

พยาธิสภาพของเหงือกปลาไซพรินิดที่เกิดจากปรสิตปลิงใส

Histopathogenicity of cyprinid fish gills caused by monogenean parasites,

Dactylogyrus sp.

สมาน แก้วไวยุทธ¹ นิตยา เลาะห์จินดา² สุปรานี ชินบุตร³ และ ประไพสิริ สิริกาญจน⁴

Smarn Kaewwiyudth¹, Nitaya Lauhachinda², Supraanee Chinabut³, and Prapisiri Sirikanjana⁴.

บทคัดย่อ

จากการศึกษาพยาธิสภาพของเหงือกปลาไซพรินิดที่ปรสิตปลิงใส *Dactylogyrus* sp. เข้าเกาะ พบว่าปลาที่เหงือกเชื่อมรวมกัน เซลล์เยื่อบุผิวและเซลล์สร้างเมือกเพิ่มจำนวน เซลล์บวมน้ำ เกิดภาวะเลือดคั่ง เซลล์เสื่อมสลายและเซลล์ตาย รวมทั้งมีเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบกระจายทั่วไปในบริเวณที่มีปรสิตเกาะ เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ในระดับรุนแรงน้อยพบว่า กอลจิ คอมเพลกซ์ และเอนโดพลาสมิก เรติคูลัมขยายตัว ไมโทคอนเดรียบวม คริสตีและเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียถูกทำลาย ในระดับรุนแรงมาก ออร์แกเนลล์ เยื่อหุ้มนิวเคลียส นิวคลีโอลัสและโครมาตินสลาย

ABSTRACT

Studies of histopathogenicity of cyprinid fish gills caused by *Dactylogyrus* sp. *Dactylogyrus* infestation caused gill hyperplasia, proliferation of mucous cells, epithelial edema, hyperemia of gills, cytolysis and cell necrosis finally. Migration of inflammatory cells *Dactylogyrus* infected area was noticed. Ultramicroscopy (TEM) revealed the various degree of destruction. In the low degree of infection, there were dilated golgi complex and rough endoplasmic reticulum; mitochondria with various degree of swelling including cristae and mitochondrial membrane were destructed, but in the higher degree of infection; organelles, nuclear membrane, nucleolus and chromatin were lysed.

1 ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University.

2 ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of General Science, Faculty of Science, Kasetsart University.

3 สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

AAHRI, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Co-operation.

4 ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University.

คำนำ

ปลิงใส (monogenea) เป็นหนอนพยาธิตัวแบนกลุ่มหนึ่งที่มักพบเป็นปรสิตภายนอก (ectoparasite) เกาะอยู่ที่เหงือกและผิวหนังของปลาเป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะการเคลื่อนที่คล้ายปลิง (leech) แต่มีลำตัวใสจึงเรียกว่าปลิงใส วัฏจักรชีวิต (life cycle) ของปลิงใสจะต้องการตัวให้อาศัย (host) เพียงตัวเดียวซึ่งเป็นตัวให้อาศัยโดยตรง (direct host) (Olsen, 1962; Yamaguti, 1963; Cheng, 1964) ปลิงใสที่เกาะเหงือกปลาอาจไม่ทำให้ปลาตายโดยตรง แต่จะทำให้ปลามีอาการผิดปกติเช่น รอยแผลที่เกิดจากการเกาะของปลิงใสจะเปิดโอกาสให้แบคทีเรียและเชื้อราเข้าไปทำลายต่อเนือง (secondary infection) ต่อจากนั้นจะทำให้ปลามีภูมิคุ้มกันลดลง (กมลพร, 2517; Thoney และ Hargis, 1991) ปลิงใส *Dactylogyrus* sp. ที่เกาะบริเวณเหงือกปลาในและปลาทอง ทำให้ปลาหายใจถี่ขึ้น ช่องเหงือกเปิดกว้างออก เหงือกบวมและมีสีซีด ปลิงใส *Gyrodactylus* sp. ทำให้ปลาเกิดโรค *Gyrodactyliasis* โดยปลาเกิดระคายเคืองที่เหงือก เหงือกบวม หายใจไม่สะดวก มีการหลั่งเมือกมากขึ้น (Yin และ Sproston, 1948; Cameron, 1958) ปลามีอาการกระวนกระวาย (restlessness) และลอยสู่วิวน้ำ มีอาการเลือดออกเป็นจุดเล็กๆ (petechial hemorrhage) ปลาป่วยนานเป็นเดือนและทยอยตายวันละ 40-50 ตัว (Tangtrongpiros และ Koeipudsa, 1986) นอกจากนี้การมีปลิงใสเกาะติดกับเหงือกและครีบปลาจะเป็นต้นเหตุทำให้ประชากรปลาลดลง (Chandler และ Read, 1961)

