขณะที่ปรสิต *Sphaerospora truttae* ซึ่งพบในปลาแอตแลนติกแซลมอน (Atlantic salmon, *Salmo salar*) พบว่าปรสิตระยะดังกล่าวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 60 ไมครอน ประกอบด้วยเซลล์ลูกจำนวน 120 เซลล์ และเซลล์หลานเล็กน้อยอยู่ในเซลล์แม่เนื่องจากเซลล์ส่วนใหญ่ยังไม่การเจริญเติบโตพอที่จะแบ่งตัวได้ (McGeorge et al., 1994) สำหรับปรสิต *Hofereilus carassii* อันเป็นสาเหตุของโรคไตในปลาทอง มีระยะวัยอ่อนแบบพลาสโมเดียมที่มีขนาด 10-17 ไมครอน ภายในสามารถพบเซลล์ขั้นที่สี่ (quarternary cell) เจริญเติบโตอยู่ในเซลล์ขั้นที่สามหรือเซลล์หลาน (Yokoyama et al., 1990b)

ระยะพลาสโมเดียมหรือซูดอพลาสโมเดียมของปรสิตมิคโซสปอร์ริเดียในแต่ละครอบครัวหรือแต่ละชนิดมีลักษณะรูปร่าง ขนาด และจำนวนเซลล์แตกต่างกัน ปรสิตที่มีระยะวัยอ่อนแบบพลาสโมเดียมภายในจะมีการแบ่งเซลล์โดยที่นิวเคลียสแต่ละอันมีการสร้างไซโตพลาสซึมล้อมรอบพัฒนามากลายเป็นเซลล์สำหรับแพร่พันธุ์ (generative cell) ต่อมาเซลล์เหล่านี้แบ่งตัวหลายครั้งได้เซลล์ที่มีนิวเคลียสจำนวนมาก (pansporoblast) และสร้างสปอร์โรบลาส (sporoblast) ที่เจริญเติบโตกลายเป็นสปอร์เต็มวัยจำนวนมากอยู่ในพลาสโมเดียม (polysporous plasmodium) ได้แก่ปรสิตสกุล *Myxobolus*, *Henneguya* และ *Myxidium* เป็นต้น (Kudo, 1920; Current, 1979) สำหรับปรสิตที่มีระยะวัยอ่อนแบบซูดอพลาสโมเดียมภายในจะประกอบด้วยเซลล์ทำหน้าที่สร้างสปอร์ (sporogonic cell) และเจริญเติบโตโดยการแบ่งตัวที่มีนิวเคลียสน้อยกว่าแบบพลาสโมเดียม ต่อมา มีการสร้างสปอร์โรบลาสหรือสปอร์รอนท์พัฒนาเข้าสู่ระยะสร้างสปอร์ (sporogonic stage) ที่ประกอบด้วย 2 สปอร์ อยู่ใน (disporous pseudoplasmodium) จากการศึกษาในระยะสร้างสปอร์ของปรสิต *Parvicapsula renalis* ในท่อไตปลาเรดดรัม (red drum, *Sciaenops ocellatus*) พบว่าซูดอพลาสโมเดียมมีลักษณะรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 ไมครอน ภายในประกอบด้วยเซลล์สร้างสปอร์ 2 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มมีจำนวน 6 เซลล์ หลังจากนั้นมีการเจริญเติบโตพัฒนาทำหน้าที่ต่างกัน คือ เซลล์สร้างเปลือกหุ้มสปอร์ เซลล์สร้างโพลาไรแคปซูล และเซลล์สร้างสปอร์โรพลาสซึม เมื่อปรสิตเข้าสู่ระยะสปอร์เต็มวัยพบว่าซูดอพลาสโมเดียมเกิดการเสื่อมสลายมีผลทำให้ปรสิตถูกปลดปล่อยออกอย่างอิสระในท่อไต (Landsberg, 1993a)

6. การแพร่กระจายของปรสิตมิคโซสปอร์ริเดีย

[การแพร่กระจายในแง่สภาพทางภูมิศาสตร์พบว่าปรสิตกลุ่มนี้แพร่กระจายได้ทั่วโลก ได้แก่ทวีปอเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ ยุโรป แอฟริกา ออสเตรเลีย เอเชีย และเขตทั่วโลก สามารถพบได้ในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ตัวอย่างปรสิตที่พบในแหล่งน้ำดังกล่าวตามรายงานของ Shulman (1988) คือ สกุลที่พบได้บ่อยในแหล่งน้ำจืด ได้แก่ *Platyspora*, *Myxobolus*, *Hofereilus*, *Henneguya*, *Thelohanellus*, และ *Agarella* ในแหล่งน้ำกร่อย ได้แก่ สกุล *Zschokkella* และ *Ceratomyxa* ในแหล่งน้ำเค็ม ได้แก่ สกุล *Sinuolinea*, *Ortholinea*, *Myxoproteus*, *Coccomyxa* และปรสิต *Unicapsula* นอกจากนี้ยังมีสกุลที่พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำทั้ง 3 แหล่ง ได้แก่ สกุล *Myxidium*, *Myxobilatus*, *Sphaeromyxa* และปรสิต *Chloromyxum* เป็นต้น สาเหตุหรือปัจจัยที่สนับสนุนทำให้ปรสิตมีการแพร่กระจายได้อย่างกว้างขวางตามรายงานของ Lom และ Dykova (1992) คือ ปรสิตกลุ่มนี้มีการสร้างสปอร์ที่ยากต่อการโดนทำลายและพบว่าบางชนิดสามารถมีชีวิตอยู่ในแหล่งน้ำโดยปราศจากเจ้าบ้านได้นานถึง 15 ปี รวมทั้งมีการพัฒนาดัดแปลงลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่

การสร้างเปลือกหุ้มสปอร์ให้หนากว่าปกติและมีเยื่อเมือกปกคลุมหรือมีส่วนหนึ่งส่วนของสปอร์ยื่นยาวออกมาที่มีลักษณะคล้ายปีกหรือหางเพื่อเพิ่มความสามารถของการล่องลอยอยู่ในกระแสน้ำ หลังจากถูกปลดปล่อยออกจากเจ้าบ้าน ขณะเดียวกันปัจจัยทางธรรมชาติ เช่น คลื่น กระแสน้ำ กระแสลม รวมทั้งพฤติกรรมการกินอาหาร การอพยพย้ายถิ่นของเจ้าบ้านล้วนแต่มีผลต่อการแพร่กระจายทั้งสิ้น]

การแพร่กระจายของปรสิตในแง่เจ้าบ้านที่ปรสิตอาศัยอยู่พบว่ามีหลายกลุ่มด้วยกัน โดยเฉพาะสัตว์มีกระดูกสันหลังจำพวกปลากระดูกแข็งและมีรายงานบ้างเล็กน้อยในปลากระดูกอ่อน (Kudo, 1920) ขณะที่เจ้าบ้านกลุ่มอื่น ๆ ที่มีรายงานปรสิตชนิดนี้ คือ สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ ได้แก่ กบ *Rana catesbeiana* คางคก *Bufo lentiginosus* และ *Bufo marinus* พบปรสิต *Sphaerospora ohlmacheri*, *Wardia ohlmacheri* และปรสิต *Sphaerospora immersa* ตามลำดับ ในสัตว์เลื้อยคลาน ได้แก่ ตะพาบน้ำ *Trionyx spinifera* พบปรสิต *Myxobolus americanum* ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ได้แก่ หนอนตัวแบน *Crassicutis archosagi* และแมลง *Tortric viridana* ปรสิตที่พบ คือ *Febespora vermicola* และ *Chloromyxum diploxis* ตามลำดับ (Kudo, 1920; Overstreet, 1976; Dessler et al., 1986)

7. ปรสิตมิซอสปอร์ริเดียที่พบในอวัยวะต่างๆและพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในปลา

ปรสิตมิซอสปอร์ริเดียแต่ละชนิดหรือแต่ละระยะการเปลี่ยนแปลงของการเจริญเติบโตจะมีความจำเพาะกับอวัยวะเป้าหมายแตกต่างกัน โดยทั่วไปสามารถแบ่งประเภทปรสิตตามลักษณะโครงสร้างของอวัยวะเป้าหมายที่อาศัยอยู่ คือ พวกที่อาศัยอยู่ในช่องว่าง (coelozoic) และภายในเนื้อเยื่อ (histozoic) ของเจ้าบ้านส่งผลทำให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีระดับความรุนแรงและอันตรายที่เกิดขึ้นแตกต่างกันตามชนิดปรสิตที่เป็นสาเหตุของโรค

7.1 เหงือก เกล็ด ครีบและผิวหนัง (gills, scales, fins and skin)

Shariff (1982) รายงานปรสิต *Henneguya shaharini* ในเหงือกปลามาร์เบิล (marble goby, *Oxyeleotris marmoratus*) พบว่าปรสิตทำลายเนื้อเยื่อและก่อให้เกิดพยาธิสภาพที่มีลักษณะเช่นเดียวกับรายงานของ Roubal (1994) โดยตรวจพบปรสิต *Henneguya* sp. ในเหงือกปลาริมครีบเหลือง (yellowfin bream, *Acanthopagrus australis*) คือ พบปรสิตระยะพลาสโมเดียมและสปอร์เต็มวัยอยู่ภายในเกราะ (cyst) ที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ห่อหุ้มโดยรอบ และมีเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆแพร่กระจายทั่วไป โดยเฉพาะอีโอซิโนฟิล (eosinophil) และมาโครฟาจ (macrophage) แต่ในกรณีปลาติดเชื้อรุนแรง พบว่าเซลล์บุผิวบริเวณไพรมารี ลามลลา (primary lamella) และเซคคันดารี ลามลลา (secondary lamella) มีการเพิ่มจำนวน

(hyperphasia) และขยายขนาด (hypertrophy) ส่งผลทำให้เกิดการเชื่อมติดกัน ปรสิตรชนิดอื่นที่มีรายงานการติดเชื้อในเหงือก ได้แก่ ปรสิตร *Myxobolus centropomi* ในปลาฟิราลคอมมอนสน็อก (feral common snook, *Centropomus undecimalis*) ปรสิตร *Myxobolus toyamai* และ *Myxobolus* sp. ในปลาไนและปลาทองตามลำดับ พบว่าปรสิตรสร้างเกราะอยู่ภายในและระหว่าง เซลล์คันดารี ลาเมลลา โดยก่อให้เกิดพยาธิสภาพที่มีลักษณะเช่นเดียวกับปลาติดเชื้อปรสิตรสกุล *Henneguya* ดังกล่าวข้างต้น คือ เกิดการขยายขนาดและเพิ่มจำนวนเซลล์บุผิวและเซลล์ค้ำจุน (pillar cell) ร่วมกับการอักเสบอย่างรุนแรงในบริเวณที่มีการติดเชื้อและใกล้เคียง (Yokoyama *et al.*, 1992; Landsberg, 1993b) สำหรับปรสิตร *Coccomyxa hoffmani* ที่มีรายงานการติดเชื้อ โดยปรสิตรสร้างเกราะและแทรกตัวอยู่ในกระดูกอ่อนของแกนเหงือกและไพรมารี ลาเมลลา ของปลา ดุกทะเล (coral catfish, *Plotosus anguillaris*) (Cheung and Nigrelli, 1990) Shulman (1988) รายงานปรสิตร *Myxobolus squamae* และ *Myxobolus dermatobia* ในเกล็ดและผิวหนังของปลา ไนและปลาดีลเฮดเทราร์ท (steelhead trout, *Salmo gairdneri*) ตามลำดับ พบว่าปรสิตรสร้างเกราะมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนคล้ายเนื้องอกแพร่กระจายทั่วลำตัวโดยเฉพาะส่วนหัวใกล้ปากและรอบๆดวงตา ขณะเดียวกัน Egusa และคณะ (1990) ทำการตรวจสอบปรสิตรในปลากระบอก (mullet, *Mugil cephalus*) โดยพบปรสิตร *Myxobolus episqualmalis* ในเกล็ดมีผลทำให้เกล็ดถูกทำลายเสียรูปทรงและหลุดลอกออกจากผิวหนังเนื่องจากติดเชื้อซ้ำ (secondary infection) โดยแบคทีเรียและเชื้อรา สำหรับปรสิตร *Myxobolus aureatus* ซึ่งรายงานพบบริเวณครีบและผิวหนังของปลาแพทเฮดมินนาว (fathead minnow, *Pimephales promelas*) พบว่าปรสิตรสร้างเกราะที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันห่อหุ้มเป็นชั้นหนาร่วมกับการอักเสบ รวมทั้งมีการแพร่กระจายของเม็ดสีเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติในบริเวณที่มีการติดเชื้อและใกล้เคียง (Lom *et al.*, 1992)

7.2 กล้ามเนื้อ (muscle)

Parker และคณะ (1971) รายงานปรสิตร *Myxosoma pharyngeus* ในปลากินยุง (mosquito fish, *Gambusia affinis*) โดยปรสิตรสร้างเกราะและมีผลทำให้เกิดการอักเสบในกล้ามเนื้อบริเวณรอบๆช่องท้อง ขณะเดียวกันในปลาผีเสื้อ (butterflyfish, *Chaetodon collare*) ก็มีรายงานปรสิตร *Pentacapsula muscularis* ก่อให้เกิดการตายและอักเสบที่มีกลุ่มเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมแพร่กระจายทั่วไป โดยเฉพาะกล้ามเนื้อบริเวณสันหลังจะมีความรุนแรงมากกว่าบริเวณอื่นๆ (Cheung *et al.*, 1983) ปรสิตร *Kudoa thyrsitis* จัดเป็นชนิดที่มีรายงานการติดเชื้อได้บ่อยในปลาทะเลซึ่งมีหลายชนิด ได้แก่ ปลามาหิมานิ (mahi mahi, *Coryphaena hippurus*) ปลาออสเตรเลียียนพิลชาร์ด (Australian pilchard, *Sardinops sagax*) ปลาไวท์เบท (white bait, *Hyperlophus vittatus*) และปลาแอตแลนติกเซลมอน พบว่าปรสิตรฝังตัวแทรกอยู่ระหว่างเส้นใยกล้ามเนื้อและ

ระหว่างมัดกล้ามเนื้อ มีผลทำให้เนื้อเยื่อบางส่วนเกิดการตายและอักเสบ รวมทั้งมีการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันขึ้นทดแทน ส่วนเซลล์ที่เหลือจะจัดเรียงตัวห่างจากกัน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีความรุนแรงมากขึ้นเมื่อเข้าสู่ระยะสุดท้ายของการติดเชื้อ (Harrell and Scott, 1985; Langdon, 1991; Whitaker and Kent, 1991; Langdon et al., 1992) Abdulrahman และคณะ (1991) รายงานปรสิต *Myxobolus garrai* ในกล้ามเนื้อลำตัวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของปลาน้ำจืดชนิด *Garra tibonica* โดยปรสิตก่อให้เกิดพยาธิสภาพ คือ พบการตายของเซลล์และอักเสบในบริเวณรอบๆ เกาะของปรสิต ขณะเดียวกัน Ogawa และคณะ (1992) รายงานการติดเชื้อปรสิต *Myxobolus artus* ในปลาไน โดยปรสิตสร้างเกาะแทรกตัวอยู่ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันระหว่างมัดกล้ามเนื้อ ซึ่งระยะแรกของการติดเชื้อจะไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อมากนัก แต่แสดงผลหรือปรากฏชัดเจนเมื่อปรสิตมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นทำให้เกิดการติดเชื้อลุกลามและเข้าทำลายมัดกล้ามเนื้อที่อยู่ติดกัน รวมทั้งเกิดการอักเสบและตกเลือดในบริเวณดังกล่าวและใกล้เคียง

7.3 ระบบทางเดินอาหาร (digestive system)

Paperna (1983) รายงานปรสิต *Chloromyxum* sp. ในกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาซีบรีม (seabream, *Sparus aurata*) พบว่าปรสิตระยะพลาสโมเดียมเกาะติดบริเวณผิวของเซลล์บุผิวกระเพาะอาหาร หลังจากนั้นเคลื่อนที่เข้าภายในเซลล์เมื่อเข้าสู่ระยะสร้างสปอร์ ส่งผลทำให้เซลล์เกิดการขยายขนาดและสูญเสียรูปร่างจนกระทั่งเกิดการตายหลุดลอกออกจากชั้นสับมิวโคซา (submucosa) เกิดเป็นช่องว่างที่มีเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ โดยเฉพาะเซลล์มาโครฟาจแพร่กระจายทั่วไปเนื่องจากเกิดการอักเสบ ขณะเดียวกัน Diamant และคณะ (1994) รายงานการติดเชื้อปรสิต *Myxidium leei* ในลำไส้ของปลาชนิดดังกล่าว ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ คือ เกิดการตายของเซลล์บุผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในชั้นลามินาโปรเพีย (laminapropia) นอกจากนี้ปรสิต *Myxidium leei* สามารถพบการติดเชื้อบริเวณลำไส้และก่อให้เกิดโรคส่งผลกระทบต่อกระเพาะเลี้ยงปลาเรดดรัมและปลาเทอร์บอต (turbot, *Scophthalmus maximus*) (Diamant, 1998; Branson et al., 1999) Bartholomew และคณะ (1989) รายงานการติดเชื้อปรสิต *Ceratomyxa shasta* ในปลาสดิลเฮดเทราร์ท พบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อ 18 วัน จะเกิดการอักเสบและมีการรวมตัวของเม็ดเลือดขาวปะปนกับปรสิตในชั้นสับมิวโคซาของลำไส้ ขณะที่ปลาได้รับเชื้อนาน 30 วัน มีลักษณะพยาธิสภาพรุนแรงมากขึ้นเนื่องจากปรสิตมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนและผลักดันทำให้เนื้อเยื่อชั้นมิวโคซาและสับมิวโคซา (mucosa) หลุดแยกออกจากกัน รวมทั้งมีการติดเชื้อลุกลามถึงเนื้อเยื่อชั้นลามินาโปรเพีย ก่อให้เกิดการตายของเซลล์และถูกแทนที่ด้วยปรสิตโดยสิ้นเชิงในวันที่ 52 หลังจากได้รับเชื้อ

7.4 ถุงน้ำดี และตับ (gall bladder and liver)

Alvarez-Pellitero และ Sitja-Bobadilla (1993) รายงานปรสิต *Zschokkella mugilis* ในปลากระบอก (mugilids) พบว่าปรสิตทำลายเซลล์ก่อให้เกิดช่องว่างในบริเวณเยื่อบุผิวของถุงน้ำดี และเกิดการอักเสบในบริเวณใกล้เคียงโดยเฉพาะชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรวมทั้งเกิดการติดเชื้อลุกลามทำลายเซลล์ตับอ่อนที่อยู่ติดกับถุงน้ำดี Davies (1985) รายงานปรสิต *Zschokkella russelli* ในปลาเบียร์หรือคกคิง (bearded rockling, *Ciliata mustela*) พบว่าปรสิตก่อให้เกิดพยาธิสภาพในถุงน้ำดี คือ เนื้อเยื่อชั้นบุผิวหนาขึ้นเนื่องจากเกิดการขยายขนาดและแบ่งเซลล์มากกว่าปกติ นอกจากนี้ยังสามารถพบการติดเชื้อปรสิตชนิดดังกล่าวและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อตับ คือ เซลล์บุผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหนาขึ้น รวมทั้งเกิดการลีบฝ่อ (atrophy) และอักเสบในบริเวณที่มีการติดเชื้อรุนแรง สำหรับปรสิต *Zschokkella nova* มีรายงานในปลาบูลล์เฮด พบว่าปรสิตมีการอัดตัวกันแน่นทำให้ท่อน้ำดี (bile duct) เปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่าง รวมทั้งยังพบการติดเชื้อ และการทำลายเซลล์ตับมีลักษณะเป็นช่องว่างที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเรียงตัวแบบหลวมๆ (Bucher *et al.*, 1992) นอกจากนี้ยังมีรายงานการติดเชื้อปรสิต *Ceratomyxa sprengi*, *Sinuolinea lesteri*, *Leptotheca* sp. และปรสิต *Kudoa haridasae* ในปลาผีเสื้อ (butterflyfish, *Chaetodon rainfordi*) ปลาฉลาม (epaulette shark, *Hemiscyllium ocellatum*) ปลาข้างตะเภา (crescent perch, *Terapon jarbua*) และปลากระบอก (mullet, *Mugil persina*) ตามลำดับ จากรายงานดังกล่าวไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่ชัดเจนเกิดขึ้นเนื่องจากปรสิตเหล่านี้อาศัยอยู่เฉพาะในช่องว่างของถุงน้ำดี (Moser *et al.*, 1989; Moran *et al.*, 1999)

7.5 ระบบขับถ่ายปัสสาวะ (urinary system)

Yokoyama และคณะ (1990a) รายงานปรสิต *Hoferellus carassii* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคไตบวมในปลาทอง พบว่าพลาสมาเดียมเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิวของท่อไต (renal epithelial) หลังจากนั้นเคลื่อนที่เข้าสู่ท่อไตเมื่อเข้าสู่ระยะสร้างสปอร์ มีการรวมกลุ่มอัดตัวกันแน่นทำให้ท่อไตขยายขนาด เยื่อบุผิวลีบฝ่อ ในบางบริเวณพบการตายของเซลล์และหลุดลอกรวมปะปนกับปรสิตลักษณะดังกล่าวยังสามารถพบได้กระเพาะปัสสาวะเช่นกัน ปรสิต *Sphaerospora angulata* และปรสิต *Sphaerospora epinepheli* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคไต (renal disease) ในปลาไน และปลากะรังปากแม่น้ำ พบว่าพลาสมาเดียมและสปอร์เต็มวัยอัดตัวกันแน่นทำให้ท่อไตมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยเฉพาะพลาสมาเดียม (proximal tubule) แต่ในดีสทัลทิวบูล (distal tubule) และโบริแมนแคปซูลพบการติดเชื้อได้ทั่วไป (Molnar, 1980; Supamattaya *et al.*, 1990) Hermanns และ Korting (1985) รายงานปรสิต *Sphaerospora tincae* ในไตส่วนหน้าของปลาเทนท์ (tench, *Tinca tinca*) พบว่าปรสิตมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อนคล้ายแคปซูลมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันล้อมรอบและ

แบ่งออกเป็นพู (lobe) แทรกตัวและทำลายเนื้อเยื่อไตเกิดเป็นช่องว่างซึ่งถูกแทนที่ด้วยเม็ดเลือดขาว และเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมชนิดต่างๆ Bartholomew *et al.*, 1989 รายงานติดเชื้อปรสิต *Ceratomyxa shasta* ในปลาดีลเฮดเทราร์ท พบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อมานาน 52 วัน พบการตายของเนื้อเยื่อไตโดยเฉพาะเซลล์บุผิวเกิดหลุดลอกปะปนกับปรสิตอยู่ในท่อไต นอกจากนี้ยังมีปรสิตชนิดอื่นๆที่มีรายงานพบในเนื้อเยื่อดังกล่าว ได้แก่ ปรสิต *Parvicapsula renalis* และปรสิต *Henneguya ocellata* ในปลาเรดดรัม (Landsberg, 1993a)

7.6 สมอง และเนื้อเยื่อประสาท (brain and nerve tissue)

Mitchell และคณะ (1985) รายงานปรสิต *Myxobolus hendricksoni* ในปลาแพทเฮดมินนาว โดยปรสิตอยู่รวมกันภายในกระเพาะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.1-1.5 มิลลิเมตร ในสมองส่วนออปติคเทคตัม (optic tectum) และคอร์ปัสซีรีเบลโล (corpus cerebelli) ก่อให้เกิดลักษณะทางพยาธิสภาพ คือ เกิดการสับผ้อและการตายของเซลล์โดยเฉพาะบริเวณเนื้อเยื่อชั้นนอกของออปติคเทคตัม มีผลทำให้เซลล์ที่เหลือมีการเรียงตัวแบบหลวมๆ ขณะเดียวกันในปลาบูลล์เฮดที่ติดเชื้อปรสิต *Myxobolus jiroveci* ในสมองส่วนเมดูลาออปลองกาตา (medula oblongata) โดยพบการทำลายเซลล์และอักเสบอย่างรุนแรงบริเวณรอบนอกกลุ่มก้อนปรสิต (Lom *et al.*, 1989) Cheung และ Nigrelli (1990) ตรวจพบปรสิต *Septemcapsula yasunagai* ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ในสมองส่วนซีรีเบลลัม (cerebellum) ของปลาดุกทะเลที่อาศัยอยู่ตามแนวปะการัง สำหรับเนื้อเยื่อประสาทในไขสันหลังก็มีรายงานการติดเชื้อปรสิตชนิดนี้ ได้แก่ Langdon (1990) รายงานปรสิต *Myxobolus gadopsii* ในระหว่างเส้นประสาทและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ห่อหุ้มไขสันหลังของปลาโคโร (koro, *Gadopsis marmoratus*) ขณะที่ Egusa (1985) พบว่าปลาหางเหลือง (yellowtail, *Seriola quinqueradiata*) ที่ติดเชื้อปรสิต *Myxobolus buri* ในไขสันหลังและมีการติดเชื้อลุกลามเข้าทำลายกระดูกสันหลังเกิดการคดงอแบบสโคลิโอซิส (scoliosis) ลักษณะดังกล่าวยังสามารถพบได้ในปลาเพิร์ชครีบแดง (redfin perch, *Perca fluviatilis*) ที่มีการติดเชื้อปรสิต *Triangula percae* แต่มีความรุนแรงและส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อมากกว่า คือ พบการตายของเซลล์ประสาทอย่างรุนแรงในเนื้อเยื่อส่วนขาว (white matter) ของมีเซนเซฟาลอน (mesencephalon) และไดเอนเซฟาลอน (diencephalon) รวมทั้งเกิดการอักเสบในบริเวณใกล้เคียง (Langdon, 1987)

7.7 ระบบสืบพันธุ์ (reproductive system)

Sitja-Bobadilla และ Alvarez-Pellitero (1990) รายงานปรสิต *Sphaerospora testicularis* ในฉันทะปลาซีแบส (sea bass, *Dicentrarchus labrax*) โดยพบปรสิตระยะก่อนสร้างสปอร์ซึ่งภายในประกอบด้วยเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวและระยะสร้างสปอร์อยู่ภายในท่อนำน้ำเชื้อ

(seminiferous tubule) ส่งผลทำให้เกิดการบวมขยายขนาดใหญ่ขึ้น เซลล์อสุจิ (spermatozoa) ลีบฝ่อและตายหลุดลอกเกิดเป็นช่องว่าง บริเวณที่ติดเชื้อเรื้อรังพบว่ามีโครงสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันทดแทนเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายและห่อหุ้มปรีสตีมีลักษณะที่เรียกว่าแกรนูโลมาต์ (granulomatous) ขณะเดียวกันในปลาเทศเมียก็มีรายงานการติดเชื้อปรีสตี *Henneguya amazonica* ในปลาที่อาศัยอยู่ในปลาลุ่มน้ำจืด *Hoplosternum littorale* พบว่าปรีสตีสร้างเกราะก่อกำบังให้เกิดการตายและอักเสบขึ้นในโอวาเรียนสโตรมา (ovarian stroma) และระหว่างรอยต่อของเนื้อเยื่อชั้นโซนาเพลลูซิดา (zona pellucida) กับเยื่อหุ้มไข่ (Torres *et al.*, 1994)

7.8 หัวใจ (heart)

Masoumian และคณะ (1996) รายงานปรีสตี *Myxobolus bulbocordis* ในปลาบาร์บ (barb, *Barbus sharpeyi*) โดยพบการติดเชื้อในเนื้อเยื่อชั้นซีโรซา (serosa) ของหัวใจบริเวณบัลบัล อาร์ทอริโอซัส (bulbus arteriosus) และเอเตรียมคอร์ดิส (atrium cordis) พยาธิสภาพที่เกิดขึ้น คือ ปรีสตีสร้างเกราะที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันห่อหุ้ม เซลล์บางส่วนถูกทำลายเกิดการอักเสบและคั่งเลือด (congestion) ในบริเวณรอบๆ เกราะของปรีสตีและใกล้เคียง ขณะที่ปรีสตี *Myxobolus etropii* มีรายงานการติดเชื้อในปลาเพิร์ลสปอต (pearl spot, *Etroplus suratensis*) พบว่าปรีสตีสร้างเกราะโดยก่อกำบังให้เกิดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจและเยื่อหุ้มในบริเวณบัลบัล อาร์ทอริโอซัส แต่ไม่พบลักษณะดังกล่าวในเอเตรียมและเวนทริเคิล (ventricle) (Rajendran *et al.*, 1998)

7.9 กระเพาะลม (swim bladder)

Csaba และคณะ (1984) รายงานการติดเชื้อปรีสตี *Sphaerospora renicola* ระยะพลาสโมเดียมที่ประกอบด้วยเซลล์ลูกและเซลล์หลานอยู่ในเซลล์แม่ฝังตัวอยู่ในผนังหุ้มและเยื่อบุผิวกระเพาะลมของปลาในก่อกำบังให้เกิดลักษณะทางพยาธิสภาพ คือ เกิดการอักเสบที่มีเม็ดเลือดขาวและเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมแพร่กระจายอย่างหนาแน่นปะปนกับซากเซลล์ที่โดนปรีสตีทำลาย ขณะที่ปลาซีแบสที่มีการติดเชื้อปรีสตี *Sphaerospora dicentrarchi* พบว่าปรีสตีอยู่รวมกันเป็นกลุ่มแทรกตัวอยู่ในผนังกระเพาะลม แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่มีความรุนแรงเกิดขึ้น (Sitja-Bobadilla and Alvarez-Pellitero, 1992)

8. ผลกระทบของปรีสตีมิโครสปอร์ริเดียต่อการเพาะเลี้ยงปลา

ปรีสตีมิโครสปอร์ริเดียมีความสำคัญและส่งผลกระทบต่อปลา โดยสามารถแพร่ระบาดได้ทั้งในกลุ่มที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติและกลุ่มที่มีการเพาะเลี้ยงซึ่งมีระดับความรุนแรงตั้งแต่การติดเชื้อทั่วไปจนกระทั่งถึงการติดเชื้อหรือเกิดโรคที่มีความรุนแรงสูง

8.1 โรคตัวหมุน (whirling disease)

จัดเป็นโรคที่มีการแพร่ระบาดและก่อความเสียหายต่อการเพาะเลี้ยงปลาแซลมอนที่นิยมเลี้ยงกันมากในกลุ่มประเทศแถบยุโรป อเมริกาเหนือและอเมริกาใต้ สาเหตุเกิดจากการติดเชื้อปรสิต *Myxobolus cerebralis* ชนิดปลาที่เกิดโรค ได้แก่ ปลาเรนโบว์เทราท์ (rainbow trout, *Salmo gairdneri*) ปลาบรู๊คเทราท์ (brook trout, *Salvelinus fontinalis*) ปลาเลคเทราท์ (lake trout, *Salvelinus namaycush*) ปลาคัทโรตเทราท์ (cutthroat trout, *Oncorhynchus clarki*) ปลาซ็อกอายแซลมอน (sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*) ปลาแปซิฟิกแซลมอน (Pacific salmon, *Oncorhynchus kisutch*), และปลาชินุกแซลมอน (chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*) (O'Gródnick, 1979; Lorz et al., 1989; Markiw, 1991) ระยะหรือช่วงชีวิตของปลาที่เป็นโรคพบว่าสามารถเกิดการติดเชื้อได้หลังจากลูกปลาฟักออกจากไข่ประมาณ 2 วัน และมีรายงานมากที่สุด คือ ระยะเวลานิ้ว (fingerling) แต่เมื่อปลา มีขนาดโตขึ้นอัตราการเกิดโรคจะลดลงตามลำดับ (Markiw, 1991; Margolis et al., 1996) ลักษณะอาการของตามรายงานของ Wolf และ Markiw (1984) พบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อประมาณ 30-45 วัน บริเวณคอดหางมีสีดำเนื่องจากเกิดการสะสมของเมลานิน (melanin) กระดูกสันหลังคดงอ กระดูกปิดเหงือกและขากรรไกรบิดเบี้ยว ระบบประสาทและกล้ามเนื้อสูญเสียการควบคุมมีผลทำให้ว่ายน้ำแบบหมุนควงส่วและตายในเดือนที่สี่ของการติดเชื้อ เมื่อนำตัวอย่างอวัยวะของปลาป่วยโดยเฉพาะส่วนหัวมาศึกษาทางเนื้อเยื่อ พบว่าปรสิตระยะพลาสโมเดียมและสปอร์แพร่กระจายทั่วไปในเนื้อเยื่อสมองและกระดูกอ่อนโดยก่อให้เกิดการตายของเซลล์และอักเสบในบริเวณที่มีการติดเชื้อและใกล้เคียง

8.2 โรคไตบวม (proliferative kidney disease : PKD)

