การจำแนกชนิดของเม็ดเลือดในหอยตะโกรมกรามดำ (*Crassostrea iredalie*)

Characterization of Black-scar oyster (*Crassostrea iredalie*) hemocytes

ชัยยศ นุ่มกลิ่น[1] และ สุทิน กิ่งทอง[2,*]

Chaiyod Numklin[1] and Sutin Kingtong[2,*]

[1]*สาขาวิชาการสอนชีววิทยา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[2]*ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดของเม็ดเลือดที่พบในหอยตะโกรมกรามดำ โดยใช้วิธีดูดเก็บเลือดจากช่องหัวใจเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เปรียบเทียบกับลักษณะของเม็ดเลือดที่พบในช่องหัวใจโดยใช้เทคนิคมิญชวิทยา จำแนกชนิดของเม็ดเลือดที่พบในหอยตะโกรมกรามดำ (*Crassostrea iredalie*) พบว่าสามารถจำแนกเซลล์เม็ดเลือดของหอยตะโกรมกรามดำได้ 4 แบบ ได้แก่ ชนิดที่ 1 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่ไม่มีแกรนูลและมีไซโทพลาซึมน้อย (Agranulocyte 1; AG1) ชนิดที่ 2 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่ไม่มีแกรนูลและมีไซโทพลาซึมมาก (Agranulocyte 2; AG2) ชนิดที่ 3 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลมากและมีไซโทพลาซึมน้อย (Granulocyte 1; G1) และชนิดที่ 4 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลมากมีและมีไซโทพลาซึมมาก (Granulocyte 2; G2) นอกจากนี้ยังพบเลือดกระจายทั่วไปตามเส้นเลือดและแอ่งเลือดเพื่อไปทำหน้าที่ตามอวัยวะต่าง ๆ และสามารถพบเส้นเลือดและแอ่งเลือดได้ทั่วร่างกายของหอยตะโกรมกรามดำ ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งจะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันของหอยนางรมและด้านพิษวิทยาสิ่งแวดล้อมทางทะเลต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: แกรนูโลไซต์ / เม็ดเลือด / หอยนางรม / หัวใจ

Abstract

The main objective of this study was to characterize hemocytes found in circulation of the Black-scar oyster, *Crassostrea iredalie*. Hemolymp was collected from heart chamber and used for hemocyte characterization under a light microscopy. Histological technique was also used to investigate hemocyte characteristics in oyster tissues. In recent study, hemocytes were classified into 4 types based on the present of granule in cytoplasm and the amount of cytoplasm in hemocytes including AG1, AG2, G1 and G2. AG1 is a type of hemocyte that contains none or few amount of granules and has few amount of cytoplasm. AG2 is a type of hemocyte that contains none or few amount of granules and has large amount of cytoplasm. G1 is a type of hemocyte that contains large amount of granules and has few amount of cytoplasm. Whereas, G2 is a type of hemocyte that contains large amount of granules and has large amount of cytoplasm. Moreover, histological results revealed that all types of hemocytes were found in all tissue especially in blood vessel and sinus. Data obtained from the current study will be used as a basic data for the study of host defense mechanism in this species and will further use in marine toxicological research in the future.

