เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2551;6(2):153-163.

นิพนธ์ต้นฉบับ

ค่าโลหิตวิทยาของลูกปลาบึก

ขวัญตา พูลสำราญ[1], **ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล**[1], **เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน**[1], **ชนกันต์ จิตมนัส**[1,2]

[1]คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

[2]ศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม.

บทคัดย่อ จุดประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อให้ทราบข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับค่าโลหิตวิทยาของลูกปลาบึก (Mekong giant catfish, *Pangasianodon gigas*, Chevey) โดยสุ่มลูกปลาบึก จำนวน 30 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 74.0 ± 27.43 กรัม ความยาวลำตัวเฉลี่ย 21.23 ± 2.86 เซนติเมตร จากฟาร์มเพาะเลี้ยงเอกชนในจังหวัดเชียงใหม่ ทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อหาค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว ค่าฮีมาโตคริต ซีรัมโปรตีน ซีรัมกลูโคส และซีรัมไลโซไซม์ ตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการศึกษา พบว่า ลูกปลาบึกมีปริมาณเม็ดเลือดแดงเฉลี่ย 2.24 ± 0.62 X 10^6 เซลล์/ลบ.มม. ปริมาณเม็ดเลือดขาวเฉลี่ย 5.30 ± 2.79 X 10^4 เซลล์/ลบ.มม. ค่าฮีมาโตคริตเฉลี่ย 28.73 ± 4.23 เปอร์เซ็นต์ ส่วนค่าซีรัมโปรตีนเฉลี่ย 2.88 ± 1.0 กรัม/เดซิลิตร ค่าซีรัมกลูโคสเฉลี่ย 0.69 ± 0.11 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และค่าซีรัมไลโซไซม์เฉลี่ย 5.56 ± 3.19 ยูนิต/นาที สามารถแยกความแตกต่างของกลุ่มเม็ดเลือดแดงและกลุ่มเม็ดเลือดขาวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตามขนาด ลักษณะรูปร่างและการติดสี โดยแบ่งเป็นกลุ่มเม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือดหรือทรอมโบไซต์ และกลุ่มเม็ดเลือดขาว 5 ชนิดคือ ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์ อีโอซิโนฟิลล์ เบโซฟิลล์ และนิวโทรฟิลล์ การศึกษาในครั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำมาตรฐานค่าโลหิตวิทยาของปลาบึกสำหรับประกอบการศึกษาวิจัยอื่น ๆ ต่อไป **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร** 2551;6(2):153-163.

คำสำคัญ : ค่าโลหิตวิทยา เซลล์เม็ดเลือด ปลาบึก

บทนำ

ปลาบึก (Mekong giant catfish, *Pangasianodon gigas,* Chevey) เป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ดขนาดใหญ่ที่สุด ในโลก สามารถโตได้ยาวเต็มที่ถึง 3 เมตรและมีน้ำหนักมากกว่า 300 กิโลกรัม[(1)] ปลาบึกเป็นปลาประจำถิ่นของแม่น้ำโขง โดยพบอยู่ในแถบตั้งแต่ ประเทศ จีน พม่า ลาว ไทย กัมพูชา และเวียดนามใต้ รวมทั้งแม่น้ำสาขา เช่น แม่น้ำงึม แม่น้ำสงคราม จัดเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเนื้อปลามีรสชาติดี ใช้ประกอบอาหารได้หลากหลายชนิดมีราคาแพงเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ แต่เนื่องจากปลาบึกในธรรมชาติมีปริมาณลดลงอย่างมาก และถูกจัดในกลุ่มปลาที่กำลังจะสูญพันธุ์ จึงได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับปลาบึกในหลาย ๆ ด้านโดยเฉพาะทางด้านการเพาะพันธุ์ ซึ่งประสบผลสำเร็จเป็นครั้งแรกในประเทศไทยโดยวิธีการผสมเทียมขึ้นเมื่อ ปี พ.ศ. 2526 [(2)] หลังจากนั้นนักวิชาการจึงได้มีโอกาสศึกษาชีวประวัติรวมทั้งทดลองเลี้ยงปลาบึกในหลายพื้นที่ ทั้งในบ่อดินและในกระชัง

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่ : ชนกันต์ จิตมนัส คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290 ; E-mail : khwanta02@hotmail.com