จัดเป็นโรคที่มีความสำคัญและส่งผลกระทบต่อ การเพาะเลี้ยงปลาเทราท์และปลาแซลมอนเช่นเดียวกับโรคตัวหมุน โดยมีรายงานครั้งแรกในอเมริกาเหนือ ยุโรปและอเมริกาใต้ ตามลำดับ ชนิดปลาที่เป็นโรค ได้แก่ ปลาเรนโบว์เทราท์ ปลาบรู๊คเทราท์ ปลาแอตแลนติกแซลมอน ปลาแปซิฟิกแซลมอน ปลาชินุกแซลมอน ปลาบราวน์เทราท์ (brown trout, *Salmo trutta*) ปลาอาร์กติกชาร์ (Arctic char, *Salvelinus alpinus*) ปลาเกรย์ลิง (grayling, *Thymallus thymallus*) (Smith et al., 1984; Kent et al., 1985; Arkush et al., 1990; Brown et al., 1991; Bucke and Feist, 1991) สาเหตุเกิดจากปรสิตมิโครสปอริเดียที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ โดยมีการเรียกชื่อตามลักษณะอาการของโรค คือ PKX cell ลักษณะของปรสิตที่ตรวจพบ คือ ระยะเวลาพลาสโมเดียมหรือระยะก่อนสร้างสปอร์ที่มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ที่ประกอบด้วยเซลล์แม่ขนาด 2-15 ไมครอน มีเซลล์ลูกและเซลล์หลานอยู่ภายใน แพร่กระจายทั่วไปในบริเวณเหงือก กล้ามเนื้อ ม้าม ตับ ตับอ่อน และระบบไหลเวียนเลือด มีผลทำให้เนื้อเยื่อดังกล่าวเกิดการตายและอักเสบ

โดยเฉพาะในไตมีลักษณะที่เรียกว่าแกรนูโลมาตัสเนฟริติส (granulomatous nephritis) (Kent and Hedrick, 1986; MacConnell, 1989) ลักษณะอาการของโรคตามรายงานของ Hedrick และคณะ (1988) และ Southgate และ Richards (1989) พบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อจะเบื่ออาหาร เชื่องซึม ว่ายน้ำซ้ากว่าปกติ ลำตัวมีสีเข้ม ตาโปน (exophthalmia) ท้องโตและบวม น้ำ ม้ามและไตบวม มีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อนำตัวอย่างเลือดของปลาป่วยมาศึกษาทางโลหิตวิทยาพบว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงและค่าฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ต่ำกว่าปกติอันเป็นสาเหตุของโรคโลหิตจาง (anaemia) ร่วมกับการติดเชื้อปรสิต ขณะที่เม็ดเลือดขาวและเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมจะมีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากการตอบสนองต่อภาวะการอักเสบ

8.3 โรคเหงือกบวม (proliferative gill disease : PGD)

มีรายงานการแพร่ระบาดและส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงปลากดอเมริกันในสหรัฐอเมริกา โดยเฉพาะช่วงฤดูใบไม้ผลิจะมีอัตราการเกิดโรคและส่งผลให้เกิดการตายสูงกว่าฤดูกาลอื่นๆในรอบปี (Bowser and Conroy, 1985; Pote and Waterstrat, 1993) สาเหตุเกิดจากปรสิต *Sphaerospora ictaluri* ระยะก่อนสร้างสปอร์ อาการของโรคตามรายงานของ Thiyagarajah (1993) พบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อมีลักษณะผอม เบื่ออาหาร ลำตัวมีสีเข้ม ว่ายน้ำเชื่องช้า ลอยตัวอยู่ที่ผิวน้ำและหายใจแรงเนื่องจากเหงือกโดนทำลายมีผลทำให้ความสามารถในการแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลง อาการดังกล่าวจะรุนแรงมากขึ้นเมื่อน้ำในบ่อที่ใช้เลี้ยงปลาที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูงและมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ต่ำ จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อพบว่าปรสิตมีการแพร่กระจายและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนในบริเวณเหงือก คือ ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนและขยายขนาดของเซลล์บุผิว เซลล์ค้ำจุน และเซลล์กระดูกอ่อนของไพรมารี ลามেলা และเซกกันดารี ลามেলা บริเวณที่มีการติดเชื้อรุนแรงจะพบการตายของเซลล์และมีการแพร่กระจายของเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมอยู่อย่างหนาแน่นเนื่องจากเกิดการอักเสบ นอกจากนี้ยังสามารถพบปรสิตและการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในเนื้อเยื่อตับ ไต ม้าม กล้ามเนื้อ และสมอง แต่มีความรุนแรงน้อยกว่าในเหงือก (MacMillan, et al., 1989; Styer et al., 1991)

8.4 โรคเซอราโตมิกโซซิส (ceratomyxosis)

จัดเป็นโรคที่มีรายงานการแพร่ระบาดและส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงปลาแซลมอนในสหรัฐอเมริกาและแคนาดาหลายชนิด ได้แก่ ปลาโคโฮแซลมอน ปลาชินุกแซลมอน ปลาแอตแลนติกแซลมอน ปลาซั้มแซลมอน (chum salmon, *Oncorhynchus keta*) ปลาสตี้ลเฮดเทราร์ท ปลาเรนโบว์เทราร์ท ปลาบร็อคเทราร์ท และปลาเลคเทราร์ท (Margolis and Evelyn, 1975; Ratliff, 1981; Buchanan et al., 1983; Hoffmaster et al., 1988) สาเหตุเกิดจากการติดเชื้อปรสิต *Ceratomyxa*

shasta ในบริเวณลำไส้ซึ่งก่อให้เกิดอาการของโรค คือ ระยะแรกของการติดเชื้อปลาจะเบื่ออาหาร เชื่องซึม ตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกลดลง แต่เมื่อมีการติดเชื้อมากขึ้นปลาจะมีสีเข้มกว่าปกติ ตาโปน หงอยและมีของเหลวขังเต็มช่องท้อง รวมทั้งเกิดการตกเลือดและการตายของเนื้อเยื่อแพร่กระจายทั่วไปในอวัยวะภายในโดยเฉพาะบริเวณลำไส้จะมีความรุนแรงกว่าอวัยวะอื่นๆ สำหรับพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นตามรายงานของ Bartholomew และคณะ (1989) คือ หลังจากปลาได้รับเชื้อ 18 วัน สามารถพบปรสิตระยะพลาสโมเดียมแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อชั้นมิวโคซาของลำไส้ ก่อให้เกิดการอักเสบที่มีการรวมตัวของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆอย่างหนาแน่น หลังจากนั้นปรสิตรมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนผลักดันให้เยื่อเยื่อชั้นมิวโคซาและสับมิวโคซาหลุดแยกออกจากกัน ขณะที่บางบริเวณมีการติดเชื้อลุกลามเข้าสู่เนื้อเยื่อชั้นลามินาโปรเปียกก่อให้เกิดการตายของเซลล์และถูกแทนที่ด้วยปรสิตรโดยสิ้นเชิงหลังจากได้รับเชื้อนาน 52 วัน นอกจากนี้ยังสามารถพบปรสิตรและพยาธิสภาพเกิดขึ้นในเหงือก ตับ ไต ม้ามและกล้ามเนื้อ แต่มีความรุนแรงหรือส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อน้อยกว่าในลำไส้

8.5 โรคถุงลมอักเสบ (swimbladder inflammation)

จัดเป็นโรคที่มีการแพร่ระบาดและส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงปลาในประเทศไทยที่ตั้งอยู่ตอนกลางและทางทิศตะวันออกของยุโรป สาเหตุเกิดจากปรสิต *Sphaerospora renicola* ระยะก่อนสร้างสปอร์ (Korting, 1982; Molnar and Kovacs-Gayer, 1986) ลักษณะอาการของโรคพบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อเกิดอาการเชื่องซึม เบื่ออาหาร หงอย น้ำสูญเสียการทรงตัว เกิดการอักเสบและตกเลือดในบริเวณถุงลม เมื่อทำการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อพบว่ามีการติดเชื้อระยะก่อนสร้างสปอร์แพร่กระจายทั่วไป ก่อให้เกิดการตายของเซลล์และอักเสบอย่างรุนแรง ขณะที่ปรสิตระยะสปอร์สามารถพบได้ในท่อไตส่วนใหญ่จะไม่ส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมากนักยกเว้นในบางบริเวณที่ติดเชื้อรุนแรง ซึ่งปรสิตรอัดตัวกันแน่นทำให้เกิดการอุดตันของท่อไต (Csaba *et al.*, 1984; Molnar, 1988)

8.6 โรคไตบวม (kidney enlargement disease : KED)

จัดเป็นโรคที่มีรายงานการแพร่ระบาดและส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงปลาทองในญี่ปุ่นและในบางประเทศของยุโรป สาเหตุเกิดจากการติดเชื้อปรสิต *Hofereilus carassii* ในไต (Yokoyama *et al.*, 1991) อาการของโรค คือ ปลาจะเชื่องซึม สีซีด เบื่ออาหาร น้ำสูญเสียการทรงตัวและตาย พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นโดยพบว่าปรสิตระยะก่อนสร้างสปอร์ฝังตัวอยู่ในเยื่อบุผิวท่อไต หลังจากนั้นเมื่อปรสิตรเจริญเติบโตกลายเป็นระยะสร้างสปอร์และสปอร์เต็มวัยก็จะเคลื่อนที่เข้าสู่ท่อไตและผลักดันทำให้ท่อไตมีขนาดใหญ่ขึ้น ลักษณะดังกล่าวสามารถพบได้ในกระเพาะปัสสาวะแต่มีความรุนแรงน้อยกว่า (Molnar *et al.*, 1989; Yokoyama, 1990a)

9. การตรวจวินิจฉัยโรคที่มีสาเหตุจากปรสิตмикโรสปอริเดีย

การตรวจวินิจฉัยโรคที่มีสาเหตุจากปรสิตмикโรสปอริเดียประการแรก ได้แก่ การสังเกตลักษณะความผิดปกติที่เกิดขึ้นทั้งภายนอกและภายในหรืออาการที่แสดงออกมาหลังจากได้รับเชื้อปรสิตซึ่งมีความแตกต่างกันในแต่ละโรค เช่น โรคตัวหมุน พบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อมีการสะสมเม็ดสีในบริเวณคอดหางเกิดเป็นสีดำ กระดูกสันหลังคดงอ ขากรรไกรและกระดูกปิดเหงือกบิดเบี้ยว และว่ายน้ำหมุนควงส่ววนในช่วงสุดท้ายของการติดเชื้อ (Wolf and Markiw, 1984) ปลาเป็นโรคไตบวมมีอาการเบื่ออาหาร เชื้องูเข็ม ลำตัวมีสีเข้ม ตาโปน มีของเหลวคั่งอยู่เต็มช่องท้อง (Smith *et al.*, 1984) ปลาเป็นโรคถุงลมอักเสบมีอาการท้องบวม ว่ายน้ำเสียการทรงตัวเนื่องจากถุงลมอักเสบและโป่งพอง (Molnar, 1988) และปลาเป็นโรคเซอราโตไมกไมโครสปีดจะมีสีเข้ม ตาโปน ท้องบวมและตกเลือดบริเวณอวัยวะภายในโดยเฉพาะลำไส้ (Amos, 1985)

การตรวจเชื้อปรสิตจากตัวอย่างสด (wet mount) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา โดยการนำเอาอวัยวะหรือเนื้อเยื่อของปลาป่วย เช่น เหงือก ตับ ไต กล้ามเนื้อ ผนังลำตัว ถุงลม กระเพาะอาหาร ลำไส้และกระเพาะปัสสาวะมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆบนสไลด์และปิดด้วยแผ่นแก้วบาง (cover glass) นำไปตรวจเชื้อดูลักษณะรูปร่างและระยะของปรสิต วิธีการดังกล่าวเป็นที่ยอมรับและนิยมใช้กันทั่วไป (McDaniel, 1979; Sindermann and Lightner, 1988; Frimeth and Thoesen, 1994)

การตรวจสอบปรสิตด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อโดยนำอวัยวะของปลาป่วยดองด้วยน้ำยาคงสภาพ (fixative) และผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างทางเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นตัดเป็นชิ้นบางๆและผ่านการย้อมสี ได้แก่ สีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน (Hematoxylin and Eosin : H & E) นอกจากนี้ยังมีการนำสีพิเศษมาใช้ย้อมปรสิตмикโรสปอริเดียโดยเฉพาะ คือ สีจิมซา (Geimsa) พบว่าตำแหน่งหรือออร์กาเนลล์ของปรสิตที่มีความจำเพาะเจาะจงกับสปีชีสนี้ คือ โพลาร์แคปซูลซึ่งจะติดสีน้ำเงินเข้ม (Humason, 1962; Bancroft, 1967) สำหรับสปีชีอื่น ๆ ที่มีรายงานการใช้ ได้แก่ ซิลเวอร์ไนเตรด (silver nitrate) โดยมีการนำมาย้อมสปอร์และพลาสมิดีเยมของปรสิต *Myxobolus cerebralis* พบว่าบริเวณเปลือกหุ้มสปอร์ติดสีเหลืองเข้ม โพลาร์แคปซูลและโพลาร์ฟีลาเมนต์ติดสีน้ำตาล ขณะที่พลาสมิดีเยมติดสีเหลืองและมีจุดสีน้ำตาลแพร่กระจายทั่วไป (Wolf and Markiw, 1979) จากการตรวจเชื้อปรสิตด้วยเทคนิคทางเนื้อเยื่อนอกจากได้รับรายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะและโครงสร้างของปรสิตก็ยังสามารถใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงหรือพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นอันมีสาเหตุจากการทำลายของปรสิต แต่กรณีที่มีความจำเป็นต้องศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างและส่วนประกอบต่างๆในระดับเซลล์หรือออร์กาเนลล์สามารถทำได้โดยการศึกษาด้วยกล้อง

จุลทรรศน์อิเล็กตรอนซึ่งให้ผลและรายละเอียดที่ชัดเจนกว่า (Amos, 1985; Anderson and Barney, 1991; Frimeth and Thoesen, 1994)

เทคนิคการตรวจหาแอนติบอดี (antibody) ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดปรสิตโดยการ ใช้สเปิร์มของปรสิตที่ผ่านขบวนการทำให้มีความบริสุทธิ์สูงฉีดเข้าหนูทดลอง หลังจากนั้นทำการเก็บ ซีรัม (serum) ไปทดสอบกับปลาป่วยโดยใช้วิธีโมโนโคลนัลหรือโพลีโคลนัล แอนติบอดี วิธีการดังกล่าวมีการนำมาใช้และประสบผลสำเร็จในการตรวจเชื้อปรสิต *Myxobolus cerebralis*, PKX-cell, *Ceratomyxa shasta*, *Sphaerospora labracis* และปรสิต *Sphaerospora testicularis* (Markiw and Wolf, 1978; Bartholomew *et al.*, 1989; Adams *et al.*, 1992; Munoz *et al.*, 1999) นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิคการตรวจสารพันธุกรรมของปรสิตмикโซสปอริเดียโดยอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction) ในการตรวจวินิจฉัยโรคไตบวมและโรคเซอราโตมิกโซซิสที่แพร่ระบาดในกลุ่มปลาแซลมอน (Bartholomew *et al.*, 1995; Saulnier and DeKinkelin, 1997)

10. แนวทางการป้องกันกำจัดและรักษาโรคติดเชื้อปรสิตмикโซสปอริเดีย

การป้องกันกำจัดและรักษาโรคที่มีสาเหตุจากปรสิตмикโซสปอริเดียยังไม่มีวิธีการที่แน่นอน และได้ผลสูงสุด เนื่องจากปรสิตชนิดนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อเจ้าบ้านและมีความทนทานต่อสารเคมี รวมทั้งสามารถดำรงชีวิตขณะที่ปราศจากเจ้าบ้านหรือมีการแพร่กระจายอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นาน ดังนั้นแนวทางการป้องกันจึงเป็นทางเลือกอันดับแรกທີ່หลีกเลี่ยงการเกิดโรค ซึ่งมีหลายวิธีการด้วยกัน ได้แก่ การคัดเลือกสายพันธุ์ โดยปลาที่นำมาเพาะเลี้ยงต้องผ่านขั้นตอนการตรวจเชื้อปรสิตและคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีภูมิคุ้มกันหรือมีความต้านทานต่อโรคสูงและควรนำมาจากแหล่งที่ไม่เคยมีรายงานการแพร่ระบาดของโรคมาก่อน

การป้องกันกำจัดปรสิตในโรงเพาะฟักสามารถทำได้โดยช่วงก่อนเพาะพันธุ์หรือขณะที่ทำการอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนควรมีการทำความสะอาดและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องโดยการฆ่าเชื้อด้วยสารเคมี ได้แก่ แคลเซียมไฮโปคลอไรด์ (calcium hypochloride) ความเข้มข้น 100-200 ส่วนในล้านส่วน (ppm) หรือใช้ฟอร์มาลินในความเข้มข้น 250-300 ส่วนในล้านส่วน (Hoffmann and Mayer, 1974) สำหรับน้ำที่ใช้เลี้ยงควรเป็นน้ำที่สะอาดปลอดเชื้อและสารแขวนลอยต่างๆ ควรผ่านการกรองและจัดเก็บในบ่อพักเพื่อให้สเปิร์มของปรสิตตกตะกอน หลังจากนั้นทำการฆ่าเชื้ออีกครั้ง ซึ่งมีหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ การใช้แคลเซียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 100-150 ส่วนในล้านส่วน หรือใช้รังสีอัลตราไวโอเลตและไอโซน วิธีการดังกล่าวมีการนำมาใช้และให้ประสิทธิภาพสูงต่อการ

ป้องกันกำจัดโรคตัวหมูน โรคไตบวม โรคถุงลมอักเสบและโรคเซอร์ราโตมิกโซซิส (Buchanan, 1983; Csaba *et al.*, 1984; Wolf and Markiw, 1984; Hedrick *et al.*, 1992)

การป้องกันกำจัดปรสิตในบ่อเลี้ยงที่เป็นบ่อดินในกรณีบ่อที่ใช้เลี้ยงเป็นบ่อใหม่ควรโรยปูนแคลเซียมออกไซด์ (calcium oxide) ในอัตรา 150-200 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับบ่อเก่าควรระบายน้ำออกให้หมด กำจัดวัชพืชบริเวณขอบบ่อ ทำการลอกเลนและกำจัดศัตรูปลา โรยปูนขาวหรือปูนเผา ในอัตรา 200-250 กิโลกรัมต่อไร่ จากนั้นใส่แคลเซียมไซยาไนด์ (calcium cyanide) อัตรา 50 ส่วนในล้านส่วน หรือแคลเซียมไซยาไมด์ (calcium cyanamide) ในอัตรา 100 ส่วนในล้านส่วน (Kabata, 1985; Lom and Dykova, 1992)

การจัดการระหว่างการเลี้ยงโดยเฉพาะใช้บ่อดินในการอนุบาลและเลี้ยงปลาขนาดเล็กในบริเวณแหล่งการแพร่ระบาดของปรสิต ควรหลีกเลี่ยงการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และไม่ควรปล่อยให้วัชพืชในบ่อมีปริมาณมากเกินไปเนื่องจากสภาพดังกล่าวเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเจ้าบ้านตัวกลางคือ หนอนแดง อาหารที่ใช้เลี้ยงควรเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปและหลีกเลี่ยงอาหารสด แต่กรณีที่มีความจำเป็นต้องเตรียมอาหารใช้เองก็ควรเลือกวัตถุดิบที่ได้จากแหล่งปลอดเชื้อและผ่านการตรวจเชื้อปรสิตอย่างละเอียด Wolf และ Markiw (1985) แนะนำการใช้วัตถุดิบจำพวกปลาผ่านความร้อนโดยการต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สามารถฆ่าสปอร์ของปรสิต *Myxobolus cerebralis* ได้ทั้งหมด การวางแผนการเพาะเลี้ยงในแต่ละรอบปีจัดเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถป้องกันและหลีกเลี่ยงการเกิดโรค โดย Ferguson (1981) ได้ทำการทดลองเก็บข้อมูลผลของอุณหภูมิน้ำต่อการแพร่ระบาดของโรคไตบวม พบว่าปลาเซลมอนและปลาเทราท์ที่เลี้ยงที่ระดับอุณหภูมิต่ำกว่า 12 องศาเซลเซียส เกิดโรคน้อยกว่าปลาที่เลี้ยงในช่วงอุณหภูมิสูงขึ้น ขณะที่โรคเซอร์ราโตมิกโซซิสและโรคตัวหมูนก็มีรายงานการแพร่ระบาดที่ระดับอุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกัน (Wolf and Markiw, 1985; Bartholomew *et al.*, 1989)

[การรักษาโรคติดเชื้อปรสิตมิกโซสปอร์ริเดียได้มีการนำยาและสารเคมีหลายชนิดมาทดลองใช้ พบว่ายาฟูมาจิลลิน (fumagillin) มีประสิทธิภาพในการรักษาสูงสุด Molnar และคณะ (1987) ทดลองใช้ยาฟูมาจิลลิน 0.1 กรัม ผสมในอาหาร 1 กิโลกรัม ให้ปลากินติดต่อกัน 1-3 สัปดาห์ รักษาโรคไตในปลาไนที่มีการติดเชื้อปรสิต *Sphaerospora renicola* เมื่อนำปลาทดลองมาทำการตรวจจุลทรรศน์พบว่ามีปรสิตระยะพลาสมิดีเยมถูกทำลายและสลายตัวปะปนกับเศษเซลล์ที่หลุดลอกออกจากผนังท่อไต] เช่นเดียวกัน Sitja-Bobadilla และ Alvarez-Pellitero (1992) ทดลองใช้ยาชนิดดังกล่าวในอัตราและวิธีการเดียวกันใช้รักษาปลาที่แบสที่ติดเชื้อปรสิต *Sphaerospora testicularis* นาน 4-5 สัปดาห์ พบว่าปลาทดลองมีอัตราการรอด 80 เปอร์เซ็นต์ แต่ปลาทดลองควบคุมตายทั้งหมดหลังจากเลี้ยงปลานาน 1 ปี นอกจากนี้ยังมีการนำยาฟูมาจิลลินและสารสังเคราะห์ TNP-470

ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีแบบเดียวกันมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการบำบัดรักษาโรคตัวหมูนและโรคไตบวมในปลาเซลมอนและปลาเทราท์ โดยใช้ในอัตรา 0.1-0.5 กรัม ผสมในอาหาร 1 กิโลกรัม กินติดต่อกัน 6-7 สัปดาห์ สามารถรักษาและลดความรุนแรงของโรคลงได้ (Hedrick *et al.*, 1988; El-Matbouli and Hoffmann, 1991; Higgins and Kent, 1998) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่ายาฟูมาจิลลินให้ผลในทางการรักษาอยู่ในระดับสูง แต่ในทางตรงกันข้ามพบว่ากรณีที่ใช้ในระดับความเข้มข้นสูงและใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะก่อให้เกิดผลข้างเคียง โดย Sitja-Bobadilla และ Alvarez-Pellitero (1992) และ Kent และ Dawe (1994) รายงานในปลาซีแบสและปลาชินุคเซลมอนที่ได้รับยาฟูมาจิลลิน อัตรา 0.15-0.5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม กินติดต่อกัน 3-8 สัปดาห์ สามารถพบการเปลี่ยนแปลงอันเกิดจากฤทธิ์ของยาดังกล่าว คือ พบการตายของเซลล์ตับ ไตและม้าม รวมทั้งมีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริต (hematocrit) ค่าฮีโมโกลบิน (hemoglobin) และปริมาณเม็ดเลือดแดงลดลงต่ำกว่าปกติ ยาและสารเคมีชนิดอื่น ๆ ที่มีรายงานการใช้โรคติดเชื้อปรสิตชนิดนี้ ได้แก่ Schmahl และคณะ (1989) แนะนำใช้ยาไตรอะซิโนน (triazinone) หรือทอลโทรซูล (toltrazuril) ความเข้มข้น 5-20 ไมโครกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร แช่ปลาที่ติดเชื้อปรสิต *Myxobolus* sp. เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ขณะเดียวกัน Yokoyama และคณะ (1991) ทดลองใช้ยาชนิดดังกล่าวรักษาโรคไตในปลาทอง โดยใช้ในอัตรา 0.7 กรัม ผสมลงในอาหาร 1 กิโลกรัม ให้ปลากินติดต่อกันนาน 1 เดือน Davis (1994) ทำการทดลองใช้ยาอินโดเมทาซิน (indomethacin) รักษาปลาตกตอเมริกัันที่ป่วยเป็นโรคเหงือกบวม พบว่าที่ระดับ 2 และ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม กินติดต่อกัน 7 วัน สามารถยับยั้งการพัฒนาระยะและทำลายพลาสมอดีียมของปรสิตลงได้ Clifton-Hadley และ Alderman (1987) รายงานการใช้มาลาไคท์กรีน (malachite green) ที่ระดับความเข้มข้น 1 ส่วนในล้านส่วน ร่วมกับฟอร์มาลิน 20 ส่วนในล้านส่วน รักษาปลาเซลมอนที่เป็นโรคไตบวมแต่ผลที่ได้ยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำโดยสามารถรักษาปลาที่เป็นโรสดังกล่าวหายขาดได้ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานการทดลองใช้ยาควินาครีนไฮโดรคลอไรด์ (quinacrine hydrochloride) รักษาโรคติดเชื้อปรสิต *Henneguya* sp. และ คาร์บาไซนออกไซด์ (cabazone oxide) ฟูราโซลิโดน (furazolidone) และคลาโมคิควิน (clamoxyquin) รักษาโรคติดเชื้อปรสิต *Sphaerospora* sp. แต่ยาเหล่านี้ไม่เป็นที่นิยมใช้กันมากนัก เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการรักษาอยู่ในเกณฑ์ต่ำและมีผลข้างเคียงต่อปลา

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตมิกโซสปอริเดียในปลาทะเลและปลาน้ำกร่อยในบริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก
2. เพื่อศึกษาผลกระทบของปรสิตต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อของปลาเจ้าบ้านด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา
3. เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของปรสิตมิกโซสปอริเดียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. ตัวอย่างปลาทดลอง

ตัวอย่างปลาทดลองที่เก็บรวบรวมได้จากชาวประมงในบริเวณตำบลเกาะยอ อำเภอเมือง ตำบลหัวเขาและตำบลปากพร อำเภอสิงหนคร และตำบลควนโละ อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลามีจำนวนทั้งหมด 946 ตัว 32 ชนิด (ภาคผนวก ก.)

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีสำหรับดองตัวอย่างในขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง และการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (ภาคผนวก ข.)

2.2 สารเคมีสำหรับย้อมสีตัวอย่างเลือด (ภาคผนวก ข.)

2.3 สารเคมีสำหรับตรวจสอบปรีสิตจากตัวอย่างปลาที่มีชีวิต ได้แก่ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์

2.4 สารเคมีสำหรับเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาโครงสร้างของปรีสิตมิกโซสปอริริเดียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน (ภาคผนวก ข.)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง

ถังลำเลียงปลาขนาดความจุ 80 ลิตร พร้อมด้วยฝาปิด เครื่องให้อากาศ สายยางและหัวทราย ขวดเก็บตัวอย่างพลาสติกความจุ 5 ลิตร และขวดแก้วความจุ 200 มิลลิลิตร เครื่องมือผ่าตัด ประกอบด้วยกรรไกร มีดผ่าตัด และปากคีบ (forcep) เครื่องแก้ว ได้แก่ กระบอกตวงและปิเกตอร์ เครื่องชั่งน้ำหนักและไม้บรรทัด ชุดเครื่องเขียน ได้แก่ ปากกา ดินสอและกระดาษติดฉลาก

2. อุปกรณ์การศึกษาระยะของปรีสิตในเลือด

ผ้าและกระดาษชำระ ชุดเครื่องมือผ่าตัด หลอดชนิดยาพลาสติกขนาดความจุ 1 มิลลิลิตร พร้อมเข็มเบอร์ 23 สไลด์ แผ่นแก้วบาง และจานย้อมสี

3. อุปกรณ์เตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ ธรรมดา

ขวดเก็บตัวอย่างขนาด 50 มิลลิลิตร ชุดเครื่องมือผ่าตัด อุปกรณ์เตรียมเนื้อเยื่อซึ่งประกอบด้วยบล็อคลพลาสติก (socket) และตะกร้าโลหะ เครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (automatic tissue processor) ของ Technicon Corporation รุ่น Mod. 2A Autotechnicon Mono เครื่องหยอดพาราฟิน (embedding center) รวมทั้งบล็อกโลหะ (mold) และบล็อคลพลาสติก (embedding ring) ไมโครโตม (sliding microtome) ของ Jung AG Heidelberg พร้อมมีดตัด อ่างน้ำอุ่น (water bath) สไลด์และกระจกปิด ชุดย้อมสี ตู้อบ ตู้ดูดควัน ขวดน้ำพลาสติก นาฬิกาจับเวลา ดินสอและกระดาษติดฉลาก กล้องจุลทรรศน์พร้อมชุดถ่ายภาพของ Olympus รุ่น AX 70

4. อุปกรณ์เตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาโครงสร้างของปรสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ชุดเครื่องแก้วซึ่งประกอบด้วยขวดไลและขวดสีชา กระจกตวง บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู หลอดทดลอง หลอดหยด จานเพาะเชื้อ สไลด์และแผ่นแก้วบาง เครื่องคนสาร (magnetic stirrer) ตู้เย็น เครื่องเขย่าแบบหมุน แคปซูลพลาสติก จานย้อมสี อัลตราไมโครโตม (ultramicrotome) ของ Sorvall MT 500 มีดเพชรและมีดแก้ว กริด (grid) กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่านของ Joel JEM 100CX II พร้อมชุดถ่ายภาพ

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างปลาทดลอง

ทำการเก็บตัวอย่างปลาเดือนละ 1 ครั้ง โดยรวบรวมจากชาวประมงในพื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 1 ได้แก่ บริเวณตำบลเกาะยอ อำเภอเมือง และตำบลหัวเขา อำเภอสิงหนคร พื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 2 ได้แก่ บริเวณตำบลปากพร อำเภอสิงหนคร และตำบลควนใส อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา ตัวอย่างปลาที่รวบรวมได้มี 2 ประเภท คือ ปลาไม่มีชีวิตแต่ยังคงสภาพความสด ทำการวัดความยาว (total length) ซึ่งน้ำหนัก และผ่าตัดด้วยวิธีที่ต้องการศึกษาของในน้ำยาคงสภาพ คือ ฟอร์มาลินความเข้มข้น .10 เปอร์เซ็นต์ และนำไปตรวจสอบปรสิต ส่วนปลาที่มีชีวิตจะลำเลียงไปสู่อำเภอปฏิบัติการศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยใช้ถังพลาสติกขนาดความจุ 80 ลิตร เติมน้ำประมาณ 30 ลิตร ปล่อยปลา 10-15 ตัวต่อถัง

2. การศึกษาปรสิตมิกโซสปอริเดีย

2.1 การศึกษาระยะก่อนสร้างสปอร์ของปรสิตในเลือด

ทำการสลับปลาตัวอย่างครั้งละ 1 ตัว โดยใช้ควินาลดีน (quinaldine) ความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน วัดความยาว ซึ่งน้ำหนัก เจาะเลือดบริเวณคอดหาง (caudal vein) หยดลงบน สไลด์ 1 หยด ใช้สไลด์อีกแผ่นเลี่ยมเยียร์ (smear) ไปในทิศทางเดียวกับความยาวประมาณ 3 ใน 4 ส่วนของสไลด์ วางทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ผ่านการรักษาสภาพด้วยเมทานอล (methanol) ก่อนที่นำไปย้อมด้วยสีจิมซาตามวิธีการของ Humason (1962) เคลือบสไลด์ด้วยน้ำยาเปอร์เมาท์ (permount) แล้วจึงนำไปตรวจสอบระยะของปรสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์

2.2 การศึกษาปรสิตในอวัยวะอื่นๆ

นำปลาตัวอย่างที่ผ่านขั้นตอนเจาะเลือดมาผ่านขั้นตอนตามวิธีการของ Sindermann และ Lightner (1988) และ Frimeth และ Thoesen (1994) โดยการตรวจสอบเกราะของปรสิตบริเวณเกล็ด ครีบ ผิวหนัง ตา เหงือกและช่องปาก กรณีตรวจพบทำการตัดใส่บนสไลด์บดให้เป็นชิ้นเล็กๆ หยดสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ 1-2 หยด ปิดด้วยแผ่นแก้วบาง นำไปตรวจสอบปรสิตและถ่ายรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้กำลังขยาย 200-1000 เท่า ขณะเดียวกันตัวอย่างที่เหลือจะดองไว้ในน้ำยาคงสภาพ (ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์) ส่วนการศึกษาปรสิตในอวัยวะภายใน ได้แก่ ไต ตับ ถุงน้ำดี ถุงลม หัวใจ สมอง และกล้ามเนื้อจะใช้วิธีการเดียวกัน

3. การศึกษาการแพร่กระจายและปริมาณการติดเชื้อปรสิตมิกโซสปอริเดีย

หลังจากเสร็จสิ้นขั้นตอนการตรวจสอบปรสิตในปลาตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้ ทำการจดบันทึกชนิดปรสิตที่พบ ชนิดและจำนวนของปลาที่มีการติดเชื้อและไม่มีการติดเชื้อ โดยนำข้อมูลดังกล่าวมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบการแพร่กระจายและการติดเชื้อปรสิตในปลาแต่ละชนิดและแต่ละพื้นที่ทำการเก็บตัวอย่าง