Keyword: Granulocyte / Heart / Hemocyte / Oyster

***Corresponding author:** sutin@buu.ac.th

1. บทนำ

เม็ดเลือด (Hemocytes) ในหอยสองฝาสามารถแบ่งได้สองประเภทหลัก ตามลักษณะทางกายภาพและการติดสีของเซลล์ โดยแบ่งออกเป็น เม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลหรือแกรนูโลไซต์ (Granulocyte) และชนิดที่ไม่มีแกรนูลหรือไฮอะลิโนไซต์ (Agranulocyte หรือ Hyalinocyte) (Cheng, 1981; Hine, 1999) หน้าที่ของเม็ดเลือดในหอยสองฝาที่เคยมีรายงานมีหลายประการได้แก่ ลำเลียงสารอาหาร ขับถ่ายของเสีย ซ่อมแซมเปลือก และเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Cima *et al*., 2000; Donaghy *et al*., 2009) สำหรับการศึกษาเม็ดเลือดในหอยนางรมนั้น Hong และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษาในหอยนางรมสามสายพันธุ์คือ *Saccostrea kagagi, Ostrea circumpicta* และ *Hyotissa hyotis* และแบ่งชนิดของเม็ดเลือดที่พบได้ 3 ชนิด ได้แก่ 1. ชนิดแกรนูโลไซต์ ซึ่งพบแกรนูลในไซโทพลาซึมจำนวนมาก 2. ชนิดไฮอะลิโนไซต์ซึ่งพบแกรนูลได้เล็กน้อยหรือไม่พบเลย 3. ชนิด Blast-like cells คือเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดเล็กและมีไซโทพลาซึมน้อย นิวเคลียสเกือบเต็มเซลล์ อย่างไรก็ตามการจำแนกเม็ดเลือดในหอยนางรมและหอยสองฝาอื่น ๆ ยังมีความแปรปรวนอยู่มากขึ้นอยู่กับวิธีการที่ใช้ในการศึกษา เทคนิคการเก็บเลือด และขั้นตอนการคงสภาพของเซลล์ ซึ่งปัจจัยดังกล่าวมีผลต่อรูปร่างของเม็ดเลือดโดยตรง เนื่องจากการศึกษาโดยทั่วไปผู้วิจัยจะเก็บเลือดจากบริเวณแอ่งเลือดในกล้ามเนื้อยึดเปลือก (adductor muscle) เพื่อดูดเก็บเลือดสำหรับศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง หากใช้ระยะเวลาในการดูดเก็บเลือดนานเกินไปอาจทำให้เม็ดเลือดตกตะกอนและมีผลต่อโครงสร้างเซลล์ของเม็ดเลือดได้ ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการศึกษาเม็ดเลือดดังกล่าวข้างต้น นอกจากนี้เม็ดเลือดที่พบในหอยแต่ละชนิดอาจจะมีความแตกต่างกัน สำหรับหอยตะโกรมกรามดำ (*Crassostrea iredalie*) ซึ่งเป็นหอยนางรมที่พบได้ทั่วไปตามชายฝั่งทะเลที่มีลักษณะเป็นหาดหิน โดยยังไม่พบข้อมูลการศึกษาชนิดของเซลล์เม็ดเลือดในหอยนางรมชนิดนี้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดของเม็ดเลือดในหอยตะโกรมกรามดำโดยใช้วิธีดูดเก็บเลือดจากช่องหัวใจและทำการคงสภาพเซลล์เม็ดเลือดและย้อมสีเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และทำการศึกษาลักษณะของเม็ดเลือดที่พบในหัวใจโดยใช้เทคนิคมิญชวิทยา (Histology) โดยทำการเก็บตัวอย่างหอยตะโกรมกรามดำจากบริเวณแหลมแท่น จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่เลี้ยงหอยนางรมเชิงพาณิชย์ ข้อมูลที่ได้นอกจากจะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาชีววิทยาของระบบไหลเวียนเลือดในหอยนางรมและยังจะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการศึกษาผลกระทบของสารเคมีต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศทางทะเลอีกด้วย เนื่องจากมีรายงานว่าสารพิษในสิ่งแวดล้อมมีผลต่อกิจกรรมของเม็ดเลือดในหอยอีกด้วย (Cheng *et al*., 2004) นอกจากนี้หอยนางรมยังมีความน่าสนใจและเหมาะสำหรับใช้เป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบในการศึกษาด้านพิษวิทยาสำหรับระบบนิเวศชายฝั่งเป็นอย่างมาก เนื่องจากหอยนางรมไม่เคลื่อนที่ มีความทนต่อสารพิษ และสามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงปัจจัยด้านกายภาพได้ดีเพื่อให้หอยมีชีวิตและสามารถสืบพันธุ์ต่อไปได้ (Kan-Atireklap *et al*., 1997; Kingtong *et al*., 2007)

2. วิธีการ

2.1 การศึกษาเม็ดเลือดโดยการทำสไลด์ (Whole mount)

เปิดเปลือกหอยนางรมแล้วซับน้ำทะเลที่ติดอยู่ภายนอกออกเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำทะเลผสมกับเลือด จากนั้นตัดเนื้อเยื่อบริเวณดังภาพที่ 1A เพื่อเปิดช่องให้เห็นหัวใจ และซับน้ำรอบ ๆ หัวใจอีกครั้ง ใช้เข็มฉีดยาดูดเก็บเลือดจากห้องหัวใจ และหยดบนสไลด์ประมาณ 3-4 หยด แล้วหยดน้ำยาคงสภาพ (Baker's formol-calciuf fixative) (Zhang *et al*., 2006) เพื่อคงสภาพของเซลล์เม็ดเลือด จากนั้นจึงดัดแปลงกระบวนการย้อมสีเม็ดเลือดฌดยผู้วิจัยได้ทำการย้อมด้วยสีเม็ดเลือดโดยใช้ Eosin ความเข้มข้น 1% ย้อมเม็ดเลือดเป็นเวลา 1 ทาที แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ซับน้ำส่วนเกินออก จากนั้นทำการศึกษาและบันทึกภาพเม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

