ค่าทางโลหิตวิทยาและสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดปลาหมอไทย

ภาษาอังกฤษ Hematological Values and Morphology of Blood cells in Climbing Perch (*Anabas testudineus*)

ศิริพรรณ พลเสน [1] นวลอนงค์ นาคคง,[2]* ธงชัย บุญสอน,[3] วรพล เองวานิช [4]

Siriphan Ponsen,[1] Nual-anong Narkkong,[2] Thongchai Boonsorn,[3] Warapol Aengwanich [4]

บทคัดย่อ

การศึกษาข้อมูลทางโลหิตวิทยา ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดอัดแน่น (PCV) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hb) จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมด (RBC) จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด (WBC) ค่าเฉลี่ยปริมาตรเซลล์เม็ดเลือดแดง (MCV) ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบิน (MCH) ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง (MCHC) จำนวนร้อยละและขนาดของเซลล์เม็ดเลือด รวมทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาในระดับจุลทรรศน์และจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของปลาหมอไทย จำนวน 39 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 17 ตัว เพศเมีย 22 ตัว ที่รวบรวมได้ในภาคอีสานระหว่างเดือนตุลาคม 2555 และกุมภาพันธ์ 2556 พบว่า ปลาหมอมีค่าโลหิตวิทยาแตกต่างกันระหว่างเพศและฤดูกาล โดยเฉพาะจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดและความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดของปลาหมอ ซึ่งจำแนกได้ทั้งในระดับจุลทรรศน์และจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่ามีเซลล์เม็ดเลือด 7 ชนิด คือ เซลล์เม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือด ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ เฮทเทอโรฟิล อิโอสิโนฟิล และเบโซฟิล

คำสำคัญ: ค่าโลหิตวิทยา, สัณฐานวิทยา, เซลล์เม็ดเลือด, ปลาหมอไทย

Abstract

Climbing perch (*Anabas testudineus* Bloch) were collected from northeastern part of Thailand in rainy season (October 2012) and summer (February 2013). Hematological values of male (n=17) and female (n=22), i.e packed cell volume, hemoglobin concentration, total red blood cell count, total white blood cell count, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration and also, percentage of white blood cell and their sizes were determined. Characterization under light and scanning electron microscope revealed that there were 7 types of blood cell including erythrocyte, thrombocyte, lymphocyte, monocyte, heterophil, eosinophil and basophil.

Keywords: Hematological values, blood cell morphology, Climbing perch

---

[1,2,3] *นักวิจัย,[4] รองศาสตราจารย์ หน่วยปฏิบัติการวิจัยภาวะเครียดและภาวะเครียดออกซิเดชั่นทางสัตว์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150*

[1,2,3] *Researcher ,[4] Associate Professor Stress and Oxidative Stress in Animal Research Unit. Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand.*

**Corresponding author: Nual-anong Narkkong Stress and Oxidative Stress in Animal Research Unit. Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 4150, Thailand*

