บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

หอยสองฝาเป็นหอยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยซึ่งพบว่ามีหลายชนิด เช่น หอยนางรม หอยแมลงภู่ หอยแครง หอยลาย และหอยตลับ หอยเหล่านี้มีการเพาะเลี้ยงในจังหวัดบริเวณอ่าวไทยตอนบน และขยายพื้นที่ไปยังภาคใต้ อย่างไรก็ตามยังมีหอยอีกหลายชนิดที่คนไทยใช้เป็นอาหารและมีคุณค่าในระดับท้องถิ่น เช่นหอยลาย และหอยตลับ ที่พบได้ในธรรมชาติบริเวณจังหวัดชลบุรี เป็นต้น (คเชนทร, 2544)

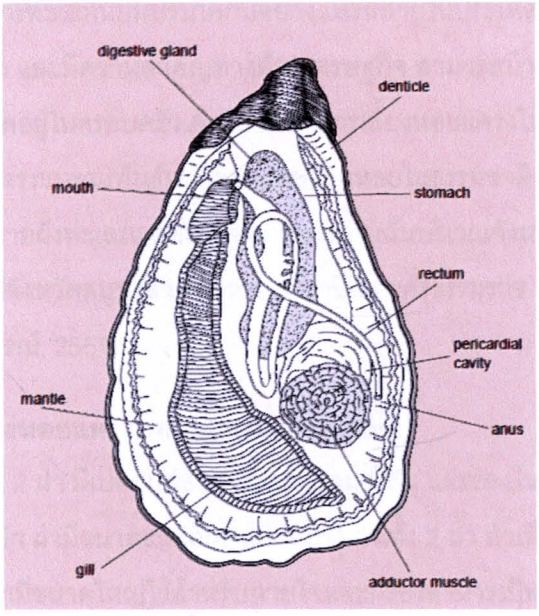
1. หอยสองฝา (Bivalve)

หอยนางรม (oyster)

หอยนางรม เป็นหอยสองฝาที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงมีผู้นิยมบริโภคหอยนางรมกันมาก ทำให้หอยนางรมมีราคาสูงเมื่อเทียบกับหอยชนิดอื่น ๆ สำหรับหอยนางรมที่นำมาบริโภคเกือบทั้งหมดเป็นหอยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโดยอาศัยลูกหอยพันธุ์จากธรรมชาติ และปล่อยให้หอยที่เกิดกรองกินอาหารขนาดเล็กที่แขวนลอยในน้ำเป็นอาหาร หอยนางรมและหอยตะโกรมที่นิยมทำการเพาะเลี้ยงจัดอยู่ใน Family Ostreidae ซึ่งมีผู้นิยมเลี้ยงกันมานานนับพันปี เช่น *Ostrea edulis*, *Crassostrea gigas* และ *C. virginica* ที่นิยมเลี้ยงในประเทศทางทวีปยุโรปและสหรัฐอเมริกา (คเชนทร, 2544) สำหรับประเทศไทยมีพันธุ์หอยนางรมที่นิยมเพาะเลี้ยงตามธรรมชาติอยู่หลายชนิด เช่น หอยนางรมปากจีบ (*Saccostrea* spp.) หอยตะโกรมกรามขาว (*Crassostrea belcheri*) และหอยตะโกรมกรามดำ (*Crassostrea iredalei*) การเลี้ยงหอยนางรมของประเทศไทยบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกได้แก่ จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด พบว่ามีการเลี้ยงหอยนางรมขนาดเล็กกันมาก ส่วนภาคใต้ฝั่งอ่าวไทยได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี สงขลา ปัตตานีและทะเลอันดามันจะมีการเลี้ยงหอยตะโกรมกรามดำและหอยตะโกรมกรามขาวกันมาก (นิพนธ์, 2546)

หอยนางรมเป็นหอยสองฝาที่เกาะอยู่กับที่โดยมีเปลือกข้างซ้ายติดอยู่กับวัสดุที่เป็นของแข็ง ดังนั้นหอยที่ลงยึดเกาะแล้วจึงไม่มีการเคลื่อนที่ตลอดชีวิตของหอย เนื่องจากหอยนางรมไม่มีเท้า (foot) ซึ่งต่างจากหอยสองฝาชนิดอื่น นอกจากนั้นหอยนางรมทุกชนิดยังมีกล้ามเนื้อยึดเปลือก (adductor muscle) เพียง 1 อันเท่านั้น (คเชนทร, 2544) กายวิภาคพื้นฐานโดยทั่วไปของหอยนางรมแสดงในภาพที่ 2.1

ลักษณะทั่วไปของหอยนางรม



ภาพที่ 2.1 กายวิภาคพื้นฐานของหอยนางรม (McGladdery, Drinnan และ Stephenson, 1993)

หอยนางรมปากจีบ เป็นหอยสองฝาที่เปลือกทั้งสองข้างมีขนาดไม่เท่ากัน ฝาเปลือกล่าง ซึ่งเป็นด้านที่หอยใช้ยึดติดกับวัสดุมักมีขนาดใหญ่ โค้งคล้ายถ้วย ส่วนเปลือกด้านบนมีขนาดเล็กกว่าและค่อนข้างเรียบทำหน้าที่เปิดปิดให้น้ำและอาหารผ่านเข้าออก เปลือกทั้งสองข้างเชื่อมติดกันด้วยบานพับ (Hinge) ส่วนปลายสุดด้านบานพับมีลักษณะค่อนข้างแหลม ขอบเป็นรอยหยัก เมื่อเปิดฝาด้านบนออกพบเนื้อเยื่อบางๆสีขาวมีขอบสีน้ำตาล หรือสีดำปกคลุมอวัยวะภายในทั้งหมด โดยมีกล้ามเนื้อขนาดใหญ่อยู่ตรงกลางทำหน้าที่เปิดปิดฝาหอย สำหรับเหงือกสองคู่จะยาวเกือบตลอดลำตัว ทำหน้าที่กรองอาหาร ช่วยในการหายใจ และขับถ่ายของเสีย การกินอาหารของหอยนางรมส่วนใหญ่ได้จากการกรองน้ำโดยใช้เหงือก น้ำจะไหลผ่านเข้ามาในช่องว่างภายในลำตัว ผ่านเหงือกและไหลออกทางท่อน้ำออก อาหารหรือตะกอนต่างๆ ซึ่งถูกพัดมากับน้ำถูกกรองติดบนซี่เหงือก ขบวนการกรองของหอยสองฝาจะเป็นไปด้วยดีและมีประสิทธิภาพ เมื่อมีปริมาณน้ำไหลผ่านลำตัวมากพอ ดังนั้นหอยที่เลี้ยงอยู่ในน้ำตลอดเวลาจะมีการเจริญเติบโตเร็วกว่าหอยที่เลี้ยงในระดับน้ำขึ้นน้ำลง (สุพรรณี และคณะ, 2552)