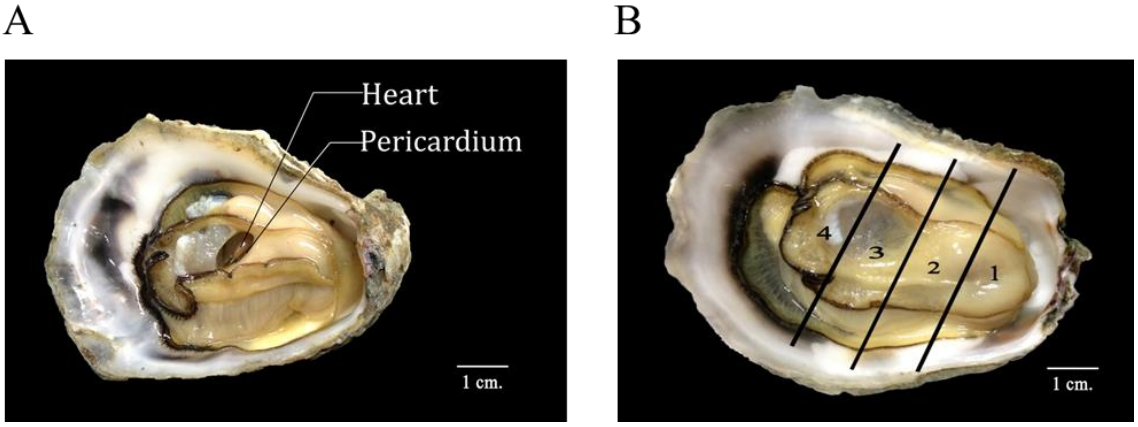
2.2 การเตรียมเนื้อเยื่อ การย้อมสีฮีมาทอกไซลีนและสีอีโอซีน

2.2.1 ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อ

เปิดเปลือกหอยนางรมออกและตัดเนื้อเยื่อหอยนางรมเป็น 4 ส่วนดังภาพที่ 1B จากนั้นนำเนื้อเยื่อใส่ลงในน้ำยาคงสภาพ Bouin's fluid (Fixative) ที่ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลานำเนื้อเยื่อมาล้างน้ำยาคงสภาพออก โดยแช่เนื้อเยื่อด้วยแอลกอฮอล์ 70% ทิ้งไว้ 30 นาที และล้างเนื้อเยื่อด้วยน้ำเปล่าหลาย ๆ ครั้งจนกระทั่งน้ำไม่มีสีเหลือง นำไปแช่แอลกอฮอล์ 80%, 90% และ 95% ขั้นตอนละหนึ่งครั้ง ๆ ละ 1 ชั่วโมง แช่ในแอลกอฮอล์ 100% ใช้เวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที แช่ในไดออกเซน 3 ครั้ง โดยแช่ครั้งที่ 1 และ 2 ครั้งละ 1 ชั่วโมง และแช่ ครั้งที่ 3 ข้ามคืน นำพาราฟินใส่ในขวดแก้ว แล้วนำมาหลอมเหลวในตู้อบ โดยตั้งอุณหภูมิของตู้อบ 58 - 60°C แช่เนื้อเยื่อในพาราฟินที่หลอมเหลว 3 ครั้ง โดยแช่ครั้งที่ 1 และ 2 ครั้งละ 2 ชั่วโมงและแช่ครั้งที่ 3 ข้ามคืน แล้วทำการฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน ตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนา 6 µm นำสไลด์ที่ติดชิ้นเนื้อเยื่อแล้วมาวางให้แห้งบนเครื่องอุ่นแผ่นสไลด์ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2.2 ขั้นตอนการย้อมสี