บทนำ

ปลาหมอไทย (Climbing perch) มีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Anabas testudineus* (Bloch) เป็นปลาน้ำจืดที่นิยมบริโภคกันแพร่หลายทั่วทุกภาคของประเทศไทย มีความต้องการทั้งตลาดภายในและต่างประเทศ ผลผลิตปลาหมอไทยส่วนใหญ่ได้มาจากการทำประมง จากแหล่งน้ำธรรมชาติ เพื่อให้ได้ปลาหมอบริโภคได้ตลอดทั้งปี มีคุณภาพเนื้อดีและปริมาณมากเพียงพอกับความต้องการของตลาด จึงควรมีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงให้ถูกวิธี เพื่อให้สัตว์มีสุขภาพดีสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตดียิ่งขึ้น ในการจัดการสุขภาพสัตว์จำเป็นต้องมีความรู้พื้นฐานทางโลหิตวิทยาเพื่อกำหนดตัวบ่งชี้ สามารถจำแนกจากสัตว์ที่มีสุขภาพดีหรือป่วยออกจากกันได้ การศึกษาทางโลหิตวิทยาของปลาหมอ เมื่อเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างปลาหมอไทยและปลาหมอพื้นเมืองของบังคลาเทศ พบว่า ค่าทางโลหิตวิทยาของสัตว์ทั้งสองกลุ่มส่วนใหญ่ไม่ต่างกัน แต่พบว่า ค่า MCV, MCH, RBC ในเพศเมียจะสูงกว่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งสองสายพันธุ์ [3] การศึกษาค่าโลหิตวิทยาปลาหมอในประเทศอินเดีย พบว่า ปลาหมอได้ถูกใช้เป็นสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารเคมี กำจัดแมลง กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตต่อปลาน้ำจืดที่อาศัยในทุ่งนาข้าว จากการศึกษาปลาหมอที่ได้รับสารเคมีปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดแดงจะเพิ่มสูงขึ้นแต่ความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเลือดมีระดับลดต่ำลง[4] นอกจากนี้ ภาวะเป็นโรคในปลาหมอ เช่น โรค papilloma หรือตุ่มที่บริเวณผิวหนัง ค่าทางโลหิตวิทยาในปลาหมอที่เป็นโรคจะมีปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดแดงและความเข้มข้นฮีโมโกลบินลดลง แต่จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน[2]

จากการค้นคว้าเอกสารข้างต้น พบว่า ยังไม่มีผู้รายงานถึงสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดปลาหมอทั้งในระดับจุลทรรศน์และจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ดังนั้นวัตถุประสงค์ของผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ ค่าทางโลหิตวิทยา ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดของปลาหมอไทย ในระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการตรวจสุขภาพและวินิจฉัยโรคในปลาหมอไทยต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาค่าทางโลหิตวิทยาปลาหมอไทย ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น ฮีโมโกลบิน จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมด จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด และเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด
2. เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดของปลาหมอไทยและจำแนกชนิดเซลล์เม็ดเลือดทั้งในระดับจุลทรรศน์และจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

Table 1 Comparison of hematological values and percentage of leukocytes in *Anabas testudineus* (Bloch)

Hematological value parameters	Thai race (1)		Bangladesh race (1)		India race (2)	India race (3)
	M	F	M	F		
Hemoglobin (g/dl)	11.63±0.22	10.07±0.20	13.27±0.69	9.8±0.12	14.53±0.25	7.20±11.5
RBC ($1x10^6$ cells /µL)	2.92±0.08	2.14±0.11	3.03±0.23	1.9±0.10	4.09±0.13	1.06±1.95
Hematocrit (%)	33.33±1.67	26.33±1.20	50.67±3.76	30.33±0.88	36.12±1.60	-
MCV (fl)	114.00±2.52	124.33±11.26	167.33±1.20	160.00±4.16	89.24±5.84	-
MCHC (g/dl)	35.00±1.00	-	26.33±0.67	32.33±0.67	40.03±1.15	-
MCH (pg)	39.67±0.67	47.33±2.40	44.00±2.65	52.00±2.08	-	-
WBC ($1x10^4$ cells /µL)	6.82±0.36	8.6±0.27	5.04±0.32	9.05±0.36	4.71±0.15	6.80±12.20
neutrophil (%)	18.67±2.03	22.67±1.45	21.67±1.33	18.33±2.03	-	-
lymphocyte(%)	75.00±2.89	72.33±1.86	71.33±1.86	75.33±2.60	-	-
monocyte (%)	2.33±0.33	1.33±0.33	-	-	-	-
eosinophil (%)	4.00±0.56	3.67±0.88	4.33±0.67	3.67±0.67	-	-

RBC=red blood cell; WBC=white blood cell; MCV=mean corpuscular volume; MCH=mean corpuscular hemoglobin; MCHC=mean corpuscular hemoglobin concentration, M =male, F=female

(1) = Hasan,M., A. Al-Mamun, and G. Rabbane. (2012)

(2) = Santhakumar, M. Balaji, and K Ramudu. (1999)

(3) = Das,B.K., P. Pattnaik, and B.K. Mishra. (2005)