หอยแครงเทศ (blood cockle, *Anadara granosa*)

หอยแครงเป็นอาหารทะเลที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยเป็นสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายชนิด หอยแครงนี้จัดอยู่ในครอบครัว Arcidae ซึ่งการเลี้ยงหอยแครงในประเทศไทยมีมาเป็นเวลานานแล้ว โดยทำการรวบรวมพันธุ์หอยจากแหล่งลูกหอยในธรรมชาติ แล้วหว่านลงเลี้ยงในพื้นที่ที่เหมะสม สำหรับชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกนิยมเลี้ยงกันบริเวณจังหวัดชลบุรี จันทบุรี และตราด นอกจานี้ยังพบที่จังหวัดสมุทรสาคร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สตูล ปัตตานี ตรัง และจังหวัดระนอง (นิสราภรณ์, 2551)

ลักษณะทั่วไปของหอยแครงเทศ (*Anadara granosa*)

หอยแครงเป็นหอย 2 ฝา มีเปลือกค่อนข้างหนา กลม มีสัน และร่องในแนวตั้งเห็นชัด ทำให้ตามขอบเปลือกเป็นรอยหยัก ฝามีขนาดและลักษณะเหมือนกันทั้ง 2 ฝา หัวเห็นไม่ชัด ไม่มีแผงฟัน (radula) ในช่องปาก เหงือกมีขนาดใหญ่ไว้สำหรับหายใจและกรองอาหารเป็นแบบ lamellibranch มีแมนเติลคลุมตัว ขอบของแมนเติลซ้ายและขวาไม่เชื่อมติดกัน หรืออาจเชื่อมเฉพาะจุด เปลือกมี 2 ฝา ฝาทั้งสองยึดติดกันด้วยบานพับ มีเพศผู้และเพศเมีย การผสมพันธุ์เป็นแบบภายนอกตัว และระยะที่เป็นตัวอ่อนเป็นแพลงก์ตอน เปลือกหอยครอบครัวนี้มีลักษณะเฉพาะ คือมีฟันซี่เล็กๆ เรียงเป็นแถวอยู่บนแนวบานพับ (hinge plate) ที่เป็นแนวตรง เปลือกค่อนข้างหนา มีสัน และร่องในแนวตั้ง (radial rib และ radial groove) เห็นชัด เอ็นอยู่ด้านนอกของเปลือก แมนเติลซ้ายขวาไม่เชื่อมติดกัน กล้ามเนื้อยึดเปลือกเจริญดี ไม่มีท่อน้ำ บางชนิดในเลือดมีสารฮีโมโกลบิล (Haemoglobin) ซึ่งเมื่อรวมกับอากาศจะเป็นสีแดง จึงได้ชื่อว่า blood clam หอยในครอบครัวนี้มีหลายชนิด รวมทั้งหอยแครงที่จัดเป็นหอยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

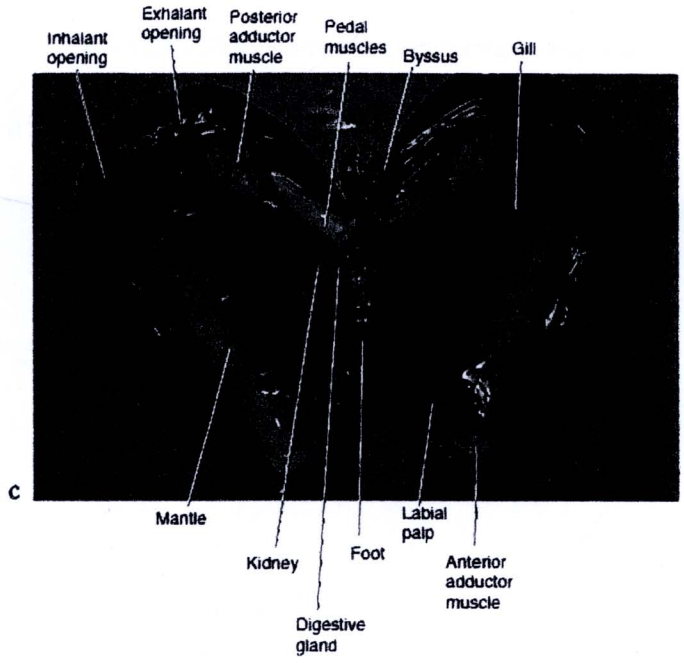
หอยแครงเป็นหอยที่มักฝังตัวอยู่ตามหาดเลนหรือโคลนละเอียดในบริเวณชายฝั่งทะเล จนถึงแนวที่อยู่ห่างจากฝั่งออกไปประมาณ 2 กิโลเมตร หอยแครงจะมีอุปนิสัยชอบฝังตัวอยู่ตามผิวดินโคลนลึกตั้งแต่ 1-12 นิ้ว โดยจะสังเกตเห็นเป็นรูจำนวน 2 รู ที่ผิวดินซึ่งเป็นช่องสำหรับทางน้ำเข้า-ออก และสามารถเห็นรอยการเคลื่อนที่ของหอยเป็นร่องๆ โดยใช้เท้าในการเคลื่อนที่เพื่อหาอาหาร หลบหลีกศัตรู และเพื่อหาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม หอยแครงจะขึ้นมาที่ผิวดินเมื่อน้ำขึ้นเพื่อหาอาหาร และจะฝังตัวใต้ผิวดินเมื่อน้ำลงเพื่อป้องกันน้ำออกภายนอกตัวหอย แต่จะเปิดฝาทั้งสองเล็กน้อย โดยจะยังมีสภาวะการไหลเวียนของน้ำและการหายใจเกิดขึ้นเป็นปกติภายในเปลือก (นิสราภรณ์, 2551)