4. การจำแนกชนิดปรสิตมิกโซสปอริเดียที่พบในปลาตัวอย่าง

แยกชนิดปรสิตที่พบการติดเชื้อในตัวอย่างปลาโดยใช้วิธีการของ Lom และ Arthur (1989) ; Lom และ Dykova (1992) โดยการศึกษาจากลักษณะรูปร่างและโครงสร้าง ได้แก่ ขนาดความกว้างและความยาวของสปอร์ ทิศทางและตำแหน่งของรอยแนวแกนสปอร์ จำนวนโพลาร์แคปซูล การเรียงตัวของโพลาร์ฟิลาเมนต์ รวมทั้งการศึกษารายละเอียดต่างๆของปรสิตก่อนระยะสร้างสปอร์ ได้แก่ ลักษณะรูปร่าง จำนวนเซลล์ในพลาสมาไมเดียมหรือซูโดพลาสมาไมเดียม

5. การศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา

นำอวัยวะของปลาตัวอย่างที่ผ่านการคงสภาพในข้อ 2.2 นานอย่างน้อย 24 ชั่วโมง และเปลี่ยนเป็นการรักษาสภาพด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาดเล็กใส่บล็อกพลาสติกและรวบรวมในตะกร้าโลหะลงในเครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ ผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) ด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างกัน ผ่านไซลีน (xylene) และพาราฟพลาสติก เพื่อแทนที่ (infiltration) ช่องว่างภายในเซลล์อย่างน้อยขั้นตอนละ 2 ชั่วโมง ก่อนที่จะฝังชิ้นเนื้อลงในพาราฟพลาสติกอีกครั้งและปล่อยให้แข็งตัว หลังจากนั้นนำมาแช่น้ำแข็งและตัดด้วยไมโครทอม โดยให้แผ่นชิ้นเนื้อมีความหนา 3-5 ไมครอน ลอยในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส นาน 1-2 นาที ก่อนใช้สไลด์ที่สะอาดตากขึ้นไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 10-12 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปสู่ขั้นตอนการย้อมสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซินตามวิธีการของ Bancroft (1967) และศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์

6. การศึกษาโครงสร้างของปรสิตมิซอสปอร์ริเดียมด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

คัดเลือกชนิดตัวอย่างปลาที่มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อสูงและพบปรสิตจำนวนมากมาผ่าตัดอวัยวะที่ต้องการศึกษาขณะปลามีชีวิต โดยตัดเป็นชิ้นเล็กๆขนาด 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ดองในน้ำยารักษาสภาพ คือ กลูตาแรลดีไฮด์ (glutaraldehyde) ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ ในคาโคดีเลทบัฟเฟอร์ (cacodylate buffer) นาน 24 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำยาคงสภาพทิ้งและใช้สารละลายบัฟเฟอร์รักษาสภาพเนื้อเยื่อแทนและนำเก็บในตู้เย็น นำตัวอย่างล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 3 ครั้งๆ ละ 15 นาที ผ่านขั้นตอนการคงสภาพขั้นสุดท้าย (post fixation) ด้วยออกซิเจนเตตราออกไซด์ (osmium tetroxide) นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์โดยใช้แอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างกัน เติมสารละลายโพสไฟลีนออกไซด์และอีพ็อกซีเรซิน (epoxy resin) ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร นาน 1 ชั่วโมง และอีพ็อกซีเรซินบริสุทธิ์นาน 2 ชั่วโมง เคลื่อนย้ายตัวอย่างลงสู่แคปซูลพลาสติกและเติมอีพ็อกซีเรซินจนเต็ม นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้พลาสติกแข็งตัว ตัดตัวอย่างเนื้อเยื่อด้วยอัลตราไมโครทอมโดยครั้งแรกจะตัดแบบหนา (thick section) โดยอยู่ในช่วง 0.5-1 ไมครอน ย้อมด้วยสีทูลูดีนบลู (toluidine blue) เคลือบสไลด์ด้วยน้ำยาเปอร์มาทแล้วนำไปตรวจเช็คด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา เมื่อได้ตัวอย่างที่ต้องการจึงตัดตัวอย่างอันเดิมแบบบาง (thin section) โดยมีความหนา 60-90 นาโนเมตร ทำการย้อมด้วยยูรานิลอะซิเตท (uranyl acetate) และเลดซิเตรท (lead citrate) ตามวิธีการของ Robinson และคณะ (1987) นำไปศึกษาโครงสร้างของปรสิตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่านและบันทึกภาพโดยกำลังขยายตั้งแต่ 4,000-20,000 เท่า

บทที่ 3

ผลการศึกษา

1. การแพร่กระจายและปริมาณการติดเชื้อปรสิตมิซสปอร์ริเดีย

จากการเก็บตัวอย่างปลาในทะเลสาบสงขลาตอนนอกบริเวณตำบลเกาะยอ อำเภอเมือง ตำบลหัวเขา ตำบลปากrohr อำเภอสิงหนคร และตำบลควนไส อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา ในระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2540 - กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2542 สามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างปลาได้ทั้งหมดจำนวน 946 ตัว ใน 19 ครอบครัว (family) 32 ชนิด (species) (ภาคผนวก ก.) เมื่อนำมาตรวจสอบพบว่า มีปลาที่ติดเชื้อปรสิตมิซสปอร์ริเดีย จำนวน 8 ชนิด ใน 7 ครอบครัว คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ของชนิดปลาทั้งหมด ซึ่งแยกกล่าวตามอวัยวะที่มีการติดเชื้อได้ดังนี้ คือ ปลาที่มีการติดเชื้อในถุงน้ำดี ได้แก่ ปลาหัวอ่อน (*Osteogeneiosus militaris*) ติดเชื้อปรสิต *Zschokkella* sp. และปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A จำนวน 27 ตัว และ 20 ตัว จากปลาตัวอย่างจำนวน 82 ตัว คิดเป็น 32.92 และ 24.39 เปอร์เซ็นต์ ปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*) ติดเชื้อปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A จำนวน 6 ตัว ปรสิต *Thelohanellus* sp. จำนวน 3 ตัว และปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด B จำนวน 2 ตัว จากตัวอย่างปลาจำนวน 54 ตัว คิดเป็น 11.11, 5.55 และ 3.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลาแป้นเล็ก (*Leiognathus brevirostris*) ติดเชื้อปรสิต *Sphaeromyxa* sp. จำนวน 11 ตัว จากปลาตัวอย่างจำนวน 75 ตัว คิดเป็น 14.66 เปอร์เซ็นต์ ปลานู๋หัวทุ๋ (*Acentrogobius cyanomos*) ติดเชื้อปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด B จำนวน 3 ตัว จากปลาตัวอย่างจำนวน 14 ตัว คิดเป็น 21.42 เปอร์เซ็นต์ ปลากระทุงเหวปากแดง (*Hemiramphus gaimardi*) ติดเชื้อปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด C จำนวน 4 ตัว จากปลาตัวอย่างจำนวน 22 ตัว คิดเป็น 18.18 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปลาที่มีการติดเชื้อปรสิตในไตและกระเพาะปัสสาวะพบว่าปรสิตทั้งหมดเป็นระยะพลาสโมเดียมหรือระยะก่อนสร้างสปอร์ที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ โดยชนิดที่มีการติดเชื้อในไต ได้แก่ ปลาปักเป้าลายเสือ ติดเชื้อปรสิตจำนวน 4 ตัว จากปลาตัวอย่างจำนวน 11 ตัว คิดเป็น 36.36 เปอร์เซ็นต์ ปลากระบอก (*Liza subviridis*) ติดเชื้อปรสิตจำนวน 1 ตัว จากปลาตัวอย่างจำนวน 12 ตัว คิดเป็น 8.34 เปอร์เซ็นต์ และปลาตะกรับ ติดเชื้อปรสิตจำนวน 3 ตัว คิดเป็น 5.55 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่มีการติดเชื้อในกระเพาะปัสสาวะ ได้แก่ ปลาปลานู๋ทอง (*Glossogobius giuris*) ติดเชื้อปรสิตจำนวน 3 ตัว จากปลาตัวอย่างจำนวน 16 ตัว คิดเป็น 18.75 เปอร์เซ็นต์ และตะกรับ ติดเชื้อปรสิตจำนวน 7 ตัว คิดเป็น 12.96 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปลาที่มีการติดเชื้อบริเวณเหงือกพบว่าเป็นปรสิตระยะพลาสโมเดียมเช่นกัน ได้แก่ ปลากระบอกจำนวน 2 ตัว คิดเป็น 16.66 เปอร์เซ็นต์ (แสดงใน

ตารางที่ 1) สำหรับการตรวจสอบปรสิตที่มีการติดเชื้อในอวัยวะอื่นๆ ได้แก่ ม้าม ตับ กระเพาะอาหาร กระเพาะปัสสาวะ ลำไส้ กล้ามเนื้อ ตา สมอง และระบบหมุนเวียนเลือดของปลาตัวอย่างพบว่าไม่มีการติดเชื้อในอวัยวะดังกล่าว

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณการติดเชื้อปรสิตมิโทซสปอร์ริเดียในตัวอย่างปลาที่รวบรวมได้จากทะเลสาบสงขลาตอนนอก

ชนิดปลา	ปรสิต	บริเวณที่ติดเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ
ปลาหัวอ่อน	<i>Zschokkella</i> sp.	ถุงน้ำดี	32.92% (27/82)
	<i>Ceratomyxa</i> sp. sp. A	ถุงน้ำดี	24.39% (20/82)
ปลาตะกรับ	<i>Myxidium</i> sp. sp. A	ถุงน้ำดี	11.11% (6/54)
	<i>Thelohanellus</i> sp.	ถุงน้ำดี	5.55% (3/54)
	<i>Ceratomyxa</i> sp. sp. B	ถุงน้ำดี	3.70% (2/54)
	plasmodium stage	ท่อปัสสาวะ	12.96% (7/54)
	plasmodium stage	ท่อไต	5.55% (3/54)
	ปลาแป้นเล็ก	<i>Sphaeromyxa</i> sp.	ถุงน้ำดี
ปลานูหัวฟู	<i>Myxidium</i> sp. sp. B	ถุงน้ำดี	21.42% (3/14)
ปลากระทุงเหวปากแดง	<i>Ceratomyxa</i> sp. sp. C	ถุงน้ำดี	18.18% (4/22)
ปลาปักเป้าลายเสือ	plasmodium stage	ท่อไต	36.36% (4/11)
ปลานูทอง	plasmodium stage	ท่อปัสสาวะ	18.75% (3/16)
ปลากระบอก	plasmodium stage	ท่อไต	8.34% (1/12)
	plasmodium stage	เหงือก	16.66% (2/12)

การแพร่กระจายและปริมาณการติดเชื้อปรสิตในแต่ละพื้นที่พบว่าชนิดปลาที่มีการติดเชื้อ และสามารถเก็บตัวอย่างได้ทั้งในพื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 1 คือ บริเวณตำบลหัวเขาและตำบลเกาะยอ และเขตที่ 2 คือ บริเวณตำบลปากกรอและตำบลควนโธ ได้แก่ ปลาหัวอ่อน เก็บตัวอย่างได้ในเขตที่ 1 จำนวน 52 ตัว เขตที่ 2 จำนวน 30 ตัว พบการติดเชื้อปรสิต *Zschokkella* sp. จำนวน 18 ตัว และ 9 ตัว คิดเป็น 34.61 เปอร์เซ็นต์ และ 30 เปอร์เซ็นต์ ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A พบการติดเชื้อในปลาเขตที่ 1 จำนวน 12 ตัว เขตที่ 2 จำนวน 8 ตัว คิดเป็น 23.07 เปอร์เซ็นต์ และ 26.66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่ปลาตะกรับเก็บตัวอย่างได้ในเขตที่ 1 จำนวน 29 ตัว เขตที่ 2

จำนวน 25 ตัว พบการติดเชื้อปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A จำนวน 4 ตัว และ 2 ตัว คิดเป็น 13.79 เปอร์เซ็นต์ และ 8 เปอร์เซ็นต์ ปรสิต *Thelohanellus* sp. พบการติดเชื้อในปลาเขตที่ 1 จำนวน 2 ตัว และเขตที่ 2 จำนวน 1 ตัว คิดเป็น 6.89 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด B พบการติดเชื้อเขตละ 1 ตัว คิดเป็น 3.45 และ 4 เปอร์เซ็นต์ และปรสิตระยะพลาสโมเดียมซึ่งพบการติดเชื้อในเขตที่ 1 จำนวน 2 ตัว และเขตที่ 2 จำนวน 5 ตัว คิดเป็น 6.89 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปลาแป้นเล็กเก็บตัวอย่างได้ในเขตที่ 1 จำนวน 34 ตัว เขตที่ 2 จำนวน 41 ตัว พบการติดเชื้อปรสิต *Sphaeromyxa* sp. จำนวน 24 ตัว และ 7 ตัว คิดเป็น 11.76 และ 17.07 เปอร์เซ็นต์ (แสดงในตารางที่ 2) สำหรับการเปรียบเทียบการแพร่กระจายของปรสิตในปลาชนิดอื่นๆพบว่าไม่สามารถทำได้เนื่องจากเก็บตัวอย่างได้เฉพาะบางบริเวณ ได้แก่ ปลากระทุงเหวปากแดง ปลานูทอง ปลากระบอก และปลากีบป่าลายเสือ เก็บตัวอย่างได้เฉพาะบริเวณพื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 1 ส่วนปลานูหัวทุเก็บตัวอย่างได้จากเขตที่ 2

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบปริมาณการติดเชื้อและการแพร่กระจายของปรสิตมิโกโซสปอริเดียจากพื้นที่เก็บตัวอย่างต่างกัน

ชนิดปลา	ปรสิต	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในเขตที่ 1	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในเขตที่ 2
ปลาหัวอ่อน	<i>Zschokkella</i> sp.	34.61% (18/52)	30.00% (9/30)
	<i>Ceratomyxa</i> sp. sp. A	23.07% (12/52)	26.66% (8/30)
ปลาตะกรับ	<i>Myxidium</i> sp. sp. A	13.79% (4/29)	8.00% (2/25)
	<i>Thelohanellus</i> sp.	6.89% (2/29)	4.00% (1/25)
	<i>Ceratomyxa</i> sp. sp. B	3.45% (1/29)	4.00% (1/25)
	plasmodium stage (ท่อปลัสมาวะ)	6.89% (2/29)	20.00% (5/25)
	plasmodium stage (ไต)	5.55% (3/54)	-
ปลาแป้นเล็ก	<i>Sphaeromyxa</i> sp.	11.76% (4/34)	17.07% (7/41)
ปลานูหัวฟู	<i>Myxidium</i> sp. sp. B	-	21.42% (3/14)
ปลากระทุงเหวปากแดง	<i>Ceratomyxa</i> sp. sp. C	18.18% (4/22)	-
ปลาปักเป้าลายเสือ	plasmadium stage	36.36% (4/11)	-
ปลานูทอง	plasmodium stage	18.75% (3/16)	-
ปลากระบอก	plasmodium stage (ท่อไต)	8.33% (1/12)	-
	plasmodium stage(เหงือก)	16.66% (2/12)	-

พื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 1 : ตำบลหัวเขา อำเภอสิงหนคร และตำบลเกาะยอ อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

พื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 2 : ตำบลปากพร อำเภอสิงหนคร และตำบลควนไต้ อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา

2. การจัดจำแนกชนิดปรสิตมิโทสปอร์ริเดียที่พบในปลาตัวอย่าง

จากการนำปลาตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้มาทำการตรวจสอบในอวัยวะต่างๆพบว่าสามารถพบการติดเชื้อปรสิตมิโทสปอร์ริเดียระยะสปอร์เต็มวัย และระยะก่อนสร้างสปอร์ร่วมกับระยะสปอร์เต็มวัยจำนวน 8 ชนิด และระยะก่อนสร้างสปอร์เพียงอย่างเดียวจำนวน 6 ชนิด โดยสามารถนำมาทำการจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งสรุปลักษณะเฉพาะของปรสิตแต่ละชนิดได้ดังนี้

2.1 ปรสิต *Zschokkella* sp.

Phylum : Myxozoa Grasse, 1970

Class : Myxosporea Buetschli, 1881

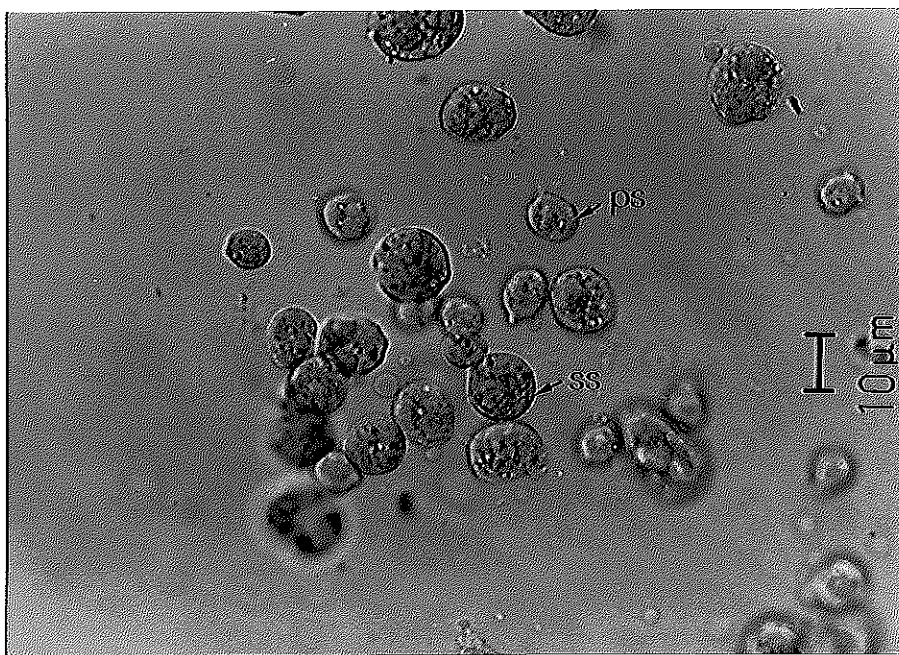
Order : Bivalvulida Shulman, 1959

Suborder : Variisporina Lom and Noble, 1984

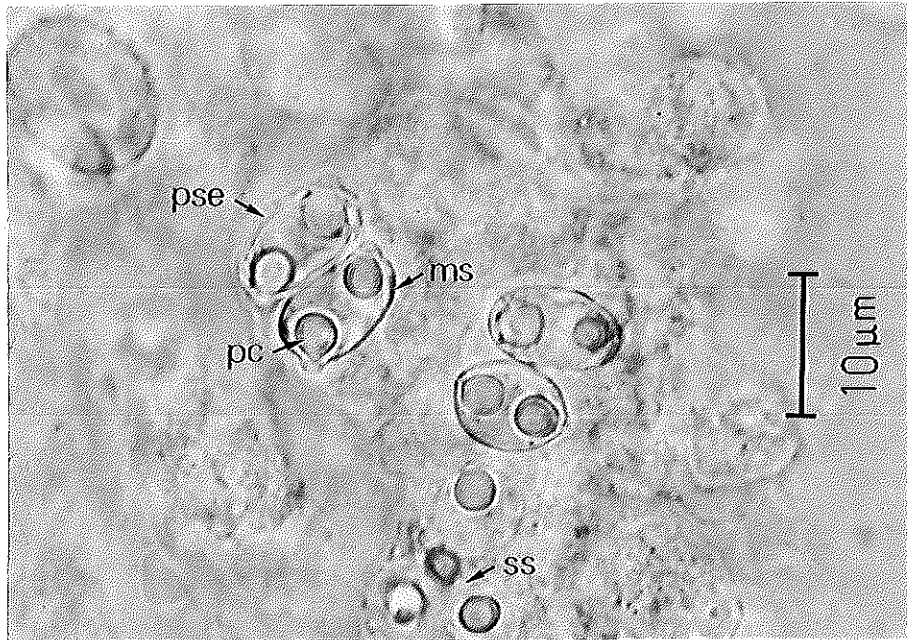
Family : Myxidiidae Thelohan, 1892

Genus : *Zschokkella* Auerbach, 1910

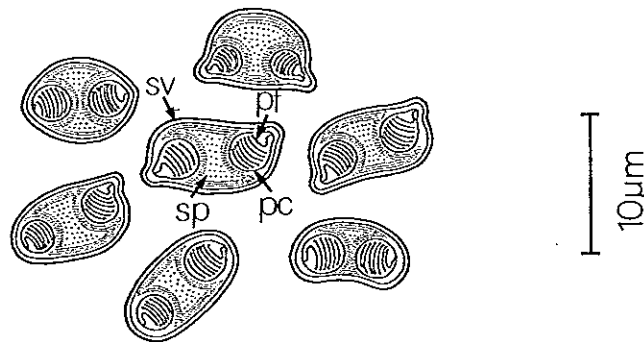
Zschokkella sp.



ภาพที่ 1 ลักษณะปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยระยะก่อนสร้างสปอร์ (ps) และระยะสร้างสปอร์ (ss) (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 2 ลักษณะปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยระยะสร้างสปอร์ (ss) ที่มี 2 สปอร์ อยู่ภายในซิวโตพลาสมิเดียม (spi) และระยะสปอร์เต็มวัย (ms) ที่มีโพลาร์แคปซูล (pc) 2 อัน อยู่ตรงกันข้าม (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 3 ภาพฉายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟิลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp) (bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต (parasite) : *Zschokkella* sp. ; Family : Myxidiidae

ปลาเจ้าบ้าน (host) : ปลาหัวอ่อน (*Osteogeneiosus militaris*)

ระยะของปลาติดเชื้อ (life stage infection) : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ (site of infection) : ผนังลำตัว

ระยะของปรสิต (development stage) : ระยะก่อนสร้างสปอร์ ระยะสร้างสปอร์และระยะสปอร์เต็มวัย

ขนาดของปรสิต (size of parasite) : ความยาวสปอร์ 9.50 ± 0.49 ไมครอน

ความกว้างของสปอร์ 5.84 ± 0.3 ไมครอน

ความยาวของโพลาร์แคปซูล 3.29 ± 0.22 ไมครอน

ความกว้างของโพลาร์แคปซูล 2.63 ± 0.00 ไมครอน

โพลาร์ฟิลาร์เมนท์ขาดเป็นเกลียว 6-7 รอบ

ปริมาณปรสิตที่พบ (quantity of parasite) : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (+++)

2.2 ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A

Phylum : Myxozoa Grasse, 1970

Class : Myxosporea Buetschli, 1881

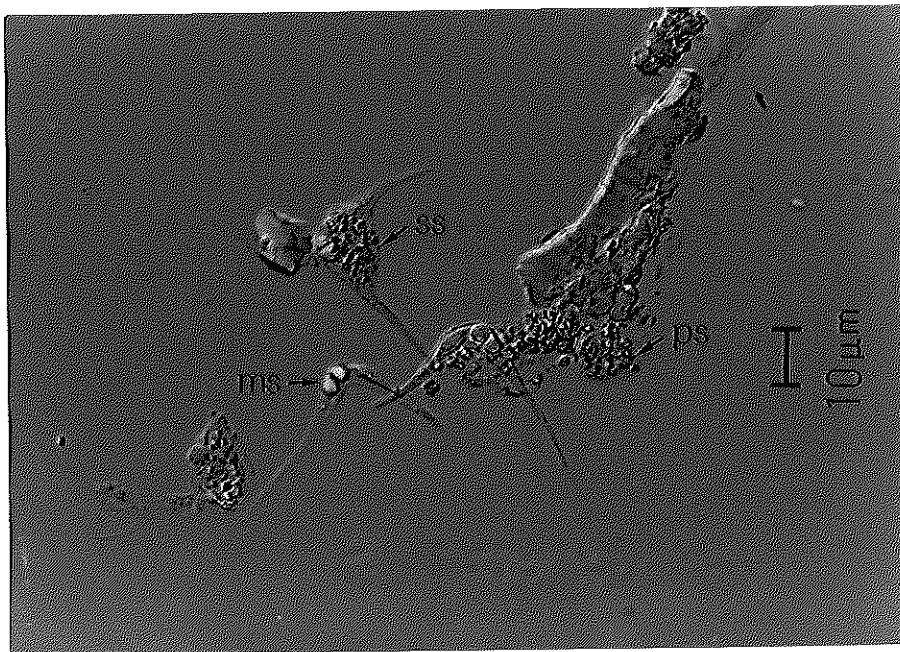
Order : Bivalvulida Shulman, 1959

Suborder : Variisporina Lom and Noble, 1984

Family : Ceratomyxidae Doflein, 1899

Genus : *Ceratomyxa* Thelohan, 1892

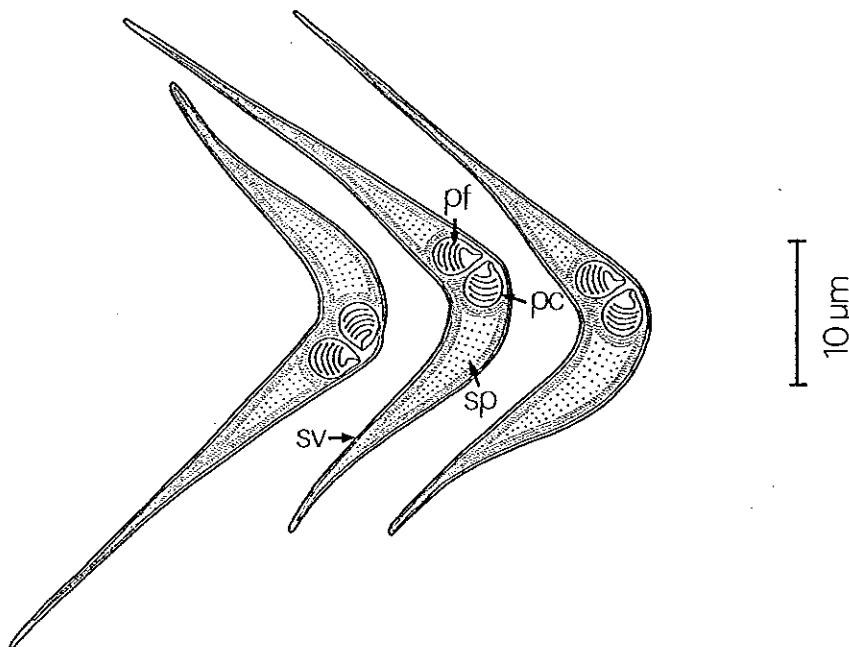
Ceratomyxa sp. ชนิด A



ภาพที่ 4 ลักษณะปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยระยะก่อนสร้างสปอร์ (ps) ระยะสร้างสปอร์ (ss) และระยะสปอร์เต็มวัย (ms) (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 5 ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) อยู่บริเวณด้านหน้าของสปอร์ และเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) ที่มีลักษณะและขนาดแตกต่างกัน (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 6 ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟิลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp) (bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต : *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ; Family : Ceratomyxidae

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาหัวอ่อน (*Osteogeneiosus militaris*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ถุงน้ำดี

ระยะของปรสิต : ระยะก่อนสร้างสปอร์ ระยะสร้างสปอร์และระยะสปอร์เต็มวัย

ขนาดของปรสิต : ความยาวสปอร์ 5.11 ± 0.26 ไมครอน

ความกว้างของสปอร์ 59.73 ± 0.73 ไมครอน

เส้นผ่านศูนย์กลางของโพลาร์แคปซูล 3.73 ± 0.10 ไมครอน

โพลาร์ฟีลาเมนต์ขาดเป็นเกลียว 4-5 รอบ

ปริมาณปรสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++)

2.3 ปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A

Phylum : Myxozoa Grasse, 1970

Class : Myxosporea Buetschli, 1881

Order : Bivalvulida Shulman, 1959

Suborder : Variisporina Lom and Noble, 1984

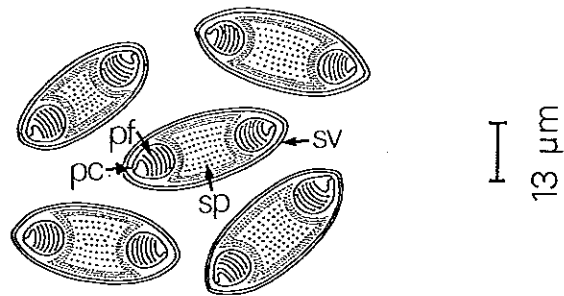
Family : Myxidiidae Thelohan, 1892

Genus : *Myxidium* Buetschli, 1882

Myxidium sp. ชนิด A



ภาพที่ 7 ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ซึ่งมีลักษณะคล้ายกระสวย ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) อยู่ตรงกันข้ามและมีสปอโรพลาสซึม (sp) แทรกตรงกลาง (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 8 ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A ที่ตรวจพบใน
 ถูงน้ำดีของปลาตะกรับ ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟีลา
 เมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp) (bar = 13 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต : *Myxidium* sp. ชนิด A ; Family : Myxidiidae

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ถูงน้ำดี

ระยะของปรสิต : ระยะสปอร์เต็มวัย

ขนาดของปรสิต : ความยาวของสปอร์ 21.52 ± 0.71 ไมครอน

ความกว้างของสปอร์ 8.80 ± 0.54 ไมครอน

ความยาวของโพลาร์แคปซูล 6.42 ± 0.21 ไมครอน

ความกว้างของโพลาร์แคปซูล 5.23 ± 0.16 ไมครอน

โพลาร์ฟีลาร์เมนต์ขาดเป็นเกลียว 5-6 รอบ

ปริมาณปรสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (---)

2.4 ปรสิต *Thelohanellus* sp.

Phylum : Myxozoa Grasse, 1970

Class : Myxosporea Buetschli, 1881

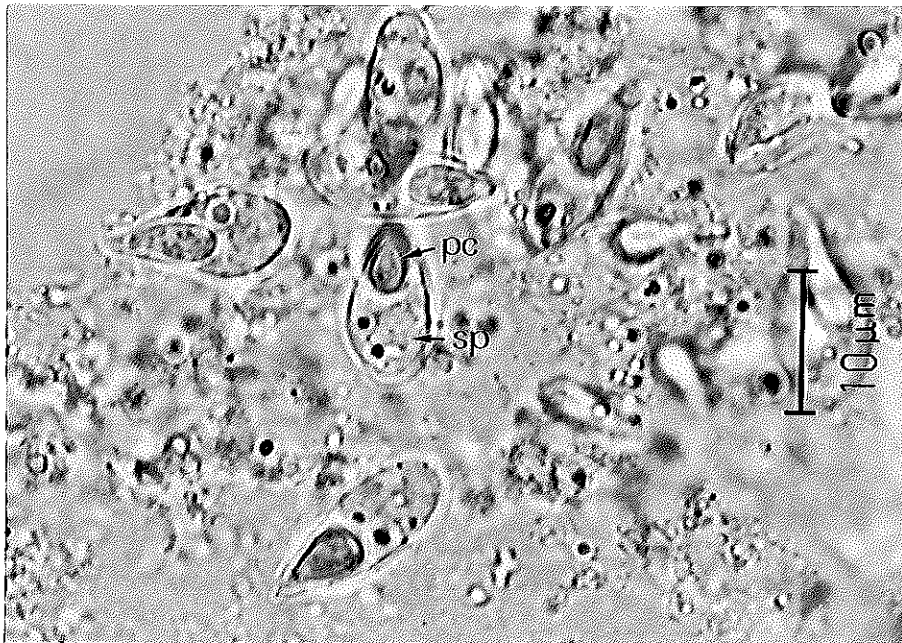
Order : Bivalvulida Shulman, 1959

Suborder : Platysporina Kudo, 1919

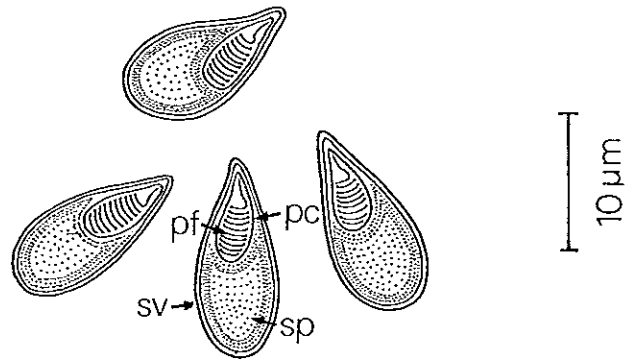
Family : Myxobolidae Thelohan, 1892

Genus : *Thelohanellus* Kudo, 1933

Thelohanellus sp.