นำเนื้อเยื่อติดที่ติดบนสไลด์แห้งสนิท มาย้อมด้วยสีฮีมาท็อกไซลิและอิโอซิน (Hematoxyline & Eosin) โดยนำสไลด์แช่ในไซลีน 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 100%, 95%, 80% และ 70% ตามลำดับ ขั้นตอนละ 5 นาที ย้อมสีครั้งแรกด้วยสีฮีมาท็อกไซลีน 2 นาที ล้างในน้ำประปาที่ไหลผ่านตลอดเวลา 10 นาที แช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% เป็นเวลา 5 นาที ย้อมซ้ำด้วยสีอิโอซิน (Counter stain) 1 นาที แช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% อย่างรวดเร็ว และแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 100% เป็นเวล 5 นาที แช่สไลด์ในบิวทานอล 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที และแช่ในไซลีน 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์โดยใช้ Canada Balsam ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วปิดขอบสไลด์ด้วยน้ำยาเคลือบเล็บชนิดใส จากนั้นนำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง



ภาพที่ 1 หอยตะโกรมกรามดำ A. แสดงส่วนของหัวใจที่ที่เก็บเลือด B. แสดงตำแหน่งการตัดเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาด้วยเทคนิคมิญชวิทยา

3. ผลและอภิปราย

3.1 การจำแนกลักษณะของเม็ดเลือด

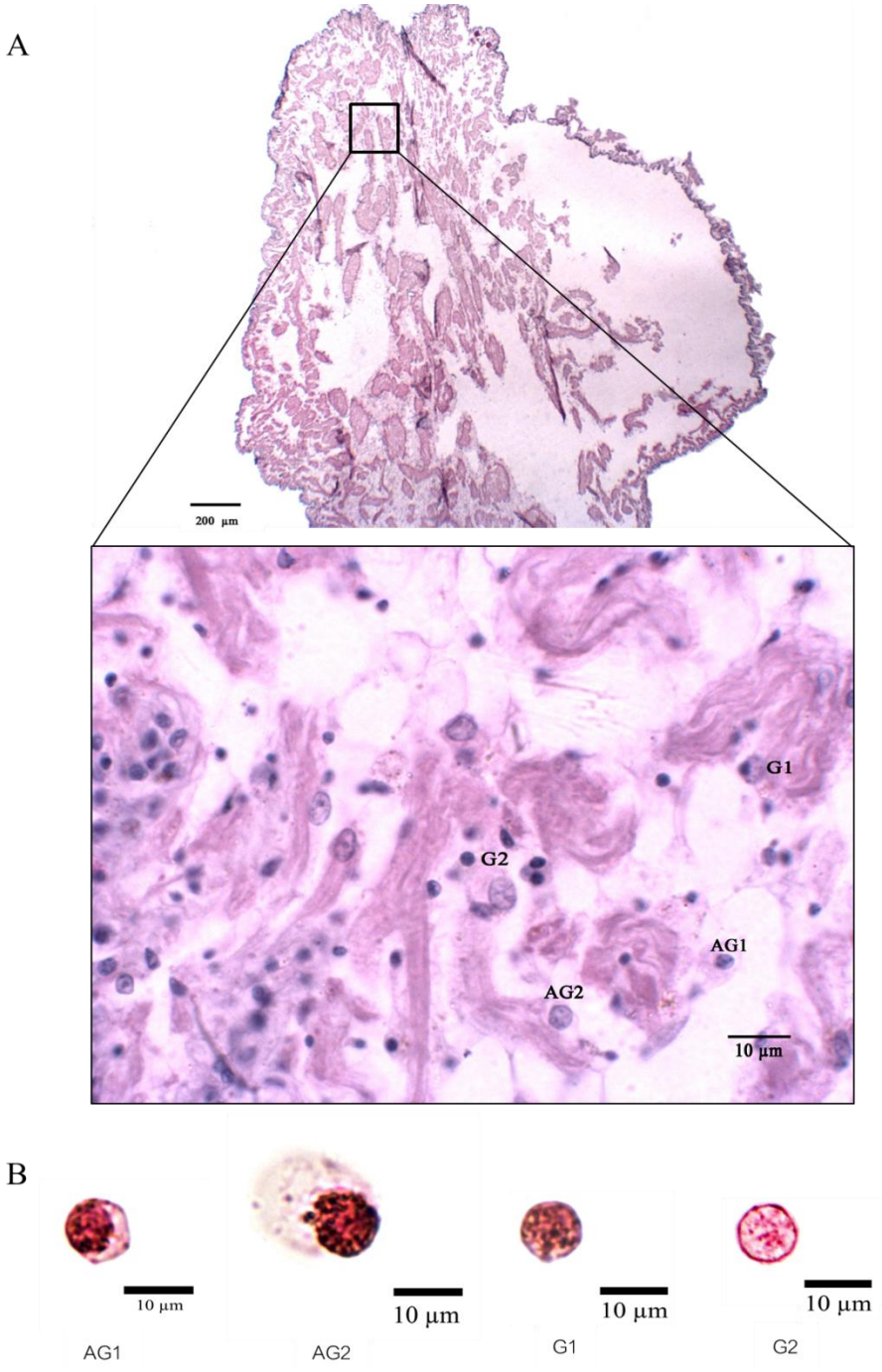
จากการศึกษาลักษณะของเม็ดเลือดที่พบในหอยตะโกรมกรามดำ *Crassostrea iredalie* โดยใช้วิธีการดูดเก็บเลือดออกจากตัวหอยแล้วคงสภาพทันที ร่วมกับผลการศึกษาเม็ดเลือดที่พบภายในห้องหัวใจของหอยตะโกรมกรามดำ พบเซลล์เม็ดเลือดดังแสดงในภาพที่ 2 โดยภาพที่ 2A เป็นภาพถ่ายที่ได้จากหัวใจ ส่วนภาพ 2B เป็นภาพแสดงเม็ดเลือดจากการย้อมสีเพื่อให้เห็นนิวเคลียสชัด เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Cheng และคณะ (2004) ที่เม็ดเลือดมีพฤติกรรมคล้ายเซลล์อะมีบาคือมีลักษณะไม่กลมเพราะเซลล์เม็ดเลือดลงเกาะที่พื้นผิวของสไลด์ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเซลล์เม็ดเลือดมีลักษณะกลมซึ่งเป็นลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในเนื้อเยื่อหัวใจและเนื้อเยื่ออื่น ๆ ของหอยนางรม (ภาพที่ 