ดังนั้นการศึกษาพยาธิสภาพของปลาที่เกิดจากปลิงใสจึงควรมีการศึกษากันอย่างต่อเนื่องและให้กว้างขวางยิ่งขึ้นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับผลของปรสิตกลุ่มนี้ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการรอดของปลา รวมทั้งเป็นข้อมูลในการจัดการด้านปรสิตวิทยาต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของปลิงใสต่อเนื้อเยื่อบริเวณเหงือกของปลาไซพรีนิตในระดับกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (Light microscope) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope)

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างปลาไซพรีนิตที่มีชีวิต 3 ชนิดคือปลากระมัง, *Puntioplites proctozysron* ปลากระสูบขีด, *Hampala macrolepidota* และปลาสร้อยนกเขา, *Osteochilus hasselti* จากเขื่อนศรีนครินทร์ จังหวัดกาญจนบุรี แล้วเตรียมตัวอย่างเหงือกปลาเพื่อการศึกษาพยาธิสภาพโดย

1. ตัดเหงือกปลาที่มีปลิงใสเกาะจากปลาตัวอย่างใส่ลงในน้ำยาคงสภาพ (fixative) บัฟเฟอร์ฟอร์มอลิน 10 เปอร์เซ็นต์ (10% buffered formalin) ใช้นานอย่างน้อย 24 ชั่วโมงสำหรับพาราฟินเทคนิค (paraffin technique) และกลูตาราลดีไฮด์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (2.5% glutaraldehyde) อย่างน้อย 24 ชั่วโมงสำหรับการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อ ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

2. การเตรียมเนื้อเยื่อเหงือกสำหรับพาราฟินเทคนิค นำตัวอย่างเหงือกปลาที่ดองในน้ำยาคงสภาพ อย่างน้อย 24 ชั่วโมงมาผ่านขั้นตอนต่างๆเพื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อโดยใช้เครื่องมือทิสซู โพรเซสเซอร์ (tissue processor) ตามวิธีมาตรฐาน (Humason, 1979) สำหรับซี่เหงือกนั้นมีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบของกระดูก จึงต้องนำมาแช่ในน้ำยาจัดแคลเซียม (decalcifying fluid) นาน 1-3 ชั่วโมง เพื่อให้กระดูกอ่อนตัวลง แล้วนำไปล้างในน้ำไหลนาน 20-30 นาที จึงนำมาแช่ในน้ำยาโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 4-5 ชั่วโมง เพื่อปรับความเป็นกรดเป็นด่าง

3. การเตรียมเนื้อเยื่อเหงือกสำหรับการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน นำตัวอย่างเหงือกปลาที่แช่ในน้ำยาไกลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่เตรียมอยู่ในแคโคไดเลทบัฟเฟอร์ (cacodilate buffer) 0.1 โมลาร์ มาดำเนินการตามเทคนิคในการเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