ภาพที่ 9 ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต *Thelohanellus* sp. ที่พบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ซึ่งมีลักษณะคล้ายลูกแพร์ ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) 1 อัน อยู่บริเวณด้านหน้าสปอร์ และสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่บริเวณด้านหลังสปอร์ (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 10 ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต *Thelohanellus* sp. ที่ตรวจพบใน
 ฝูงน้ำดีของปลาตะกรับ ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟิ
 ลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp) (bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต : *Thelohanellus* sp. ; Family : Myxobolidae

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

ระยะของปรสิต : ระยะสปอร์เต็มวัย

ขนาดของปรสิต : ความยาวของสปอร์ 14.13 ± 0.40 ไมครอน

ความกว้างของสปอร์ 5.94 ± 0.21 ไมครอน

ความยาวของโพลาร์แคปซูล 6.30 ± 0.37 ไมครอน

ความกว้างของโพลาร์แคปซูล 2.88 ± 0.27 ไมครอน

โพลาร์ฟิลาเมนต์ขดเป็นเกลียว 9-10 รอบ

ปริมาณปรสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++++)

2.5 ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด B

Phylum : Myxozoa Grasse, 1970

Class : Myxosporea Buetschli, 1881

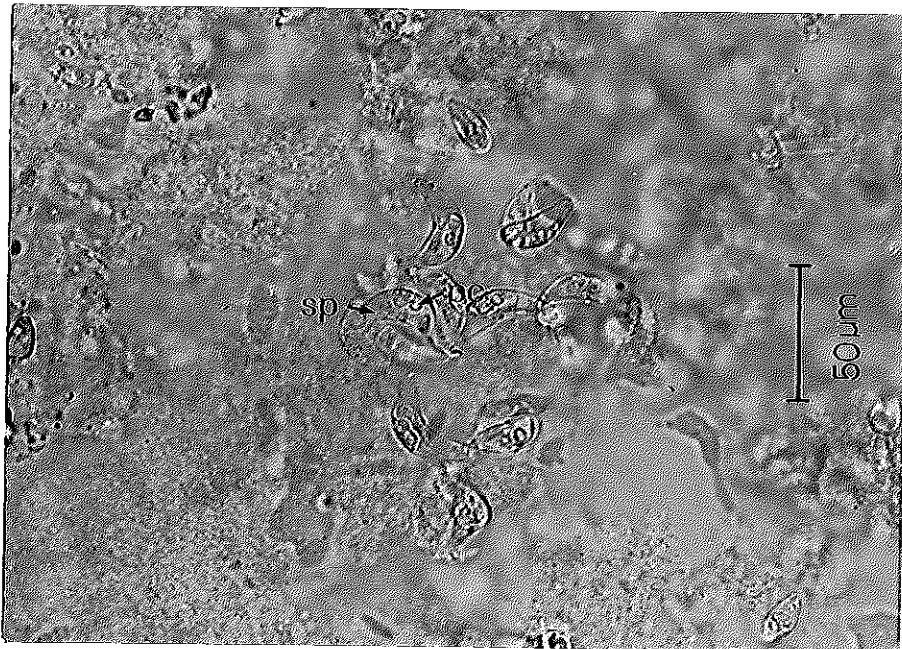
Order : Bivalvulida Shulman, 1959

Suborder : Variisporina Lom and Noble, 1984

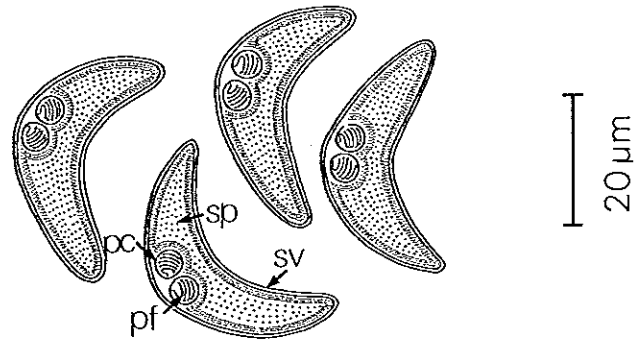
Family : Ceratomyxidae Doflein, 1899

Genus : *Ceratomyxa* Thelohan, 1892

Ceratomyxa sp. ชนิด B



ภาพที่ 11 ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ ซึ่งมีลักษณะโค้งคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) 2 อัน อยู่ในบริเวณด้านหน้าสปอร์และสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่บริเวณด้านท้ายสปอร์ (bar = 50 μ m)



ภาพที่ 12 ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในอุจจาระของปลาตะกรับ ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟิลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp) (bar = 20 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต : *Ceratomyxa* sp. ชนิด B ; Family : Ceratomyxidae

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : อุจจาระ

ระยะของปรสิต : ระยะสปอร์เต็มวัย

ขนาดของปรสิต : ความยาวของสปอร์ 9.46 ± 0.25 ไมครอน

ความกว้างของสปอร์ 31.57 ± 0.04 ไมครอน

เส้นผ่านศูนย์กลางของโพลาร์แคปซูล 5.31 ± 0.10 ไมครอน

โพลาร์ฟิลาเมนต์ขดเรียงเป็นเกลียว 4-5 รอบ

ปริมาณปรสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++)

2.6 ปลาดิบ *Sphaeromyxa* sp.

Phylum : Myxozoa Grasse, 1970

Class : Myxosporea Buetschli, 1881

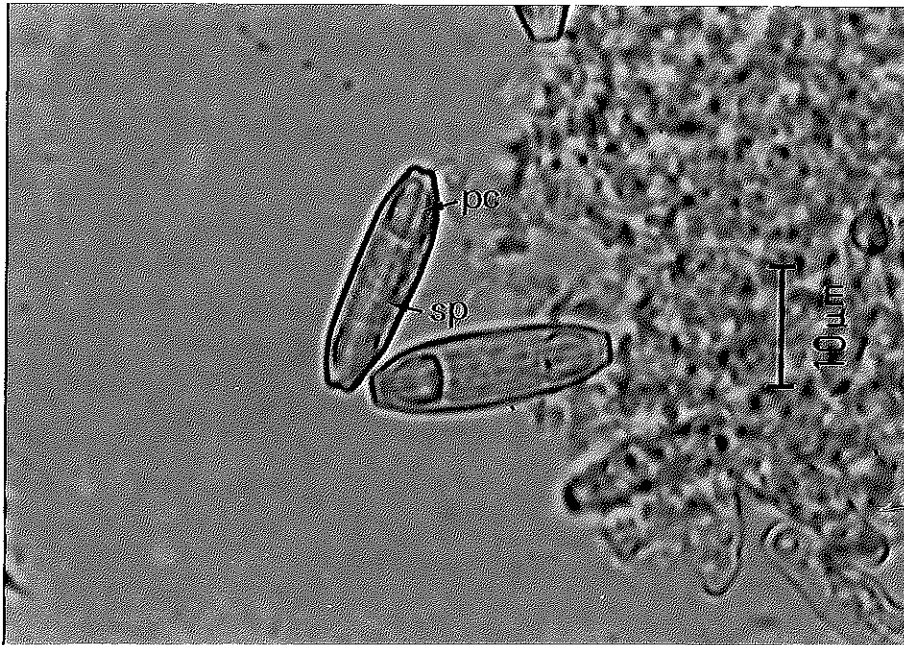
Order : Bivalvulida Shulman, 1959

Suborder : Sphaeromyxina Lom and Noble, 1984

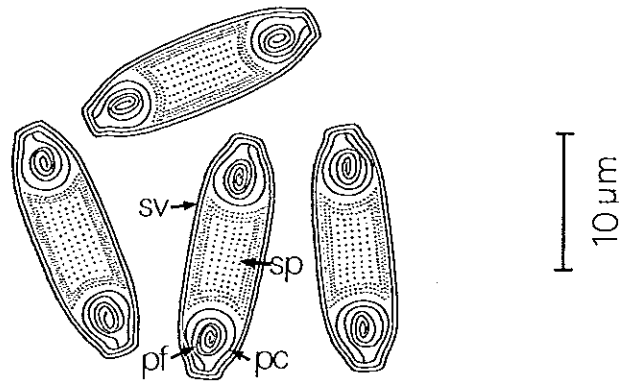
Family : Sphaeromyxidae Lom and Noble, 1984

Genus : *Sphaeromyxa* Thelohan, 1892

Sphaeromyxa sp.



ภาพที่ 13. ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปลาดิบ *Sphaeromyxa* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาเป็น
เล็ก ซึ่งมีลักษณะคล้ายกระสวย ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) 2 อัน อยู่ด้านตรงกัน
ข้ามและมีสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่ตรงกลางสปอร์ (sv) (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 14 ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต *Sphaeromyxa* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาแป้นเล็ก ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟิลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp) (bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต : *Sphaeromyxa* sp. ; Family : Sphaeromyxidae

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาแป้นเล็ก (*Leiognathus brevisrostris*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ถุงน้ำดี

ระยะของปรสิต : ระยะสปอร์เต็มวัย

ขนาดของปรสิต : ความยาวของสปอร์ 18.28 ± 1.41 ไมครอน

ความกว้างของสปอร์ 5.28 ± 0.53 ไมครอน

ความยาวของโพลาร์แคปซูล 4.48 ± 0.28 ไมครอน

ความกว้างของโพลาร์แคปซูล 3.48 ± 0.23 ไมครอน

โพลาร์ฟิลาเมนต์ขดหมุนล้อมรอบเป็นวงรี 3-4 รอบ

ปริมาณปรสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++++)

2.7 ปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด B

Phylum : Myxozoa Grasse, 1970

Class : Myxosporrea Buetschli, 1881

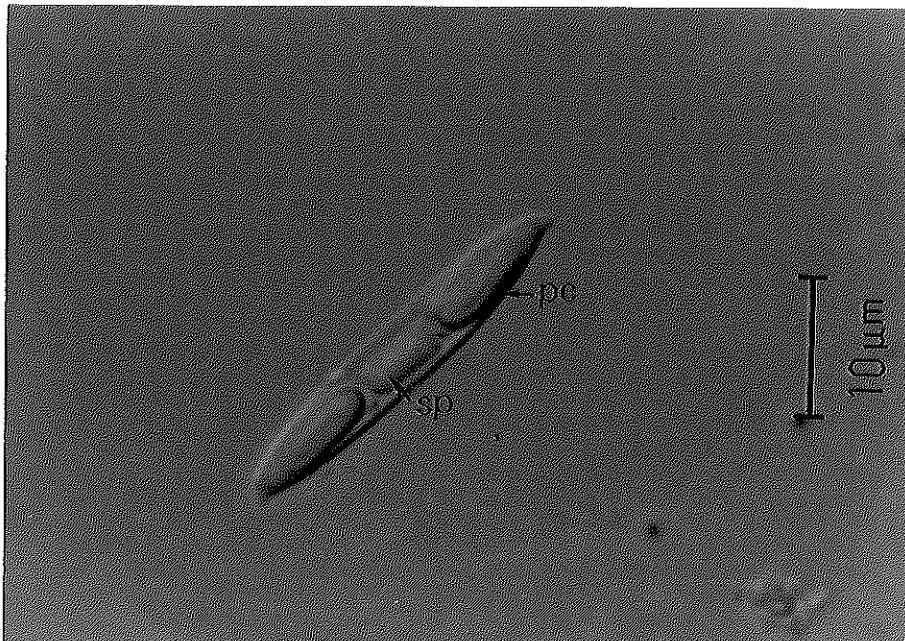
Order : Bivalvulida Shulman, 1959

Suborder : Viriisporina Lom and Noble, 1984

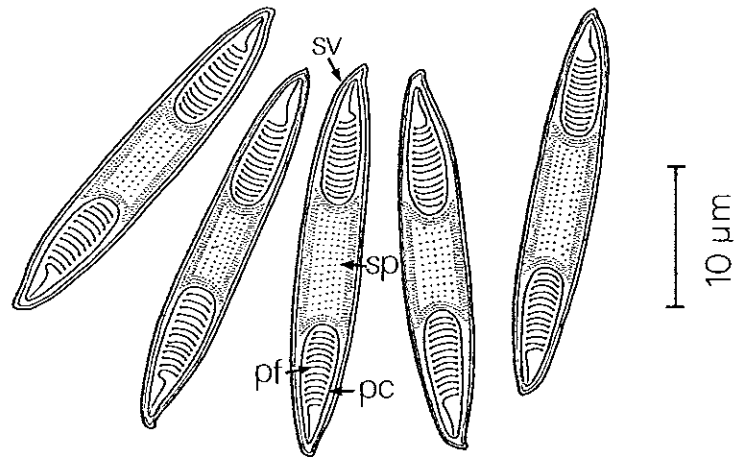
Family : Myxidiidae Thelohan, 1892

Genus : *Myxidium* Buetschli, 1882

Myxidium sp. ชนิด B



ภาพที่ 15 ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปูหัวทุ่ ซึ่งมีลักษณะรูปกระสวย ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) อยู่ตรงกันข้าม และมีสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่ตรงกลางสปอร์ (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 16 ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด B ที่ตรวจพบ
ในถุงน้ำดีของปลาบู่หัวหู่ ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์
ฟีลาเมนต์ (pf) และสปอร์โรพลาสซึม (sp) (bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต : *Myxidium* sp. ชนิด B ; Family : Myxidiidae

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาบู่หัวหู่ (*Acentrogobius cyanomos*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ถุงน้ำดี

ระยะของปรสิต : ระยะสปอร์เต็มวัย

ขนาดของปรสิต : ความยาวของสปอร์ 29.48 ± 0.32 ไมครอน

ความกว้างของสปอร์ 4.70 ± 0.14 ไมครอน

ความยาวของโพลาร์แคปซูล 9.94 ± 0.53 ไมครอน

ความกว้างของโพลาร์แคปซูล 2.99 ± 0.13 ไมครอน

โพลาร์ฟีลาเมนต์ขดเป็นเกลียว 11-13 รอบ

ปริมาณปรสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++)

2.8 ปรสิตร *Ceratomyxa* sp. ชนิด C

Phylum : Myxozoa Grasse, 1970

Class Myxosporea Buetschli, 1881

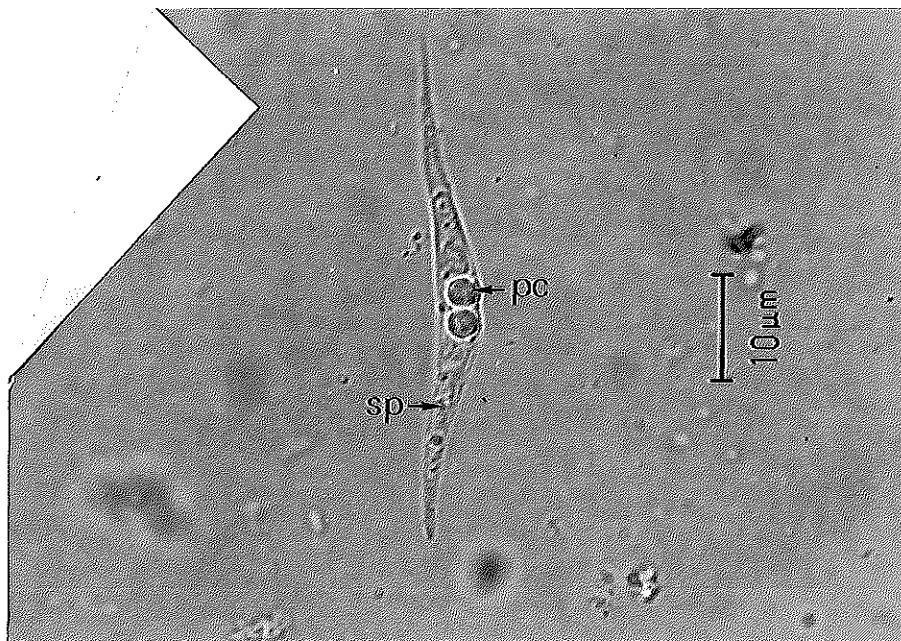
Order Bivalvulida Shulman, 1959

Suborder : Variisporina Lom and Noble, 1984

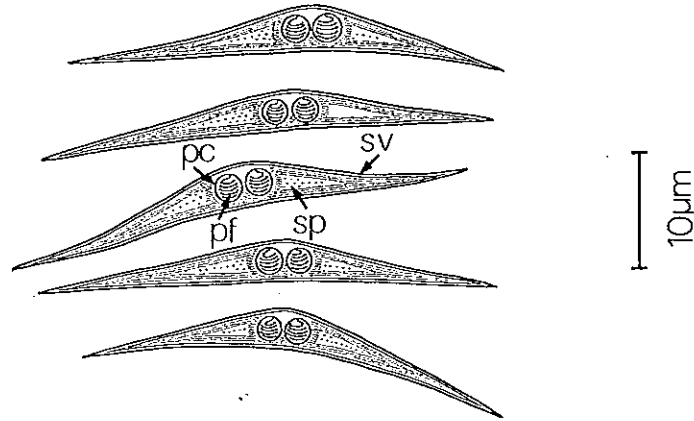
Family : Ceratomyxidae Doflein, 1899

Genus : *Ceratomyxa* Thelohan, 1892

Ceratomyxa sp. ชนิด C



ภาพที่ 17 ลักษณะสปอร์เต็มวัยของปรสิตร *Ceratomyxa* sp. ชนิด C ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลากระตู่เหงปากแดง ประกอบด้วยโพลาร์แคปซูล (pc) อยู่บริเวณด้านหน้าสปอร์ และเปลือกหุ้มสปอร์จะยื่นยาวและเรียวแหลมโดยมีสปอร์โรพลาสซึม (sp) อยู่ภายใน (bar = 10 μ m)



ภาพที่ 18 ภาพลายเส้นแสดงลักษณะสปอร์ที่สมบูรณ์ของปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด C ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลากระทุงเหวปากแดง ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟิลาเมนต์ (pf) และสปอร์โพรพลาซึม (sp) (bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต : *Ceratomyxa* sp. ชนิด C ; Family : Ceratomyxidae

ปลาเจ้าบ้าน : ปลากระทุงเหวปากแดง (*Hemiramphus gaimardi*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ถุงน้ำดี

ระยะของปรสิต : ระยะสปอร์เต็มวัย

ขนาดของปรสิต : ความยาวของสปอร์ 4.24 ± 0.35 ไมครอน

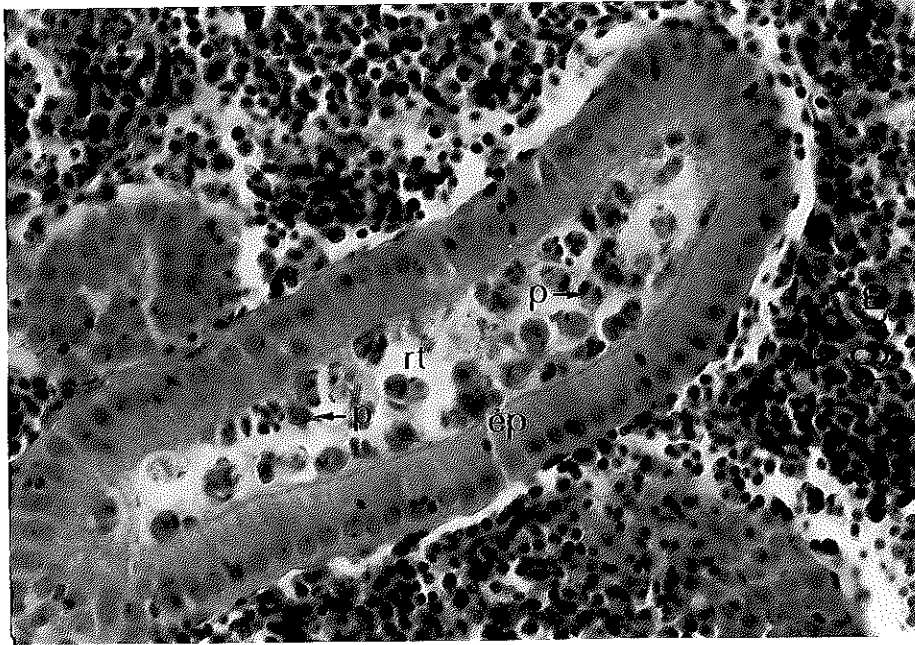
ความกว้างของสปอร์ 46.06 ± 0.15 ไมครอน

เส้นผ่านศูนย์กลางของโพลาร์แคปซูล 3.21 ± 0.13 ไมครอน

โพลาร์ฟิลาเมนต์ขดเป็นเกลียว 4-5 รอบ

ปริมาณปรสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++++)

2.9 ผลิตมิกโซสปอริเดียระยะพลาสโมเดียม ชนิด A



ภาพที่ 19 ลักษณะผลิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด A ที่ตรวจพบในท่อไตของปลาปักเป้าลายเสือ (rt = ท่อไต ; ep = เยื่อบุผิวท่อไต) (H & E ; bar = 50 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ผลิต : ผลิตมิกโซสปอริเดียระยะพลาสโมเดียม ชนิด A

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาปักเป้าลายเสือ (*Tetraodon fluviatilis*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

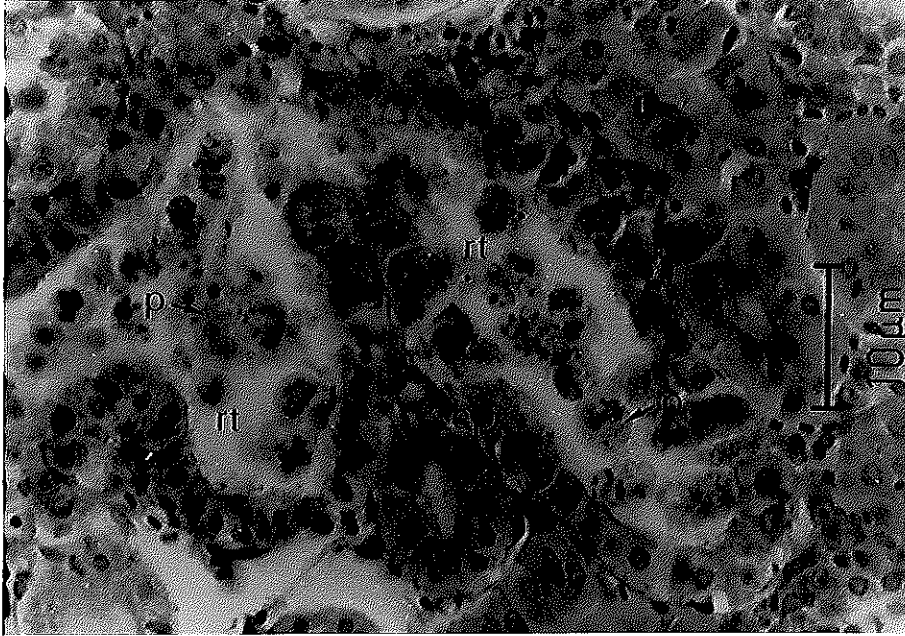
บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ท่อไต

ระยะของผลิต : ระยะก่อนสร้างสปอร์

ขนาดของผลิต : เส้นผ่านศูนย์กลางของพลาสโมเดียม 5.05 (4.37-8.10) ไมครอน

ปริมาณผลิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++++)

2.10 ปรสิตมิโทซสปอร์ริเดียระยะพลาสโมเดียม ชนิด B



ภาพที่ 20 ลักษณะปรสิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด B ที่ตรวจพบในท่อไตของปลากระบอก (rt = ท่อไต ; ep = เยื่อบุผิวท่อไต) (H & E ; bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิต : ปรสิตมิโทซสปอร์ริเดียระยะพลาสโมเดียม ชนิด B

ปลาเจ้าบ้าน : ปลากระบอก (*Liza subviridis*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

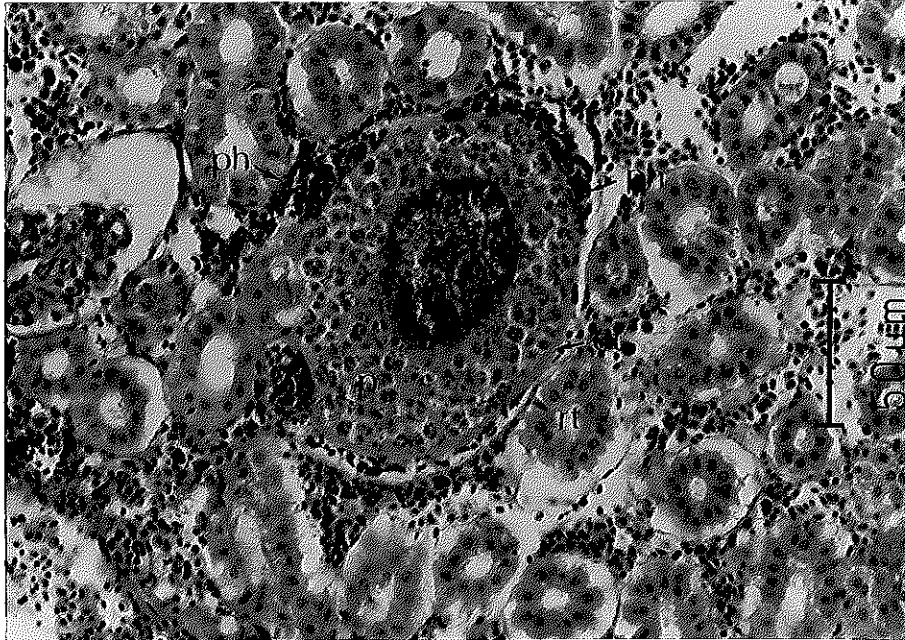
บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ท่อไต

ระยะของปรสิต : ระยะก่อนสร้างสปอร์

ขนาดของปรสิต : เส้นผ่านศูนย์กลางของพลาสโมเดียม 8.47 (7.50-9.37) ไมครอน

ปริมาณปรสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++)

2.11 ปริสิตมิกโซสปอริเดียระยะยะพลาสโมเดียม ชนิด C



ภาพที่ 21 ลักษณะปริสิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด C ที่ตรวจพบในไตของปลาดตะกုပ် (rt=ท่อน้ำ ; ct = เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ; ph = เซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอม) (H&E ; bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปริสิต : ปริสิตระยะพลาสโมเดียม ชนิด C

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาดตะกုပ် (*Scatophagus argus*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

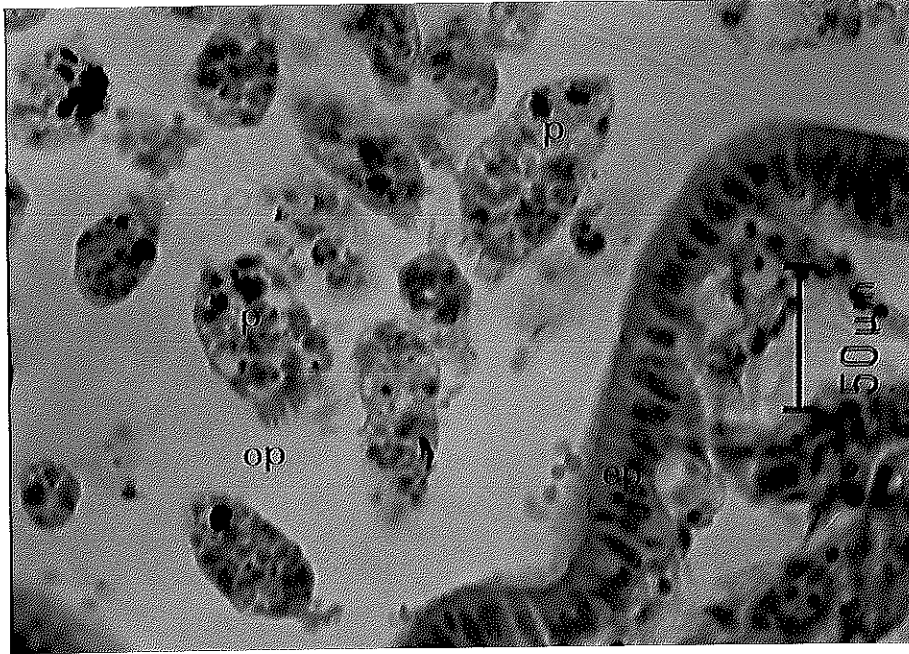
บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ท่อน้ำ

ระยะของปริสิต : ระยะก่อนสร้างสปอร์

ขนาดของปริสิต : ไม่สามารถวัดขนาดไม่ได้

ปริมาณปริสิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (+-)

2.12 ผลิตมิกโซสปอริเดียระยะพลาสโมเดียม ชนิด D



ภาพที่ 22 ลักษณะผลิตระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด D ที่ตรวจพบในท่อปัสสาวะ (op) ของปลานูทอง (ep = เยื่อหุ้มท่อปัสสาวะ) (H & E ; bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ผลิต : ผลิตมิกโซสปอริเดียระยะพลาสโมเดียม ชนิด D

ปลาเจ้าบ้าน : ปลานูทอง (*Glossogobius giurus*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ท่อปัสสาวะ

ระยะของผลิต : ระยะก่อนสร้างสปอร์

ขนาดของผลิต : ความยาวของพลาสโมเดียม 53.51 (23.68-86.84) ไมครอน

ความกว้างของพลาสโมเดียม 30.82 (18.42-51.31) ไมครอน

ปริมาณผลิตที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (+++)

2.13 ปลีสติมิกโซสปอริเดียระยะพลาสโมเดียม ชนิด E



ภาพที่ 23 ลักษณะปลีสติระยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด E ที่ตรวจพบในท่อปัสสาวะ (op) ของปลาตะกรับ (rt = ท่อไต ; ep = เยื่อบุผิวท่อปัสสาวะ) (H & E ; bar = 10 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปลีสติ : ปลีสติมิกโซสปอริเดีย ระยะพลาสโมเดียม ชนิด E

ปลาเจ้าบ้าน : ปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : ท่อปัสสาวะ

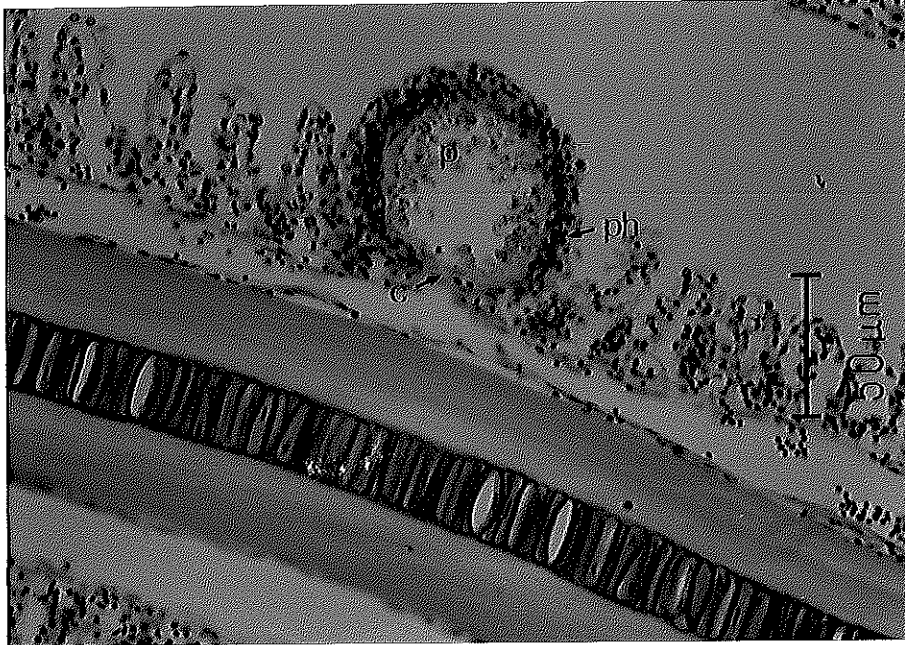
ระยะของปลีสติ : ระยะก่อนสร้างสปอร์

ขนาดของปลีสติ : ความยาวของพลาสโมเดียม 29.99 (27.63-32.89) ไมครอน

ความกว้างของพลาสโมเดียม 11.83 (10.52-13.15) ไมครอน

ปริมาณปลีสติที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (+++)

2.14 ปรสิตรึงมิทโซสปอริดิอ์ระยะยะพลาสโมเดียม ชนิด F



ภาพที่ 24 ลักษณะปรสิตรยะยะพลาสโมเดียม (p) ชนิด F ที่ตรวจพบในเหงือกของปลากระบอก (c =
 เกราะ ; ph = เซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอม) (H & E ; bar = 50 μ m)

ลักษณะจำเพาะ

ปรสิตร : ปรสิตรึงมิทโซสปอริดิอ์ระยะยะพลาสโมเดียม ชนิด F

ปลาเจ้าบ้าน : ปลากระบอก (*Liza subviridis*)