วิธีการศึกษา

1.การเตรียมสัตว์ทดลอง

ทำการเก็บรวบรวบปลาหมอไทยทั้งสองเพศในจังหวัดมหาสารคาม ในช่วงเดือน ตุลาคม 2555 และกุมภาพันธ์ 2556 จำนวน 39 ตัว ในวัยเจริญพันธุ์ จากแหล่งน้ำธรรมชาติ มีลักษณะภายนอกสมบูรณ์ ไม่พิการหรือมีบาดแผล

2. ขั้นตอนปฏิบัติการ (ตามวิธีของ วรพล, 2551)[1]

นำปลาหมอไทยมาเจาะเอาเลือด โดยเจาะตำแหน่งใต้ครีบ ตัวละ ประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตรและใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 26 จากนั้นเก็บเลือดไว้ในหลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่เคลือบสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) แล้วนำเลือดเก็บไว้ในกระติกน้ำแข็งเพื่อเพื่อนำไปศึกษาสำหรับขั้นตอนต่อไป

1. การหาค่าเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (packed cell value, PCV) ใช้หลอดแคปิลลารี่ดูดเลือด อุดปลายด้วยดินน้ำมันแล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นฮีมาโตคริต ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที อ่านผลด้วยแผ่นเทียบค่า

2. การวัดความเข้มข้นฮีโมโกลบิน (Hemoglobin Concentration, Hb) ใช้เลือดปลาหมอไทย 10 ไมโครลิตร เจือจางด้วย Drabkin' solution 10 มิลลิลิตร เขย่าแล้วทิ้งไว้ 10 นาที วัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง spectrophotometer เทียบกับฮีโมโกลบินมาตรฐาน

3. การหาค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมด (total red blood cells, RBC) เจือจางเซลล์เม็ดเลือดด้วย Gower' solution หยดเลือดที่เจือจางแล้วบนสไลด์ แล้วนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 x บันทึกผล

4. การหาค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด (total white blood cell, WBC) เจือจางด้วย Natt and Herrick' solution หยดเลือดที่เจือจางแล้วบนสไลด์ แล้วนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 x บันทึกผล

5. การนับแยกชนิดเซลล์เม็ดเลือดขาว ทำการหยดเลือดลงบนแผ่นสไลด์ สเมียร์เลือดและย้อมสีด้วย Wright-Giemsa stain นำมาตรวจแยกและนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยายสูงสุด (100 X) นับจนครบ 100 เซลล์ต่อสไลด์

6. การวัดขนาดของเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด วัดขนาดเซลล์เม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือด และเซลล์เม็ดเลือดขาวด้วยด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเทียบจากสเตทไมโครมิเตอร์ วัดขนาดจำนวน 10 เซลล์/ชนิดเซลล์/สไลด์

7. การศึกษาลักษณะเซลล์เม็ดเลือดด้วย Scanning Electron Microscope (SEM) (ตามวิธีของ Ponsen *et. al*, 2009)[5] ดูดเลือดด้วยหลอดคาปิลลารี่แล้วนำมาหยดลงในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำยาคงสภาพ glutaraldehyde 2.5 เปอร์เซนต์ ใน 0.1 โมลาร์ phosphate buffer pH 7.2 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เขย่าให้เซลล์กระจายแล้วทิ้งให้ตกตะกอนข้ามคืนในตู้เย็น ล้างด้วยบัฟเฟอร์เดิม 3 ครั้งๆ ละ 10 นาที คงสภาพซ้ำในน้ำยา osmium tetroxide 1 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำกลั่น 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องโดยทำในตู้ดูดควันที่ปิดไฟ หลังจากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆ ละ 10 นาที ดึงน้ำออกจากตัวอย่างด้วย acetone ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, 100% และ 100 % ตามลำดับ ความเข้มข้นละ 10 นาที ตัวอย่างเลือดที่จะนำไปศึกษาด้วย SEM ดูดขึ้นไปค้างในไปเปต รอจนตัวอย่างตกลงมาด้านล่าง แล้วหยดให้กระจายบนแผ่นปิดสไลด์ที่สะอาด ทิ้งให้ acetone ระเหยในตู้ดูดควัน แล้วเก็บในตู้ดูดควันเก็บความชื้น จากนั้นนำไปเคลือบด้วยทองและศึกษาด้วย SEM (JEOL รุ่น JSM 6460LV) ที่หน่วยบริการวิชาการด้านเครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