ผลและวิจารณ์

1. ผลจากการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

พยาธิสภาพเนื้อเยื่อเหงือกของปลากระสูบชืดบริเวณที่พบปลิงใส่นั้นมีการเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อบุผิวที่บริเวณฐานของซีเหงือก (epithelial hyperplasia) ระดับความรุนแรงของพยาธิสภาพเริ่มตั้งแต่เล็กน้อยจนกระทั่งถึงระดับรุนแรงมากจนทำให้กึ่งเหงือกแต่ละกึ่งเชื่อมรวมกัน โดยกึ่งเหงือกจะเชื่อมรวมกันตลอดความยาวของซีเหงือก ทำให้ปลายเหงือกมีลักษณะคล้ายกระบอง (clubbed filament) ในบริเวณที่เซลล์เยื่อบุผิวเพิ่มจำนวนพบเซลล์เยื่อบุผิวมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วย (hypertrophy) มีเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (inflammatory cell) กระจายทั่วไปในบริเวณที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte) มาโครฟาจ (macrophage) และ ทромโบไซต์ (thrombocyte) นอกจากนี้ยังพบเซลล์อีโอซิโนฟิลิก แกรนูลาร์ (eosinophilic granular cell; EGC) กระจายอยู่ทั่วไปในบริเวณนี้ด้วย นอกจากการเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อบุผิวแล้ว ยังพบการเพิ่มจำนวนเซลล์เมือก (goblet cell) บริเวณที่มีการเชื่อมกันของกึ่งเหงือก และพบมากบริเวณปลายสุดของซีเหงือก เซลล์เมือกเหล่านี้มีอาการบวม โดยเปลี่ยนจากลักษณะเซลล์ทรงสูงมาเป็นทรงกลมที่มีนิวเคลียสถูกเบียดไปอยู่ริมเซลล์ พบภาวะเลือดคั่งในเส้นเลือด (hyperemia) ทั้งในเส้นเลือดฝอยในซีเหงือกและเส้นเลือดของกึ่งเหงือก ซึ่งมีเซลล์เม็ดเลือดขาวและtromโบไซต์รวมกลุ่มอยู่ภายในเส้นเลือด เซลล์เยื่อบุผิวที่เพิ่ม จำนวนนี้มีบางเซลล์เกิดการเสื่อมแบบคลาวดี สเวลลิ่ง (cloudy swelling) โดยเซลล์มีลักษณะค่อนข้างโปร่งและติดสีจาง พบภาวะเซลล์สลายตัว (cytolysis) และมีเซลล์ตาย (necrotic cell) รวมอยู่ด้วยโดยทั่วไป

พยาธิสภาพเนื้อเยื่อเหงือกของปลากะมังและปลาสร้อยนกเขาโดยรวมมีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในปลากระสูบชืด แต่มีความรุนแรงน้อยกว่ามาก ส่วนซีเหงือกที่พบ *Dactylogyrus* sp. เกาะอยู่นั้นพบว่าเซลล์เยื่อบุผิว ของซีเหงือกที่มีปลิงใสเกาะนั้นมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นโดยเซลล์เยื่อบุผิวเสื่อมแบบคลาวดี สเวลลิ่ง บางเซลล์มีการสลายตัว มีเซลล์ตายในบริเวณนี้ และพบมาโครฟาจแทรกตัวเข้ามาด้วย (ภาพที่ 1 และ 2)

2. ผลการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

เซลล์เยื่อบุผิวเหงือกของปลาทั้ง 3 ชนิดพบว่าเซลล์บริเวณที่ปลิงใสเกาะนั้นมีการเสื่อมแบบคลาวดี สเวลลิ่ง พบเซลล์ตายชนิดที่มีนิวเคลียสหดตัวแน่น (pyknotic nucleus) และเซลล์ตายชนิดที่มีนิวเคลียสแตกเป็นชิ้นๆ (karyorhexis) ในบริเวณที่เกิดการเปลี่ยนแปลงนี้พบลิมโฟไซต์ และมาโครฟาจรวมอยู่ด้วย ออร์แกเนลล์ต่างๆ ภายในเซลล์เสื่อมตั้งแต่ระดับที่มีความรุนแรงน้อยจนถึงรุนแรงมาก กล่าวคือในระดับที่มีความรุนแรงน้อยจะพบไมโทคอนเดรียบวม คริสตี (cristae) เยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียเสื่อมสลายเอนโดพลาสมิก เรติคูลัม ชนิดขรุขระ (rough endoplasmic reticulum) และกอลจิคอมเพลกซ์ (Golgi complex) ขยาย และบางอันเสื่อมสลาย (ภาพที่ 3)

การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระดับที่มีความรุนแรงมากพบว่าออร์แกเนลล์ต่างๆภายในเซลล์สลายตัวจนเหลือเพียงเศษชิ้นส่วนของออร์แกเนลล์ เยื่อหุ้มนิวเคลียสสลายตัว รวมทั้งนิวคลีโอลัสและโครมาตินที่อยู่ภายในนิวเคลียสก็สลายไปด้วย (karyolysis) (ภาพที่ 4)