ได้รับบทความวันที่ 25 กรกฎาคม 2551

องค์ประกอบเลือดเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญที่ใช้ประเมินสภาพทางกายภาพและชีวภาพของปลา การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเลือดขึ้นอยู่กับชนิด สายพันธุ์ อายุ ระยะเจริญพันธุ์และสุขภาพของปลา การเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิ สารพิษที่ปนเปื้อน การให้อาหารหรือวิตามินเสริมหรือความผิดปกติในระบบใดระบบหนึ่งของร่างกายจะส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของเลือด[3, 5, 10, 12] ดังนั้นค่าองค์ประกอบเลือดบางลักษณะอาจช่วยพัฒนาด้านการเลี้ยง โภชนศาสตร์ รวมถึงการป้องกันรักษาโรค ปัจจุบันมีการศึกษาองค์ประกอบเลือดในปลาที่สำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ปลานิล[3] ปลากะพงขาว[4] ปลาหมอไทย[5] และปลาหมอตาล[6] แต่การศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบเลือดปลาบึกซึ่งมีแนวโน้มในการพัฒนาเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจในประเทศยังมีอยู่น้อย ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัดค่าองค์ประกอบเลือด ซึ่งข้อมูลที่ได้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถนำไปใช้เป็นค่ามาตรฐานขององค์ประกอบเลือดปลาบึกเพื่อประกอบการศึกษาวิจัยในด้านอื่น ๆ ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างปลา

สุ่มลูกพันธุ์ปลาบึกจำนวน 30 ตัว ขนาดความยาว 21.23 ± 2.86 เซนติเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 74 ± 27.43 กรัม จากฟาร์มเพาะเลี้ยงเอกชนในจังหวัดเชียงใหม่ นำมาเลี้ยงในกระชังขนาด 3 x 2.4 x 1.5 เมตร ที่ความหนาแน่น 15 ตัวต่อกระชัง ให้อาหารสำเร็จรูปเม็ดชนิดลอยน้ำสำหรับปลากินพืชที่มีระดับโปรตีน 30 % ในอัตรา 1.5 – 2 % ของน้ำหนักตัว/วัน โดยให้อาหารวันละ 2 มื้อ เช้าและเย็นเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

2. การเก็บและศึกษาองค์ประกอบเลือด (Fish Hematological Techniques)

นำปลาบึกมาทำการสลบด้วยยาสลบ Tricaine methanesulfonate (TMS หรือ MS-222, Sigma, USA) เข้มข้นประมาณ 150 มิลลิกรัม/ลิตร ทำการชั่งน้ำหนัก วัดขนาด และเจาะเลือดที่ caudal vein ซึ่งอยู่บริเวณโคนหางของปลา โดยใช้หลอดฉีดยาพลาสติกขนาด 1 มิลลิลิตร เข็มเบอร์ 26G เก็บเลือดประมาณ 0.5 มิลลิลิตร นำเลือดที่ได้ไปแยกซีรัมและทำการศึกษาองค์ประกอบเลือดต่าง ๆ ดังนี้

2.1 การศึกษาสัณฐานวิทยาของเม็ดเลือด (Morphology of blood cells)

ใช้เทคนิคการย้อมสีด้วยวิธี Dip Quick ด้วยชุดน้ำยา Wright instant stain set (BIO-MEDICAL LABORA-TORY, BANGKOK) โดยนำเลือดปลาหยดลงบนสไลด์ และเกลี่ยเลือดให้เป็นฟิล์มบาง ๆ (blood smear) แล้ว Wright stain A 5 ครั้ง ๆ ละ 1 วินาที แล้วจุ่มสไลด์ลงใน Wright stain B 5 ครั้ง ๆ ละ 1 วินาที ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ให้แห้ง ทำการศึกษารูปร่างลักษณะและการติด สีย้อมของเซลล์เม็ดเลือด เพื่อจำแนกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเลือกบริเวณของ blood smear ที่บางที่สุด และหยด mineral oil เพื่อส่องดูด้วยเลนส์วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า แล้วถ่ายภาพด้วยชุดกล้องถ่ายรูปจุลทรรศน์แสงสว่าง (Nikon ECLIPSE E100, JAPAN)

2.2 ค่าฮีมาโตคริต (Haematocrit)

การวัดปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Packed red blood cell volume) หรือฮีมาโตคริตในปลา โดยทั่วไปจะใช้วิธี microhaematocrit method ซึ่งจะเป็นการบรรจุเลือดปลาเข้าไปในหลอด capillary ขนาดเล็กที่มีการเคลือบสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparinised) ไว้ที่ผิวด้านใน ปริมาณ 2/3 ของความยาวหลอด แล้วปิดปลายด้านหนึ่งของหลอดด้วยดินน้ำมัน นำหลอดไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วประมาณ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที คำนวณเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตโดยวัดสัดส่วนของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นต่อปริมาตรของเลือดทั้งหมด

Percent haematocrit = (Packed cell volume/ Total blood volume) x 100

2.3 ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Total erythrocyte/leucocyte count)