ระยะของปลาติดเชื้อ : ปลาโตเต็มวัย

บริเวณที่มีการติดเชื้อ : เหงือก

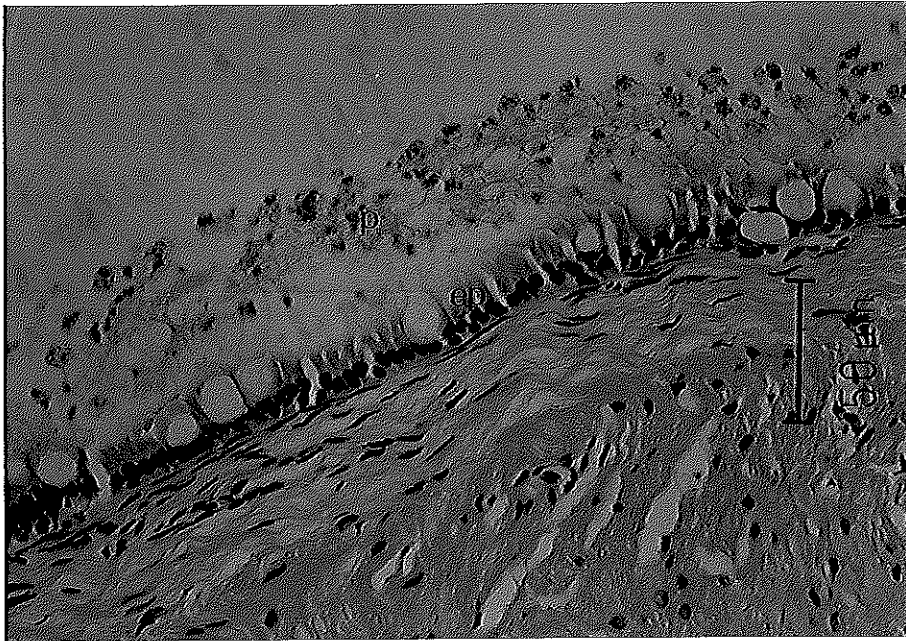
ระยะของปรสิตร : ระยะก่อนสร้างสปอร์

ขนาดของปรสิตร : ไม่สามารถวัดขนาดได้

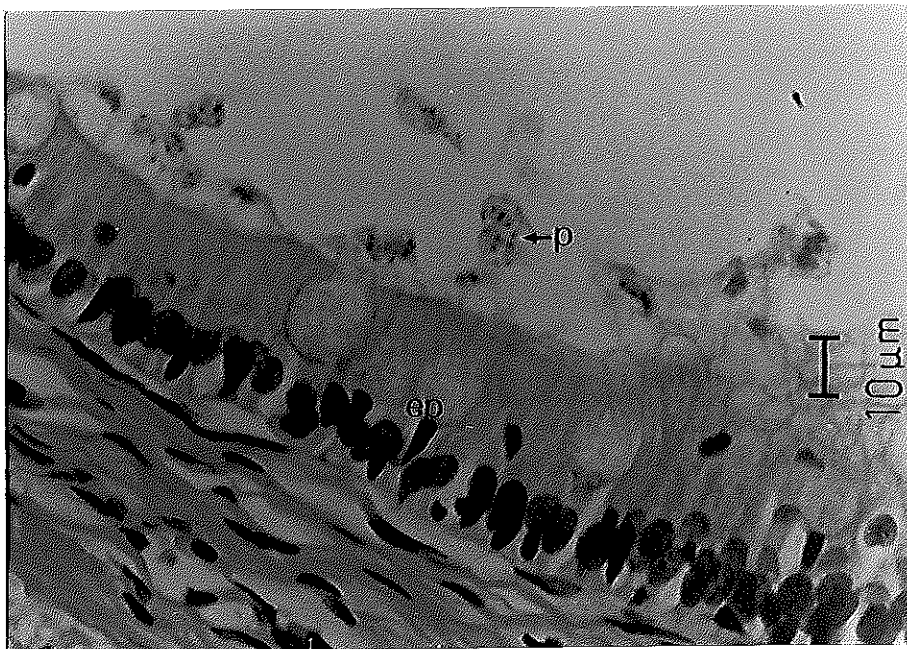
ปริมาณปรสิตรที่พบ : ไม่สามารถนับจำนวนได้ (++)

3. พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่เกิดจากการติดเชื้อปรสิตมิซอสปอร์ริเดีย

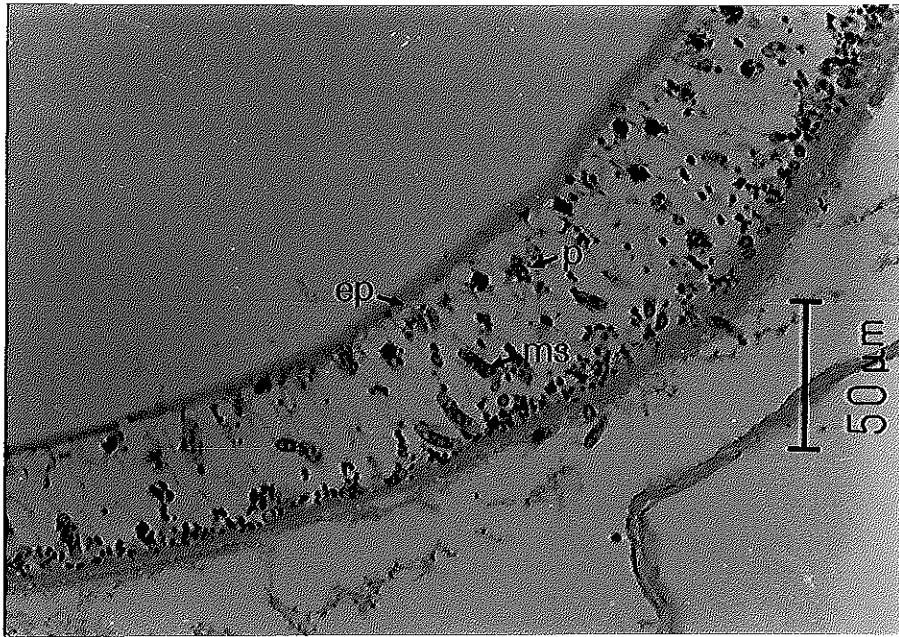
จากการนำอวัยวะต่างๆของปลาตัวอย่างที่รวบรวมได้มาผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ พบว่ามีการติดเชื้อปรสิตในบริเวณถุงน้ำดี ไต ท่อปัสสาวะและเหงือก ปรสิตที่ตรวจพบการติดเชื้อในถุงน้ำดี ได้แก่ ปรสิต *Zschokkella* sp. และปรสิต *Sphaeromyxa* sp. ซึ่งพบในปลาหัวอ่อนและปลาแป้นเล็ก ตามลำดับ โดยที่ปรสิตระยะก่อนสร้างสปอร์หรือระยะพลาสโมเดียมจะมีการสร้างออร์กาเนลล์ที่มีลักษณะคล้ายเท้าเทียม (pseudopodia) เกาะยึดติดกับผนังถุงน้ำดี แต่เมื่อมีการเจริญเติบโตและพัฒนาเข้าสู่ระยะสปอร์เต็มวัยก็จะเคลื่อนเข้าสู่ช่องว่างล่องลอยอิสระในน้ำดีโดยไม่ก่อให้เกิดลักษณะทางพยาธิสภาพหรือการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเกิดขึ้น (ภาพที่ 25, 26, 27 และ 28) ขณะที่ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A, *Ceratomyxa* sp. ชนิด B, *Ceratomyxa* sp. ชนิด C, *Myxidium* sp. ชนิด A, *Myxidium* sp. ชนิด B, และปรสิต *Thelohanellus* sp. ตรวจไม่พบในขั้นตอนการตรวจสอบจากกระบวนการทางเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตามในขั้นตอนการตรวจสอบปรสิตจากตัวอย่างสดพบว่าระยะสปอร์เต็มวัยของปรสิตทุกชนิดที่พบในถุงน้ำดีจะอาศัยอยู่บริเวณช่องว่างและล่องลอยปะปนกับน้ำดีมีผลทำให้น้ำดีเกิดความหนืดและเปลี่ยนแปลงสี โดยเฉพาะปลาตัวที่มีการติดเชื้อในปริมาณมากน้ำดีมีสีเขียวอมเหลืองหรือน้ำตาล ขณะที่ปลาปกติจะมีสีเขียวเข้ม ปรสิตที่ตรวจพบในไตและท่อปัสสาวะทั้งหมดเป็นระยะวัยอ่อนหรือระยะก่อนสร้างสปอร์ที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ ซึ่งมีการตรวจพบในท่อไต ปลาปักเป้าลายเสือ ปลากะบอก และพบในท่อปัสสาวะของปลาบุทองและปลาตะกรับ พบว่าปรสิตทั้งหมดอาศัยอยู่ภายในท่อและมีการเกาะยึดติดกับผิวเซลล์ของเยื่อเมิว (ภาพที่ 19, 20, 22 และ 23 ตามลำดับ) โดยไม่ก่อให้เกิดลักษณะทางพยาธิสภาพหรือการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับปรสิตที่พบในถุงน้ำดี ส่วนปรสิตที่พบในไตของปลาตะกรับพบว่าปรสิตมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนทำลายเนื้อเยื่อไตโดยสิ้นเชิง ในบริเวณรอบนอกของกลุ่มก้อนดังกล่าวจะถูกห่อหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีลักษณะเป็นชั้นบางๆรวมกับการอักเสบโดยสามารถสังเกตเห็นการรวมกลุ่มของเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอม สำหรับปรสิตที่ตรวจพบในบริเวณเหงือกของปลากะบอกจัดเป็นระยะพลาสโมเดียมที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้เช่นเดียวกัน โดยปรสิตอยู่รวมกันภายในเกราะที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันห่อหุ้มและมีการกระจายของเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมแทรกอยู่ระหว่างซี่เหงือก (ภาพที่ 24)



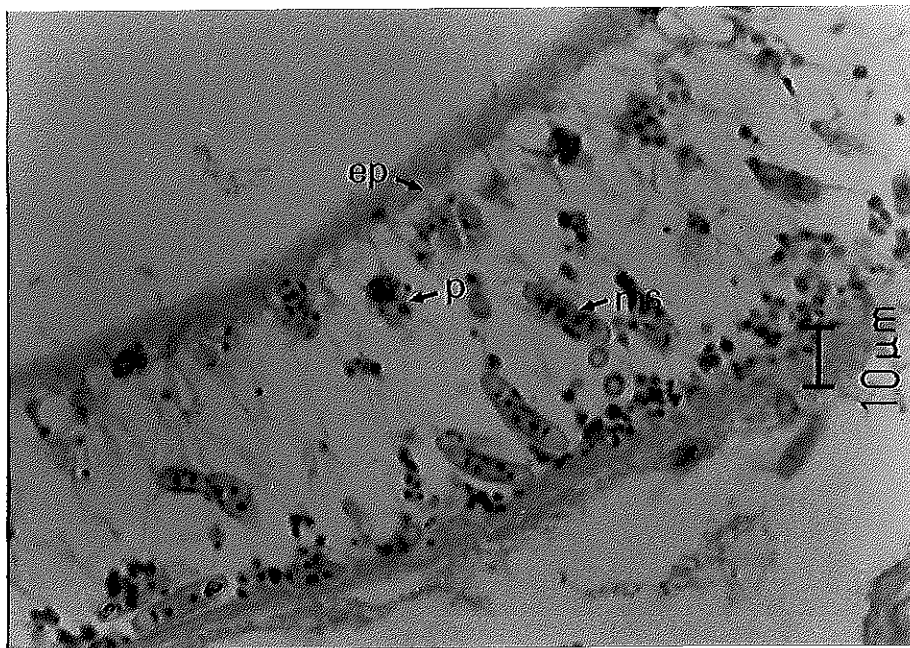
ภาพที่ 25 ลักษณะการติดเชื้อปรสิต *Zschokkella* sp. ในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน โดยระยะพลาสติก โมเดียม (p) จะเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว (ep) ถุงน้ำดี (H & E ; bar = 50 μ m)



ภาพที่ 26 ภาพขยายลักษณะการติดเชื้อปรสิต *Zschokkella* sp. ในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน (p = พลาสติกโมเดียม ; ep = เยื่อบุผิวถุงน้ำดี) (H&E ; bar = 10 μ m)



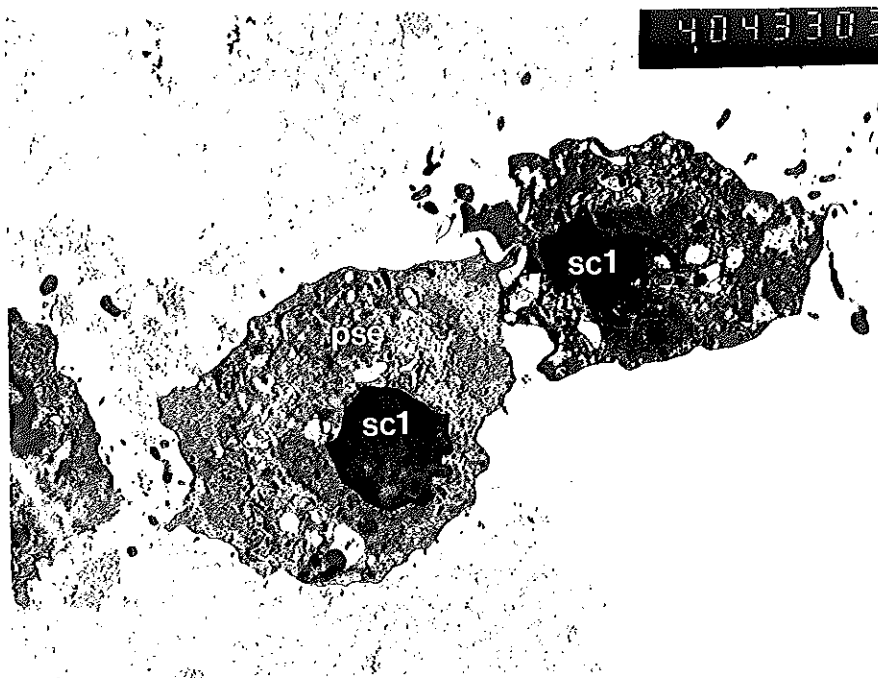
ภาพที่ 27 ลักษณะการติดเชื้อปรสิต *Sphaeromyxa* sp. ในถุงน้ำดีของปลาแป้นเล็ก โดยที่พลาสโมเดียม (p) จะเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว (ep) และเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องว่างของถุงน้ำดีเมื่อเข้าสู่ระยะสปอร์เต็มวัย (ms) (H & E ; bar = 50 μ m)



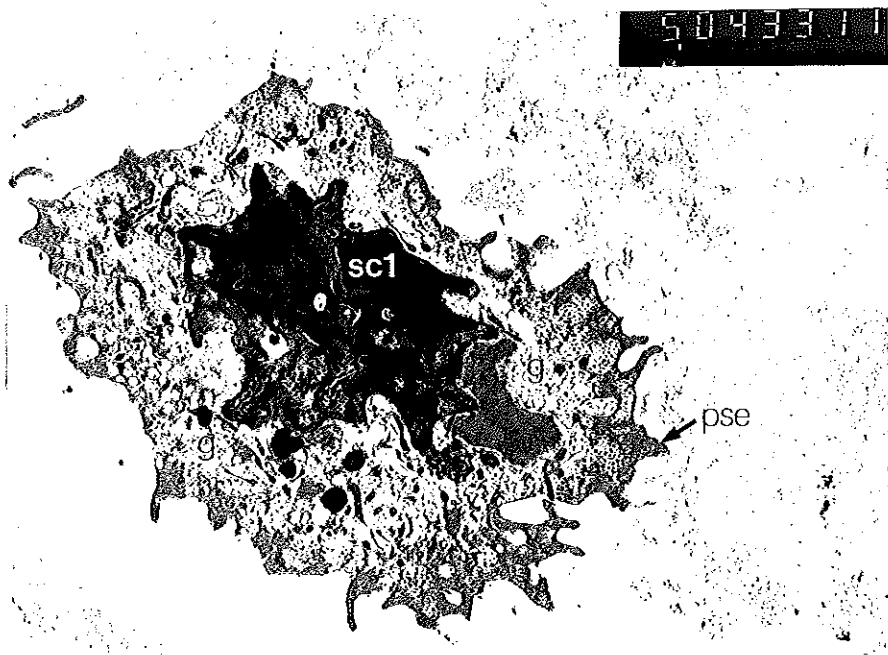
ภาพที่ 28 ภาพขยายลักษณะการติดเชื้อปรสิต *Sphaeromyxa* sp. ในถุงน้ำดีของปลาแป้นเล็ก (p= พลาสโมเดียม : ep = เยื่อบุผิวถุงน้ำดี : ms =สปอร์เต็มวัย) (H & E : bar = 10 μ m)

4. การศึกษาปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

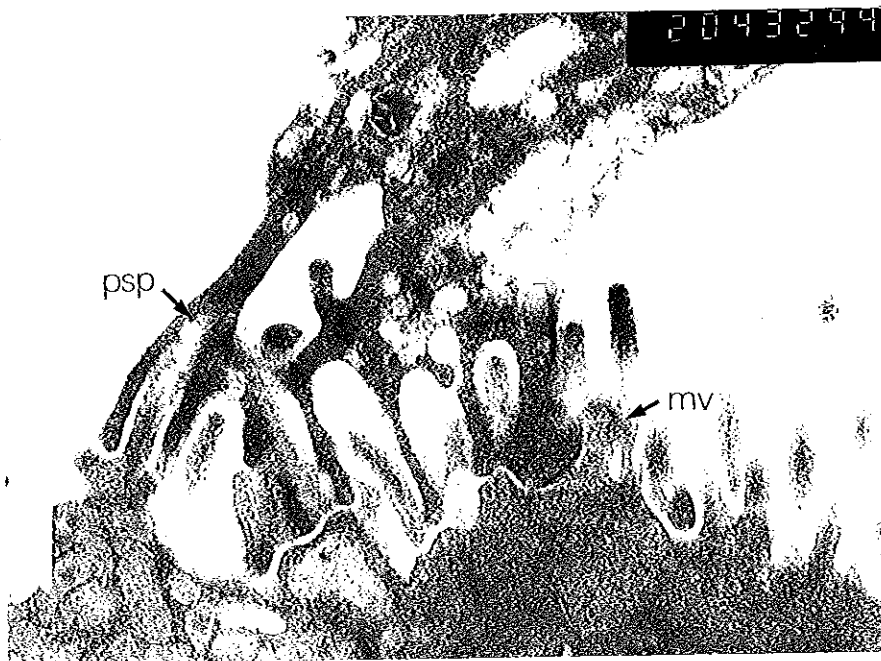
ปรสิตที่นำมาศึกษาโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมีจำนวน 1 ชนิด คือ ปรสิต *Zschokkella* sp. พบว่าระยะวัยอ่อนหรือระยะก่อนสร้างสปอร์มีขนาดและลักษณะที่ใกล้เคียงกัน โดยใช้เท้าเทียมยึดเกาะติดกับไมโครวิลไล (microvilli) ของเยื่อบุผิวผนังน้ำดีที่มีโครงสร้างประกอบด้วยเซลล์สร้างสปอร์ (sporogonic cell) ตั้งแต่เซลล์เดียวจนถึงหลายเซลล์และออร์กาเนลล์ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะอนุภาคไกลโคเจนและไมโทคอนเดรียแพร่กระจายทั่วไป (ภาพที่ 29, 30 และ 31) ต่อมาเมื่อปรสิตเข้าสู่ระยะสร้างสปอร์สามารถสังเกตเห็นเซลล์จำนวน 2 กลุ่มอยู่ในซูโดพลาสโมเดียม โดยแต่ละเซลล์มีการพัฒนาทำหน้าที่แตกต่างกัน ได้แก่ เซลล์สร้างเปลือกหุ้มสปอร์ เซลล์สร้างสปอร์โรพลาสซึมและเซลล์สร้างโพลาร์แคปซูล ซึ่งแต่ละเซลล์ดังกล่าวมีขอบเขตไม่ชัดเจน (ภาพที่ 32, 33 และ 34) หลังจากนั้นปรสิตเจริญเติบโตกลายเป็นระยะสปอร์เต็มวัยจำนวน 2 สปอร์ อยู่ในซูโดพลาสโมเดียมที่มีการเรียงตัวของออร์กาเนลล์แบบหลวมๆ และเคลือบที่ออกจากผนังเซลล์ที่ยึดเกาะเข้าสู่ช่องว่างในผนังน้ำดี โดยมีโครงสร้างของสปอร์ที่สมบูรณ์ซึ่งประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ โพลาร์แคปซูลที่บรรจุโพลาร์ฟิลาเมนต์หมุนรอบเป็นเกลียว 6-7 รอบ จำนวน 2 อันอยู่ตรงกันข้ามและถูกกั้นระหว่างกลางด้วยสปอร์โรพลาสซึมแบบมีนิวเคลียส 2 อัน (ภาพที่ 35)



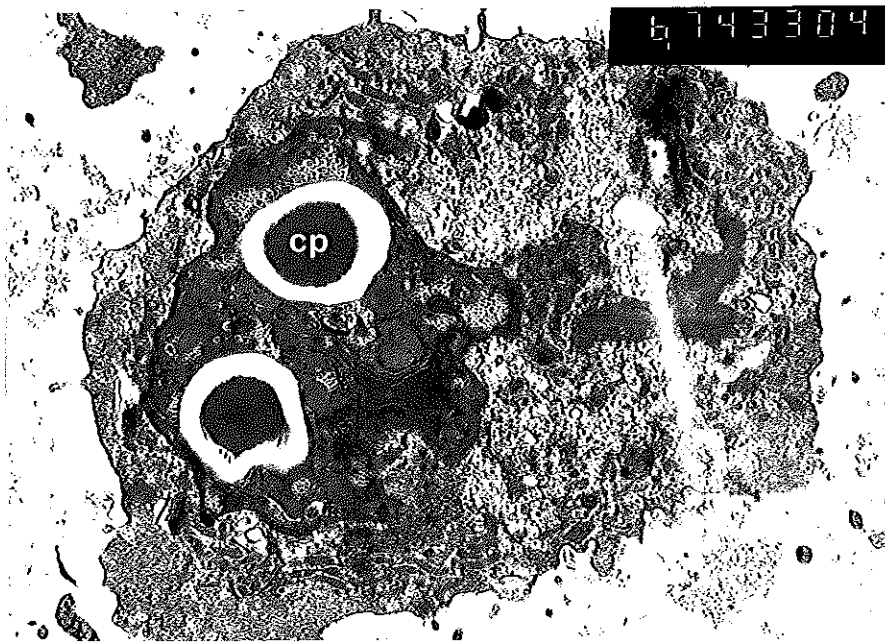
ภาพที่ 29 ลักษณะระยะก่อนสร้างสปอร์ของปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในผนังน้ำดีของปลาทัวอ่อน ประกอบด้วยเซลล์สร้างสปอร์ (sc1) 1-2 เซลล์ อยู่ในซูโดพลาสโมเดียม (psl) (uranyl acetate/lead citrate, X 4,000)



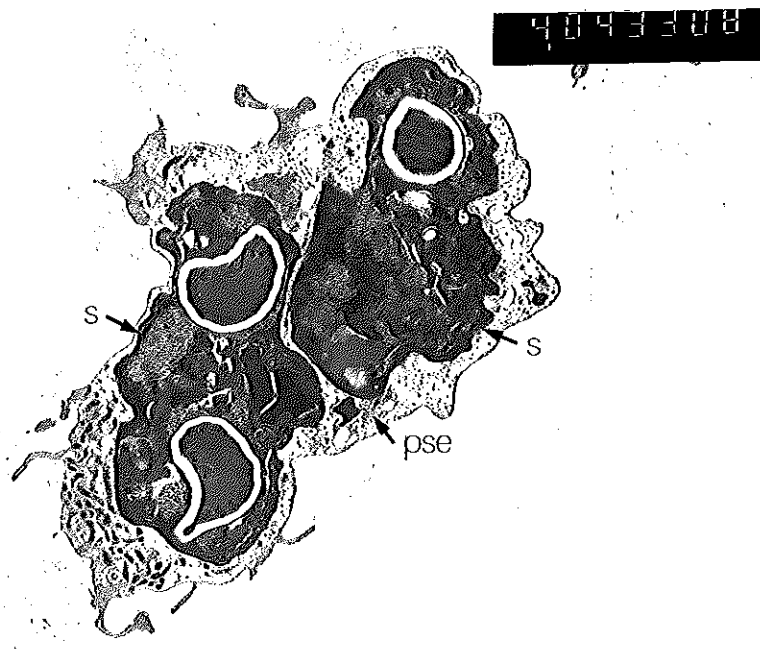
ภาพที่ 30 ลักษณะระยะก่อนสร้างสปอร์ของปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยเซลล์สร้างสปอร์ (sc1) 3-4 เซลล์ และมีอนุภาคไกลโคเจน (g) แพร่กระจายทั่วไปในไซโตพลาสซึม (psi) (uranyl acetate/lead citrate X 5,000)



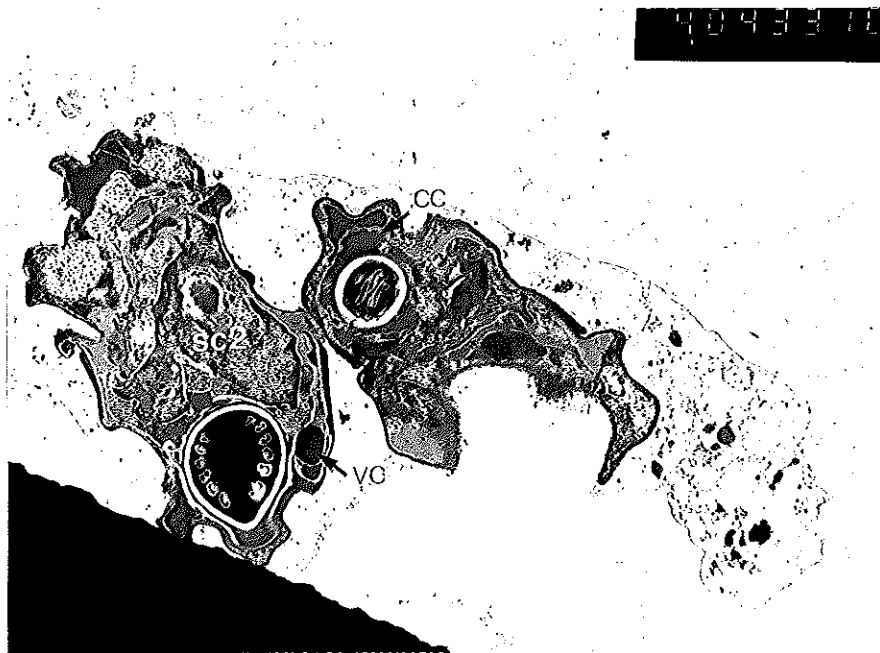
ภาพที่ 31 ลักษณะระยะก่อนสร้างสปอร์ของปรสิต *Zschokkella* sp ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน โดยมีการยื่นเท้าเทียม (psp) เกาะยึดติดกับไมโครวิลไล (mv) ของเยื่อบุผิวถุงน้ำดี (uranyl acetate/lead citrate, X 20,000)



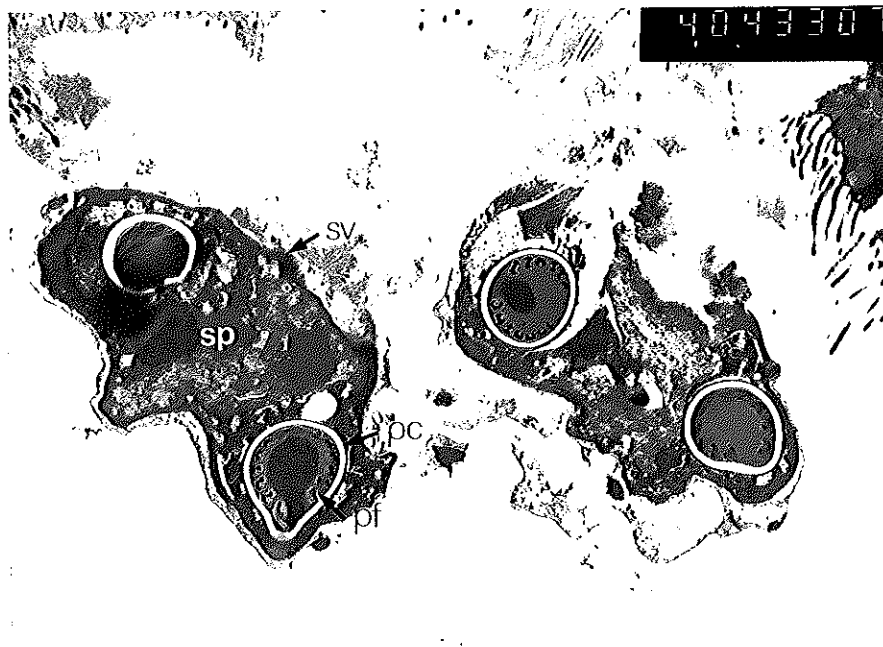
ภาพที่ 32 ลักษณะระยะสร้างสปอร์ของปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ซึ่งทำหน้าที่แตกต่างกัน โดยสังเกตเห็นแคปซูลาร์ไพรมอเดียม (capsular primordium) (cp) ได้ชัดเจน (uranyl acetate/lead citrate, X 6,700)



ภาพที่ 33 ลักษณะระยะสร้างสปอร์ของปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน ประกอบด้วย 2 สปอร์ (s) อยู่ภายในซูโดพลาสโมเดียม (psi) โดยเซลล์ต่างๆมีการเจริญเติบโตยังไม่สมบูรณ์เต็มที่ (uranyl acetate/lead citrate, X 4,000)



ภาพที่ 34 ลักษณะระยะสร้างสปอร์ของปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลาหัว
อ่อน ประกอบด้วยเซลล์สร้างเปลือกหุ้มสปอร์ (vc) เซลล์สร้างโพลาร์แคปซูล (cc) และ
เซลล์สร้างสปอร์โรพลาสซึม (sc2) (uranyl acetate/lead citrate, X 4,000)



ภาพที่ 35 ลักษณะระยะสปอร์เต็มวัย ของปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในถุงน้ำดีของปลา
หัวอ่อน ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ (sv) โพลาร์แคปซูล (pc) โพลาร์ฟิลาเมนต์ (pf)
และสปอร์โรพลาสซึม (sp) แบบมี 2 นิวเคลียส (uranyl acetate/lead citrate, X 4,000)

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการศึกษา

1. การแพร่กระจายและปริมาณการติดเชื้อปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดีย

จากการเก็บตัวอย่างปลาทะเลและปลาน้ำกร่อยในทะเลสาบสงขลาตอนนอกบริเวณตำบลเกาะยอ อำเภอเมือง ตำบลหัวเขา ตำบลปากrohr อำเภอสิงหนคร และตำบลควนโล่ อำเภอควนเนียง จังหวัดสงขลา ในระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2540 - กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2542 สามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างปลาได้ทั้งหมดจำนวน 946 ตัว 32 ชนิด หลังจากนั้นมาทำการตรวจสอบหาปรสิตพบว่า มีปลาติดเชื้อปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดีย จำนวน 8 ชนิด คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ของชนิดปลาทั้งหมด ชนิดที่พบการติดเชื้อในถุงน้ำดี ได้แก่ ปลาหัวอ่อน พบปรสิต *Zschokkella* sp. และ *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ปลาตะกรับ พบปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A, *Thelohanellus* sp. และปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด B ปลานูหัวหู้ พบปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด B และปลากะพงเหวปากแดง พบปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด C ปรสิตที่พบจากการศึกษาในครั้งนี้เมื่อนำมาพิจารณาร่วมกับคุณสมบัติของแหล่งน้ำที่ปลาเจ้าบ้านอาศัยอยู่ซึ่งเป็นแหล่งน้ำกร่อยและมีสภาพเป็นน้ำจืดในช่วงฤดูฝนจะมีความสอดคล้องกับรายงานของ Shulman (1988) โดยพบปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดียได้ในปลาน้ำจืด ปลาน้ำกร่อยและปลาทะเล สกุลที่มีรายงานพบอย่างแพร่หลายในบริเวณแหล่งน้ำกร่อยรวมถึงบริเวณชายฝั่งและทะเลสาบที่มีช่องทางติดต่อกับทะเล ได้แก่ ปรสิตสกุล *Zschokkella* และ *Ceratomyxa* ขณะที่สกุล *Myxidium* และ *Sphaeromyxa* สามารถพบได้ทั้งในแหล่งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม สำหรับสกุล *Thelohanellus* จัดเป็นสกุลที่มีรายงานพบได้บ่อยในแหล่งน้ำจืด และสามารถพบได้บ้างเล็กน้อยในแหล่งน้ำกร่อยที่มีความเค็มต่ำ ซึ่งปลาตะกรับที่พบการติดเชื้อปรสิตสกุลนี้อาจเกิดขึ้นในช่วงฤดูฝนหรือมีการติดเชื้อบริเวณตอนปลายของทะเลสาบสงขลาตอนนอก โดยบริเวณดังกล่าวมีความเค็มต่ำและลดลงจนมีค่าเป็นศูนย์ในช่วงฤดูฝนหรือฤดูน้ำหลาก แต่เมื่อพิจารณาชนิดปรสิตตามอวัยวะที่มีการติดเชื้อซึ่งได้แก่ถุงน้ำดีจะมีความสอดคล้องกับรายงานของ Moser และคณะ (1989) ได้ทำการศึกษาปรสิตในถุงน้ำดีของปลาที่อาศัยตามแนวปะการังบริเวณเกาะเฮอร์รอน ประเทศออสเตรเลีย ปรสิตที่ตรวจพบ คือ *Ceratomyxa sprengi* ในปลากะพงแดง (*Lutjanus amabilis*) และปลาผีเสื้อ (*Chaetodon rainfordi*) ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ในปลากะรัง (*Epinephelus quoyanus*) ปรสิต *Zschokkella heronensis* ในปลาผีเสื้อ (*Chaetodon plebeius*) ปรสิต *Myxidium sphaericum* ในปลา *Salarais fasciatus* และ *Petroscirtes fallax* ปรสิต *Myxobolus* sp. ในปลากะบอก (*Mugil cephalus*) ปรสิต *Leptotheca* sp. ในปลา