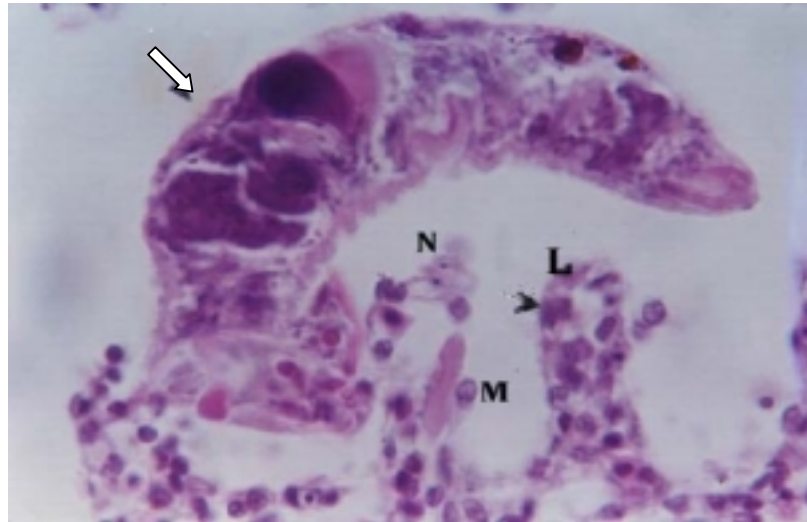


Fig 1 Dactylogyrus sp. (arrow) attached the gills of Puntioplites proctozysron (Bleeker) and caused cloudy swelling (arrow head), cytolysis (L) and cell necrosis (N)
M = Macrophage, H&E, 480X

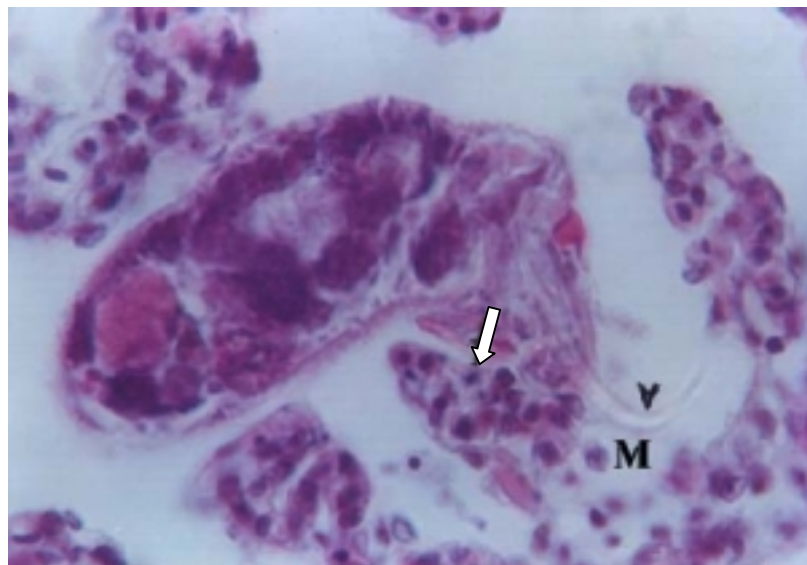


Fig 2 The anchors of Dactylogyrus sp. (arrowhead) penetrated into the gills of Puntioplites proctozysron (Bleeker) demonstrated cell necrosis (arrow)
M = Macrophage, H&E, 480X