7. การวิเคราะห์ข้อมูลและแปลผลข้อมูลวิเคราะห์ ระหว่างเพศ โดยใช้ t-test (independent samples) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลเพศและฤดูด้วยวิธี Two-way ANOVA เมื่อพบความแตกต่างวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี Duncan' s new multiple range test โดยทำการตรวจสอบวัดความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผลการศึกษา

จากตารางที่ 2 เมื่อพิจารณาค่าโลหิตวิทยาของปลาหมอไทย ระหว่างเพศและฤดูกาล เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่นในปลาหมอไทยเพศเมียสูงกว่าเพศผู้ และในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ซึ่งเป็นฤดูแล้งจะสูงกว่าฤดูฝนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.5) จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมด (RBC)ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่พบว่า ในฤดูฝนปลาหมอทั้งสองเพศมีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดมากกว่าในฤดูแล้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.5) แต่ระหว่างเพศในฤดูกาลเดียวกันไม่แตกต่างกัน ส่วน ค่าเฉลี่ยปริมาตรเซลล์เม็ดเลือดแดง (MCV) ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบิน(MCH) และค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง(MCHC) ไม่แตกต่างกันระหว่างเพศ

และระหว่างฤดูกาล แต่ค่าความเข้มข้นฮีโมโกลบินในฤดูฝนเพศเมียมีค่าสูงกว่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.5) ส่วนในฤดูแล้งไม่แตกต่างกัน

จากตารางที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบขนาดของเซลล์เม็ดเลือดในปลาหมอเปรียบเทียบระหว่างเพศ พบว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงของเพศเมียใหญ่กว่าในเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.5) ซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น อย่างไรก็ตามขนาดของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลในเพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.5) ส่วนเซลล์เม็ดเลือดอื่นๆ มีขนาดเฉลี่ยไม่แตกต่างกันระหว่างเพศ เช่นเดียวจำนวนนับเป็นร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้ง 5 ชนิด

Table 2 Comparison of hematological values between male and female *Anabas testudineus* (Bloch) during October and February (mean ± SD)

Hematological values	October 2012		February 2013	
	male (n=10)	female (n=15)	male (n=7)	female (n=7)
PCV (%)	37.00±8.42^{c}	44.38±3.66^{b}	47.29±8.12^{b}	55.50±8.09^{a}
RBC (x10^{6}cell/ µl)	2.24±1.03	2.83±0.61	3.74±1.88	3.83±1.50
WBC (x10^{3}cell/µl)	6.857±2.879^{ab}	7.822±4.267^{a}	3.200±1.681^{c}	3.914.±1.188^{bc}
Hb (g/dl)	7.27±2.09^{b}	10.35±2.45^{a}	9.57±2.57^{ab}	10.45±2.20^{a}
MCV (fl)	216.14±82.88	159.83±33.80	143.02±46.73	151.28±58.85
MCH (pg)	36.03±17.20	35.37±13.26	31.40±16.30	30.46±10.56
MCHC (g/dl)	18.03±4.00	22.90±5.07	20.99±7.29	19.81±5.51

PCV=packed cell volume; RBC=total red blood cell; WBC=Total white blood cell; Hb=hemoglobin concentration; MCV=mean corpuscular volume; MCH=mean corpuscular hemoglobin; MCHC=mean corpuscular hemoglobin concentration

Within a row, means without a common superscript (a-c) differed (p<0.05)

Table 3 Blood cell sizes and percentages of leukocyte in *Anabas testudineus* (Bloch) (mean ± SD)