ข้างตะเภา (*Terapon jarbua*) และปรสิตระยะก่อนสร้างสปอร์ในปลาช่อนทราย (*Sillago sp.*) และปลาชิลิดิน (*Siganus chrysospilos*) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Noble (1966) ซึ่งได้ทำการศึกษาการติดเชื้อปรสิตในปลาบริเวณชายฝั่งแม็กซิโกและทางตอนใต้ของมลรัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยพบปรสิตชนิดใหม่ 4 ชนิด คือ ปรสิต *Myxidium bajacalifornium* *Myxidium coryphaenoidium* *Myxidium melanocetum* และ ปรสิต *Myxidium melanostigmum* ในถุงน้ำดีของปลา *Bajacalifornia burraegi* ปลา *Coryphaenoides sp.* ปลา *Melanocetus johnsoni* และปลา *Melanostigma pammeles* ตามลำดับ ส่วนปลาที่มีการติดเชื้อปรสิตในไต ได้แก่ ปลาปักเป้าลายเสือ ปลากระบอก และปลาตะกรับ ในท่อปัสสาวะ ได้แก่ ปลาตะกรับและปลานูทอง และในเหงือก ได้แก่ ปลากระบอก พบว่าปรสิตทั้งหมดเป็นระยะพลาสโมเดียมหรือระยะก่อนสร้างสปอร์ที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ เนื่องจากการศึกษารายละเอียดของปรสิตระยะนี้และระยะสปอร์เต็มวัยในปลาชนิดดังกล่าวในประเทศไทยและกลุ่มประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ยังมีการศึกษาน้อย ยกเว้นปลาปักเป้าลายเสือที่มีรายงานพบการติดเชื้อปรสิต *Zschokkella pleomorpha* และปรสิต *Ortholinea fluviatilis* ในท่อไต และปรสิต *Zschokkella tetrafluvi* ในถุงน้ำดี (Lom and Dykova, 1995)

ปริมาณการติดเชื้อปรสิตในปลาแต่ละชนิดพบว่ามีความแตกต่างกันซึ่งมีปัจจัยเกี่ยวข้องหลายประการ คือ อาหารและนิสัยการกินอาหาร โดยปลาที่กินอาหารจำพวกสัตว์หน้าดินขนาดเล็กมีโอกาสติดเชื้อปรสิตมิโทสปอร์เรเดียได้มากกว่าปลาที่กินอาหารบริเวณกลางน้ำและผิวน้ำซึ่งได้แก่ปลาขนาดเล็ก แพลงค์ต่อนพืชหรือแพลงค์ต่อนสัตว์เป็นหลัก (Lom and Dykova, 1992) จากรายงานดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าปลาที่มีการติดเชื้อปรสิตมากที่สุด คือ ปลาที่กินอาหารบริเวณหน้าดินเช่นเดียวกัน คือ ปลาหัวอ่อน ติดเชื้อปรสิตทั้งหมดจำนวน 57.31 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปลาที่กินอาหารบริเวณกลางน้ำและใกล้ผิวน้ำจะมีปริมาณการติดเชื้อรองลงมา ได้แก่ ปลาตะกรับ ติดเชื้อปรสิตจำนวน 38.88 เปอร์เซ็นต์ ปลานูหัวทุ๋ ติดเชื้อปรสิต *Myxidium sp.* ชนิด B จำนวน 21.42 เปอร์เซ็นต์ ปลานูทอง ติดเชื้อปรสิตระยะพลาสโมเดียมจำนวน 18.75 เปอร์เซ็นต์ และปลาแป้นเล็ก ติดเชื้อปรสิต *Sphaeromyxa sp.* จำนวน 14.66 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปลาที่กินอาหารกลางน้ำจนถึงผิวน้ำมีการติดเชื้อปรสิตน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณการติดเชื้อสูงสุดของแต่ละกลุ่มปลาที่จัดแยกตามลักษณะการกินอาหารแต่อาจมากกว่าปลาบางชนิดที่กินอาหารตั้งแต่กลางน้ำจนถึงผิวน้ำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปลากลุ่มนี้เข้ามาหากินในเขตน้ำตื้นใกล้ชายฝั่งซึ่งเป็นแหล่งที่มีความชุกชุมของสัตว์หน้าดิน ได้แก่ ปลากระบอก ติดเชื้อปรสิตระยะพลาสโมเดียมจำนวน 25 เปอร์เซ็นต์ และปลากระทุงเหวปากแดง ติดเชื้อปรสิต *Ceratomyxa sp.* ชนิด C จำนวน 18.18 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ระบบภูมิคุ้มกันและความจำเพาะเจาะจงของปลาเจ้าบ้านจัดเป็นปัจจัยที่มีผลต่อ

การติดเชื้อปรสิตชนิดนี้เช่นเดียวกัน เช่น โรคตัวหมุนในปลาแซลมอนซึ่งมีสาเหตุจากปรสิต *Myxobolus cerebralis* พบว่าขนาดปลาที่ยอมรับเชื้อและมีความรุนแรงของโรคมากที่สุด คือ ระยะเวลาปลานี้ว แต่เมื่อปลามีขนาดโตขึ้นอัตราการเกิดโรคจะลดลงตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากปลาขนาดเล็กมีระบบภูมิคุ้มกันต่ำและมีนิสัยการกินอาหารจำพวกสัตว์หน้าดินรวมทั้งหนอนแดงที่อาศัยอยู่บนำดินหรือพื้นก้นบ่อ (Wolf and Markiw, 1985; Markiw, 1991; Magolis, 1996) การศึกษาในครั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าปลาตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบแต่ไม่พบการติดเชื้ออาจจะไม่มีความจำเพาะกับชนิดปรสิตประกอบกับมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีเนื่องจากเป็นปลาระยะโตเต็มวัยทั้งหมด เช่น ปลากดและปลากดขี้ลิงไม่พบการติดเชื้อปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ขณะที่ปลาหัวอ่อนจัดเป็นชนิดที่อยู่ในครอบครัวเดียวกันจะยอมรับต่อการติดเชื้อปรสิตดังกล่าว ส่วนปลานูหัวฟูและปลานูทองพบการติดเชื้อปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด B และปรสิตระยะพลาสโมเดียม ชนิด D แต่ในปลานูชนิดอื่นๆไม่พบการติดเชื้อ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อการติดเชื้อหรือการแพร่ระบาดของปรสิต ได้แก่ ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับฤดูกาล เช่น โรคเซอราโตมิกโซซิสและโรคไตบวมในปลาแซลมอนและปลาเทราท์อันมีสาเหตุจากปรสิต *Ceratomyxa shasta* และ PKX cell พบว่ามี การแพร่ระบาดอย่างหนักในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า 10 และ 12 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Wolf and Markiw, 1985; Batholomew *et al.*, 1989) ปัจจัยความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำโดยเฉพาะแหล่งน้ำที่มีสารอินทรีย์ในปริมาณมากจะเป็นแหล่งอาศัยที่เหมาะสมต่อการแพร่พันธุ์ของหนอนแดงซึ่งจัดเป็นเจ้าบ้านตัวกลางของปรสิตชนิดนี้ (Wolf and Markiw, 1984) สอดคล้องกับสภาพแวดล้อมของทะเลสาบสงขลาตอนนอกในขณะนี้ที่มีความเสื่อมโทรมอันมีผลจากการปนเปื้อนของมลสารที่ถูกปลดปล่อยจากการเกษตร การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โรงงานอุตสาหกรรม ตลอดจนชุมชนและบ้านเรือน อาจเป็นไปได้ว่าในอนาคตจะมีโอกาสเกิดการแพร่ระบาดของปรสิตชนิดนี้ในพื้นที่ดังกล่าวมากขึ้นตามลำดับ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวของปรสิตโดยการดัดแปลงลักษณะทางสัณฐาน เช่น การสร้างเปลือกหุ้มสปอร์ที่หนากว่าปกติและมีเยื่อเมือกปกคลุมหรือมีส่วนหนึ่งส่วนใดของสปอร์ยื่นยาวออกมาคล้ายปีกหรือหางเพื่อเพิ่มความสามารถในการล่องลอยอยู่ในกระแสน้ำ รวมทั้งสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ ได้แก่ คลื่น กระแสน้ำ กระแสลม และการอพยพย้ายถิ่นของปลาล้วนแต่มีผลต่อการแพร่กระจายทั้งสิ้น (Lom and Dykova, 1992) สอดคล้องกับชนิดปลาที่พบในทะเลสาบสงขลาตอนนอกที่มีการอพยพตามฤดูกาลโดยมีคุณสมบัติของน้ำเป็นตัวกำหนด พบว่าช่วงฤดูร้อนมีปลาน้ำกร่อยเป็นชนิดเด่น รองลงมา คือ ปลาทะเล แต่เมื่อเข้าสู่ช่วงฤดูฝนปลาน้ำกร่อยส่วนใหญ่อพยพสู่บริเวณปากทะเลสาบหรือเขตชายฝั่งและอพยพกลับมาอีกครั้งเมื่อเริ่มต้นฤดูกาลใหม่

การเปรียบเทียบปริมาณการติดเชื้อและการแพร่กระจายของปรสิตในพื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 1 คือ บริเวณตำบลหัวเขาและตำบลเกาะยอ เขตที่ 2 คือ บริเวณตำบลปากกรอและตำบลควนไธพบว่าชนิดปลาที่รวบรวมได้ทั้งสองเขตและพบการติดเชื้อปรสิตมีจำนวน 3 ชนิด คือ ปลา หัวอ่อน ปลาตะกรับ และปลาแป้นเล็ก โดยปรสิตที่พบการติดเชื้อในเขตที่ 1 มากกว่าเขตที่ 2 ได้แก่ ปรสิต *Zschokkella* sp. ในปลาหัวอ่อน จำนวน 34.61 เปอร์เซ็นต์ ปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A และปรสิต *Thelohanellus* sp. ในปลาตะกรับ จำนวน 13.79 และ 6.89 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การติดเชื้อปรสิตดังกล่าวในเขตที่ 2 จำนวน 30, 8 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ปรสิตที่พบการติดเชื้อในเขตที่ 2 มากกว่าเขตที่ 1 ได้แก่ ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ในปลาหัวอ่อน จำนวน 26.66 เปอร์เซ็นต์ ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด B และปรสิตระยะพลาสโมเดียม ชนิด E ในปลาตะกรับ จำนวน 4 และ 20 เปอร์เซ็นต์ และปรสิต *Sphaeromyxa* sp. ในปลาแป้นเล็ก จำนวน 17.07 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการติดเชื้อปรสิตในเขตที่ 1 มีจำนวน 23.07, 3.45, 6.89 และ 11.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณติดเชื้อดังกล่าวมีความแตกต่างกันทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการแพร่กระจายหรือความชุกชุมของเจ้าบ้านตัวกลางในแต่ละพื้นที่ การอพยพย้ายถิ่นของปลาเจ้าบ้านตามคุณสมบัติของน้ำที่อาศัย ตลอดจนความแตกต่างของสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่าง เช่นเดียวกับการศึกษาปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดียในปลาดุกทะเลซึ่งพบการติดเชื้อปรสิต *Zschokkella* sp. และปรสิต *Myxoproteus* sp. ในปลาขนาดเล็กและขนาดกลางในบริเวณชายฝั่งของจังหวัดสตูลมากกว่าจังหวัดสงขลา (นรสิงห์, 2542) ขณะที่ปลากะรังปากแม่น้ำพบการติดเชื้อปรสิต *Sphaerospora epinepheli* บริเวณชายฝั่งของจังหวัดตรังมากที่สุด รองลงมา คือ พังงา สตูล และสงขลา ตามลำดับ (Supamattaya, 1991) สำหรับการเปรียบเทียบปริมาณการติดเชื้อปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดียในปลาชนิดอื่นไม่สามารถทำได้เนื่องจากเก็บรวบรวมตัวอย่างได้เฉพาะบางบริเวณ ได้แก่ ปลากะตุงเหวปากแดง ปลาปักเป้าลายเสือ ปลาปูทอง และปลากะบอก เก็บตัวอย่างได้จากพื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 1 และปลาปูหัวทุ้เก็บตัวอย่างได้จากพื้นที่เก็บตัวอย่างเขตที่ 2 ทั้งนี้เนื่องมาจากการใช้เครื่องมือจับปลาของชาวประมงในแต่ละท้องถิ่น ความจำเพาะกับชนิดปลา และแต่ละฤดูกาลในรอบปีแตกต่างกัน

2. การจัดจำแนกชนิดปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดียที่พบในปลาตัวอย่าง

การจัดหมวดหมู่ปรสิตตามหลักอนุกรมวิธานจำเป็นต้องมีการศึกษาและอาศัยข้อมูลหลายประการ ได้แก่ ลักษณะจำเพาะของปรสิตโดยพิจารณาจาก รูปร่าง ขนาด และโครงสร้างโดยละเอียดร่วมกับการศึกษาวงจรชีวิตและการพัฒนาการเจริญเติบโต ความจำเพาะเจาะจงและการตอบสนองระหว่างปรสิตกับปลาเจ้าบ้าน ตลอดจนการศึกษาการแพร่กระจายปรสิตในแต่ละพื้นที่ (Lom and Noble, 1984 ; Shulman, 1988 ; Lom and Dykova, 1992) จากการศึกษาครั้งนี้พบ

ปรสิตมิซอสปอร์ริเดียที่มีการติดเชื้อในตัวอย่างปลาที่มีจำนวน 14 ชนิด ระยะที่พบ คือ ระยะก่อนสร้างสปอร์ ระยะสร้างสปอร์ และระยะสปอร์เต็มวัย โดยแต่ละระยะมีลักษณะและขนาดแตกต่างกัน แต่เมื่อนำมาจำแนกชนิดพบว่าสามารถระบุได้ในระดับสกุลมีจำนวน 8 ชนิด และระบุชนิดไม่ได้มีจำนวน 6 ชนิด ปรสิตที่พบทั้งหมดยังสรุปไม่ได้ว่าเป็นชนิดใหม่หรือไม่เนื่องจากมีข้อจำกัดเกี่ยวกับข้อมูลหรือรายงานปรสิตชนิดนี้ในประเทศไทยและประเทศใกล้เคียงใกล้เคียง รวมทั้งยังไม่ได้ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับวงจรชีวิต เจ้าบ้านตัวกลางและโครงสร้างทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอน อย่างไรก็ตามเมื่อนำปรสิตแต่ละชนิดที่ระบุสกุลมาทำการเปรียบเทียบกับชนิดอื่นๆที่เคยมีรายงานมาก่อนพบว่า มีลักษณะและขนาดใกล้เคียงกัน ได้แก่ ปรสิต *Zschokkella* sp. ที่พบในถุงน้ำดีของปลาหัวอ่อน มีลักษณะกลมรี คล้ายรูปไข่ มีความยาวเฉลี่ย 3.29 ± 0.49 ไมครอน และความกว้างเฉลี่ย 2.63 ± 0.30 ไมครอน มีลักษณะใกล้เคียงกับปรสิต *Zschokkella tetrafluvi* ที่พบในปลาปักเป้าลายเสือ (Lom and Dykova, 1995) (ตารางที่ 3) ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ที่พบในถุงน้ำดีปลาหัวอ่อน มีลักษณะโค้ง ยาว และเรียวแหลม มีความยาวเฉลี่ย 5.11 ± 0.26 ไมครอน ความกว้างเฉลี่ย 59.73 ± 0.73 ไมครอน มีลักษณะใกล้เคียงกับปรสิต *Ceratomyxa acuta* ที่พบในปลา *Lateolabrax japonicus* (Shulman, 1988) (ตารางที่ 4) ปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A ที่พบในถุงน้ำดีปลาตะกรับ มีลักษณะรูปกระสวย บริเวณตอนปลายสปอร์จะเรียวแหลม มีความยาวเฉลี่ย 21.52 ± 0.71 ไมครอน ความกว้างเฉลี่ย 8.80 ± 0.55 ไมครอน มีลักษณะใกล้เคียงกับปรสิต *Myxidium ophiocephali* ที่พบในปลาช่อน (*Ophiocephalus argus*) (Shulman, 1988) (ตารางที่ 5) ปรสิต *Thelohanellus* sp. ที่พบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ มีลักษณะคล้ายลูกแพร์ มีความยาวเฉลี่ย 14.13 ± 0.40 ไมครอน ความกว้างเฉลี่ย 5.94 ± 0.21 ไมครอน มีลักษณะใกล้เคียงกับปรสิต *Thelohanellus pyriformis* ที่พบในปลาไน (Kabata, 1985) (ตารางที่ 6) ปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด B ที่พบในถุงน้ำดีของปลาน้ำจืดหัวทุ๋ มีลักษณะรูปกระสวย เรียวยาว มีความยาวเฉลี่ย 29.41 ± 0.32 ไมครอน ความกว้างเฉลี่ย 4.70 ± 0.14 ไมครอน มีลักษณะใกล้เคียงกับปรสิต *Myxidium bajacalifornium* ที่พบในปลา *Bajacalifornia burragei* (Noble, 1966) (ตารางที่ 7) ปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด C ที่พบในถุงน้ำดีของปลากระทุงเหวปากแดง มีลักษณะโค้งเล็กน้อยและบริเวณตอนปลายสุดของเปลือกสปอร์จะเรียวแหลม มีความยาวเฉลี่ย 4.24 ± 0.3 ไมครอน ความกว้างเฉลี่ย 46.06 ± 0.15 ไมครอน มีลักษณะใกล้เคียงกับปรสิต *Ceratomyxa porecta* ที่พบในปลา *Gymnacanthus herzensteini* และปลา *Myoxocephalus brandti* (Shulman, 1988) (ตารางที่ 8) ส่วนปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด B ที่พบในถุงน้ำดีของปลาตะกรับ มีลักษณะโค้ง คล้ายพระจันทร์เสี้ยว มีขนาดความยาวเฉลี่ย 9.46 ± 0.25 ไมครอน ความกว้างเฉลี่ย 31.57 ± 0.04 ไมครอน และปรสิต *Sphaeromyxa* sp. ที่พบในถุงน้ำดีของปลาแป้นเล็ก มีลักษณะคล้าย

กระสวย บริเวณปลายสุดของสปอร์จะโค้งมน มีความยาวเฉลี่ย 18.28 ± 1.41 ไมครอน ความกว้างเฉลี่ย 5.28 ± 0.53 ไมครอน ซึ่งเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับปรสิตชนิดอื่นที่เคยมีรายงานมาก่อนพบว่า มีลักษณะและขนาดที่แตกต่างกันมาก คาดว่าปรสิตทั้งสองชนิดจัดเป็นชนิดใหม่

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบลักษณะปรสิต *Zschokkella* sp. ที่ตรวจพบในปลาหัวอ่อนกับปรสิต *Zschokkella tetrafluvi* ที่พบในปลาปักเป้าลายเสือ

ลักษณะปรสิต	<i>Zschokkella</i> sp.	<i>Zschokkella tetrafluvi</i>
สปอร์	รูปไข่ (oval)	รูปไข่
ความยาว (μm)	9.50 (8.47-10.52)	10.30 (10.5-11.3)
ความกว้าง (μm)	5.85 (5.78-6.31)	7.20 (6.8-7.8)
โพลาร์แคปซูล	กลม รี	กลม รี
ความยาว (μm)	3.29 (3.15-3.68)	3.40 (3.2-3.5)
ความกว้าง (μm)	2.63	2.30 (2.5-3.1)
จำนวนเกลียวของโพลาร์ฟิลาเมนต์	6-7	4-5
จำนวนสปอร์ภายในพลาสโมเดียม	2	1-2
อวัยวะที่พบ	ถุงน้ำดี	ถุงน้ำดี
ปลาเจ้าบ้าน	ปลาหัวอ่อน	ปลาปักเป้าลายเสือ
แหล่งที่พบ	ทะเลสาบสงขลาตอนนอก	ประเทศไทย

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบลักษณะปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในปลาหัวอ่อนกับปรสิต *Ceratomyxa acuta* ที่พบในปลา *Lateolabrax japonicus*

ลักษณะปรสิต	<i>Ceratomyxa</i> sp. ชนิด A	<i>Ceratomyxa acuta</i>
สปอร์	โค้ง ยาวเรียว	โค้ง ยาวเรียว
ความยาว (μm)	5.11 (4.77-5.52)	5-6
ความกว้าง (μm)	59.73 (58.94-61.05)	39-57
โพลาร์แคปซูล	กลมรี	กลมรี
เส้นผ่านศูนย์กลาง (μm)	3.73 (3.68-3.94)	2.9-3.3
จำนวนเกลียวของโพลาร์ฟิลาเมนต์	6-8	—
จำนวนสปอร์ภายในพลาสโมเดียม	1	1-2
อวัยวะที่พบ	ถุงน้ำดี	ถุงน้ำดี
ปลาเจ้าบ้าน	ปลาหัวอ่อน	<i>Lateolabrax japonicus</i>
แหล่งที่พบ	ทะเลสาบสงขลาตอนนอก	ทะเลญี่ปุ่น

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบลักษณะปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A ที่ตรวจพบในปลาตะกรับกับปรสิต *Myxidium ophiocephali* ที่พบในปลาช่อน

ลักษณะปรสิต	<i>Myxidium</i> sp. ชนิด A	<i>Myxidium ophiocephali</i>
สปอร์	กระสวย	กระสวย
ความยาว (μm)	21.52 (19.50-22.85)	19.40-21.80
ความกว้าง (μm)	8.80 (8.57-10.00)	8.50-9.60
โพลาร์แคปซูล	กลมรี	กลมรี
ความยาว (μm)	6.42 (5.21-7.14)	4.70-5.50
ความกว้าง (μm)	5.23 (5.00-5.71)	—
จำนวนเกลียวของโพลาร์ฟิลาเมนต์	5-6	—
อวัยวะที่พบ	ถุงน้ำดี	ถุงน้ำดี
ปลาเจ้าบ้าน	ปลาตะกรับ	ปลาช่อน
แหล่งที่พบ	ทะเลสาบสงขลาตอนนอก	เกาหลีใต้

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบลักษณะปรสิต *Thelohanellus* sp. ที่ตรวจพบในปลาตะกรับกับปรสิต *Thelohanellus pyriformis* ที่พบในปลาไน

ลักษณะปรสิต	<i>Thelohanellus</i> sp.	<i>Thelohanellus pyriformis</i>
สปอร์	คล้ายลูกแพร์	คล้ายลูกแพร์
ความยาว (μ m)	14.13 (13.42-15.26)	13.00-22.00
ความกว้าง (μ m)	5.94 (5.78-6.30)	6.50-6.70
โพลาร์แคปซูล	รียาว	รียาว
ความยาว (μ m)	6.30 (5.78-6.84)	6.00-10.50
ความกว้าง (μ m)	2.88 (2.36-3.42)	4.50
จำนวนเกลียวของโพลาร์ฟีลาเมนต์	9-10	-
อวัยวะที่พบ	ถุงน้ำดี	ถุงน้ำดี
ปลาเจ้าบ้าน	ปลาตะกรับ	ปลาไน
แหล่งที่พบ	ทะเลสาบสงขลาตอนนอก	อินโดนีเซีย

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบลักษณะปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด B ที่ตรวจพบในปลาบู่หัวกับปรสิต *Myxidium bajacalifornium* ที่พบในปลา *Bajacalifornia burragei*

ลักษณะปรสิต	<i>Myxidium</i> sp. sp.2	<i>Myxidium bajacalifornium</i>
สปอร์	กระสวย	กระสวย
ความยาว (μ m)	29.41 (29.21-30)	22.10 (19.2-32)
ความกว้าง (μ m)	4.70 (4.73-5)	4.00(3-5)
โพลาร์แคปซูล	รียาว	รียาว
ความยาว (μ m)	9.94 (9.47-10.78)	7.40 (6-9)
ความกว้าง (μ m)	2.99 (2.89-3.15)	—
จำนวนเกลียวของโพลาร์ฟีลาเมนต์	11-13	12-14
อวัยวะที่พบ	ถุงน้ำดี	ถุงน้ำดี
ปลาเจ้าบ้าน	ปลาบู่หัว	<i>Bajacalifornia burragei</i>
แหล่งที่พบ	ทะเลสาบสงขลาตอนนอก	แคลิฟอร์เนีย

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบลักษณะปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด C ที่ตรวจพบในปลากระทุงเหวปากแดง กับปรสิต *Ceratomyxa porecta* ที่พบในปลา *Bajacalifornia burragei* และปลา *Myoxocephalus brandti*

ลักษณะปรสิต	<i>Ceratomyxa</i> sp.ชนิด C	<i>Ceratomyxa porecta</i>
สปอร์	ยาวเรียว	ยาวเรียว
ความยาว (μ m)	4.24 (3.92-5.00)	4.00-5.00
ความกว้าง (μ m)	46.06 (41.42-48.57)	50.00-64.00
โพลาร์แคปซูล	กลม	กลม
เส้นผ่านศูนย์กลาง (μ m)	3.21 (2.85-3.21)	3.00
จำนวนเกลียวของโพลาร์ฟิลาเมนต์	4-5	—
อวัยวะที่พบ	ถุงน้ำดี	ถุงน้ำดี
ปลาเจ้าบ้าน	ปลากระทุงเหวปากแดง	<i>Gymnacanthus herzensteini</i> <i>Myoxocephalus brandti</i>
แหล่งที่พบ	ทะเลสาบสงขลาตอนนอก	ทะเลญี่ปุ่น

สำหรับปรสิตที่ตรวจพบเฉพาะระยะพลาสโมเดียมที่ไม่สามารถระบุชนิดได้มีลักษณะขนาดและอวัยวะที่มีการติดเชื่อแตกต่างกัน ได้แก่ ปรสิตที่พบในบริเวณท่อไตของปลาปักเป้าลายเสือ มีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 18.49 ไมครอน ปรสิตที่พบในบริเวณท่อปัสสาวะของปลานูทองและปลาตะกรับ มีลักษณะกลมหรือรียาวและคล้ายรูปแจกัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 18.49 และ 11.83 ไมครอน และปรสิตที่พบในไตของปลากระบอก มีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 8.47 ไมครอน ขณะที่ปรสิตที่พบในท่อไตของปลาตะกรับและเหงือกของปลากระบอกไม่สามารถวัดขนาดได้เนื่องจากปรสิตมีขนาดเล็กและมีการอัดตัวอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน ซึ่งปรสิตทั้งหมดเหล่านี้อาจเป็นระยะวัยอ่อนหรือระยะก่อนสร้างสปอร์ของปรสิตมิโกสปอร์ริเดียที่มีรายงานการพบในบริเวณเดียวกันและใกล้เคียง ได้แก่ ปรสิต *Myxoproteus* sp. และ *Sphaerospora epinepheli* พบการติดเชื่อในไตของปลาดุกทะเลและปลากะรังปากแม่น้ำ ปรสิต *Zschokkella pleomorpha* *Ortholinea fluviatilis* และปรสิต *Sinuolinea tetraodoni* พบในไตและกระเพาะปัสสาวะของปลาปักเป้าลายเสือ ปรสิต *Henneguya latesi* และปรสิต *Kudoa tetraspora* พบในเหงือกและกล้ามเนื้อบริเวณลำไส้ของปลากะพงขาวและปลากระบอก ตามลำดับ (นรสิงห์, 2542; El-Matbouli and Hoffmann, 1990; Supamattaya, 1991; Lom and Dykova,

1992; 1995; Moran *et al.*, 1999) อย่างไรก็ตามกรณีที่ต้องการทราบถึงชนิดที่แท้จริงของปรสิตเหล่านี้จำเป็นต้องมีการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมและต่อเนื่องเพื่อศึกษารายละเอียดตั้งแต่ระยะก่อนสร้างสปอร์จนกระทั่งปรสิตมีการเจริญเติบโตกลายเป็นระยะสปอร์เต็มวัย สำหรับการพัฒนาการเจริญเติบโตของปรสิตมิซอสปอร์ริเดียในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันหลายประการด้วยกัน ได้แก่ ลักษณะรูปร่าง ขนาด โครงสร้างภายใน อวัยวะที่มีการติดเชื้อ และระยะเวลาที่สมบูรณ์ตามวัฏจักรชีวิต เช่น ปรสิต *Sphaerospora truttae* ที่พบในปลาแอตแลนติกแซลมอน สามารถพบระยะซุโดพลาสโมเดียมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 60 ไมครอน ภายในประกอบด้วยเซลล์ลูกประมาณ 120 เซลล์อยู่ในในระบบหมุนเวียนเลือดและในท่อไต (McGeorge, 1994) ส่วนปรสิต *Hoferellus carassii* ที่พบในท่อไตและกระเพาะปัสสาวะของปลาทองมีระยะวัยอ่อนแบบพลาสโมเดียมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10-17 ไมครอน ภายในมีเซลล์ชั้นที่เจริญเติบโตอยู่ในเซลล์ชั้นที่สาม (Yokoyama *et al.*, 1990b) ขณะที่ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต โดย Wolf และ Markiw (1984) ทำการศึกษาวัฏจักรชีวิตของปรสิตของปรสิต *Myxobolus cerebralis* พบว่าปรสิตจะเจริญเติบโตกลายเป็นสปอร์เต็มวัยใช้ระยะเวลาทั้งหมดประมาณ 120 วัน ขณะที่ Yokoyama และคณะ (1991) พบว่าหลังจากปลาทองกินหนอนแดงที่ติดเชื้อปรสิตระยะแอคติโนสปอร์เรียที่เป็นวัยอ่อนของปรสิต *Myxobolus* sp. สามารถพบระยะพลาสโมเดียมและระยะสปอร์เต็มวัยของปรสิตหลังจากได้รับเชื้อ 30 และ 90 วัน ตามลำดับ

3. พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่เกิดจากการติดเชื้อปรสิตมิซอสปอร์ริเดีย

ผลกระทบของปรสิตต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในปลาเจ้าบ้าน พบว่าปรสิตมิซอสปอร์ริเดียก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่มีระดับความรุนแรงมากน้อยแตกต่างกันตามชนิดปรสิต รวมทั้งอวัยวะที่มีการติดเชื้อ ซึ่งโดยทั่วไปปรสิตกลุ่มที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อจะส่งผลกระทบและก่อความรุนแรงมากกว่ากลุ่มที่อาศัยในช่องว่าง (Lom and Dykova, 1992) การศึกษาในครั้งนี้พบว่าปรสิตที่มีการติดเชื้อในถุงน้ำดีที่สามารถนำมาศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อได้มีจำนวน 2 ชนิด คือ ปรสิต *Zschokkella* sp. และ *Sphaeromyxa* sp. โดยปรสิตเหล่านี้ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ พบเพียงการยึดเกาะของระยะพลาสโมเดียมหรือระยะก่อนสร้างสปอร์ติดกับผิวเซลล์ของเยื่อบุผิว อย่างไรก็ตามในขั้นตอนการตรวจเช็คจากตัวอย่างสดพบว่าระยะสปอร์เต็มวัยของปรสิตทุกชนิดอาศัยอยู่ในช่องว่างล่องลอยเป็นอิสระปะปนกับน้ำดี ซึ่งคาดว่าไม่ส่งผลกระทบต่อปลาเจ้าบ้านมากนัก แต่จากการติดเชื้อปรสิตจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำดี คือ ปลาตัวอย่างที่มีการติดเชื้อในปริมาณมากน้ำดีมีสีขี้นวมเหลืองหรือน้ำตาล และมีความหนืดเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องและใกล้เคียงกับรายงานของ กิจการ (2536) และนรสิงห์

(2542) พบว่าปลาตุ๊กทะเลที่ติดเชื้อปรสิต *Zschokkella* sp. ในถุงน้ำดีไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเกิดขึ้น พบแต่ระยะพลาสโมเดียมเกาะติดผนังถุงน้ำดีและทำให้น้ำดีเกิดการเปลี่ยนสีและมีความหนืดเพิ่มขึ้น ถึงแม้ว่าปรสิตที่ทำการศึกษาค่าจะไม่ส่งผลต่อเนื้อเยื่อของอวัยวะที่อาศัยอยู่ก็ตาม แต่ในกรณีที่มีการติดเชื้อซึ่งประกอบด้วยปรสิตจำนวนมากอาจมีผลต่อการอุดตันหรือขัดขวางการไหลเวียนของน้ำดีในท่อน้ำดีได้ เช่น การติดเชื้อปรสิต *Zschokkella nova* ในปลาบูลล์เฮด โดยปรสิตจำนวนมากอัดกันแน่นเต็มช่องว่างภายในท่อน้ำดีที่แทรกอยู่ในตับทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของเซลล์บุผิว รวมทั้งมีการติดเชื้อลุกลามเข้าสู่เซลล์ตับก่อให้เกิดการตายและอักเสบเกิดขึ้น (Bucher *et al.*, 1992) ปรสิตที่ตรวจพบในท่อไตและท่อปัสสาวะทั้งหมดเป็นระยะก่อนสร้างสปอร์หรือพลาสโมเดียม พบในปลาตะกรับ ปลากระบอก ปลานู๋ทอง ปลาปักเป้าลายเสือ โดยปรสิตดังกล่าวส่วนใหญ่ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพยกเว้นชนิดที่พบในท่อไตของปลาตะกรับ ทั้งนี้เนื่องจากปรสิตจะอยู่เฉพาะบริเวณช่องว่างภายในท่อและมีปริมาณน้อยซึ่งคาดว่าส่งผลกระทบต่อปลาเจ้าบ้านเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ การติดเชื้อปรสิตมิคโซสปอร์ริเดียชนิดอื่นๆ ในอวัยวะเดียวกัน เช่น การติดเชื้อปรสิตระยะพลาสโมเดียมที่มีชื่อเฉพาะเรียกว่า เซลล์ PKX อันเป็นสาเหตุของโรคไตบวมที่แพร่ระบาดในกลุ่มปลาแซลมอนและปลาเทราท์ พบว่าในบริเวณที่ติดเชื้อจะพบการตายของเซลล์ร่วมกับการอักเสบที่ประกอบด้วย การแพร่กระจายของเม็ดเลือดขาวอย่างหนาแน่น (Kent and Hedrick, 1986; Hedrick *et al.*, 1988) ขณะที่ปลากะรังที่มีการติดเชื้อปรสิต *Sphaerospora epinepheli* พบว่าปรสิตทำให้เซลล์บุผิวท่อไตขยายขนาดและมีช่องว่างภายในเซลล์เพิ่มขึ้น แต่ในบางบริเวณที่ติดเชื้อเล็กน้อยจะพบเฉพาะพลาสโมเดียมเกาะติดกับผิวเซลล์และสปอร์เต็มวัยจะเคลื่อนที่เข้าสู่ช่องว่างภายในท่อไตโดยไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมากนัก (Supamattaya *et al.*, 1990) ส่วนปรสิตที่พบการติดเชื้อในไตของปลาตะกรับ พบว่าปรสิตมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อนทำลายท่อไตโดยสิ้นเชิง และมีการตอบสนองของตัวปลาโดยการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเซลล์กำจัดสิ่งแปลกปลอมขึ้นมาห่อหุ้มอยู่บริเวณด้านนอกที่มีลักษณะเช่นเดียวกับการติดเชื้อปรสิต *Myxoproteus* sp ในท่อไตของปลาตุ๊กทะเล (กิจการ, 2536; นรสิงห์, 2542) จากการติดเชื้อปรสิตในไตจะเป็นการลดพื้นที่ของท่อไตและส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่ออันมีผลต่อหน้าที่หลักของไตโดยตรง คือ ทำให้ประสิทธิภาพในการกรองของเสีย การดูดกลับแร่ธาตุต่างๆ และการผลิตเม็ดเลือดแดงต่ำลงจนเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคโลหิตจางแทรกซ้อน (Smith *et al.*, 1984; Hedrick *et al.*, 1988; Southgate and Richards, 1989) สำหรับปรสิตที่พบในเหงือกของปลากระบอกเป็นระยะพลาสโมเดียมที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้เช่นเดียวกับปรสิตที่พบในไต พบว่าปรสิตสร้างเกราะที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันล้อมรอบแทรกอยู่ระหว่างซี่เหงือกมีลักษณะเช่นเดียวกับการติดเชื้อปรสิต *Myxobolus centropomi*