หอยแมลงภู่ (green mussel, *Perna viridis*)

เป็นสัตว์น้ำที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว จึงเป็นสัตว์ทะเลที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง ที่สามารถทำรายได้เข้าสู่ประเทศแต่ละปีเป็นเงินจำนวนมาก เป็นหอยอีกชนิดหนึ่งที่มีรสชาติอร่อย มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และราคาไม่แพงมาก มีแหล่งเลี้ยงในท้องที่จังหวัดชายฝั่งทะเลทั้งในบริเวณชายฝั่งของอ่าวไทยตอนนอก ชายฝั่งภาคตะวันออก และภาคใต้ หอยแมลงภู่เป็นสัตว์น้ำที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว โดยหอยจะกรองกินอาหารพวกแพลงก์ตอนพืช และสัตว์ขนาดเล็กที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในแหล่งเลี้ยง รวมทั้งอินทรียวัตถุที่แขวนลอยในน้ำ

หอยแมลงภู่เป็นหอย 2 ฝา มีขนาดและลักษณะเหมือนกันทั้ง 2 ฝา หัวเห็นไม่ชัด ไม่มีแผงฟัน (radula) ในช่องปาก เหงือกมีขนาดใหญ่ไว้สำหรับหายใจและกรองอาหารเป็นแบบ lamellibranch มีแมนเติลคลุมตัว ขอบของแมนเติลซ้ายและขวาไม่เชื่อมติดกัน หรืออาจเชื่อมเฉพาะจุด เปลือกมี 2 ฝา ฝาทั้งสองยึดติดกันด้วยบานพับ มีเพศผู้และเพศเมีย การผสมพันธุ์เป็นแบบภายนอกตัว และระยะที่เป็นตัวอ่อนเป็นแพลงก์ตอน ลักษณะทั่วไปของหอยแมลงภู่ เปลือกมีลักษณะและขนาดเท่ากันทั้ง 2 ฝา ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน ส่วนแรกคือส่วนของเปลือกซึ่งยาวรีรูปไข่ ด้านหน้าแหลม ท้ายป้าน อัมโบอยู่ปลายหน้าสุด ฟันที่บานพับมีขนาดเล็กมี 1-2 ซี่ หรือไม่มีเลย ผิวด้านนอกของเปลือกเรียบมีสีเขียวเข้ม หรือสีน้ำตาลไหม้ ด้านในเป็นสีมุก ขอบของแมนเติลซ้ายและขวาเชื่อมกันที่ตอนท้ายตัว ส่วนที่สองคือเนื้อหอย ประกอบด้วยเยื่อหุ้มลำตัว (mantle) ซึ่งอยู่ติดกับฝาทั้งสองข้าง ส่วนพุง (visceral mass) ส่วนของเท้า (foot) ซึ่งมีขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับหอยชนิดอื่น และมีรากหรือขัง (byssus) ซึ่งเป็นเส้นใยมีลักษณะเป็นเส้นสีน้ำตาลเหนียว เกิดจากสารประกอบของควิโนนแทนโปรตีน (guinone tanned protein) เส้นใยดังกล่าวอยู่บริเวณฐานของเท้าซึ่งหอยใช้สำหรับยึดเกาะกับเสาไม้ หิน หรือวัสดุอื่นๆ ที่อยู่ในน้ำ นอกจากนี้มีเหงือกขนาดใหญ่ (นิสราภรณ์, 2551) ลักษณะภายในของหอย Green mussel แสดงในภาพที่ 2.2

ลักษณะทั่วไปของหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*)



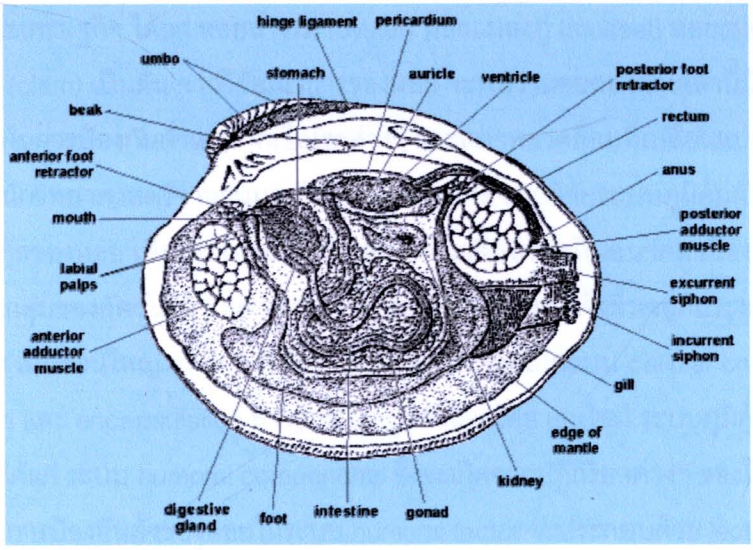
ภาพที่ 2.2 ลักษณะภายในของหอย Green mussel (*Mytilus edulis*) (Gosling, 2003)

หอยตลับขาว (hard clam, *Meretrix casta*)