Parameter	*Anabas testudineus*	
	Male(n=10)	Female(n=12)
Cellsize (μm)		
Length of erythrocyte	8.00±0.86[b]	8.34±0.63[a]
Width of erythrocyte	6.30±0.54	6.56±0.54
Nucleus length of erythrocyte	4.22±0.68	4.18±0.39
Nucleus width of erythrocyte	3.22±0.62	3.14±0.41
Thrombocyte	7.94±1.15	8.36±1.26
Lymphocyte	5.06±0.65	5.84±2.03
Monocyte	9.74±2.24	9.26±1.60
Heterophil	8.06±1.71[a]	7.36±1.50[b]
Eosinophil	6.16±0.90	6.75±0.62
Basophil	4.36±0.63	4.72±0.76
Leucocye (%)		
lymphocyte	72.00±5.66	76.50±6.46
Monocyte	7.25±2.22	6.25±2.06
Heterophil	9.75±2.50	11.00±5.94
Eosinophil	1.50±1.91	1.25±0.50
Basophil	9.50±5.75	5.00±2.71

Within a row, means without a common superscript (a-b) differed (p<0.5

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดปลาหมอ สามารถจำแนกจากการติดสี Wright-Giemsa Stain ได้ 7 ชนิด คือ

1. เซลล์เม็ดเลือดแดง พบว่า มีลักษณะเป็นวงแบนรี นิวเคลียสติดสีม่วง โดยเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ยังมีอายุน้อยนิวเคลียสจะไม่แน่น มีขนาดใหญ่และติดสีอ่อนกว่านิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่พัฒนาเต็มที่แล้ว ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำตาลแดง มีบริเวณใสปรากฏอยู่บ้างในเซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้ว ภาพจาก SEM มีความสอดคล้องกัน (Figure 1; A)

2. เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ พบว่า มีลักษณะเป็นเซลล์ขนาดเล็ก มีนิวเคลียสติดสีม่วงใหญ่เกือบเต็มเซลล์ รูปร่างเบี้ยวมีหนึ่งถึงหลายพู ไซโตพลาสซึมใส และพบเป็นจำนวนมากที่สุด ภาพจาก SEM พบว่าเป็นเซลล์ขนาดเล็ก ผิวค่อนข้างเรียบ มักติดอยู่กับเซลล์อื่นๆ (Figure 1; D)

3. เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ พบว่า มีลักษณะเป็นเซลล์ขนาดเฉลี่ยใหญ่ที่สุด นิวเคลียสขนาดใหญ่ รูปไตถึงค่อนข้างกลมติดสีม่วง ไซโตพลาสซึมติดสีมีจุดสีฟ้าเข้มกระจายทั่วไปเยื่อหุ้มยื่นยาวได้มาก สอดคล้องกับภาพจาก SEM (Figure 1; E)

4. เซลล์เม็ดเลือดขาวมีแกรนูลชนิดเฮทเทอโรฟิล พบว่า มีลักษณะเป็นเซลล์ที่มีขนาดหลากหลายที่สุด นิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ ติดสีม่วงแดงและมีบริเวณขาวใสไม่ติดสีแทรกอยู่ทั่วไป ไซโตพลาสซึมติดสีฟ้าแทรกด้วยแกรนูลเล็กละเอียดติดสีชมพูอ่อน ภาพจาก SEM เซลล์มีรูปร่างหลายแบบ ทั้งกลม รี ทรงกรวย มีพื้นผิวขรุขระ(Figure 1; F)

5. เซลล์เม็ดเลือดขาวมีแกรนูลชนิดอิโอสิโนฟิล พบว่า มีลักษณะเป็นเซลล์ขนาดกลาง ไม่เห็นนิวเคลียสไซโตพลาสซึมเต็มไปด้วยเม็ดแกรนูลกลมใหญ่ติดสีส้มแดงสว่าง ภาพจาก SEM เซลล์ค่อนข้างกลม มีพื้นผิวขรุขระเป็นรูปกลม (Figure 1; G)

6. เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเบโซฟิล พบว่า มีลักษณะเป็นเซลล์ขนาดเล็ก ขนาดใกล้เคียงหรือเล็กกว่าลิมโฟไซต์ บางเซลล์เห็นนิวเคลียสกลมใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ติดสีม่วง ไซโตพลาสซึมมีแกรนูลกลมเล็กสีน้ำเงินเข้ม เซลล์ส่วนใหญ่ติดสีน้ำเงินเข้มถึงม่วงเข้ม ภาพจาก SEM เซลล์ค่อนข้างกลม มีพื้นผิวขรุขระ (Figure 1; H)