การนับปริมาณเม็ดเลือดแดงโดยการเจือจางเลือดปลาในสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด 5% EDTA ในอัตราส่วน 1:250 (ใช้เลือดปลาปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับ EDTA ปริมาตร 4,980 ไมโครลิตร) และการนับเม็ดเลือดขาวจะเจือจางเลือดปลาในสารละลายของสีย้อม Dacie's fluid ในอัตราส่วน 1:100 (ใช้เลือดปลาปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อมปริมาตร 1980 ไมโครลิตร) แล้วนับจำนวนโดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด (Neubauer cell counting chamber หรือ Haemacytometer) ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด จะได้จากการนับปริมาณเม็ดเลือดแดงที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมเล็กทั้งสี่มุมรวมกับช่องตรงกลาง (R) ของช่องสี่เหลี่ยมใหญ่กลางสไลด์นับเม็ดเลือด ส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาวจะนับปริมาณของเม็ดเลือดขาวที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมใหญ่ (W) ทั้งสี่มุม แล้วคำนวณเทียบกับปริมาตรของเลือดทั้งหมดในสไลด์นับเม็ดเลือด และสัดส่วนการเจือจาง (dilution factor) [7]

2.4 วิเคราะห์ระดับกลูโคสในน้ำเลือด (Serum glucose)

ใช้วิธีการของ Hyvarinen and Nikkila [8] โดยเติมซีรั่มตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดที่บรรจุ 1 มล. ของ 3% Trichoroacetic acid ผสมให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ 2 – 3 นาที นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 6500 รอบต่อนาที 2 นาที ดูดส่วนใส (supernatant) มา 500 ไมโครลิตร ผสมกับ color reagent 4.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 7 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร โดยใช้สารละลาย Trichloroacetic acid 500 ไมโครลิตร ผสมกับ color reagent 4.5 มิลลิลิตร เป็น Blank คำนวณความเข้มข้นของกลูโคสในตัวอย่าง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกลูโคส

2.5 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด (Serum protein)

ใช้วิธี Lowry method [9] โดยเติมซีรัมตัวอย่างปริมาตร 5 ไมโครลิตร ลงในหลอดที่บรรจุน้ำกลั่น 245 ไมโครลิตร (เจือจาง 50 เท่า) ดูดซีรัมตัวอย่าง 100 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติม Lowry stock reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมเข้าให้กันทิ้งไว้ 30 นาที และเติม Folin reagent หลอดละ 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ดูดตัวอย่างละ 250 ไมโครลิตร ใส่ลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ นำไปวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader ทำ Blank โดยเติมสารละลาย 0.1 โมลาร์ Sodium phosphate buffer saline (PBS) ผสมกับ Bovine serum albumin (BSA) ตามสัดส่วนให้ได้

ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมสาร เช่นเดียวกับตัวอย่าง เป็น Blank คำนวณความเข้มข้นของโปรตีนในตัวอย่าง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีน (Standard Bovine Serum Albumin)

2.6 วิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์ในน้ำเลือด (Serum lysozyme)

วิธีการดัดแปลงมาจาก Puangkaew [10] โดยเติมสารละลายแบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA) ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ในสารละลาย PBS 1 โมลาร์ pH 6.7) จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) ตามจำนวนตัวอย่าง ๆ ละ 2 ซ้ำพร้อมด้วยชุดควบคุมลบ แล้วเติมซีรัมตัวอย่างละ 25 ไมโครลิตร (ยกเว้นชุดควบคุมให้ใส่น้ำกลั่นแทน) ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดความสามารถของไลโซไซม์ในซีรัมในการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรีย โดยสังเกตจากความขุ่นของเซลล์แบคทีเรียที่ลดลง ทุก 5 นาที ที่ความยาวคลื่นแสง 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader

ผลการวิจัย

จากการสุ่มลูกปลาบึกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงเอกชนในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 30 ตัว น้ำหนักตัวเฉลี่ย 74.0 ± 27.43 กรัม ความยาวเฉลี่ย 21.23 ± 2.86 เซนติเมตร เพื่อศึกษาค่าโลหิตวิทยา พบว่า ลูกปลามีปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดเท่ากับ 2.24 ± 0.62 ± 106 เซลล์/ลบ.มม. ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมดเท่ากับ 5.30 ± 2.79 x 104 เซลล์/ลบ.มม. ค่าฮีมาโตคริตเท่ากับ 28.73 ± 4.23 เปอร์เซ็นต์ ส่วนค่าซีรัมโปรตีนเท่ากับ 2.88 ± 1.0 กรัม/เดซิลิตร ค่าซีรัมกลูโคสเท่ากับ 0.69 ± 0.11 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และค่าซีรัมไลโซไซม์เท่ากับ 5.56 ± 3.19 ยูนิต/นาที (ตารางที่ 1) ผลการวิเคราะห์

Table 1. Hematology reference interval for Mekong giant catfish (n = 30)