หอยตลับ หรือที่มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นต่างๆ กัน เช่น หอยหวาน หอยตลับลาย หอยขาว เป็นต้น เป็นสัตว์น้ำชนิดหนึ่งที่มีค่าทางเศรษฐกิจ เปลือก มีสีเปลือกและลวดลายต่างๆ กัน ตั้งแต่สีขาวเรียบ สีครีม ลายสีน้ำตาลอ่อน ไปจนถึงสีน้ำตาลเข้ม หอยในกลุ่มหอยตลับมีหลายชนิด พบทั้งทางฝั่งอ่าวไทยและฝั่งทะเลอันดามัน ที่สำคัญได้แก่ชนิด *Meretrix meretrix* พบมากทางฝั่งอ่าวไทย เช่น จังหวัดตราด จันทบุรี ระยอง เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี และชนิด *Meretrix casta* พบมากทางฝั่งอันดามัน และแถบจังหวัดสมุทรสงคราม ชลบุรี และตราด หอยตลับสามารถนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารทะเลภายในประเทศแล้ว ยังสามารถแกะเนื้อส่งจำหน่ายไปยังต่างประเทศอีกเป็นจำนวนมาก ทำให้พันธุ์หอยในธรรมชาติมีปริมาณลดน้อยลงในทุกแหล่งการแพร่กระจาย

ลักษณะโดยทั่วไปของหอยตลับคือ มีรูปร่างรีคล้ายรูปไข่ จัดอยู่ในครอบครัว Veneridae ขนาดโตเต็มที่ประมาณ 8–10 ซม. มักฝังตัวอยู่ในโคลนหรือทรายโดยใช้เท้า (foot) เป็นอวัยวะช่วยในการขุดรูในพื้นโคลนหรือทราย พบอาศัยตามชายฝั่งทะเลในบริเวณที่เป็นทรายละเอียดปนโคลนในเขตน้ำขึ้น–ลง โดยฝังตัวอยู่ใต้พื้นทรายลึกประมาณ 5–10 ซม.หอยตลับเป็นหอยที่มีเพศแยก (คเชนทร ,2544) ลักษณะภายในของหอย quahog clam, *Mercenaria mercenaria* แสดงในภาพที่ 2.3

ลักษณะทั่วไปของหอยตลับ (*Meretrix casta*)



ภาพที่ 2.3 ลักษณะภายในของหอย quahog clam, *Mercenaria mercenaria* (Encyclopedia article 'Bivalvia' : http:// accessscience.com/loadBinary.aspx?filename=08..)

หอยลาย (undulated surf clam, *Paphia undulata*)

หอยลายเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อประเทศไทยอีกชนิดหนึ่งที่ทำรายได้ให้ประเทศไทยเป็นจำนวนมากในแต่ละปี โดยทำเป็นหอยลายสำเร็จรูป เพื่อส่งออกไปยังประเทศต่างๆ ทั้งนี้หอยลายเป็นหอยที่ไม่ต้องลงทุนเลี้ยง สามารถเก็บเกี่ยวจากธรรมชาติได้ แหล่งที่พบหอยลายชุกชุมในประเทศไทยได้แก่ จังหวัดตราด ชลบุรี สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช

ชีววิทยาของหอยลาย (*Paphia undulata*)

หอยลายเป็นหอยสองฝาที่มีฝาทั้งสองเท่ากัน มีเปลือกบาง รูปร่างยาวรี มีลวดลายตาข่ายสีน้ำตาลพาดตลอดความยาวของเปลือก ขอบบนของฝาด้านในมีฟันอยู่ฝาละ 3 ซี่ จัดอยู่ใน Family Veneridae (สุนันท์, วัฒนา และปรานอม, 2528)

2. ระบบภูมิคุ้มกันของหอยสองฝา (Bivalve immunity)

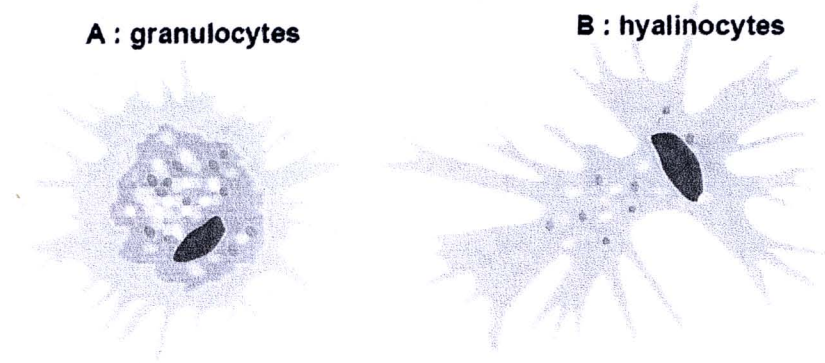
หอยสองฝาเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในหลายประเทศทั่วโลก ชนิดที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ ได้แก่ หอยนางรม (oyster) หอยแมลงภู่ (mussel) หอยเชลล์ (scallop) และหอยตลับ (clam) เป็นต้น จากวิวัฒนาการของหอย จะพบว่าหอยสองฝาเหล่านี้มีความสามารถในการป้องกันตัวเองจากเชื้อโรคต่างๆ และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้เป็นอย่างดี ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จำนวนมากจึงได้หันมาสนใจทำการวิจัยระบบภูมิคุ้มกันและกลไกทางด้านโมเลกุลของหอย เพื่อประโยชน์ทางด้านการเพาะเลี้ยงต่อไปในอนาคต เนื่องจากหอยสองฝาเป็นสัตว์ในกลุ่มของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ดังนั้นระบบภูมิคุ้มกันจึงขึ้นอยู่กับระบบ nonlymphoid เป็นส่วนใหญ่ กลไกการป้องกันภายในของหอยเป็นแบบ cellular component เช่น phagocytosis และ encapsulation ทำให้เชื้อโรคถูกทำลายโดย เอนไซม์ ระบบภูมิคุ้มกันที่พบในหอยอีกระบบได้แก่ ระบบ humoral components ซึ่งจะเกิดจากปฏิกิริยาต่างๆ ของโมเลกุล