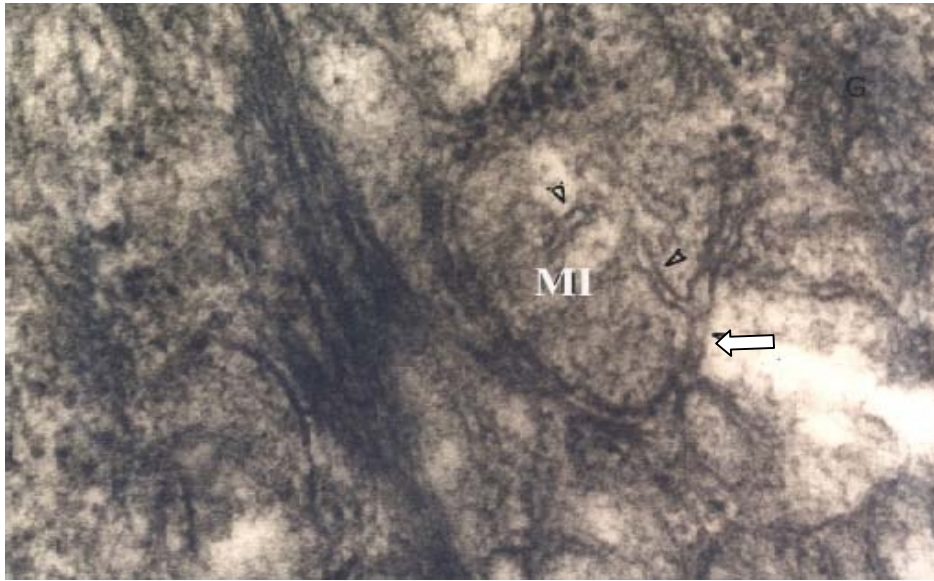


Fig 3 *Dactylogyrus* sp. infested gill epithelium of *Hampala macrolepidota* showed mitochondrial swelling (MI) including cristae (arrowhead), mitochondrial membrane (arrow) and Golgi complex (G) were destructed. 60,480x

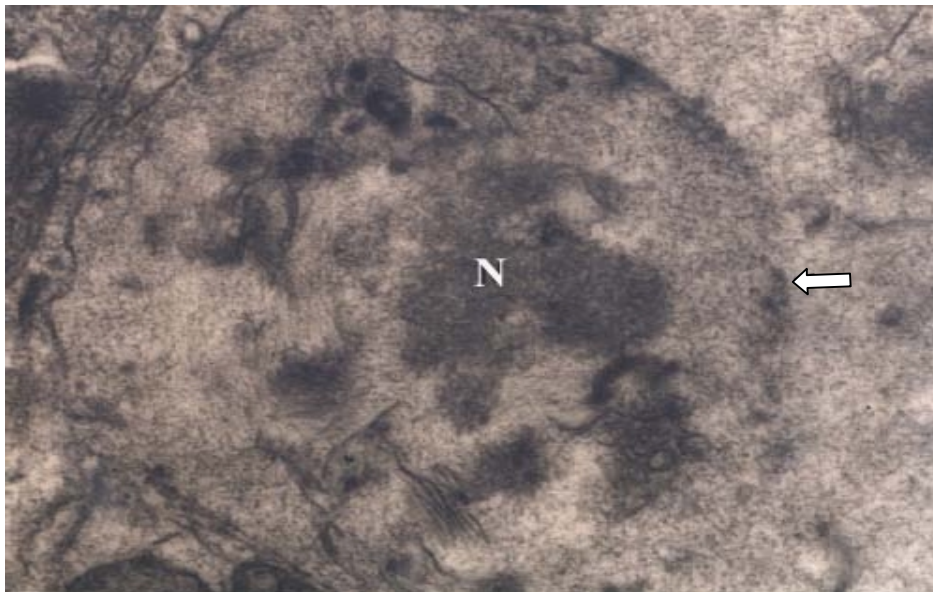


Fig 4 Nuclear membrane (arrow) and nucleolus (N) were lyzed. 13,125x

ผลการศึกษายาริสภาพของเหงือกที่เกิดจาก *Dactylogyrus* sp. ในปลากะมัง ปลากะสูบขีดและปลาร้อยนกเขาดังกล่าวนี้สอดคล้องกับรายงานของ Bauer (1951) ที่พบว่า *D. vastator* ที่เกาะบนเหงือกปลาไน ทำให้เซลล์เยื่อผิวของเหงือกเพิ่มจำนวนขึ้น ผลดังกล่าวนี้ยังพบในเหงือกปลาไซพรีนิต (*Leuciscus brandi*) ที่เกิดจากปลิงไซชนิด *Dactylogyrus iwanowski*, เหงือกปลากรดิต (*Molvadipterygia elongata*) ที่เกิด

จากปลิงใสชนิด *Linguadactyla molvae* (Bychowsky, 1957), เหงือกปลา arctic grayline (*Thymallus arcticus*) ที่เกิดจากปลิงใสชนิด *Tetraonchus rauschi* (Wobeser และคณะ, 1976), เหงือกปลา yellowfin bream ที่เกิดจากปลิงใสชนิด *Lamellodiscus major*, *Haliotrema spariensis* และชนิด *Allomueraytrema robustum* เข้าเกาะ