ในเหงือกของปลาฟิราลคอมมอนสนู้ค (Landsberg, 1993b) ผลจากการติดเชื้อ ผลิตทำให้พื้นที่เหงือกบริเวณที่มีการแลกเปลี่ยนแก๊สลดลงแต่อาจมีความรุนแรงต่ำเพราะปริมาณปรสิตที่ตรวจพบมีน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับปรสิตชนิดอื่นๆในเหงือก เช่น การติดเชื้อปรสิต *Sphaerospora ictaluri* อันเป็นสาเหตุของโรคเหงือกบวมในปลากอดอเมริกัน ปรสิต *Sphaerospora monari* ในปลาไน และปรสิต *Henneguya psorospermica* ในปลาเพิร์ช พบว่าปลาติดเชื้อปรสิตดังกล่าวมีอาการเหงือกบวมทำให้กระดูกปิดเหงือก (operculum) เปิดออกมากกว่าปกติ และแสดงอาการขาดออกซิเจนอย่างรุนแรงโดยการลอยตัวขึ้นมาหายใจบริเวณผิวน้ำ เมื่อนำเนื้อเยื่อเหงือกของปลาป่วยมาศึกษา ลักษณะทางพยาธิสภาพพบว่าการขยายขนาดและเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น รวมทั้งเกิดการเชื่อมติดกันของซี่เหงือก (Lom and Dykova, 1992; Bowser and Conroy, 1995)

4. การศึกษาปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ลักษณะโครงสร้างทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดียในแต่ละระยะของการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตและในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน โดยทั่วไปเซลล์ของปรสิตชนิดนี้มีโครงสร้างเป็นแบบเดียวกับเซลล์สัตว์แบบมีนิวเคลียส จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปรสิต *Zschokkella* sp. ระยะก่อนสร้างสปอร์ประกอบด้วยเซลล์สร้างสปอร์จำนวน 1-4 เซลล์ อยู่ในซุโดพลาสโมเดียมที่มีการยื่นเท้าเทียมเกาะยึดติดกับไมโครวิลไลของเยื่อเมือมน้ำดี ต่อมาปรสิตมีการพัฒนาเข้าสู่ระยะสร้างสปอร์ประกอบด้วยเซลล์ที่ทำหน้าที่ต่างกัน ได้แก่ เซลล์สร้างเปลือกหุ้มสปอร์ เซลล์สร้างโพลาร์แคปซูล และเซลล์สร้างสปอร์โรพลาสซึม ปรสิตทั้งสองระยะนี้สังเกตเห็นขอบเขตของเซลล์ได้ไม่ชัดเจนเนื่องจากการเจริญเติบโตที่ยังไม่สมบูรณ์ ภายในมีการสร้างออร์แกเนลล์ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะไมโทคอนเดรียและอนุภาคไกลโคเจนแพร่กระจายอยู่อย่างหนาแน่นอาจเนื่องมาจากกำลังอยู่ในขั้นตอนการแบ่งเซลล์ทำให้มีการใช้พลังงานมากกว่าปกติ หลังจากนั้นปรสิตเจริญเติบโตกลายเป็นระยะสปอร์เต็มวัยที่มี 2 สปอร์ อยู่ในซุโดพลาสโมเดียมซึ่งแต่ละสปอร์ประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ โพลาร์แคปซูลที่มีโพลาร์ฟิลาเมนต์ขดเรียงเป็นเกลียว 6-7 รอบ และสปอร์โรพลาสซึมแบบมีนิวเคลียส 2 อัน อยู่บริเวณกลางสปอร์ จากการศึกษาดังกล่าวเป็นการตรวจสอบลักษณะโครงสร้างหรือองค์ประกอบหลักของปรสิตในแต่ละระยะเท่านั้นโดยไม่ได้เจาะจงถึงรายละเอียดในระดับเซลล์และออร์แกเนลล์มากนัก เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาในปรสิตมิโกโซสปอร์ริเดียชนิดอื่นๆ เช่น Davies และ Sienkowski (1988) พบว่าปรสิต *Zschokkella russelli* ระยะก่อนสร้างสปอร์มีการยื่นเท้าเทียมเกาะยึดติดกับไมโครวิลไลของเยื่อเมือมน้ำดีเช่นเดียวกัน ชั้นนอกสุดของซุโดพลาสโมเดียมถูกปกคลุมด้วยเยื่อเมือก ถัดเข้ามาเป็นชั้นของโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายท่อและถุงขนาดเล็ก และชั้นในสุดประกอบด้วยกลุ่มเซลล์สร้างสปอร์ที่มีไมโท

คอนเดรีย เม็ดไขมัน และต่อมที่คล้ายถุงขนาดใหญ่ ขณะที่ประวัติระยะสร้างสปอร์พบว่าสปอร์รอนท์มีโครงสร้างส่วนใหญ่เป็นท่อขนาดเล็กอยู่รวมกันเป็นมัดและเริ่มมีการสร้างแคปซูลาร์โพรมอเดียมแบบทึบแสง ส่วนระยะสปอร์เต็มวัยประกอบด้วยเซลล์สร้างเปลือกหุ้มสปอร์ที่มีการเรียงตัวของไมโครทิวบูลจำนวนมากแทรกอยู่ระหว่างรอยสันนูนบนนิวเคลียส เซลล์สร้างโพลาร์แคปซูลมีนิวเคลียสขนาดใหญ่ ภายในมีโพลาร์ฟีลาเมนต์ขดเรียงเป็นเกลียว 5-6 รอบ และเซลล์สร้างสปอร์โพลาลซิมที่มีไซโตพลาสซึมยื่นยาวคล้ายนิ้วมือประกอบด้วยไมโตคอนเดรีย ไรโบโซม และโครงสร้างคล้ายถุงกลมจำนวนมากแพร่กระจายในบริเวณรอบๆนิวเคลียส ขณะเดียวกัน Molnar (1988) พบว่า *Sphaerospora renicola* ระยะก่อนสร้างสปอร์มีลักษณะกลมประกอบด้วยเซลล์ที่กำลังแบ่งตัวหลายเซลล์ ได้แก่ เซลล์แม่ เซลล์ลูก และเซลล์หลาน โดยที่เซลล์แม่มีผนังบางหุ้ม 2 ชั้น นิวเคลียสมีการเรียงตัวของสารพันธุกรรมแบบโปร่งแสง ส่วนเซลล์ลูกและเซลล์หลานเรียงตัวแบบทึบแสงมากขึ้นตามลำดับ สำหรับออร์แกเนลล์และสารที่ไม่มีชีวิตสามารถพบได้ทั่วไปในไซโตพลาสซึมหรือไซโตพลาสซึมของเซลล์ดังกล่าว หลังจากนั้นประวัติมีการเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะสร้างสปอร์และระยะสปอร์เต็มวัยที่มีโครงสร้างและองค์ประกอบหลักเช่นเดียวกับประวัติมิกโซสปอร์ริเดียชนิดอื่นๆ

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา

ตัวอย่างปลาที่รวบรวมได้จากทะเลสาบสงขลาตอนนอก จำนวน 32 ชนิด พบว่ามีปลาที่ติดเชื้อปรสิตมิคโซสปอริเดีย จำนวน 8 ชนิด คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ ของปลาทั้งหมด ได้แก่ ปลาหัวอ่อน (*Osteogeneiosus militaris*) พบปรสิต *Zschokkella* sp. และปรสิต *Ceratomyxa* sp. ชนิด A ในถุงน้ำดี ปลาตะกรับ (*Scatophagus argus*) พบปรสิต *Myxidium* sp. ชนิด A, *Thelohanellus* sp., *Ceratomyxa* sp. ชนิด B ในถุงน้ำดี ปรสิตระยะพลาสโมเดียมในไตและท่อปัสสาวะ ขณะที่ปลาเป็นเด็ก (*Leiognathus brevirostris*) ปลาบู๋หัวทู่ (*Acentrogobius cyanomos*) และปลากระทุงเหวปากแดง (*Hemiramphus gaimardi*) พบปรสิต *Sphaeromyxa* sp. *Myxidium* sp. ชนิด B และ *Ceratomyxa* sp. ชนิด C ในถุงน้ำดี ตามลำดับ ส่วนปลาปักเป้าลายเสือ (*Tetraodon fluviatilis*) และปลาบู๋ทอง (*Glossogobius giuris*) พบปรสิตระยะพลาสโมเดียมในท่อไต และท่อปัสสาวะ ตามลำดับ และปลากระบอก (*Liza subviridis*) พบปรสิตระยะเดียวกันในท่อไตและเหงือก ปรสิตดังกล่าวเมื่อนำมาจัดหมวดหมู่ตามหลักอนุกรมวิธานพบว่าปรสิตระยะสปอร์เต็มวัยทั้งหมดสามารถระบุได้ในระดับสกุล และปรสิตที่พบเฉพาะระยะพลาสโมเดียมยังไม่ทราบชนิดที่แน่นอน

ผลของการติดเชื้อปรสิตต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพพบว่าปรสิตที่พบในถุงน้ำดีทั้งหมดไม่ส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อแต่มีผลต่อน้ำดี คือ ปลาที่ติดเชื้อในปริมาณมากน้ำดีมีสีน้ำตาลและมีความหนืดเพิ่มขึ้น ขณะที่ปรสิตที่พบในไตและท่อปัสสาวะส่วนใหญ่ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อยกเว้นชนิดที่พบในไตของปลาตะกรับ โดยปรสิตมีการเจริญเติบโตและทำลายเนื้อเยื่อในบริเวณที่มีการติดเชื้อ ส่วนปรสิตที่พบในเหงือกของปลากระบอกจะอยู่รวมกันภายในเกราะที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันห่อหุ้มร่วมกับการอักเสบอันเกิดจากการตอบสนองของตัวปลา

ลักษณะโครงสร้างทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของปรสิต *Zschokkella* sp. ระยะก่อนสร้างสปอร์ประกอบด้วยหลายเซลล์และออร์แกเนลล์ชนิดต่างๆแพร่กระจายทั่วไปอยู่ในซูโดพลาสโมเดียม ขณะที่ระยะสร้างสปอร์เซลล์ดังกล่าวมีการพัฒนาและเจริญเติบโตทำหน้าที่ต่างกัน ส่วนระยะสปอร์เต็มวัยจะมีโครงสร้างประกอบด้วยเปลือกหุ้มสปอร์ สปอร์โรพลาสซึมแบบมีนิวเคลียส 2 อัน และโพลาร์แคปซูลที่มีโพลารีฟิลาร์เมนต์ขดเรียงเป็นเกลียว 6-7 รอบ อยู่ภายใน

เอกสารอ้างอิง

- กิจการ ศุภมาตย์. 2536. การติดเชื้อปรสิตมิซอสปอริเรียในปลาตุ๊กทะเล. ว.สงขลานครินทร์. 1 (2) : 147-157.
- ณรงค์ ณ เชียงใหม่, อรุณโชติ คงพล และ สรวิศ จิตรบรรเจิดกุล. 2529. การรูกตัวของน้ำเค็มในทะเลสาบสงขลาตอนนอก. ว.สงขลานครินทร์. 9 (1) : 79-83.
- นวลสิงห์ เพ็ญประไพ. 2542. การศึกษาชนิดและพยาธิสภาพของการติดเชื้อปรสิตมิซอสปอริเรียในปลาตุ๊กทะเล *Plotosus canius* Hamilton, 1822 ที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 89 หน้า.
- ไพโรจน์ สิริมนตาภรณ์. 2533. พันธุ์ปลาในทะเลสาบสงขลา (เพิ่มเติม) ในรายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2533. หน้า 386-453. กรมประมง. กรุงเทพฯ.
- เริงชัย ต้นสกุล. 2535. ผลกระทบสิ่งแวดล้อมจากการสร้างเขื่อนกั้นน้ำเค็มทะเลสาบสงขลา. ในเอกสารสรุปการสัมมนา : เรื่องเขื่อนกั้นน้ำเค็มทะเลสาบสงขลา. หน้า 91-112. กองทัพภาคที่ 4, ศูนย์อำนวยการบริหารภาคใต้ และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.
- Abdulrahman, M., Kalantan, N. and Arfin, M. 1991. Studies on *Myxobolus garrai* sp. n. (Myxozoa : Myxosporaea) parasitizing of *Garra tibanica* in Saudi Arabia. Zool. Anz. 226 : 261-266.
- Adams, A., Richard, R.H. and DeMateo M.M. 1992. Development of monoclonal antibodies to PKX, the causative agent of proliferative kidney disease. J. Fish Dis. 15 : 515-521.
- Alvarez-Pellitero, P. and Sitja-Bobadilla, A. 1993. Pathology of Myxosporaea in marine fish culture. Dis. Aquat. Org. 17 : 229-238.
- Amos, K.H. 1985. Procedures for the Detection and Identification of Certain Fish Pathogens. 3rd ed. Fish Health Section, American Fisheries Society Corvallis. Oregon. 114 p.
- Anderson, D.P. and Barney, P.J. 1991. The Role of Diagnostic Laboratory in the Fish Disease Control. pp. 41-62. In Annual Review of Fish Disease. Faisal, M. and Hedrick, F.M. (eds.). New York.

- Arkush, K.D. and Hedrick, R.P. 1990. Experimental transmission of PKX, the causative agent of proliferative kidney disease to three species of Pacific salmon. *J. Appl. Ichthyol.* 6 : 237-243.
- Bancroft, J.D. 1967. *Histological Techniques*. Butterworths. London. 348 p.
- Bartholomew, J.L., Rodriguez, R.J. and Arakawa, C.K. 1995. Development of a DNA probe for the myxosporean parasite *Ceratomyxa shasta*, using the polymerase chain reaction with arbitrary primers. *Dis. Aquat. Org.* 21 : 215-220.
- Bartholomew, J.L., Rohovec, J.S. and Fryer, J.L. 1989. *Ceratomyxa shasta*, a Myxosporean Parasite of Salmonids. U.S. Fish and Wildlife Service. National Fisheries Research Center. West Virginia. 8 p.
- Bartholomew, J.L., Rohovec, J.S. and Fryer, J.L. 1989. Development, characterization, and use to monoclonal and polyclonal antibodies against the myxosporean, *Ceratomyxa shasta* *J. Protozool.* 36 (4) : 397-401.
- Bartholomew, J.L., Smith, C.E., Rohovec, J.S. and Fryer, J.L. 1989. Characterization of a host response to the myxosporean parasite, *Ceratomyxa shasta* (Noble), by histology, scanning electron microscopy and immunological techniques. *J. Fish Dis.* 12 : 509-522.
- Bauer, O.N. 1962. *Parasite of Freshwater Fish and the Biological Basis for their Control*. The National Science Foundation Washington D.C., Jerusalem. 230 p.
- Bowser, P.R. and Conroy, J.D. 1985. Histopathology of the gill lesions in channel catfish associated with *Henneguya* sp. *J. Wildl. Dis.* 21 : 177-179.
- Branson, E., Riaza, A. and Alvarez-Pellitero, P. 1999. Myxosporean infection causing intestinal disease in farm turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), (Teleostei : Scophthalmidae) *J. Fish Dis.* 22 : 395-399.
- Brown, J.A., Thonney, J.P., Holwell, D. and Wilson, W.R. 1991. A comparison of the susceptibility of *Salvelinus alpinus* and *Salmo salar ouananiche* to proliferative kidney disease. *Aquaculture* 96 : 1-6.
- Buchanan, D.V., Sander, J.E., Zinn, J.L. and Fryer, J.L. 1983. Relative susceptibility of four strain of summer stellhead to infection by *Ceratomyxa shasta*. *Trans. Am. Fish Soc.* 112 : 541-543.

- Bucher, F., Hofer, R. and El-Matbouli, M. 1992. Prevalence and pathology of *Zschokkella nova* (Myxosporea) in the liver of bullhead *Cottus gobio* from a Pulled river. Dis. Aquat. Org. 14 :137-143.
- Bucke, D. and Feist, S.W. 1991. Occurrence of proliferative kidney disease (PKD) in cultured and wild fish : further investigations J. Fish Dis. 14 : 583-588.
- Burtle, G.J., Harrison, L.R. and Styer, E.L. 1991. Detection of a triactinomyxid myxozoan in oligochaete from ponds with proliferative gill disease in channel catfish. J. Aquat. Anim. Health. 3 : 281-287.
- Cheung, P.J. and Nigrelli, R.F.1990. *Coccomyxa* (Myxosporea : Bivalvulida) and *Septemcapsula* (Myxosporea : Multivalvulida) infections, the possible cause of death of coral catfish *Protosus anguillaris* in captivity. J. Aquat. Anim. Health. 12 : 112-118.
- Cheung, P.J., Nigrelli, R.F. and Ruggieri, G.D. 1983. *Pentacapsula muscularis* sp. nov. (Myxosporea : Pentacapsulidea) a histozoic parasite of butterfly fish, *Chaetodon collare* Bloch. J. Fish Dis. 6 : 393-395.
- Clifton-Hadley, R.S. and Alderman, D.J 1987. The effects of malachite green upon proliferative kidney disease. J. Fish Dis. 10 : 101-107.
- Clifton-Hadley, R.S. and Feist, S.W. 1989. Proliferative kidney disease in brown trout *Salmo trutta* : further evidence of myxosporean aetiology. Dis. Aquat. Org. 6 : 99-102.
- Csaba, G., Kovacs-Gayer, E., Bekest, L., Bucsek, M. and Szokolczai, J. 1984. Studies into the possible protozoan aetiology of swimbladder inflammation in carp fry. J. Fish Dis. 7 : 39-56.
- Current, W.L. 1979. *Henneguya adiposa* Minchew (Myxosporida) in the channel catfish : ultrastructure of the plasmodium wall and sporogenesis. J. Protozool. 26 : 209-217.
- Davies, A.J. 1985. *Zschokkella russelli* Tripathi (Myxozoa : Myxosporea) from the bearded rockling, *Ciliata mustela* L., (Teleostei : Gadidae) in Wales. J. Fish Dis. 8 : 299-308.

- Davies, A.J. and Sienkowski, I.K. 1988. Further studies on *Zschokkella russelli* Tripathi (Myxozoa : Myxosporea) from *Ciliata mustela* L. (Teleostei : Gadidae), with emphasis on ultrastructural pathology and sporogenesis. J. Fish Dis. 11 : 325-336.
- Davis, S.W. 1994. Effect of indomethacin on the development of proliferative gill disease: Aquat. Anim. Health. 6 : 122-125.
- DeMateo, M.M., Adams, A., Richards, R.H., Castagnaro, M. and Hedrick, R.P. 1993. Monoclonal antibody and lectin probes recognize developmental and sporogonic stage of PKX, the causative agent of proliferative kidney disease in European and North American salmonid fish. Dis. Aquat. Org. 15 : 23-29.
- DeMateo, M.M., Bovo, G., Comuzzi, M. and Adams, A. 1997. Lectin histochemical studies on *Sphaerospora* sp. (Myxosporea) from Italian brown trout, *Salmo trutta* L.. J. Fish Dis. 20 : 51-58.
- Desser, S.S., Lom, J. and Dykova, I. 1986. Developmental stage stage of *Sphaerospora ohlmacheri* (Whinery, 1893) n. comb. (Myxozoa : Myxospora) in the renal tubule of bullfrog tadpoles, *Rana catesbeiana*, from lake of two rivers, Algonquin park Ontario. Can. J. Zool. 64 : 2213-2217.
- Diamant, A. 1998. Red drum, *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae), a recent introduction to Mediterranean mariculture is susceptible to *Myxidium leei* (Myxosporea). Aquaculture 162 : 33-39.
- Diamant, A., Lom, J. and Dykova, I. 1994. *Myxidium leei* n. sp., a pathogenic myxosporean of culture sea bream, *Sparus aurata*. Dis. Aquat. Org. 20 : 137-141.
- Egusa, S. 1985. *Myxobolus buri* sp. n. (Myxosporea : Bivalvulida) parasitic in the brain of *Seriola quinqueradiata* Temminck et Schlegel. Fish Pathol. 19 (4) : 239-244.
- Egusa, S., Maeno, Y. and Sorimachi, M. 1990. A new species of Myxozoa, *Myxobolus episqualmalis* sp. nov. infecting the scales of the mullet, *Mugil cephalus* L. Fish Pathol. 25 : 87-91.

- El-Matbouli, M. and Hoffmann, R.W. 1989. Experimental transmission of the two *Myxobolus* spp. developing biosporogony via tubificid worms Parasitol. Res. 75 : 461-464.
- El-Matbouli, M. and Hoffmann, R.W. 1990. *Sinuolinea tetraodoni* n. sp., a myxosporean parasite of freshwater pufferfish, *Tetraodon palembangensis* from Southeast Asia : light and electron microscope observations. Dis. Aquat. Org. 19 : 47-54.
- El-Matbouli, M. and Hoffmann, R.W. 1991. Prevention of experimentally induced whirling disease in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* by fumagillin. Dis. Aquat. Org. 10 : 109-113.
- Ferguson, H. 1981. The effects of water temperature on the development of proliferative kidney disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Dis. 4 : 175-177.
- Frimeth, J. and Thoesen, C.J. 1994. General Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens 4th ed. Fish Health Section, American Fisheries Society. New York. 150 p.
- Harrell, L.W. and Scott, T.M. 1985. *Kudoa thyrsitis* (Gilchrist) (Myxosporea : Multivalvulida) in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis. 8 : 329-332.
- Hedrick, R.P., Groff, J.M., Foley, P. and McDowell, T. 1988. Oral administration of fumagillin DHC protects chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* from experimentally induced proliferative kidney disease. Dis. Aquat. Org. 4 : 165-168.
- Hedrick, R.P., Kent, M.L., Toth, R.J. and Morrison, J.K. 1988. Fish infected with *Sphaerospora* spp. Thelohan (Myxosporea) from water enzootic for proliferative kidney disease of salmonids. J. Protozool. 35 : 13-18.
- Hedrick, R.P., Monge, D. and Kinkelin, P. 1992. Transmission of PKX, the causative agent of proliferative kidney disease (PKD), to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* following filtration of water and sediments. Dis. Aquat. Org. 14 : 237-240.
- Hermanns, W. and Korting, W. (1985). *Sphaerospora tincae* Plehn, 1925 in tench, *Tinca tinca* L., fry. J. Fish Dis. 8 : 281-288.

- Higgins, M.J. and Kent, M.L. 1998. TNP-470, the analogue of fumagillin-DHC, controls PKX in naturally infected sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), underyearlings. J. Fish Dis. 21 : 455-457.
- Hoffmann, G.L. and Mayer, F.P. 1974. Parasites of Freshwater Fish. T.F.H. Publication Ltd. N.S.W. Australia. 156 p.
- Hoffmaster, J.L., Sanders, J.E., Rohovec, J.S. and Fryer, J.L. 1988. Geographic distribution of the myxosporean parasite, *Ceratomyxa shasta* Noble 1950, in the Columbia River basin, USA. J. Fish Dis. 11 : 97-100.
- Humason, G.L. 1962. Animal Tissue Techniques. Freeman and Company Ltd. San Francisco. 641 p.
- Kabata, Z. 1985. Parasite and Disease of Fish Cultured in the Tropics. Taylor & Francis. London. 318 p.
- Kent, M.L. and Dawe, S.C. 1994. Efficacy of Fumagillin DHC against experimentally induced *Loma salmonae* (Microsporidea) infections in chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. Dis Aquat. Org. 20 : 231-233.
- Kent, M.L. and Hedrick, R.P. 1985. PKX, the causative agent of proliferative kidney disease (PKD) in Pacific salmonid fishes and its affinities with the Myxozoa. J. Protozool. 32 (2) : 254-260.
- Kent, M. and Hedrick, R.P. 1986. Development of the PKX myxosporean in rainbow trout *Salmo gairdneri*. Dis. Aquat. Org. 1 : 169-182.
- Korting, W. 1982. Protozoan parasites associated with swimbladder inflammation (SBI) in young carp. Bull. Eur. Ass. Fish Path. 2 : 25-28.
- Kudo, R. 1920. Studies on Myxosporidia : a synopsis of genera and species of Myxosporidia. Illinois Biol. Monographs. 5 : 1-265.
- Kudo, R. 1977. Protozoology. Charles C. Thomas. Illinois. 1174 p.
- Landsberg, J.H. 1993a. Kidney myxosporean parasites in red drum *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae) from Florida, USA., with a description of *Parvicapsula renalis* n. sp. Dis. Aquat. Org. 17 : 9-16.
- Landsberg, J.H. 1993b. Myxosporean parasite of common snook in Florida. Aquat. Anim. Health. 5 : 102-109.

- Langdon, J.S. 1987. Spinal curvatures and an encephalotropic myxosporean, *Triangula percae* sp. nov. (Myxozoa : Ortholineidae) , enzootic in redfin perch, *Perca fluviatilis* L., in Australia. J. Fish Dis. 10 : 425-434.
- Langdon, J.S. 1990. Observation on new *Myxobolus* species and *Kudoa* species infecting the nervous system of Australian fishes. J. Appl. Ichthyol. 6 : 107-116.
- Langdon, J.S. 1991. Myoliquefaction post-mortem (milky flesh) due to *Kudoa thyrsites* (Gilchrist) (Myxosporea : Multivalvulida) in mahi mahi, *Coryphaena hippurus*. L.J. Fish Dis. 14 : 45-54.
- Langdon, J.S., Thorne, T. and Fletcher, W.J. 1992. Reservoir hosts and new clupeoid host record for the myoliquefactive myxosporean parasite *Kudoa thyrsites* (Gilchrist). J. Fish Dis. 15 : 459-471.
- Levine, N.D., Corliss, J.O., Cox, F.E.G., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B.M., Leedle, G.G., Loeblich, A.R., Lom, J., Lynn, D., Merinfeld, E.G., Page, F.C., Poljansky, G., Sprague, V., Vavra, J. and Wallace, F.G. 1980. A new revised classification of the protozoan. J. Protozool. 27 : 37-58.
- Lom, J. and Arthur, J.R. 1989. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea. J. Fish Dis. 12 : 151-156.
- Lom, J. and Dykova, I. 1992. Protozoan Parasites of Fish. Elsevier Science Publisher B.V. Amsterdam. 315 p.
- Lom, J. and Dykova, I. 1995. New species of the genera *Zschokkella* and *Ortholinea* (Myxozoa) from the Southeast Asian teleost fish, *Tetraodon fluviatilis*. Folia Parasitol. 42 : 161-168.
- Lom, J., Dykova, I., Horner, R.W., Hoffman, G.L. and Durham, L. 1992. Comment on the identity of *Myxobolus aureatus*. J. Aquat. Anim. Health. 4 : 129-134.
- Lom, J., Feist, S.W., Dykova, I. and Kerp, T. 1989. Brain myxoboliasis of bullhead, *Cottus gobio* L., due to *Myxobolus jiroveci* sp. nov. : light and electron microscope observations. J. Fish Dis. 12 : 15-27.
- Lom, J. and Noble, E.R. 1984. Revised classification of the Myxosporea Butschli ,1981. Folia Parasitol. 31 : 193-205.

- Lom, J., Palvaskova, M, and Dykova, I. 1985. Notes on kidney infection species of the genus *Sphaerospora* Thelohan (Myxosporea), including a new species *Sphaerospora gobionis* sp. nov., and myxosporean life cycle stages in the blood of some freshwater fish. J. Fish Dis. 8 : 221-232.
- Lom, J., Tonguthai, K. and Dykova, I. 1991. *Henegoides longitudinalis* n. gen. n. sp., a myxosporean parasite of *Osphronemus goramy* from Thailand. Dis. Aquat. Org. 11 : 143-145.
- Lorz, H.V., Amandi, A., Banner, C.R. and Rohovec, J.S. 1989. Detection of *Myxobolus* (*Myxosoma*) *cerebralis* in salmonid fishes in Oregon. J. Aquat. Anim. Health. 1 : 217-221.
- MacConnell, E., Smith, C.E., Hedrick, R.P. and Speer, C.A. 1989. Cellular inflammatory response of rainbow trout to the protozoan parasite that causes proliferative kidney disease. J. Aquat. Anim. Health. 1 : 108-118.
- MacMillan, J.R., Wilson, C. and Thiyagarajah, A. 1989. Experimental induction of proliferative gill disease in specific-pathogen-free channel catfish. J. Aquat. Anim. Health. 1 : 245-254.
- Margolis, L. and Evelyn, E.P. 1975. Ceratomyxosis in chum salmon *Oncorhynchus keta* in British Columbia. J. Fish. Res. Board Can. 32 : 1640-1643
- Margolis, M.L., Kent, M.L. and Bustos, P. 1996. Disease of salmonids resembling myxosporean whirling disease, and the absence of *Myxosoma cerebralis*, in South America. Dis. Aquat. Org. 25 : 33-37.
- Markiw, M.E. 1991. Whirling disease : earliest susceptible age of rainbow trout to the triactinomyxid of *Myxobolus cerebralis*. Aquaculture 92 : 1-6.
- Markiw, M.E. and Wolf, K. 1978. *Myxosoma cerebralis* : fluorescent antibody techniques for antigen recognition J. Fish Res. Board Can. 35 (6) : 828-832.
- Masoumian, M., Baska, F. and Molnar, K. 1996. Description of *Myxobolus bulbocordis* sp. nov. (Myxosporea : Myxobolidae) from the heart of *Barbus sharpeyi* (Gunther) and histopathological changes produced by the parasite. J. Fish Dis. 19 : 15-21.
- McDaniel, D. 1979. Procedures for the Detection and Identification of Certain Fish Pathogens. Fish Health Section, American Fisheries Society. Oregon. 118 p.

- McGeorge, J., Sommerville, C. and Wootten, R. 1994. Light and electron microscope observations on extrasporogonic and sporogonic stages of a myxosporean parasite of the genus *Sphaerospora* Thelohan, 1892 from Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. *J. Fish Dis.* 17 : 227-238.
- Mitchell, L.G., Seymour, C.L. and Gamble, J.M. 1985. Light and electron microscopy of *Myxobolus hendricksoni* sp. nov. (Myxozoa : Myxobolidae) infecting the brain of the fathead minnow, *Pimephales promelas* Rafinesque.. *J. Fish Dis.* 8 : 75-89.
- Molnar, K. 1980. Renal sphaerosporosis in the common carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Dis.* 3 : 11-19.
- Molnar, K. 1988. Presporogonic development of *Sphaerospora renicola* Dykova & Lom 1982, in the swimbladder of common carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Dis.* 11 : 489-497.
- Molnar, K., Baska, F. and Szekely, C. 1987. Fumagillin, an efficacious drug against renal sphaerosporosis of common carp, *Cyprinus carpio*. *Dis. Aquat. Org.* 2 : 187-190.
- Molnar, K., Fischer-Scherl, T., Baska, F. and Hoffmann, R.W. 1989. Hoferellosis in goldfish, *Carassius auratus* and gibel carp *Carassius auratus gibelio*. *Dis. Aquat. Org.* 7 : 89-95.
- Molnar, K. and Kovacs-Gayer, E. 1986. Experimental induction of *Sphaerospora renicola* (Myxosporea) infection in common carp (*Cyprinus carpio*) by transmission of SB-protozoans. *Appl. Ichthyol.* 2 : 86-94.
- Moran, J.D.W., Whitaker, D.J. and Kent, M.L. 1999. A review of the myxosporean genus *Kudoa* Meglitsch, 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries. *Aquaculture* 172 : 163-196.
- Moser, M., Kent, M.L. and Dennis, D. 1989. Gall bladder myxosporean in coral reef fishes from Heron Island, Australia. *Aust. J. Zool.* 37 : 1-13.
- Munoz, P., Palenzuela, O., Sitja-Bobadilla, A. and Alvarez-Pellitero, P. 1999. Immunohistochemical reactivity of polyclonal antibodies against *Sphaerospora testicularis* and *Ceratomyxa labracis* (Myxosporea : Bivalvulida), with other myxosporean parasites. *Parasitol.* 29 : 521-525.