กลไกการป้องกันตัวของหอยในระบบ humoral factor จะประกอบด้วย lectin (agglutinin และ opsonin) lysosomal enzyme (phosphatase acid, lysozyme และ hydrolytic enzyme) antimicrobial peptide, protease inhibitor เป็นต้น (Cheng, 1996; Chu, 2000) ส่วนกลไกการป้องกันตัวแบบ cell-mediated เกิดในระบบไหลเวียนเลือดโดย hemocyte ซึ่งพบว่า hemocyte จะเป็นด่านแรกในการป้องกันตัวเอง เนื่องจากมันมีคุณสมบัติในการย่อยและทำลายจุลชีพต่างๆ (Hine, 1999; Canesi et al., 2002)

Hemocyte

หอยสองฝาเป็นสัตว์ที่มีระบบหมุนเวียนเลือดแบบเปิด โดยที่น้ำเลือด (hemolymph) จะผ่านออกทางปลายสุดของ arteries และผ่านไปยังอวัยวะต่างๆ ก่อนกลับเข้าสู่หัวใจผ่านทาง sinuses และ respiratory structures คือ เหงือก ซึ่งเซลล์ hemocyte นี้จะเป็นปราการเบื้องต้นในการต่อสู้กับเชื้อโรค โดยขบวนการที่ใช้ในการกำจัดเชื้อโรคได้แก่ กลไกที่เรียกว่า phagocytosis และ encapsulation นอกจากนี้ยังพบว่า antibacterial effectors, opsonins, nonspecific hydrolysis และ toxic oxygen intermediates ที่พบใน hemolymph จะเข้าช่วยในการกำจัดเชื้อ

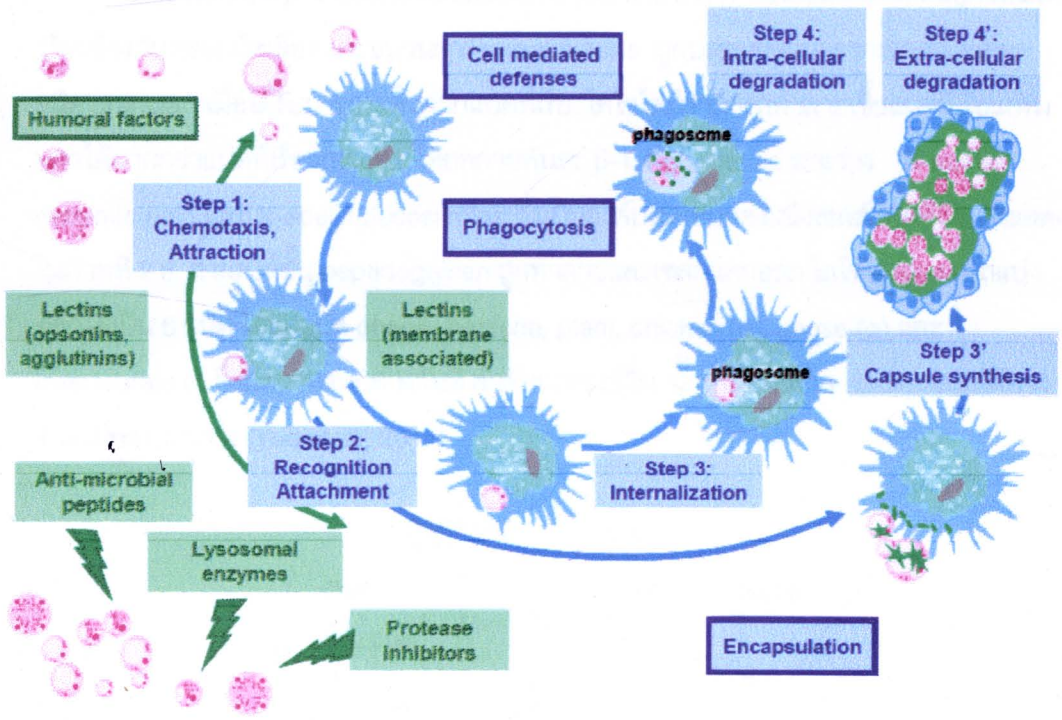
โรคอีกแรงหนึ่ง (Song et al., 2010) จากพื้นฐานการวิจัยด้านสัณฐานวิทยาและทางด้าน histochemistry จากหอยแมลงภู่ (mussels) และหอยตลับ (clams) พบว่า hemocyte ประกอบด้วย hyalinocytes และ granulocytes ซึ่ง granulocyte ยังสามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ eosinophilic granular hemocytes และ basophilic granular hemocytes แต่อาจพบว่ามีเซลล์ชนิดอื่นๆ แตกต่างไปจากนี้ในหอยบางชนิด ซึ่งเซลล์ที่พบมากที่สุดในน้ำเลือดหอย คือ granular hemocytes ในเซลล์ชนิดนี้จะอุดมด้วย hydrolytic enzyme ที่จะช่วยก่อให้เกิดขบวนการ phagocytosis อย่างไรก็ตาม hyalinocyte มีความสามารถในพิเศษในการทำให้เลือดแข็งตัวและการรักษาแผลได้ดี (Ruddell, 1971; Suzuki et al, 1991)



ภาพที่ 2.4 ภาพร่างของเม็ดเลือดหอยชนิด granulocyte (A) และ hyalinocyte (B) (Soudant et al., 2008)