7. เซลล์เกล็ดเลือด เป็นเซลล์ที่มีลักษณะหลากหลาย ส่วนใหญ่เป็นเซลล์ยาวรี มีนิวเคลียสยาวแคบติดสีม่วงอ่อนว่าลิมโฟไซต์ ไซโพลาสซึมใส บางเซลล์ค่อนข้างกลมหรือเยื่อหุ้มยื่นยาว เมื่อศึกษาด้วย SEM พบว่ามีลักษณะเกล็ดเลือดเป็นทรงกระสวย และมีปุ่มเล็กๆ ยื่นออกมาได้ทุกทิศทาง (Figure 1; I)

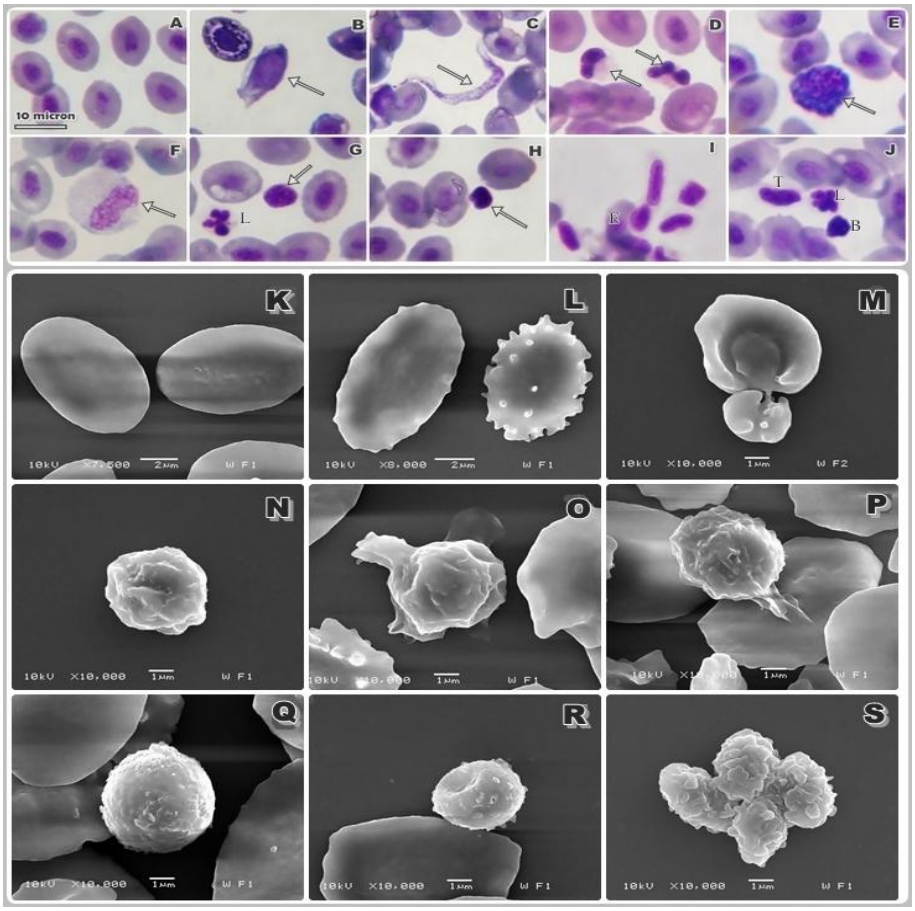

Figure. 1. Micrographs of blood cells in of *Anabas testudineus* ; A-J light micrograph with Geimsa-Wright stain, K-U SEM micrograph; (A) erythrocytes, (B) abnormal erythrocyte (arrow), (D) 2 cells of lymphocyte (arrows) (E) monocyte (arrow), (F) heterophil (arrow), (G) eosinophil (arrow) and multilope nucleus lymphocyte =L, (H) basophil (I) 5 cells of thrombocyte and an erythrocyte=E (*). (J) packed erythrocyte with thrombocyte =T, Lymphocyte = L and basophil =B, (K) erythrocyte, (L-M) abnormal erythrocyte, (N) lymphocyte, (O) monocyte, (P) heterophil, (Q) eosinophil,(R) basophil and (S) thrombocytes (from A-H, bar lenght = 10 µm K-L, bar = 2 µm M-S, bar = 1 µm)