3) สาเหตุที่เซลล์เม็ดเลือดมีลักษณะกลมเนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ใช้สารละลายคงสภาพ (Fixative) เพื่อหยุดกิจกรรมของเซลล์ ทำให้สามารถเห็นเม็ดเลือดที่มีลักษณะคล้ายกับที่พบในเนื้อเยื่อของหอยนางรม นอกจากนี้สีที่ใช้ในการย้อมสีคือ methylene blue กับ eosin จึงทำให้แยกนิวเคลียสกับไซโทพลาซึมได้อย่างชัดเจน จึงทำให้จำแนกชนิดของเม็ดเลือดได้ง่ายขึ้น เกณฑ์ขั้นแรกที่ใช้ในการจำแนกเม็ดเลือดคือแกรนูลที่พบในเซลล์ของเม็ดเลือด ทำให้สามารถแบ่งเม็ดเลือดได้เป็น 2 ลักษณะใหญ่ ๆ คือ Granulocyte คือเซลล์ที่พบแกรนูลมาก และ Agranulocyte หรือ Hyalinocyte คือเซลล์ที่พบแกรนูลน้อยหรือไม่พบเลย เช่นเดียวกับหลักเกณฑ์ของ Hine (1998) จากนั้นแบ่งตามเกณฑ์ที่ 2 คือ ปริมาณไซโทพลาซึมที่พบในเซลล์ โดยแบ่งเป็นชนิดที่พบไซโทพลาซึมมาก และชนิดที่พบไซโทพลาซึมน้อย ซึ่งสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงสามารถจำแนกเซลล์เม็ดเลือดที่พบในหอยตะโกรมกรามดำได้ทั้งหมด 4 แบบ ได้แก่ ชนิดที่ 1 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่ไม่มีแกรนูลและมีไซโทพลาซึมน้อย (Agranulocyte 1; AG1) ชนิดที่ 2 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่ไม่มีแกรนูลและมีไซโทพลาซึมมาก (Agranulocyte 2; AG2) ชนิดที่ 3 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลมากและมีไซโทพลาซึมน้อย (Granulocyte 1; G1) และชนิดที่ 4 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลมากมีและมีไซโทพลาซึมมากเมื่อเทียบกับนิวเคลียส (Granulocyte 2; G2) ดังแสดงในภาพที่ 2

อย่างไรก็ตามปัญหาที่สามารถพบได้บ่อยในการศึกษาเม็ดเลือดโดยวิธีการดูดเก็บน้ำเลือดเพื่อศึกษาภายนอกตัวหอยคือ เม็ดเลือดจะลงเกาะเร็วหากทำการคงสภาพเซลล์ด้วยน้ำยาคงสภาพช้า และอีกประการหนึ่งคือสภาพความแตกต่างของความเข้มข้นของสารละลายภาพในและภายนอกเซลล์ (Tonicity) พบว่าในบางกรณีหากมีน้ำทะเลปนกับเลือดหรือขั้นตอนการคงสภาพเซลล์เม็ดเลือดไม่ดีอาจพบปัญหาเซลล์เม็ดเลือดเหี่ยว บวม หรือแตกได้ ดังนั้นในการทดลองในสัตว์ทะเลอื่น ควรทำการปรับสภาพเพื่อให้ได้สารละลายที่เหมาะสมสัยก่อนการศึกษาลักษณะของเม็ดเลือด