ขบวนการ phagocytosis เป็นขบวนการที่เกิดจากเซลล์จดจำและเข้าไปโอบล้อมเพื่อทำการย่อยสิ่งแปลกปลอมที่บุกรุกเข้าสู่ร่างกาย เช่น แบคทีเรีย สาหร่าย ยีสต์ และเซลล์อื่นๆ เป็นต้น เซลล์ phagocyte จะเข้าไปจับกับเซลล์บุกรุกก่อนจะมีการ phagocytosis ซึ่งพบว่าในเม็ดเลือดหอย การเข้าจับกับเซลล์ที่บุกรุกเข้ามานั้นอาจเกิดได้ทั้งจาก chemostatic และ chemokinetic reactions ขึ้นอยู่กับชนิดของโมเลกุล (Song et al., 2010)

การกำจัดและทำลายสิ่งแปลกปลอมแบบ cell-mediated ของหอยสองฝานั้นจะเกิดจากขบวนการ phagocytosis และการ encapsulation ของ hemocyte ขั้นตอนของทั้งสองขบวนการนี้แสดงในภาพที่ 2.5

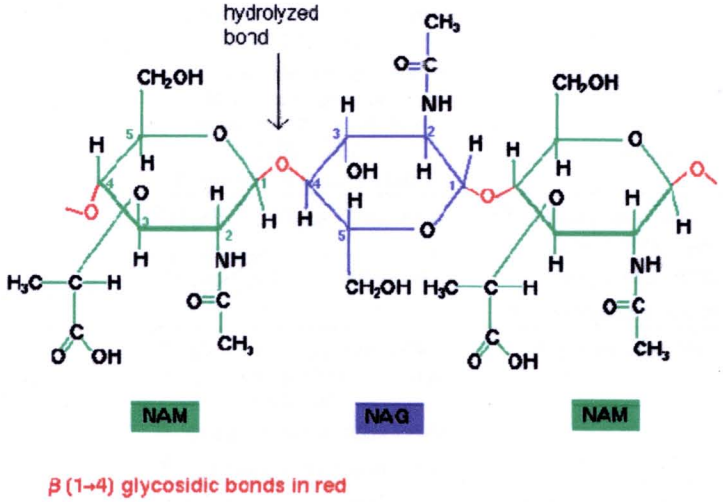


ภาพที่ 2.5 ลักษณะขบวนการป้องกันตนเองแบบ humoral และ cellular ในหอยสองฝาระหว่างเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียและปรสิต (Soudant et al., 2008)

Soudant และคณะ (2008) อธิบายขบวนการ phagocytosis ว่ามี 4 ขั้นตอน โดยขั้นตอนที่ 1 เกิดจาก chemotaxis หมายถึงการถูกดึงดูดเข้าหาเซลล์แปลกปลอมหรือเชื้อโรคโดยสารเคมีที่เซลล์แปลกปลอมหรือเชื้อโรคนั้นๆ ปล่อยออกมา ขั้นตอนที่ 2 เกิดการจดจำเซลล์แปลกปลอมหรือเชื้อโรคและเข้าไปเกาะติดโดย hemocyte ของหอย ขั้นตอนนี้เข้าใจว่าเกิดจากสาร lectin ที่พบในน้ำเลือดของหอยสองฝา ต่อจากนั้นขั้นตอนที่ 3 hemocyte จะมีการโอบล้อมและดูดกลืนเซลล์เหล่านั้นเข้าไปไว้ภายในเซลล์ โดยขบวนการที่เรียกว่า endocytosis ภายในเซลล์นี้จะสร้างเป็นถุง phagosome ขึ้นซึ่งขบวนการย่อยสลายจะเกิดภายในถุงนี้ ขั้นตอนที่ 4 เซลล์แปลกปลอมหรือเชื้อโรคจะถูกย่อยสลายไป โดย lysosomal granule จะเคลื่อนที่ไปยัง phagosome และหลอมเข้ากับผนังของ phagosome หลังจากนั้น hemocyte จะหลั่ง hydrolytic enzyme เข้าสู่ vacuole เพื่อย่อยสลายสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคต่อไป

เอนไซม์ไลโซไซม์ (Lysozyme)

ไลโซไซม์ (1,4-β-N-acetylmuramidases (EC 3.2.1.17)) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญตัวหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับเซลล์เม็ดเลือดและขบวนการ phagocytosis ถูกปล่อยออกมาจากเซลล์เม็ดเลือดชนิด granular เมื่อได้รับการกระตุ้นจากแบคทีเรีย ไลโซไซม์สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยสลายพันธะ β-1,4-glycosidic ระหว่าง N-acetyl-muramic acid และ N-acetylglucosamine ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรีย ดังแสดงในภาพที่ 2.6 ส่งผลให้ชั้น peptidoglycan ถูกทำลายและเซลล์แตกออก ไลโซไซม์สามารถแบ่งออกได้เป็น 6 ชนิด ได้แก่ชนิด phage, bacteria, plant, chicken (c), goose (g) และ invertebrate (i) ซึ่งมีความแตกต่างกันที่ ลำดับกรดอะมิโน, น้ำหนักโมเลกุล และคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการ (Yue et al., 2011)



ภาพที่ 2.6 การทำลายพันธะ β-1,4-glycosidic ระหว่าง N-acetyl- muramic acid (NAM) และ N-acetylglucosamine (NAG) บนผนังเซลล์แบคทีเรียโดยเอนไซม์ไลโซไซม์

ในปัจจุบันนี้ได้มีผู้ทำการศึกษาวิจัยถึง การเปลี่ยนแปลงของตัวแปรที่สัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกันแบบ humoral และ cellular ในขณะที่หอยสองฝาเกิดโรค Perkinsosis ในหลายประเทศ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวแปรที่สัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกันแบบ humoral และ cellular ที่เปลี่ยนแปลงขณะเกิดโรค Perkinsosis จากปรสิต *Perkinsus olseni* และ *P. marinus* (Soudant และคณะ, 2008)