Parameter	Range	Mean ± SD
Weight (g)	30.0 - 120.0	74.0 ± 27.43
Length (cm)	17.0 – 25.50	21.23 ± 2.86
Hematocrit (%)	20.59 – 35.71	28.73 ± 4.23
Red blood cell (× 10^6 cell/mm^3)	0.98 – 4.01	2.24 ± 0.62
White blood cell (× 10^4 cell/mm^3)	2.60 – 12.74	5.30 ± 2.79
Serum protein (g/dL)	1.69 – 7.26	2.88 ± 1.0
Serum lysozyme (unit/min)	3.50 – 10.50	5.56 ± 3.19
Serum glucose (mg/dL)	0.44 – 0.86	0.69 ± 0.11

Table 2. The blood parameters comparison of Mekong giant catfish and other fish species

Parameter	Hematocrit (%)	Red blood cell (× 10^6cell/mm^3)	White blood cell (× 10^3cell/mm^3)	Serum protein (g/dL)
Mekong giant catfish[a] (*Pangasianodon gigas*)	20.59 - 35.71	0.98 - 4.01	2.60 – 12.74	1.69 – 7.26
Walking catfish[a] *(Clarias batrachus)*	24.59 – 45.16	Blood cells (× 10^6 cell/mm^3) 0.86 – 3.66		1.35 – 4.83
Climbing perch[(5)] (*Anabas testudineus*)	10.52 - 13.97	2.55 - 5.90	4.69 - 10.69	2.67 - 5.44
Acará[(11)] (*Cichlasoma dimerus*)	22.5 – 39.12	1.68 – 4.27	6.64 – 18.59	ND[b]
Hybrid tilapia[(12)] (*Oreochromis* spp.)	27 – 37	1.91 – 2.83	21.6 – 154.7	2.3 – 6.6
Temminch's kissing gourami fish[(6)] (*Helostoma temmicki*)	20 – 49	2.9 - 3.4	69 – 90	ND[b]

[a] Referring to this present study

[b] ND = No data available

ค่าองค์ประกอบเลือดที่ได้ทั้งจากปลาบึกและปลาชนิดอื่น ๆ ที่นำมาเปรียบเทียบอยู่ในช่วงค่อนข้างกว้าง (ตารางที่ 2) ค่าร้อยละแยกตามประเภทของเม็ดเลือดขาว ได้แก่ นิวโทรฟิลล์ อีโอซิโนฟิลล์ เบโซฟิลล์ โมโนไซด์ ลิมโฟไซด์ และทรอมโบไซด์ (ตารางที่ 3)

จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของเม็ดเลือดของลูกปลาบึก โดยใช้เทคนิคการย้อมสีด้วยวิธีDip Quick แล้วเปรียบเทียบรูปร่างลักษณะและการติดสีย้อมของเซลล์เม็ดเลือด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเลือกบริเวณของบลัดสเมียร์ (blood smear) ที่เหมาะสมที่สุด และหยดน้ำมันพาราฟิน (mineral oil) เพื่อส่องดูด้วยเลนส์วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า เพื่อจำแนกชนิดและลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มชนิดของเซลล์เม็ดเลือดได้เป็น 2 กลุ่มหลัก ๆ คือ (1) กลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดแดง (Erythrocytes) ซึ่งเม็ดเลือดแดงเป็นกลุ่มที่พบมากที่สุด ซึ่งจะมีลักษณะรูปร่างกลมรีและมีนิวเคลียสกลางเซลล์ (2) กลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Leukocytes) โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มที่มีนิวเคลียสหลายรูปร่าง (Polymorphonuclear cells) คือเซลล์ที่มีเม็ดแกรนูล (granules) ติดสีต่าง ๆ ในไซโตปลาสซึม ได้แก่ นิวโทรฟิล (Neutrophil) ซึ่งนิวโทรฟิลจะมีนิวเคลียสหลายพูมีแกรนูลขนาดเล็กรูปร่าง เป็นแท่งภายในไซโตพลาสซึม อีโอซิโนฟิล (Eosinophil) ซึ่งอีโอซิโนฟิลมีนิวเคลียส

Table 3. The lymphocyte blood types of Mekong giant catfish

Range (%)	Range (%)	Mean ± SD (%)
Neutrophil	9 – 26	18.14 ± 6.01
Eosinophil	3 – 22	12.14 ± 7.69
Basophil	2 – 5	3.86 ± 1.35
Monocyte	13 – 25	18.86 ± 5.11
Lymphocyte	16 – 32	24.71 ± 6.32
Thrombocyte	4 – 43	22.29 ± 12.79