3.2 การกระจายตัวของเม็ดเลือดภายในเนื้อเยื่อของหอยตะโกรมกรามดำ

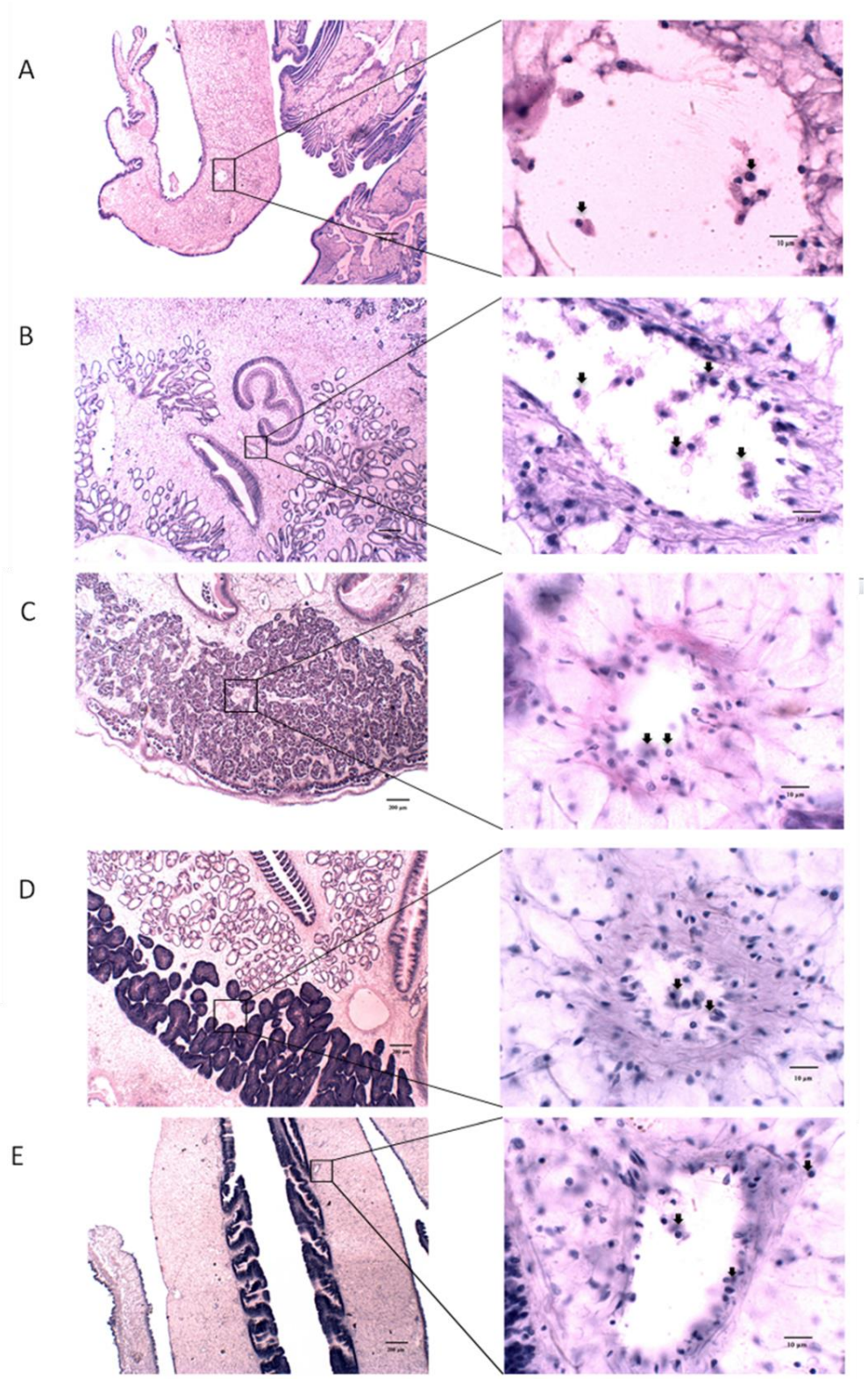
จากการศึกษาเซลล์เม็ดเลือดภายในอวัยวะต่าง ๆ ของหอยตะโกรมกรามดำ พบว่าสามารถพบเม็ดเลือดได้ทั่วไปทั้งในห้องหัวใจ เส้นเลือด และแอ่งเลือด ในอวัยวะต่าง ๆ ทั่วร่างกาย เนื่องจากหอยนางรมมีระบบเลือดแบบเปิด เลือดที่ออกจากหัวใจจะไหลไปตามเส้นเลือดเออร์ตาและแตกแขนงเข้าสู่เส้นเลือดอาร์เตอรีก่อนที่จะเข้าสู่แอ่งเลือดเพื่อไปเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ จากนั้นจะถูกส่งไปแลกเปลี่ยนก๊าซบริเวณเหงือกและแมนเทิลก่อนที่จะไหลกลับเข้าสู่หัวใจ ซึ่งหัวใจของหอยนางรมมี 3 ห้อง คือห้องรับเลือด (atrium) 2 ห้อง ทำหน้าที่รับเลือดที่ฟอกแล้วกลับเข้าสู่หัวใจแล้วส่งตัวไปยังห้องเวนทริเคิล (ventricle) ซึ่งมีหนึ่งห้อง จากนั้นเลือดจะถูกสูบฉีดออกไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกายเป็นวัฏจักรต่อไป ดังนั้นจึงสามารถพบเม็ดเลือดได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั้งในหลอดเลือดและแอ่งเลือด ข้อแตกต่างระหว่างหลอดเลือดและแอ่งเลือด คือ ในหลอดเลือดจะพบผนังเส้นเลือดที่มีเซลล์กล้ามเนื้อล้อมรอบ ดังแสดงในภาพที่ 3C และ 3D ซึ่งเป็นเส้นเลือดที่พบในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย และเพศผู้ ตามลำดับ ส่วนแอ่งเลือดจะไม่พบเซลล์กล้ามเนื้อล้อมรอบแอ่งพบเพียงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันล้อมรอบแอ่ง ดังแสดงในภาพที่ 3A, 3B และ 3E ซึ่งเป็นแอ่งเลือดที่พบได้ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของแมนเทิล ระบบทางเดินอาหาร และแผ่นปาก (Labial palps) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นเลือดและแอ่งเลือดทั่วไปในทุกอวัยวะที่ทำการศึกษา