- Noble, E.R. 1966. Myxosporida in deepwater fish. *J. Parasitol.* 52 (4) : 685-690.
- Ogawa, K., Delgahapitiya, K.P., Furuta, T. and Wakabayashi, H. 1992. Histological studies on the host response to *Myxobolus artus* Akhmerov, 1960 (Myxozoa : Myxobolidae) infection in the skeletal muscle of carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Biol.* 41 : 363-371.
- O'Grodnick, J.J. 1979. Susceptibility of various salmonids to whirling disease (*Myxosoma cerebralis*). *Trans. Am. Fish. Soc.* 108 (2) : 187-190.
- Overstreet, R.M. 1976. *Febespora vermicola* sp. n., the first myxosporidean from a platyhelminth. *J. Parasitol.* 62 : 680-684.
- Paperna, H. 1983. A Chloromyxum - like myxosporean infection in the stomach of cultured *Sparus aurata* (L.). *J. Fish Dis.* 6 : 85-89.
- Parker, J.D., Spall, R.D. and Warner, M.C. 1971. Two new myxosporida, *Henneguya gambusi* sp. n. and *Myxosoma pharyngeus* sp. n., in the mosquito fish, *Gambusia affinis* (Baird & Giard). *J. Parasitol.* 57 : 1297-1301.
- Pote, L.M. and Waterstrat, P. 1993. Motile stage of *Auranactinomyxon* sp. (Actinosporea : Triactinomyxidae) isolate from *Dero digitata* found in channel catfish ponds during outbreaks of proliferative gill disease. *J. Aquat. Anim. Health.* 5 : 213-218.
- Rajendran, K.V., Vijayan, K.K. and Alavandi, S.V. 1998. Cardiac myxosporiosis of pearl spot, *Etroplus suratensis* (Bloch), due to *Myxobolus etropi* sp. nov. *J. Fish Dis.* 21 : 169-176.
- Ratliff, D.E. 1981. *Ceratomyxa shasta* : epizootiology in chinook salmon of the central Oregon. *Trans. Am. Fish. Soc.* 110 : 507-513.
- Robinson, D.G., Ehlers, U., Herken, R., Herrmann, B., Mayer, F. and Schurmann, F.W. 1987. *Methods of Preparation for Electron Microscopy.* Springer-Verlag. Heidelberg. 190 p.
- Roubal, F.R. 1994. Histopathological and ecological aspect of *Henneguya* and *Myxobolus* (Myxosporia) infections in *Acanthopagrus australis* (Gunther) (Pisces : Sparidae) from Moreton Bay, Australia. *J. Fish Dis.* 17 : 495-512.

- Saulnier, D. and DeKinkelin, P. 1997. Polymerase chain reaction primers for investigations on the causative agent of proliferative kidney disease of salmonids. *J. Fish Dis.* 20 : 467-470.
- Schmahl, G., Mehlhorn, H. and Taraschewski, H. 1989. Treatment of fish parasite 7 effect of sym. Triazinoe (Toltrazuril) on development stage of *Myxobolus* sp. Butshli, 1822 (Myxosporea, Myxoa) : a light and electron microscopic study. *Europ. J. Protistol.* 25 : 26-32.
- Shariff, M. 1982. *Henneguya shaharini* sp. nov. (Protozoa : Myxozoa), a parasite of marble goby, *Oxyeleotris marmoratus* (Bleeker). *J. Fish Dis.* 5 : 37-45.
- Shulman, S.S. 1988. Myxosporidia of the USSR. Amerind Publishing Co. Ltd., New Delhi. 631 p.
- Sindermann, C.J. and Lightner, D.V. 1988. Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture. Elsevier. New York. 431 p.
- Sirimontaporn, P. 1984. Fishes of Songkhla Lake. The National Institute of Coastal Aquaculture, Thailand and Japan International Cooperation Agency. Songkhla. 91 p.
- Sitja-Bobadilla, A. and Alvarez-Pellitero, P. 1990. *Sphaerospora testicularis* sp. nov. (Myxosporea : Sphaerosporidae) in wild and cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.) , from the Spanish Mediterranean area. *J. Fish Dis.* 13 : 193-203.
- Sitja-Bobadilla, A. and Alvarez-Pellitero, P. 1992. Light and electron microscopic description of *Sphaerospora dicentrarchi* n. sp. (Myxosporea : Sphaerosporidae) from wild and culture seabass, *Dicentrarchus labrax* L. *J. Protozool.* 39 (2) : 273-281.
- Sitja-Bobadilla, A. and Alvarez-Pellitero, P. 1992. Effect of fumagillin treatment on sea bass *Dicentrarchus labrax* parasitized by *Sphaerospora testicularis* (Myxosporea : Bivalvulida). *Dis. Aquat. Org.* 14 : 171-178.
- Smith, C.E., Morrison, J.K., Rumsey, H.W. and Ferguson, H.W. 1984. Proliferative kidney disease : first report outbreak in North America. *J. Fish Dis.* 7 : 207-216.
- Southgate, S.P. and Richards, R.H. 1989. A systemic protozoan disease of cultured salmonids. *J. Fish Dis.* 12 : 157-173.

- Styer, E.L., Harrison, L.R., and Burtle, G.J. 1991. Experimental production of proliferative gill disease in channel catfish exposed to a myxozoan-infected oligochaete, *Dero digitata*. J. Aquat. Anim. Health. 3 : 288-291.
- Supamattaya, K., Fischer-Scherl, T.H., Hoffmann, R.W. and Boonyaratpalin, S. 1990. Renal sphaerosporosis in cultured grouper *Epinephelus malabaricus*. Dis. Aquat. Org. 8 : 35-38.
- Supamattaya, K., Fischer-Scherl, T., Hoffmann, R.W. and Boonyaratpalin, S. 1991 . *Sphaerospora epinepheli* n. sp. (Myxosporea : Sphaerosporidae) observed in grouper *Epinephelus malabaricus* Block & Schneider, 1801. J. Protozool. 38 : 448-454.
- Taylor, R.L. and Lott, M. 1978. Transmission of salmonid whirling disease by bird fed trout infected with *Myxosoma cerebralis*. J. Protozool. 25 (1) : 105-109.
- Thiyagarajah, A. 1993. Proliferative gill disease of fish from the Tennessee-Tombigbee Waterway, Mississippi. J. Aquat. Anim. Health. 5 : 219-222.
- Torres, A., Matos, E. and Azevedo, C. 1994. Fine structure of *Henneguya amazonica* (Myxozoa) in ovarian follicle of *Hoplosternum littorale* (Teleostei) from the Amazon river. Dis. Aquat. Org. 19 : 169-172.
- Whitaker, D.J. and Kent, M.L. 1991. Myxosporean *Kudoa thyrsites* : a cause of soft flesh in farm-reared Atlantic salmon. J. Aquat. Anim. Health. 3 : 291-294.
- Wolf, K. and Markiw, M.E. 1979. *Myxosoma cerebralis* : a method for staining spores and other stage with silver nitrate. J. Fish Res. Board Can. 36 (1) : 88-89.
- Wolf, K. and Markiw, M.E. 1984. Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa : new discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate host. Science 225 : 1449-1452.
- Wolf, K. and Markiw, M.E. 1985. Salmonid Whirling Disease. Fish and Wildlife Service. Division of Fishery Research. Washington D.C. 12 p.
- Yokoyama, H., Ogawa, K. and Wakabayashi, H. 1990a. Chemotherapy with fumagillin and toltrazuril against kidney enlargement disease of goldfish caused by the myxosporean *Hoferellus carassii*. Fish Pathol. 25 : 157-163.

- Yokoyama, H., Ogawa, K. and Wakabayashi, H. 1990b. Light and electron microscopic studies on the development of *Hofereilus carassii* (Myxosporea), the causative organism of kidney enlargement disease of goldfish. *Fish Pathol.* 25(3) : 149-156.
- Yokoyama, H., Ogawa, K. and Wakabayashi, H. 1991. A new collection method of actinosporeans, a probable infective stage of myxosporean to fishes from tubificids and experimental infection of goldfish with the actinosporean, *Rabeia* sp. *Fish Pathol.* 26 : 133-13.
- Yokoyama, H., Ogawa, K. and Wakabayashi, H. 1992. Branchial pathology of cyprinid fish infected with two myxosporean parasites. pp. 337-343. In *Disease in Asian Aquaculture*. Shariff, M., Subasinghe, P.R. and Arthur, J.R. (eds). Fish Health Section, Asian Fisheries Society. Manila.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. ตัวอย่างปลาที่เก็บรวบรวมได้จากทะเลสาบสงขลาตอนนอก

ตารางภาคผนวก ก. ตัวอย่างปลาที่เก็บรวบรวมได้จากทะเลสาบสงขลาตอนนอก

ลำดับที่	ปลาตัวอย่าง			ปริมาตร (กรัม)	ชนิดพยาธิ
	ชนิดปลา	จำนวน (ตัว)	ความยาว (cm)		
1	ปลาหัวอ่อน (<i>Osteogeneiosus militaris</i>)	82	22.10 (18.60-28.10)	99.90 (57.42-152.50)	<i>Zschokkeia</i> sp.
2	ปลาตะกรับ (<i>Scatophagus argus</i>)	54	10.18 (6.70-15.20)	35.87 (9.00-18.60)	<i>Ceratomyxa</i> sp. sp. A <i>Myxidium</i> sp. sp. A <i>Thelohanellus</i> sp. <i>Ceratomyxa</i> sp. sp. B <i>plasmodium</i> sp. C, E
3	ปลาแม่เหล็ก (<i>Leiognathus brevisstris</i>)	75	9.24 (7.80-10.90)	12.06 (8.77-19.29)	<i>Sphaeromyxa</i> sp.
4	ปลานูหัวขู (<i>Acenirogobius cyanomos</i>)	14	12.38 (9.90-14.50)	23.58 (10.11-36.79)	<i>Myxidium</i> sp. sp. B
5	ปลากะพงหางปากแดง (<i>Hemiramphus gaimardi</i>)	22	14.14 (10.82-17.60)	9.27 (5.99-18.82)	<i>Ceratomyxa</i> sp. sp. C
6	ปลาปักเป้าลายเสือ (<i>Tetraodon fluviatilis</i>)	11	5.97 (4.80-6.80)	22.58 (13.80-29.70)	<i>plasmodium</i> sp. A
7	ปลานูทอง (<i>Glossogobius giurris</i>)	16	12.95 (11.20-15.50)	21.30 (18.00-24.76)	<i>plasmodium</i> sp. D
8	ปลากะบอก (<i>Liza subviridis</i>)	12	14.01 (11.1-15.1)	32.36 (19.92-40.00)	<i>plasmodium</i> sp. B, F
9	ปลากด (<i>Arius maculatus</i>)	50	19.15 (14.10-25.20)	71.28 (37.40-124.00)	-
10	ปลากดขี้ลิง (<i>Arius sagon</i>)	50	19.05 (16.00-23.40)	70.92 (22.8-97.20)	-

ตารางภาคผนวก ก. (ต่อ)

ลำดับที่	ปลาตัวอย่าง				ประวัติที่พบ
	ชนิดปลา	จำนวน (ตัว)	ความยาว (cm)	น้ำหนัก (g)	
11	ปลากะพงทะเล (<i>Hemiramphus far</i>)	13	12.62 (8.40-14.80)	7.22 (4.30-9.40)	-
12	ปลากะพงทะเล (<i>Tylosurus crocodilus</i>)	13	22.90 (17.6-31.1)	32.00 (22.00-43.00)	-
13	ปลาแม่น้ำกระตอย (<i>Leiognathus splendens</i>)	41	11.53 (8.60-13.50)	12.61 (9.00-14.80)	-
14	ปลากะพง (<i>Luijanus argentimaculatus</i>)	35	11.80 (7.50-15.70)	32.27 (20.00-55.90)	-
15	ปลากะพงข้างปาน (<i>Luijanus russelli</i>)	31	12.78 (9.40-17.80)	40.90 (25.00-66.72)	-
16	ปลาบู่หัว (<i>Acentrogobius caninus</i>)	50	11.42 (8.50-13.90)	20.70 (14.90-29.90)	-
17	ปลาดอกหมากครีบยาว (<i>Gerres filamentosus</i>)	42	13.50 (11.90-15.40)	35.90 (25.90-62.40)	-
18	ปลาดางยื่น (<i>Taenioides cirratus</i>)	27	18.1 (17.60-19.20)	28.49 (20.00-35.24)	-
19	ปลาเข็ช (<i>Parapocryptes serperaster</i>)	23	21.59 (18.10-23.90)	64.31 (56.90-72.50)	-
20	ปลากัดย (<i>Trypauchen vagina</i>)	17	22.80 (20.30-23.90)	66.33 (42.10-83.80)	-
21	ปลาปักเป้าเขียวประดำ (<i>Tetraodon nigroviridis</i>)	7	13.81 (12.70-14.50)	98.23 (70.60-118.89)	-
22	ปลาฉุก (<i>Halophyne trispinosus</i>)	12	20.04 (16.4-23.50)	123.50 (110.20-136.40)	-
23	ปลาฉุก (<i>Halophyngene gangene</i>)	7	19.38 (18.20-22.60)	127.62 (119.3-136.70)	-
24	ปลาหลังเขียว (<i>Herklotichthys dispilonotus</i>)	30	12.34 (9.70-14.00)	17.46 (12.80-23.60)	-

ตารางภาคผนวก ก. (ต่อ)

ลำดับที่	ปลาตัวอย่าง			น้ำหนัก (g)	ปริมาตรที่พบ
	ชนิดปลา	จำนวน (ตัว)	ความยาว (cm)		
25	ปลาตะเพียนน้ำเค็ม (<i>Nematalosa nasus</i>)	35	13.15 (11.20-14.20)	24.96 (16.30-38.50)	-
26	ปลาข้างตะเภา (<i>Terapon jarbua</i>)	19	9.03 (7.60-10.80)	49.84 (42.80-53.90)	-
27	ปลาชิลิดิ้นส้ม (<i>Siganus guttatus</i>)	35	12.63 (9.20-19.10)	34.46 (11.08-132.00)	-
28	ปลาชิลิดิ้นแถบขาว (<i>Siganus javus</i>)	45	10.96 (8.60-16.40)	21.06 (18.40-28.34)	-
29	ปลาลิ้นหมา (<i>Cynoglossus cynoglossus</i>)	24	17.43 (11.20-27.20)	38.01 (18.19-77.31)	-
30	ปลาลิ้นคาว (<i>Euryglossa orientalis</i>)	18	13.38 (11.00-15.70)	46.03 (39.00-63.61)	-
31	ปลากัว (<i>Triacanthus biaculeatus</i>)	28	18.87 (11.20-17.40)	31.06 (20.51-37.85)	-
32	ปลากะบาง (<i>Dasyatis imbricatus</i>)	7	36.27 (27.40-50.10)	185.00 (118.70-239.40)	-

ภาคผนวก ข. สารเคมีและวิธีการ

1. สารเคมีและวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา

1.1 การเตรียมสารละลายคงสภาพ (fixative) (ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์)

วิธีการเตรียม

ทำการตวงน้ำกลั่นหรือน้ำประปา 900 มิลลิลิตร และเติมฟอร์มาลิน 100 มิลลิลิตร (37-40 เปอร์เซ็นต์ ฟอร์มาดีไฮด์) เขย่าให้เข้ากันและนำเก็บในขวดปิดฝาให้มิดชิด

1.2 การย้อมสีไรท์จีเมซา (wright-giemsa) (ตามวิธีการของ Humason, 1962)

สารเคมี

1. สารละลายไรท์จีเมซา (stock solution)

ผงจีเมซา	2 กรัม
กลีเซอริน (glycerine)	100 มิลลิลิตร

ละลายผงจีเมซาลงในกลีเซอรินโดยแช่ในอ่างน้ำอุ่นที่ระดับอุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ซึ่งในขั้นตอนดังกล่าวจะใช้กระดาษหนาปิดปากภาชนะที่ใช้เตรียมเพื่อป้องกันความชื้นจากภายนอกเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย จากนั้นเติมสีย้อมไรท์ (2 กรัม ละลายใน เมทิลแอลกอฮอล์ 1000 มิลลิลิตร) จำนวน 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ข้ามคืน เมื่อครบกำหนดจึงเติมสีย้อมอีก 800 มิลลิลิตร นำบรรจุเก็บในขวดแก้ว

2. สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7

2.1 สารละลาย A

ไดเบซิกโซเดียมฟอสเฟต (dibasic sodium phosphate)	9 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

2.2 สารละลาย B

โมโนเบซิกโปแตสเซียมฟอสเฟต (monobasic potassium phosphate)	9.5 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A สารละลาย B และน้ำกลั่นเข้าด้วยกันในอัตราส่วน 61.1 38.9 และ 900 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมไว้ 9 ส่วน ผสมรวมกับสีย้อมไรท์จีเมซา 1 ส่วน ก่อนนำไปใช้ควรเก็บทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ เพื่อให้สีทำปฏิกิริยาโดยสมบูรณ์

ขั้นตอนการย้อม

1. เจาะเลือดปลาบริเวณเส้นเลือดคอดหาง นำเลือดที่ได้ประมาณ 1 หยดลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด ใช้สไลด์อีกแผ่นสเมียร์ (smear) เลือดให้ทั่วตามความยาวประมาณ 1 ใน 3 ของแผ่นสไลด์
2. นำสไลด์ตัวอย่างเลือดผ่านการรักษาภาพโดยการแช่ในเมทิลแอลกอฮอล์นาน 3 นาที และย้อมด้วยสีโรทิมิจานาน 10 นาที จากนั้นนำผ่านสารละลายบัพเฟอร์นาน 3 นาที
3. ล้างสีส่วนเกินด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ให้แห้งที่ระดับอุณหภูมิห้อง เคลือบสไลด์ด้วยน้ำยาเปอร์เมาทและนำไปตรวจเช็คด้วยกล้องจุลทรรศน์

1.3 การดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) และการย้อมสีอีมาทอกซิลินและอีโอซิน (ตามวิธีของ Bancroft, 1967)

หลังจากเตรียมตัวอย่างเสร็จด้วยการตัดแต่ง (trim) ให้มีขนาดพอเหมาะนำบรรจุในบล็อกพลาสติก และรวบรวมใส่ตะกร้าโลหะเพื่อที่จะนำสู่ขั้นตอนดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วยเครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา(ชั่วโมง)
1	เอทิลแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	2
2	เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	2
3	เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	2
4	เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
5	เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
6	แอบโซลูทแอลกอฮอล์ (absolute alcohol)	1
7	ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ (isopropyl alcohol)	1
8	ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์	1
9	ไซลีน	1
10	ไซลีน	1
11	พาราพลาส (paraplast)	1
12	พาราพลาส	1

หลังจากตัวอย่างผ่านขั้นตอนดึ่งน้ำออกจากเซลล์ ผ่านไครลินและแทนที่ช่องว่างภายในเซลล์ด้วยพาราพลาส แล้วนำตัวอย่างเข้าสู่ขั้นตอนการฝัง (embedding) ในพาราพลาส ตกแต่งตัวอย่างให้สวยงามและนำไปผ่านขั้นตอนการตัด (sectioning) และการย้อมสีอีมาทอกซิลินและอีโอซิน

สารเคมี

1. สีย้อมอีมาทอกซิลิน : เตรียมโดยใช้

อีมาทอกซิลิน	4	กรัม
โซเดียมไอโอดेट (sodium iodate)	0.8	กรัม
อลัม (potassium aluminium sulfate, alum)	100	กรัม
กรดซิตริก (citric acid)	4	กรัม
คลอรัลไฮเดรท (choral hydrate)	200	กรัม
น้ำกลั่น	2000	กรัม

ละลายอลัมลงในน้ำกลั่น เติมอีมาทอกซิลินผสมจนกระทั่งละลายหมดแล้วจึงเติมโซเดียมไอโอดेट หลังจากนั้นเติมกรดซิตริกและคลอรัลไฮเดรทเข้าด้วยกัน ผสมจนกระทั่งละลายเป็นเนื้อเดียว นำเก็บบรรจุในขวดสีชาหรือขวดพลาสติกที่บดแสงทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ก่อนนำไปใช้

2. สีย้อมอีโอซิน : เตรียมโดยใช้

อีโอซิน (eosin Y, CI 45380)	1	กรัม
เอทิลแอลกอฮอล์	1000	มิลลิลิตร
กรดอะซิติกเข้มข้น	5	มิลลิลิตร

ละลายอีโอซินลงในเอทิลแอลกอฮอล์จนกระทั่งละลายหมด แล้วจึงเติมกรดอะซิติก ผสมให้เข้ากันนำบรรจุเก็บในขวดสีชาหรือขวดพลาสติก

วิธีการ

นำสไลด์ตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10-12 ชั่วโมงผ่านขั้นตอนการย้อมสีอีมาทอกซิลินและอีโอซินซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

วิธีการ	สารละลาย	เวลา (นาที)
1	โซลีน	2
2	โซลีน	2
3	โซลีน	2
4	ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์	1
5	ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์	1
6	แอมโซลูทแอลกอฮอล์	1
7	เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
8	เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	1
9	เอทิลแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์	1
10	น้ำกลั่น	1
11	ฮีมาทอกซิลิน	20
12	น้ำประปา	1
13	น้ำกลั่น	1
14	เอทิลแอลกอฮอล์	1
15	อีโอซิน	2
16	เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	2
17	เอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	2
18	แอมโซลูทแอลกอฮอล์	2
19	ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์	2
20	ไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์	2
21	โซลีน	2
22	โซลีน	2
23	โซลีน	2

หลังจากนำสไลด์ตัวอย่างผ่านขั้นตอนสุดท้าย คือ แช่ในโซลีน แล้วจึงทำการเคลือบด้วยน้ำยาเปอร์มาท ตั้งทิ้งให้แห้งและนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

2. สารเคมีและวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

2.1 การเตรียมสารละลายคงสภาพและสารละลายบัฟเฟอร์รักษาสภาพเนื้อเยื่อ (washing buffer)

สารเคมีและวิธีการ

1. บัฟเฟอร์โซเดียมคาโคดีเลทความเข้มข้น 0.1 M pH 7.4

โซเดียมไดเมทิลอะซิเนต (sodium dimethyl acenate)	19.9 กรัม
น้ำกลั่น	500 มิลลิลิตร

ละลายโซเดียมไดเมทิลอะซิเนตในน้ำกลั่นโดยใช้เครื่องคนสารช่วย เมื่อสารละลายเข้ากันดีแล้ว จึงเติมกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) (0.2 M) จำนวน 27 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 473 มิลลิลิตร ตามลำดับ ผสมสารทั้งหมดรวมกันและควรเก็บทิ้งไว้อย่างน้อย 2 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้เป็นส่วนผสมของสารละลายคงสภาพและสารละลายรักษาสภาพเนื้อเยื่อในข้อ 2 และข้อ 3

2. สารละลายคงสภาพเนื้อเยื่อขั้นแรก (primary fixative)

กลูตาราลดีไฮด์ ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์	20 มิลลิลิตร
บัฟเฟอร์โซเดียมคาโคดีเลท (cacodelate buffer)	50 มิลลิลิตร
โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์	30 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	90 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายทั้งหมดลงในน้ำกลั่น บรรจุในขวดสีชาปิดฝาให้มิดชิดและนำไปเก็บในตู้เย็น

3. สารละลายบัฟเฟอร์รักษาสภาพเนื้อเยื่อ

บัฟเฟอร์โซเดียมคาโคดีเลท	50 มิลลิลิตร
โซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์	100 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	94 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายทั้งหมดเข้าด้วยกัน บรรจุในขวดสีชาปิดฝาให้มิดชิดและนำไปเก็บในตู้เย็น

4. สารละลายคงสภาพเนื้อเยื่อขั้นที่สอง (secondary fixative)

4.1 ออสเมียมเตตราออกไซด์ (osmium tetroxide) ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์

ออสเมียมเตตราออกไซด์	4 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

เติมผลึกออสเมียมเตตราออกไซด์ลงในน้ำกลั่นโดยใช้เครื่องคนสารช่วยในการผสมหรือทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องค้างคืนเพื่อให้ผลึกของสารละลายจนหมด ข้อควรระวังในการเตรียมสารชนิดนี้คือ จะต้องเตรียมภายในตู้ดูดควันเพื่อป้องกันอันตรายจากไอระเหย

4.2 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 M pH 7.3

โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (0.2 M) 23 มิลลิลิตร
(sodium dihydrogen phosphate)

โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (0.2 M) 77 มิลลิลิตร
(sodium hydrogen phosphate)

ผสมสารให้เข้ากันดีและนำสารละลายนี้ผสมกับออสเมียมเตตราออกไซด์ในข้อ 4.1 ในอัตรา 1:1 ซึ่งจะได้น้ำยาคงสภาพออสเมียมเตตราออกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ บรรจุสารละลายในขวดสีชาปิดฝาให้มิดชิดและนำเก็บในตู้เย็น

2.2 ขั้นตอนการดึงน้ำออกจากเซลล์และใช้สารแทรกในเนื้อเยื่อ (infiltration)

หลังจากที่ตอตัวอย่างในสารละลายออสเมียมเตตราออกไซด์ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1.5-2 ชั่วโมง แล้วจึงนำตัวอย่างดังกล่าวผ่านขบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอน	สารละลาย	เวลา (นาที)
1	เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	5
2	เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	5
3	เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	5
4	เอทิลแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์	5
5	เอทิลแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์	5
6	เอทิลแอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์	5
7	เอทิลแอลกอฮอล์ 90 เปอร์เซ็นต์	5
8	เอทิลแอลกอฮอล์ 90 เปอร์เซ็นต์	5
9	แอบโซลูทแอลกอฮอล์	15
10	แอบโซลูทแอลกอฮอล์	15
11	โพรไพลีนออกไซด์	15
12	โพรไพลีนออกไซด์	15
13	โพรไพลีนออกไซด์ผสมกับอีปอน-812 ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร	60
14	อีปอนบริสุทธิ	60

เมื่อตัวอย่างผ่านเสร็จสิ้นทุกขั้นตอนจึงนำไปฝังในบล็อกพลาสติกหรือแคลซูลพลาสติก ขนาดเบอร์ตามต้องการ นำตัวอย่างอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการแกะตัวอย่างออกจากบล็อกและตกแต่งเพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการตัดต่อไป

2.3 การเตรียมอีปอน-812 (epon-812)

สารเคมีและวิธีการ

1. ส่วนผสม A (stock mixture A)

อีปอน-812	62	มิลลิลิตร
โดดีซีนิลซัคซินิคแอนไฮไดรด์ (dodecenylic succinic anhydride)	100	มิลลิลิตร

2. ส่วนผสม B (stock mixture B)

อีปอน-812	100	มิลลิลิตร
นาดีคเมทิลแอนไฮไดรด์ (nadic methyl anhydride)	89	มิลลิลิตร

ทำการผสมส่วนผสม A และ B แต่ละชนิดให้เข้ากันดีและเก็บไว้ในตู้เย็น ก่อนใช้ต้องนำมาปรับอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องเสียก่อน จากนั้นนำส่วนผสม A และ B เข้าด้วยกันซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. ผสมส่วนผสม A และ B ในอัตราส่วน 3:2 โดยปริมาตร คนให้เข้ากันพยายามอย่าให้เกิดฟองอากาศ

2. ค่อยๆ เติมดีเอ็มพี-30 (2,4,6, tridimethylamino methyl phenol) จำนวน 1 หยดลงในส่วนผสม A และ B ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีอีกครั้งและนำไปใช้ได้ทันที กรณีที่ส่วนผสมดังกล่าวเหลือใช้สามารถเก็บในตู้เย็นไว้ใช้ในครั้งต่อไป

2.4 การย้อมสีทูลูดินบลู (ทูลูดินบลูความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์)

สารเคมี

ทูลูดินบลู	1	กรัม
บอแรกซ์ (borax)	1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลายทุลดินบดและบอแรกลงในน้ำกลั่นโดยใช้แท่งแก้วคนหรือใช้เครื่องคนสารช่วยจนกระทั่งละลายหมด ทำการกรองเก็บไว้ในขวดสีชาที่ระดับอุณหภูมิห้อง ข้อควรระวังคือบอแรกเป็นสารที่ละลายยากดังนั้นควรบดให้ละเอียดก่อนซึ่งจะทำให้ละลายน้ำได้ง่ายขึ้น

วิธีการ

1. นำสไลด์ที่มีตัวอย่างเนื้อเยื่อซึ่งผ่านการตัดแบบหนาด้วยอัลตราไมโครโทมวางบนเตาความร้อนที่ระดับอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาประมาณ 10 นาที เพื่อให้สไลด์แห้งสนิทแล้วทำการเคลื่อนย้ายลงจากเตา
2. หยดสีทุลดินบดให้ท่วมตัวอย่างเนื้อเยื่อหรือประมาณ 2-3 หยด โดยใช้เวลา 15-20 นาที
3. ล้างสไลด์ตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นหรือประปาจนสะอาด และนำวางบนเตาความร้อนอีกครั้งที่อุณหภูมิ 30-35 เซลเซียสและไม่ควรร้อนเกินกว่านี้เพราะจะทำให้แผ่นเนื้อเยื่อตัวอย่างเกิดการหดตัวเป็นรอยย่น เมื่อสไลด์แห้งสนิทจึงทำการเคลือบด้วยน้ำยาเปอร์มาทและนำไปตรวจเช็คด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา

2.5 การย้อมยूरานิลอะซิเตทและเลทซีเตรท (ตามวิธีการของ Robinson *et al.*, 1987)

สารเคมี

1. ยूरานิลอะซิเตทความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

ยूरานิลอะซิเตท 2 กรัม

น้ำกลั่นต้มและผ่านการกรอง 40 มิลลิลิตร

ละลายยूरานิลอะซิเตทลงในน้ำกลั่นจนกระทั่งผสมเข้ากันดี ทำการกรองสารละลายและบรรจุในขวดสีชาเก็บในตู้เย็น

2. เลทซีเตรท

เลทซีเตรท 0.2 กรัม

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) 2 กรัม

น้ำกลั่นต้มและผ่านการกรอง 50 มิลลิลิตร

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในน้ำกลั่น แล้วค่อยๆ เติมเลทซีเตรทลงไปผสมให้เข้ากันดีทำการกรองและบรรจุในขวดแก้วที่สะอาด ปิดฝาให้มิดชิดเก็บไว้ในตู้เย็น ก่อนนำไปใช้จะต้องกรองตะกอนออกทุกครั้ง

3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.02 M

โซเดียมไฮดรอกไซด์	0.8	กรัม
น้ำกลั่นต้มและผ่านการกรอง	1000	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. หยอด 5 เปอร์เซ็นต์ ยูรานิลอะซิเตทลงบนแผ่นพาราฟิล์ม (parafilm) หรือแผ่นซีดีที่มีลักษณะขนาดหยดควรมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-10 มิลลิลิตร
 2. นำกริดที่มีแผ่นตัวอย่างเนื้อเยื่อมาลอบบนผิวของหยดยูรานิลอะซิเตทโดยให้ด้านที่มีตัวอย่างคว่ำลง
 3. ใช้ภาชนะที่ปิดบริเวณแผ่นพาราฟิล์มหรือแผ่นซีดีที่มีสารละลายยูรานิลและกริดลอบอยู่ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที
 4. ใช้ปากคีบปลายแหลมจับกริดและจุ่มในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มและกรองแล้วเพื่อล้างสารละลายยูรานิลอะซิเตทออกโดยใช้เวลา 30 นาที (ประมาณ 10-15 จุ่ม)
 5. ทำการย้อมเลทซีเทรทโดยการนำกริดจุ่มในหยดของสารละลายที่มีเกลือของโซเดียมไฮดรอกไซด์วางอยู่ใกล้ๆ เพื่อช่วยดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ในบริเวณนั้น ปิดหยดสารละลายด้วยฝาของจานเพาะเชื้อ
 6. ล้างกริดด้วย 0.02 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 30 วินาที จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มและกรองแล้ว 2-3 ครั้งๆ ละ 10 จุ่ม ซับให้แห้งและนำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน
- ข้อควรระวัง คือ ห้ามผ่านลมหายใจเข้าสู่บริเวณหยดสารละลายที่ใช้ย้อมเนื้อเยื่อเพราะจะทำให้คาร์บอนไดออกไซด์ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์เกิดเป็นตะกอนของโซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) ซึ่งตกค้างบนตัวอย่างหรือกริด

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นายรังสฤษฏ์ รักกมล

วัน เดือน ปีเกิด 16 กันยายน 2516

วุฒิการศึกษา

วุฒิ

สถาบัน

ปีที่สำเร็จการศึกษา

วิทยาศาสตรบัณฑิต

สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล

2538