หลายพูคล้ายนิวโทรฟิล แต่มีขนาดเล็กกว่าภายในไซโตพลาสซึมมีแกรนูลรูปร่างกลม แกรนูล ย้อมติดสีแดง และเบโซฟิล (Basophil) ซึ่งเบโซฟิลมีลักษณะภายในไซโตพลาสซึมมีแกรนูล รูปร่างกลมและมีขนาดใหญ่ แกรนูลย้อมติดสีน้ำเงินส่วนอีกชนิดเป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสเดียว (Mononuclear cells) และไม่มีแกรนูล (agranulocytes) ได้แก่ โมโนไซต์ (Monocyte) ซึ่งมีขนาดใหญ่และมีพื้นที่ของไซโตพลาสซึมมากกว่า ลิมโฟไซต์ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) จะมีนิวเคลียสรูปร่างกลมขนาดใหญ่ เกือบเต็มเซลล์ ไม่แบ่งเป็นพู และเกล็ดเลือด (Thrombocyte) รูปร่างลักษณะและขนาดของเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 1– 8

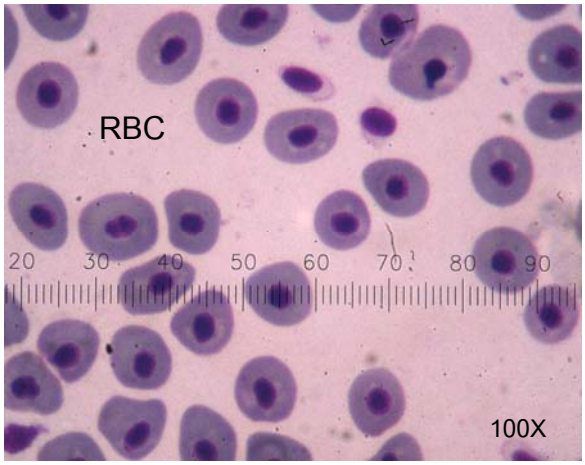

Figure 1. Erythrocytes (RBC), size = 9 µm

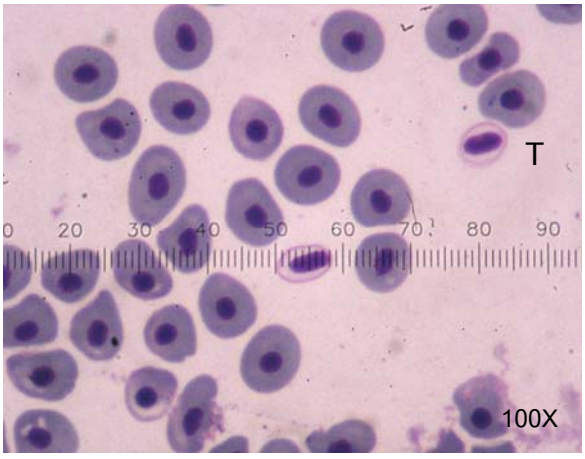

Figure 2. Thrombocyte (T), size = 8 µm

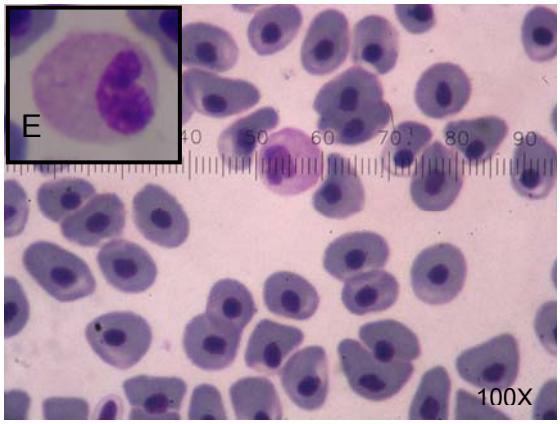

Figure 3. Eosinophil (E), size = 10 µm

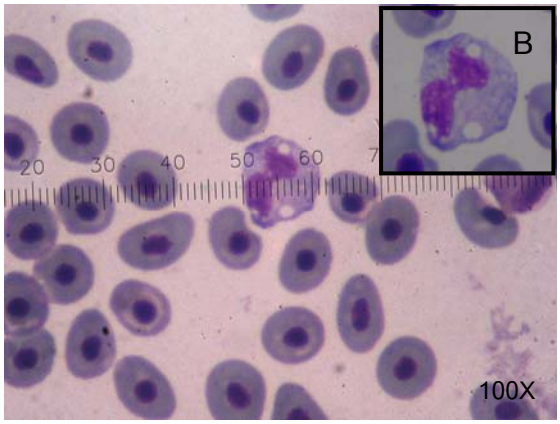

Figure 4. Basophil (B), size = 11 µm

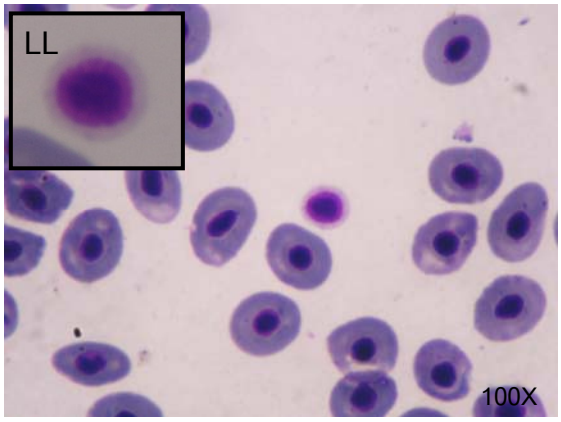

Figure 5. Large lymphocyte (LL), size = 7 µm

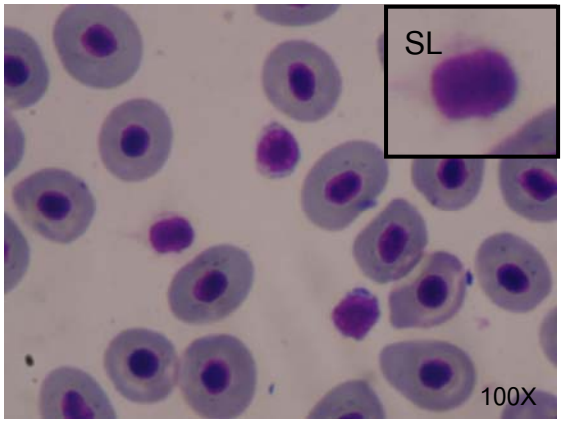

Figure 6. Small lymphocyte (SL), size = 4 µm

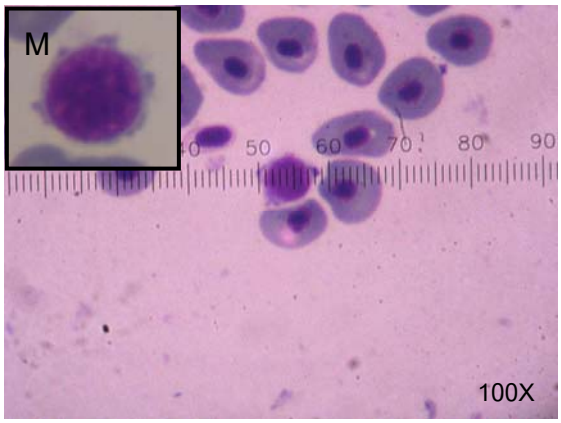

Figure 7. Monocyte (M), size = 8 µm

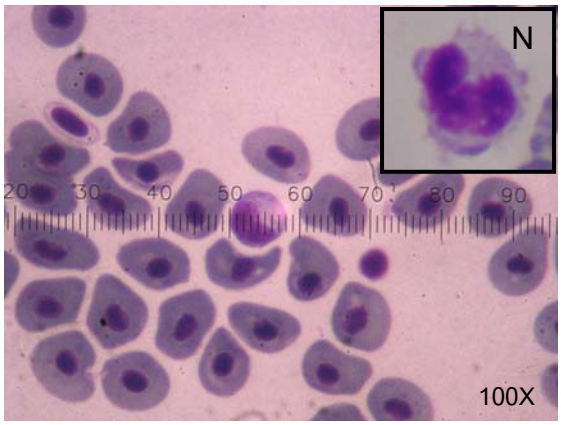

Figure 8. Neutrophil (N), size = 8 µm

วิจารณ์และสรุปผล

แม้ว่าความสนใจเกี่ยวกับเลือดและระบบเลือดของสัตว์น้ำมีเพิ่มมากขึ้น แต่ยังขาดข้อมูลเกี่ยวกับระบบเลือดของปลาบึกซึ่งเป็นปลาที่มีคุณค่าทั้งทางด้านเศรษฐกิจและการอนุรักษ์ การศึกษานี้ได้นำลูกปลาบึกอายุประมาณ 5 – 6 เดือน ซึ่งเป็นขนาดที่เกษตรกรมักนิยมปล่อยลงเลี้ยง เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับรูปร่างและปริมาณเม็ดเลือด อัตราส่วนของเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง รวมทั้งปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อองค์ประกอบเลือดเพราะค่าโลหิตวิทยาเป็นตัวบ่งชี้ในการบ่งบอกถึงสุขภาพของปลา งานวิจัยนี้ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยต่อเนื่องเกี่ยวกับผลของวิตามินซีที่มีผลต่อระบบเลือดและภูมิคุ้มกันของปลาบึก เนื่องจากปลาส่วนใหญ่ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินซี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเสริมวิตามินซีลงไปในอาหารปลา เพื่อช่วยลดความเครียดของปลา กระตุ้นการรักษาแผลและกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค มีการรายงานว่า ปลาเปคูหรือปลาจะละเม็ดน้ำจืด (*Piaractus mesopotamicus*) ที่ได้กินอาหารผสมวิตามินซีจะมีปริมาณเกล็ดเลือดที่เพิ่มขึ้น[13] อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์มักจะทดลองใช้วิตามินซีร่วมกับวิตามินอีในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ รวมทั้งมีการใช้วิตามินซีร่วมกับโปรไบโอติคและสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันอื่น ๆ ด้วย ไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งในระบบภูมิคุ้มกันโรคชนิดสารน้ำที่ถูกปล่อยเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตจากเซลล์นิวโทฟิวล์และมาโครฟาจน์ เอนไซม์นี้จะทำหน้าที่ในการป้องกันแบคทีเรียและไวรัส มีการรายงานว่าการทำงานของเอนไซม์ไลโซไซม์ของปลาสายรุ้งหรือปลาเรนโบว์เทราท์ที่อยู่ในน้ำทิ้งชุมชนลดลง[14] ส่วนปลาจวดเหลือง (yellow croaker : *Pseudosciaena crocea*) และปลากะรังที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีจะทำให้เอนไซม์ไลโซไซม์มีการทำงานที่ดีขึ้นและช่วยป้องกันโรค [15; 16]