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าเม็ดเลือดที่พบในระบบลำเลียงเลือดของหอยนางรมมีความหลากหลาย สามารถจำแนกได้หลายชนิด เซลล์เม็ดเลือดที่มีความแตกต่างกันนี้อาจมีหน้าที่แตกต่างกันด้วย จากการศึกษาหน้าที่ของเม็ดเลือดในหอยสองฝามีรายงานว่าเม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลภายใน (Granulocyte) สามารถทำหน้าที่กำจัดเซลล์แบคทีเรียโดยการกลืนกิน (phagocytosis) ได้ ดังนั้นเม็ดเลือดที่พบในหอยสองฝาจึงน่าจะทำหน้าที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันด้วย (Aladaileh *et al*., 2007; Prado-Alvarez *et al*., 2012) ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาหน้าที่ของเม็ดเลือดแต่ละชนิดที่พบในหอยสองฝาต่อไปในอนาคต ทั้งในแง่สรีรวิทยาของเม็ดเลือดในหอยสองฝา และการใช้ประโยชน์ด้านการศึกษาพิษวิทยาของสารพิษในสิ่งแวดล้อมทางทะเลโดยอาจใช้ลักษณะความผิดปกติของเม็ดเลือดร่วมกับการพิจารณาด้านอื่น ๆ ด้วย ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไปในอนาคต



ภาพที่ 1 ลักษณะเม็ดเลือดของหอยตะโกรมกรามดำ *Crassostrea iredalie*

A. เม็ดเลือดที่พบในช่องหัวใจของหอยโดยใช้เทคนิคมิญชวิทยา กำลังขยาย 40 เท่า B. ลักษณะของเม็ดเลือดที่พบทั้ง 4 แบบ ที่เตรียมโดยใช้น้ำยาคงสภาพและการย้อมสี กำลังขยาย 1000 เท่า (AG1 คือ Agranulocyte 1, AG2 คือ Agranulocyte 2, G1 คือ Granulocyte 1, G2 คือ Granulocyte)