ผลจากการที่ *Dactylogyrus* sp. ทำให้เซลล์เยื่อหุ้มเหงือกของปลาเพิ่มจำนวนเซลล์นี้ปรากฏผลเช่นเดียวกันกับที่ *Gyrodactylus* spp. เป็นสาเหตุตั้งเช่นผลที่เกิดกับเหงือกปลาเรนโบว์เทราท์ โดย ปลิงใสชนิด *Gyrodactylus salmonis* (Cone และ Odense, 1984) หรือที่เกิดกับเหงือกของปลาตุ๊กตาดัน (*Clarius batrachus*) (Tangtrongpiros และ Koeipudsa, 1986), ซึ่งเหงือกปลุกปลา *Oncorhynchus mykiss* (Welles และ Coe, 1990), ซึ่งเหงือกปลา *Tautogu onitis* ที่เกิดจากปลิงใส *Gyrodactylus* spp. เป็นสาเหตุ

พยาธิสภาพของเหงือกปลาที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านสอดคล้องกับรายงานของ Roubal (1986, 1989) ที่ศึกษาบริเวณที่มีปลิงใสชนิด *H. spariensis* เกาะซึ่งเหงือกปลา yellowfin bream พบว่าเซลล์เยื่อหุ้มเหงือกบวม เอนโดพลาสมิก เรติคูลัมขยายและไมโทคอนเดรียบวม รวมทั้งเยื่อหุ้มถูกทำลายในระดับต่างๆกัน นอกจากนี้ยังพบลิพโซโซม มาโครฟาจ อีโอซิโนฟิลและนิวโทรฟิลแทรกตัวเข้ามาในบริเวณที่เกิดการเปลี่ยนแปลงด้วย แต่การศึกษาในครั้งนี้ไม่พบอีโอซิโนฟิลและนิวโทรฟิลแทรกตัวเข้ามาในบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงแต่จะพบเซลล์อีโอซิโนฟิลิก แกรนูลจำนวนมากมายแทน

เมื่อดูเลือดขาวชนิดต่างๆที่แทรกตัวเข้ามาในบริเวณที่มีปลิงใสเกาะซึ่งเหงือกนี้ แสดงถึงภาวะของการตอบสนองต่อการอักเสบ (Thatcher และ Kritsky, 1983) ในการศึกษาครั้งนี้พบลิพโซโซม มาโครฟาจ และ EGC นั้นแสดงว่าการอักเสบที่เกิดขึ้นนี้เป็นแบบเรื้อรัง และเกิดจากปลิงใส ไม่ได้เกิดจากการอักเสบแบบเฉียบพลันเนื่องมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดเฉียบพลัน เนื่องจากไม่พบนิวโทรฟิลในบริเวณที่มีการอักเสบเลย (Roberts, 1978) และพยาธิสภาพของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดกับซึ่งเหงือกและกิ่งเหงือกดังที่กล่าวมาไม่น่าจะมีสาเหตุมาจากน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำที่ได้ศึกษามีค่าดีไอ (DO) เฉลี่ยเท่ากับ 6.7 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของน้ำเฉลี่ยเท่ากับ 6.9 บ่งชี้ว่าน้ำมีคุณภาพดี เหมาะต่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ

สรุป

การศึกษาพยาธิสภาพของเหงือกปลาที่มีปลิงใสเกาะโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านสรุปได้ว่า เหงือกปลากะมัง ปลากระสูบขีด และปลาสร้อยนกเขาที่มี *Dactylogyrus* spp. เข้าเกาะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่สำคัญคือ ปลายกิ่งเหงือกเชื่อมรวมกันลักษณะคล้ายกระบอง เซลล์เยื่อหุ้มเพิ่มจำนวนมากขึ้น เซลล์บวม เกิดภาวะเลือดคั่ง เซลล์เสื่อมสภาพ สลายตัวและมีเซลล์ตายในที่สุด พบเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบได้แก่ ลิพโซโซม มาโครฟาจ เป็นส่วนใหญ่ กระจายอยู่ทั่วไปในบริเวณที่มีปรสิตเกาะ เมื่อนำเนื้อเยื่อเหงือกที่มี *Dactylogyrus* spp. เกาะ มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านพบว่า ในระดับรุนแรงน้อยเกิดการบวมของไมโทคอนเดรีย คริสตี้และเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย กอลจี้ คอมเพลกซ์และเอนโดพลาสมิก เรติคูลัมชนิดขรุขระ เสื่อม แต่ในระดับรุนแรงมาก ออร์แกเนลล์ในเซลล์เยื่อหุ้มนิวเคลียส นิวคลีโอลัส และโครมาทินสลายตัว การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกในลักษณะเช่นนี้เป็นสาเหตุให้ปลาอ่อนแอลง จากสาเหตุที่ปลายกิ่งเหงือกมีการรวมกันทำให้พื้นผิวในการแลกเปลี่ยนแก๊สลดลงและการทำงานของซึ่งเหงือกในด้านการแลกเปลี่ยนแก๊สลดลงไปด้วย