ปลาเป็นสัตว์เลือดเย็นจึงมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาภายในตัว ไม่ว่าจะเป็นเพศ อายุ สภาพแวดล้อม คุณภาพน้ำ อาหาร และการติดเชื้อโรคชนิดต่าง ๆ [3;17-19] การพัฒนาของระบบเลือดและภูมิคุ้มกันขึ้นอยู่กับอายุของสัตว์น้ำ มีการรายงานว่าปลากะพงลายแถบ (Striped bass: *Morone chysops*) ที่มีอายุน้อยจะมีความสามารถในการพัฒนาแอนติบอดีหลังจากได้รับวัคซีนได้ต่ำกว่าปลา โตเต็มวัยแสดงว่าโลหิตวิทยาของปลาที่มีอายุต่างกันจะแตกต่างกัน[18]นอกจากนี้ได้มีทำการทดลองเพื่อชี้ให้เห็นว่า ปลาข้าวสารญี่ปุ่น(Japanese medaka: *Oryzias latipes*) ที่อายุน้อยจะมีเซลล์เม็ดเลือดที่ผลิตแอนติบอดีลดลงมากกว่าปลาอายุมากกว่าเมื่อสัมผัสกับสารพีซีบีหรือโพลิคลอริเนทเต็ท ไบเฟนนิล ซึ่งเป็นสารปนเปื้อนจากกิจการอุตสาหกรรม[19]นอกจากนี้รูปแบบการเลี้ยง ที่ต่างกันก็จะส่งผลต่อองค์ประกอบเลือดด้วย โดยพบว่าปริมาณ ฮีโมโกลบินของปลาหมอที่เลี้ยงในกระชังมีค่า 12.21 ± 0.91 กรัมต่อเดซิลิตร สูงกว่าปลาที่เลี้ยงในบ่อดินที่มีค่า 11.12 ± 0.85 กรัมต่อเดซิลิตร และค่าซีรัมโปรตีนจากปลาหมอที่เลี้ยงในกระชังมีค่า 4.61 ± 0.50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร สูงกว่าปลาที่เลี้ยงในบ่อดินที่มีค่า 3.87 ± 0.62 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) [5] เลือดปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นสูงจะมีค่าของโปรตีนที่สูงกว่าปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นที่น้อยกว่า [12]

การศึกษาในครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นของค่าโลหิตวิทยาของลูกปลาบึกที่ได้จากการเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงของฟาร์มเอกชนเพียงแห่งเดียวเท่านั้น การศึกษาอยู่ในขั้นตอนการศึกษาปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับความแปรปรวนของค่าโลหิตวิทยาเพิ่มเติม เช่น วิธีเก็บตัวอย่าง แหล่งที่อยู่อาศัย อาหารที่ปลาได้รับ จากต่างสถานที่ ระบบการเลี้ยงที่ต่างกัน และจำนวนตัวอย่างที่มากขึ้น เพื่อให้ได้ข้อมูลหลากหลายและจำนวนข้อมูลที่มากเพียงพอเพื่อนำมาใช้เป็นค่ามาตรฐานสำหรับการใช้ประกอบการศึกษาวิจัยด้านต่าง ๆ และใช้ในการประเมินสุขภาพ เช่น การบ่งชี้ถึงสภาวะทางสรีรวิทยาของปลาที่ติดเชื้ออันเป็นประโยชน์ในการประกอบการตรวจวินิจฉัยโรค ตลอดจนเป็นข้อมูลในการศึกษาวิจัยทางด้านอาหาร พันธุศาสตร์ และ พิษวิทยาที่มีต่อปลาบึก เนื่องจากปลาบึกมีแนวโน้มที่จะเลี้ยงเชิงพาณิชย์มากขึ้น อันเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาและส่งเสริมการเพาะเลี้ยงปลาบึกแก่เกษตรกรต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ สำนักวิจัยและส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในการจัดสรรงบประมาณวิจัยประจำปี พ.ศ. 2550 และงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาระดับปริญญาโทของขวัญตา พูลสำราญ