ภาพที่ 2 เม็ดเลือดที่พบในอวัยวะต่าง ๆ ของหอยตะโกรมกรามดำ

A. เนื้อเยื่อแมนเทิล (mantle) B. เนื้อเยื่อบริเวณทางเดินอาหาร C. เนื้อเยื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเพศผู้ D. เนื้อเยื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของเพศเมีย E. เนื้อเยื่อแผ่นปาก (labial palps) ภาพด้านซ้ายกำลังขยาย 40 เท่า ภาพด้านขวากำลังขยาย 1000 เท่า

4. สรุปผลการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้จึงสามารถจำแนกเซลล์เม็ดเลือดที่พบในหอยตะโกรมกรามดำได้ 4 แบบ ได้แก่ ชนิดที่ 1 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่ไม่มีแกรนูลและมีไซโทพลาซึมน้อย (Agranulocyte 1; AG1) ชนิดที่ 2 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่ไม่มีแกรนูลและมีไซโทพลาซึมมาก (Agranulocyte 2; AG2) ชนิดที่ 3 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลมากและมีไซโทพลาซึมน้อย (Granulocyte 1; G1) และชนิดที่ 4 เซลล์เม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลมากมีและมีไซโทพลาซึมมาก (Granulocyte 2; G2) สามารถพบเม็ดเลือดชนิดต่างๆ กระจายทั่วไปตามเส้นเลือดและแอ่งเลือดของอวัยวะต่าง ๆ ทั่วร่างกาย

5. กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

6. เอกสารอ้างอิง

Aladaileh, S., Niar, S. V., Birch, D., Raftos, D. A., (2007). Sydney rock oyster (*Saccostrea glomerata*) hemocytes: Morphology and function. *Journal of Invertebrate Pathology, 96*, 48-63.

Cheng, T.C. (1981). Bivalves. In: N.A.R.A.R. editor. *Invertebrate blood cells.* Acad. Press, London, UK, pp. 223-300.

Cheng, W., Hsiao, I.-S., Chen, J.-C. (2004). Effect of nitrite on immune response of Taiwan abalone *Haliotis diversicolor* supertexta and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus*. *Diseases of Aquatic Organisms, 60,* 157-164.

Cima, F., Matozzo, V., Marin, M.G., Ballarin, L. (2000). Haemocytes of the clam *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850): morphofunctional characterisation. *Fish Shellfish Immunology, 10*, 677–693.

Donaghy, L., Lambert, C., Choi, K.S., Soudant, P. (2009). Hemocytes of the carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) and the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*): Current knowledge and future prospects. *Aquaculture, 297*, 10-24.

Hine, P.M., (1999). The inter-relationships of bivalve haemocytes. *Fish Shellfish Immunology, 9*, 367–385.

Hong, H.K., Kang, H.S., Le, T.C., Choi, K.S. (2013). Comparative study on the hemocytes of subtropical oysters *Saccostrea kegaki* (Torigoe & Inaba, 1981), *Ostrea circumpicta* (Pilsbry, 1904), and *Hyotissa hyotis* (Linnaeus, 1758) in Jeju Island, Korea: Morphology and functional aspects. *Fish Shellfish Immunology, 35*, 2020-2025.

Kan-atireklap, S., Tanabe, S., Sanguansin, J., Tabucanon, M.S., Hungspreugs, M., (1997). Contamination by butyltin compounds and organochlorine residues in green mussel (*Perna viridis*, L.) from Thailand coastal waters. *Environmental Pollution*, *97*, 79-89.

Kingtong, S., Chitramvong, Y., Janvilisri, T. (2007). ATP-binding cassette multidrug transporters in Indian-rock oyster *Saccostrea forskali*

Kingtong, S., Chitramvong, Y. and Janvilisri, T. (2007). ATP-binding cassette multidrug transporters in Indian-rock oyster *Saccostrea forskali* and their role in the export of an environmental organic pollutant tributyltin. *Aquatic Toxicology*, *85*, 124-132.

Prado-Alvarez, M., Romero, A., Balseiro, P., Dios, S., Novoa, B., Figueras, A. (2012). Morphological characterization and functional immune response of the carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) haemocytes after bacterial stimulation. *Fish & Shellfish Immunology*, *32*, 69-78.

Zhang, W., Wu, X., Wang, M. (2006). Morphological, structural, and functional characterization of the haemocytes of the scallop, *Argopecten irradians. Aquaculture, 251*, 19-32.