Immune parameters	Oysters (*C. virginica*)	Clams (*R. philippinarum* or *R. decussatus*)
Total hemocyte count (cells/mL)	↑ (Anderson et al. 1992; Anderson et al. 1995; Chu & La Peyre 1993a / Field) ↑ (La Peyre et al. 1995b / Lab.)	↓ (Ordás et al. 2000, Casas 2002 / Field) ↑ (Flye Sainte Marie 2007 / Field)
Granulocyte count (cells/mL)	↑ (Chu 2000 / Field)	↑ (Flye Sainte Marie 2007 / Field)
% of phagocytic cells	↓ (La Peyre et al. 1995b; Goedken et al. 2005 / Lab.)	↓ (Ordás et al. 2000 ; Flye Sainte Marie 2007 / Field) → (Hégaret et al. 2007 ; da Silva et al. in press / Lab.)
ROS production (*in vivo*)	↑ (Anderson et al. 1992 ; La Peyre 1993 / Field) → (La Peyre et al. 1995b, Goedken et al. 2005 / Lab.)	→ (Hégaret et al. 2007 ; da Silva et al. in press / Lab.)
ROS production (*in vitro*)	↓ (La Peyre et al. 1995a ; Volety & Chu 1995 ; Anderson et al. 1995; Anderson 1999b ; Schott et al. 2003a / Lab.)	
RNI production	↑ (Villamil et al. 2007 / Lab.)	
Apoptosis	↓ (Sunila & LaBanca 2003 / Field)	→ (Hégaret et al. 2007, da Silva et al. in press / Lab.)
Phenoloxidase activity	↓ (Jordan & Deaton 2005 / Lab.)	↑ (Muñoz et al. 2006 / Field) → (Flye Sainte Marie 2007/ Field)
Lysozyme	→ (Chu & La Peyre 1989 / Field; Chu & La Peyre 1993b; Chu et al. 1993 / Lab.) ↑ Chu & La Peyre 1993a / Field) ↓ (La Peyre et al. 1995b / Lab.)	→ (Ordás et al. 2000 / Field)
Agglutination titer (*in vivo*)	→ (Chu & La Peyre 1993a / Field) → (Chintala et al. 1994 / Field) ↑ (La Peyre et al. 1995b / Lab.)	↑ (Ordás et al. 2000 ; Bulgakov et al. 2004 Kim et al. 2006 / Field) → (Hégaret et al. 2007, da Silva et al. in press / Lab.)
Agglutination titer (*in vitro*)	→ (Fisher et al. 1992 / Lab.)	
Protein content	↑ (La Peyre et al. 1995b / Lab.)	↑ (Ordás et al. 2000 / Field)

Field=Field study; Lab.=Laboratory study; ROS=Reactive oxygen species; RNI=Reactive nitrogen species; Arrows "↑", "↓", and "→" indicate the trend of changes: increase, decrease, and unchanged, respectively.

จากการวิจัยเหล่านี้จะพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางด้าน humoral และ cellular จะแตกต่างกันออกไปในหอยแต่ละชนิด ผลกระทบต่อค่าการเปลี่ยนแปลงนี้มักขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อสรีระและระบบภูมิคุ้มกันของตัวหอยเอง ทั้งนี้เนื่องจากมีรายงานว่าการเปลี่ยนแปลงของ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ - 3 มิ.ย. 2555
เลขทะเบียน 245661
เลขเรียกหนังสือ

granulocyte concentration ของหอยขึ้นอยู่กับอุณหภูมิมากกว่าเชื้อปรสิต (Flye Sainte Marie, 2007)

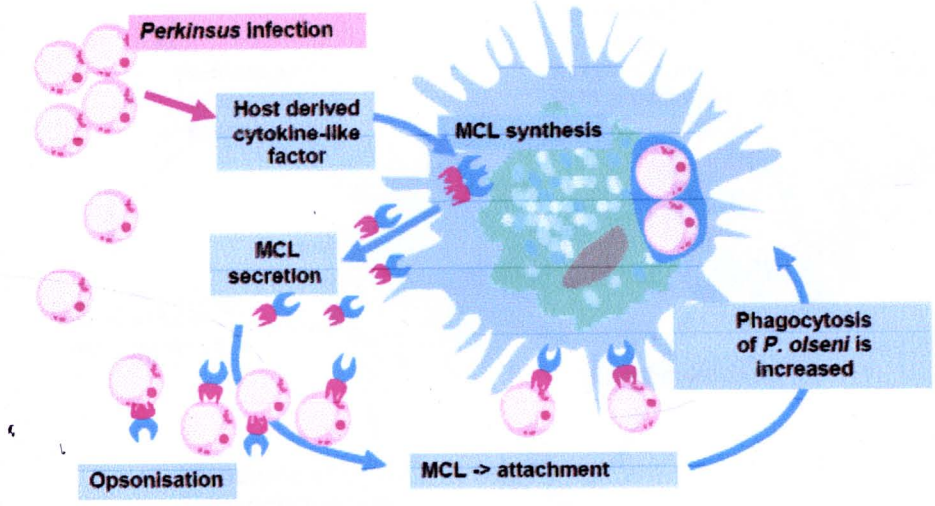
Specific immune response **ของหอยต่อปรสิต** *Perkinsus*

ในปัจจุบันการศึกษาระบบภูมิคุ้มกันของหอยต่อปรสิตชนิดนี้มักมุ่งความสนใจต่อการก่อให้เกิดโรคของปรสิตที่พบภายในหอย แต่มีบ้างที่มุ่งความสนใจไปยังผลกระทบของปรสิตต่อหอยเจ้าบ้าน เช่น ปรสิต *P. olseni* กับหอยชนิด *Ruditapes phillippinarum* และ *R. decussatus* หรือ ระหว่างปรสิต *P. marinus* กับหอยนางรมชนิด *Crassostrea viginica*

3. **เลคตินกับการติดเชื้อปรสิต** *Perkinsus* (Lectin and *Perkinsus* infection)