เอกสารอ้างอิง

1. Roberts TR,Vidthayanon C. Systematic revision of the Asian catfish family Pangasiidae, with biological observations and descriptions of three new species, Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia 1991; 143: 97 – 144.
2. เสน่ห์ ผลประสิทธิ์, ภานุ เทวรัตน์มณีกุล. ชีววิทยาและการเพาะเลี้ยงปลาบึก. วารสารการประมง ม.ค.- ก.พ. 2541; 51 (1).
3. กิจการ ศุภมาตย์, วัชรินทร์ รัตนชู. ผลของการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำต่อองค์ประกอบเลือดในปลานิล (Sarotherodon niloticus). วารสารสงขลานครินทร์ 2530; 9: 471 – 477.
4. กิจการ ศุภมาตย์, เยาวนิตย์ ดนยดล, สถาพร ดิเรกบุษราคม. การศึกษาองค์ประกอบเลือดของปลากะพงขาว (Lates calcalifer Bloch). วารสารสงขลานครินทร์ 2530; 9: 59 – 68.
5. นิรุทธิ์ สุขเกษม, จรีพร เรืองศรี, กิจการ ศุภมาตย์. การศึกษาองค์ประกอบเลือดของปลาหมอไทย. วารสารสงขลานครินทร์ 2548; 27 (ฉบับพิเศษ 1): 419 – 424.
6. นันทริกา ชันซื่อ, มนทกานติ์ วงศ์ภากร. ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของเลือดปลาหมอตาลในบ่อเพาะเลี้ยงจังหวัดสุพรรณบุรี. Thai-NIAH eJournal 2549 : 108–116. เข้าถึงได้ที่ http:// www.dld.go.th/niah, V1 N2 (September – December 2006)
7. นภดล ศุกระกาญน์. คู่มือปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ (Fish Diseases Laboratory Manual). ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ. จังหวัดสงขลา 2549 :59 – 71.
8. Hyvarinen A, Nikkila E. Specific determination of blood glucose with O-toluidine. Clin. Chem. Acta 1962; 7: 140-143.
9. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J.Biol. Chem 1951; 140 : 879-885.
10. Puangkaew J, Kiron V, Somamoto T, Okamoto N, Satoh S, Takeuchi T, Watanabe T. Nonspecific immune response of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. Fish & Shellfish Immunology 2004; 16: 25 – 39.
11. Vazquez GR, Guerrero GA. Characterization of blood cells and hematological parameters in Cichlasoma dimerus (Teleostei, Perci-formes). Tissue and Cell 2007; 39:151–160.
12. Hrubec TC, Cardinale JL, Smith SA. Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (Oreochromis Hybrid).Vet Clin Pathol 2000; 29: 7 – 12.
13. Garcia F, Pilarski F,Onaka EM, Moraes FR de, Martins ML. Hematology of Piaractus

mesopotamicus fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by Aeromonas hydrophila. Aquaculture 2007; 271: 39 – 46.

14. Salo HM, Hébert N, Dautremepuits C, Cejka P, Daniel GC, Fournier M. Effects of Montreal municipal sewage effluents on immune responses of juvenile female rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquatic Toxicology 2007; 84: 406 – 414.
15. Ai Q, Kangsen M, Beiping T, Wei X, Wenbing Z, Hongming M, Zhiguo L. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, Pseudosciaena crocea. Aquaculture 2006; 261: 327 – 36.
16. Lin M, Shi-Yen S. Dietary L-ascorbic acid affects growth, nonspecific immune responses and disease resistance in juvenile grouper, Epinephelus malabaricus. Aquaculture 2005; 244: 215 – 21.
17. เยาวนิตย์ ดนยดล, สถาพร ดิเรกบุษราคม, ลิลา เรืองแป้น, วินัย กระจายวงศ์. ความเป็นไปได้ในการนำองค์ประกอบเลือดบางประการมาวินิจฉัยโรคติดเชื้อ iridovirus ในปลากะพงขาวอย่างรวดเร็ว.เอกสารวิชาการ สถาบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา 2540; 16 :13.
18. Hrubec TC, Smith SA, Robertson JL. Age-related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass (Morone chrysops x Morone saxatilis). Vet Clin Pathol 2001; 30(1): 8-15.
19. Duffy JE, Carlson E, Li Y, Prophete C, Zelikoff JT. Impact of polychlorinated biphenyls (PCBs) on the immune function of fish: age as a variable in determining adverse outcome Marine Environmental Research 2002; 54: 559 – 63.