วิจารณ์และสรุปผล

ค่าทางโลหิตวิทยาของปลาหมอไทยจากการศึกษาในครั้งมีค่าสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hasan และคณะ (2012)[3] แต่พบว่า ค่าของปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ค่าเฉลี่ยปริมาตรเม็ดเลือดแดง จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด ร้อยละของเซลล์โมโนไซต์มีค่าสูงกว่า ส่วนค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบิน, ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง ร้อยละของเซลล์เฮทเทอโรฟิล (นิวโทรฟิล) และอิโอสิโนฟิลมีค่าต่ำกว่า สำหรับค่าทางโลหิตวิทยาอื่นๆ ใกล้เคียงกัน

จากการรายงานของ Hasan และคณะ จำแนกเซลล์ได้เพียง 5 ชนิดคือ เม็ดเลือดแดง นิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ และอิโอสิโนฟิล โดยมิได้ให้ข้อมูลในการจัดจำแนกเซลล์ว่ามีลักษณะเป็นอย่างไร ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยย้อมเซลล์เม็ดเลือดด้วย Wright-Giemsa stain สามารถจำแนกเซลล์ออกได้เป็น 7 ชนิดคือ เซลล์เม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือด ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ เฮทเทอโรฟิล อิโอสิโนฟิล และเบโซฟิล ซึ่งล้วนมีการติดสี และขนาดที่แตกต่างกันมากจนจัดจำแนกได้ง่าย โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวที่รูปร่างลักษณะและขนาดหลากหลายที่สุด คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ ส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีลักษณะนิวเคลียสแตกต่างกันมากที่สุด คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิล

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดด้วย SEM มีความสอดคล้องกันกับการศึกษาในระดับจุลทรรศน์ธรรมดาและใช้จำแนกเซลล์ทุกชนิดได้จากความแตกต่างกันของขนาด ลักษณะพื้นผิว การยื่นของเยื่อหุ้มและลักษณะของแกรนูล

ปลาหมอไทยมีค่าโลหิตวิทยาแตกต่างกันระหว่างเพศและฤดูกาล โดยเฉพาะค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด และความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ปลาหมอที่อยู่ในภาวะสุขภาพไม่ดี จะตรวจสอบได้จากการแสดงออกของค่าทางโลหิตวิทยา โดยเฉพาะปริมาณของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดจะสูงขึ้นจนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับปลาหมอที่สุขภาพดี นอกจากนี้ ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นก็จะลดลงด้วย แม้จะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับอาจารย์และนักวิจัย งบประมาณรายได้ประจำปีงบประมาณ 2555 จากคณะสัตวแพทยศาสตร์และสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

1. วรพล เองวานิช. โลหิตวิทยาทางสัตว์. สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์และสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 2551: หน้า 158-186.

2. Das B.K, P. Pattnaik, B.K. Mishra. Observation on haematological and enzyme changes on spontaneous papillomatous condition of A*nabas testudineus* (Bloch) *Asian Fisheries Science* 18 2005:33-38

3. Hasan M, A. Al-Mamun, G. Rabbane. Haematological profile of Thailand indigenous male and female air breathing climbing perch. Dhaka Univ. J. Biol. Sci. 2012;**21**(1):67-77

4. Santhakumar M, M. Balaji, K Ramudu. Effect of sublethal concentrations of monocrotophos on erythropoietic activity and certain hematological parameters of fish A*nabas testudineus* (Bloch). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1999;63:379-384

5. Ponsen S, N-A Narkkong, S Pamok, W Aengwanich. Comparative hematological values, morphometric and morphological observation of the blood cell in capture and culture Asian eel, *Monopterus albus* (Zuiew). *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2009;4(2): 32-36

6. Tavares-Dias M . A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes in four freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology* 2006;68:1822–1833