เลคติน (lectin) เป็นโปรตีนหรือไกลโคโปรตีนที่มีบริเวณที่สามารถจับกับคาร์โบไฮเดรตได้อย่างน้อย 2 บริเวณ ดังนั้นจึงสามารถทำให้เซลล์เม็ดเลือดหรือเซลล์แบคทีเรียเกิดการเกาะกลุ่มได้ หน้าที่ของเลคตินในระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ทะเลไม่กระดูกสันหลังหลายชนิดมีการศึกษาพบว่าสามารถเหนี่ยวนำเซลล์เม็ดเลือดให้เกิดกระบวนการ phagocytosis เมื่อมีเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ตัวสัตว์ (Cooper and Lemmi, 1981) เลคตินจึงเป็นสารที่มีความสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลัง เพราะทำหน้าที่คล้ายแอนติบอดีในระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ต่างกันตรงที่เลคตินไม่มีความจำเพาะต่อสิ่งแปลกปลอม

รายงานการศึกษาเลคตินของหอย Manila clam ที่พบระหว่างการติดเชื้อ *P. olseni* แสดงให้เห็นว่า ระหว่างการติดเชื้อปรสิตชนิดนี้ หอย Manila clam จะสังเคราะห์ C-type lectin ที่เรียกว่า Manila clam lectin (MCL) เลคตินชนิดนี้สามารถจับบริเวณผิวเซลล์ของ *Perkinsus* ได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเลคตินที่สร้างขึ้นมาไม่ได้เกิดจากการกระตุ้นของเซลล์ปรสิต แต่เกิดจาก cytokine-like factor ของหอย ซึ่ง MCL จะถูกหลั่งเข้าสู่ hemolymph และเข้าไปเคลือบกับปรสิต *P. olseni* เพื่อให้เซลล์ของหอยจดจำได้และก่อให้เกิดการ phagocytosis เพิ่มขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 2.7

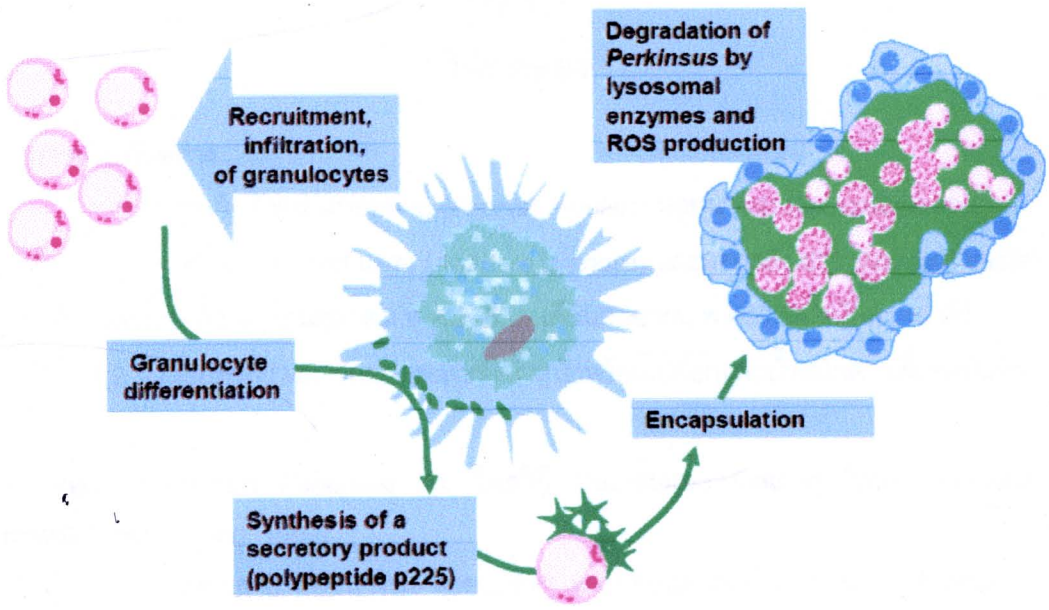


ภาพที่ 2.7 สมมุติฐานขบวนการการจดจำและกำจัดปรสิต *P. olseni* ของหอย Manila clam (Soudant และคณะ, 2008)

Tasumi และ Vasta (2007) รายงานไว้ว่า cell-bound lectin , galactin (CvGal) ที่พบในเม็ดเลือดของหอยนางรม *C. virginica* จะสามารถจดจำและจับกับคาร์โบไฮเดรตของปรสิต *P. marinus* นอกจากนี้ยังกล่าวว่า การเคลือบจับสิ่งแปลกปลอมและแพร่กระจายของเม็ดเลือดขณะติดเชื้อ จะชักนำการหลั่ง CvGal ไปยังเซลล์รอบๆ ได้ ซึ่งพบว่า hemocyte surface-associated CvGal จะแสดงลักษณะคล้ายเป็น receptor สำหรับ *P. marinus* และจะก่อให้เกิดการนำเข้าสู่เซลล์ของ host เพื่อนำไปกำจัดได้ง่ายขึ้น

4. เซลล์เม็ดเลือดกับการติดเชื้อปรสิต Perkinsus (Hemocyte encapsulation and *Perkinsus* infection)

ขบวนการเกิด encapsulation ต่อเซลล์ปรสิต จะพบได้ง่ายในสไลด์ทางด้านพยาธิสภาพ (Chagot et al. 1987; Navas et al. 1992; Montes et al., 1995b; Sagristá et al. 1995; Montes et al. 1996; Ordás et al. 2001; Park & Choi 2001; Casas 2002; Choi et al. 2002) ซึ่งขบวนการนี้ Cheng และ Rifkin (1970) กล่าวไว้ว่าเป็นวิธีการที่เซลล์เม็ดเลือดพยายามที่จะกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดย phagocytosis ดังแสดงในภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 ภาพจำลองแสดงการเกิด encapsulation ของ หอย *Ruditapes decussatus* และ *R. phillippinarum* ต่อปรสิต *P. olseni* (Saudant และคณะ, 2008)