เอกสารอ้างอิง

- กมลพร ภาณุทานนท์ 2517. มารู้อักโรคปลากันเถอะ. กสิกร 47(3): 24-225.
- Bauer, O.N. 1951. Concerning pathogenicity of *Dactylogyrus solidus*. Achmerov. Dorlad. Akad. Nauk. 78:825-827.
- Bychowsky, B.E. 1957. Monogenetic Trematodes Their Systemics and Phylogeny. Akad. Nauk. USSR. 509 p.
- Cameron, T.W. 1958. Parasites and Parasitism. John Wiley and Sons, Inc., New York. 420 p.
- Chandler, A.C. and C.P. Read. 1961. Introduction to Parasitology. 10th ed., John Wiley and Sons. Inc., New York. 822 p.
- Cheng, C.T. 1964. The Biology of Animal Parasites. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 727 p.
- Cone, D.K. and P.H. Odense. 1984. Pathology of five species of *Gyrodactylus nordmanni*, 1832(Monogenea). Can. J. Zool. 62:1084-1088.
- Humason, G.L. 1979. Animal Tissue Techniques. 4th ed., W.H. Freeman and Company, San Francisco. 661 p.
- Olsen, O.W. 1962. Animal Parasites : Their Biology and Life Cycles. Burgess Publishing Company, Minnesota. 346 p.
- Roberts, R.J. 1978. Fish Pathology. The University Press, Aberdeen, 318p.
- Roubal, F.R. 1986. Studies on monogeneans and copepods parasitizing the gills of a sparid *Acanthopagrus australis* (Gunther) in northern New South Wales. Can. J. Zool. 64: 841-849.
- _____. 1989. Comparative pathology of some monogenean and copepod ectoparasites on the gills of *Acanthopagrus australis* (Family Sparidae). J. Fish Biol. 34:503-514.
- Tangtrongpiros, J. and W. Koeipudsa. 1986. *Gyrodactylus* infestation in adult catfish (*Clarias batrachus*) In Thai Vet. Med. Assoc. under Royal Patronage, Bangkok. 192 p.
- Thatcher, V.E. and D.C. Kritsky. 1983. Neotropical Monogenoidea. 4. *Linguadactyloides brinkmanni* gen. et sp. n. (Dactylogyridae: *Lingua-* dactyloidinae subfam. n.) with observations on its pathology in a Brazilian freshwater fish, *Colossoma macropomum* (Cuvier). Proc. Helminthol. Soc. Wash. 50: 305-311.
- Thoney, D.A. and W.J. Hargis. 1991. Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement, pp. 133-153. In Annual Rev. of Fish Diseases. Pregamon Press, U.S.A.
- Welles, P.R. and D.K. Coe. 1990. Experimental studies on the effect of *Gyrodactylus colemannensis* and *Gyrodactylus salmonis* (monogenea) on density of mucous cells in the epidermis of fry of *Oncorhynchus mykiss*. J. Fish Biol. 37(4): 599-604.
- Wobeser, G., L.F. Kratt, R.J.F. Smith and G. Acompanado. 1976. Proliferative branchitis due to *Tetraonchus rauschi* (Trematoda: Monogenea) in captive Arctic grayling (*Thymallus arcticus*). J. Fish. Res. Board Can. 33: 1817-1821.
- Yamaguti, S. 1963. Systema Helminthum. Vol. IV. Monogenea and Aspidocotylea. Interscience Publishers, Inc., New York. 699 p.
- Yin, W.Y. and N.G. Sproston. 1948. Studies on the monogenetic trematodes of China, Part 1-5. Sinensia 19(1-6):57-85.