สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของโรคท้องบวมในม้าน้ำ *Hipocampus kuda* (Bleeker) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

100126

Histopathology of seahorse *Hippocampus kuda* (Bleeker) with swollen abdomen

ชั้นเฉพาะห้องศูนย์ข้อมูล
ภาคตะวันออก

โดย

สุขใจ รัตนยุวกร

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
พ.ศ. 2542

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของโรคท้องบวมในม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

โดย

สุขใจ รัตนยุวกร*

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ที่ปกติและเกิดโรคท้องบวมจากห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ นำไปผ่านขั้นตอนทางพาราฟินเทคนิค โดยตัดเนื้อเยื่อหนาประมาณ 6 ไมครอน และย้อมด้วยสี Harris hematoxylin and eosin พบว่า ม้าน้ำที่เกิดโรคท้องบวม ผิวหนังบริเวณถุงหน้าท้อง, ช่องท้อง, ดวงตา และปลายหาง มีลักษณะบวมพอง เมื่อเปิดช่องท้อง และถุงหน้าท้องพบว่าบริเวณเยื่อยึดผนังช่องท้อง และถุงหน้าท้องมีฟองอากาศจำนวนมากกระจายทั่วไป อวัยวะที่พบว่าเกิดความผิดปกติมีเนื้อเยื่อตาย และถูกทำลาย ได้แก่ ผิวหนัง, เหงือก, ตับ และไต

* สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี

Histopathology of seahorse *Hippocampus kuda* (Bleeker) with swollen abdomen

By

Sukjai Rattanayuvakorn*

Abstract

Normal and diseased seahorse *Hippocampus kuda* (Bleeker) with swollen abdomen were collected from the laboratory. They were processed by paraffin technique. Section were cut at 6 μm thickness and stained with Harris hematoxylin and eosin. The results indicated that the skin around male pouch, abodomen, eye and tail was swollen. Many bubbles were found in the pericadium and mesentery of the abdomen and pouch. The tissue of skin, gill, liver and kidney were severely damaged.

* Institute of Marine Science. Burapha University. Bangsaen, Chonburi. Thailand

สารบาญ

	หน้า
สารบาญ	(1)
สารบาญภาพ	(2)
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	8
สรุปผลการทดลอง	12
เอกสารอ้างอิง	13
ภาคผนวก ก	14
ภาคผนวก ข	17

สารบาญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. ลักษณะม้าน้ำปกติ 19
2. ลักษณะม้าน้ำที่เกิดโรคท้องบวม 19
3. ลักษณะม้าน้ำที่บวมบริเวณดวงตา 21
4. ลักษณะม้าน้ำที่บวมบริเวณปลายหาง 21
5. ถุงหน้าท้องที่เกิดฟองอากาศ 23
6. ช่องท้องและถุงหน้าท้องอวัยวะภายในในม้าน้ำ 23
7. ลักษณะผิวหนังของม้าน้ำปกติ กำลังขยาย 75 เท่า 25
8. ลักษณะผิวหนังของม้าน้ำผิดปกติ กำลังขยาย 75 เท่า 25
9. ลักษณะผิวหนังของม้าน้ำปกติ กำลังขยาย 150 เท่า 27
10. ลักษณะผิวหนังของม้าน้ำผิดปกติ กำลังขยาย 150 เท่า 27
11. ลักษณะผิวหนังของม้าน้ำปกติ กำลังขยาย 750 เท่า 29
12. ลักษณะผิวหนังของม้าน้ำผิดปกติ กำลังขยาย 750 เท่า 29
13. ลักษณะเหงือกของม้าน้ำปกติ กำลังขยาย 150 เท่า 31
14. ลักษณะเหงือกของม้าน้ำผิดปกติ กำลังขยาย 150 เท่า 31
15. ลักษณะเหงือกของม้าน้ำปกติ กำลังขยาย 300 เท่า 33
16. ลักษณะเหงือกของม้าน้ำผิดปกติ กำลังขยาย 300 เท่า 33
17. ลักษณะเหงือกของม้าน้ำปกติ กำลังขยาย 750 เท่า 35
18. ลักษณะเหงือกของม้าน้ำผิดปกติ กำลังขยาย 750 เท่า 35
19. ลักษณะของตับปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 150 เท่า 37
20. ลักษณะของตับผิดปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 150 เท่า 37
21. ลักษณะของตับปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 300 เท่า 39
22. ลักษณะของตับผิดปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 300 เท่า 39
23. ลักษณะของตับปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 750 เท่า 41
24. ลักษณะของตับผิดปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 750 เท่า 41
25. ลักษณะของไตปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 300 เท่า 43
26. ลักษณะของไตผิดปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 300 เท่า 43
27. ลักษณะของตับปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 750 เท่า 45
28. ลักษณะของตับผิดปกติของม้าน้ำ กำลังขยาย 750 เท่า 45

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ศ.ดร. มาลียา เครือตาชู ที่สละเวลาอันมีค่ากรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่อง ให้งานวิจัยเล่มนี้ถูกต้อง และสำเร็จได้

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ของมหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2539 ข้าพเจ้าขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ และขอบคุณเจ้าหน้าที่สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของโรคท้องบวมในม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

Histopathology of seahorse *Hippocampus kuda* (Bleeker) with swollen abdomen

บทนำ

ม้าน้ำเป็นสัตว์ทะเลที่รู้จักกันดี และรู้จักกันมานาน เป็นสัตว์ที่น่าสนใจมักทำความตื่นเต้นให้กับผู้พบเห็นอยู่เสมอเนื่องจาก ม้าน้ำเป็นปลากระดูกแข็งชนิดหนึ่งที่มีรูปร่างแปลกและสวยงามไม่เหมือนกับปลาทั่วๆ ไป ม้าน้ำมีส่วนหัว และปากยื่นยาวคล้ายม้า ซึ่งเป็นที่มาของชื่อม้าน้ำ มีถุงหน้าท้องในเพศผู้สำหรับ ตัวอ่อนคล้ายกับจิงโจ้ มีปลายหางที่แข็งแรงช่วยในการเคลื่อนไหว ทรงตัว และเกาะจับกิ่งไม้เหมือนกับลิง มีโครงกระดูกอยู่ภายนอกร่างกายเหมือนกับแมลง มีดวงตาที่มีลักษณะโปนยื่นออกมา และเป็นอิสระต่อกัน สามารถมองเห็นได้รอบทิศทางเหมือนจิ้งจก จากลักษณะเช่นนี้ เป็นผลทำให้มีการนำไปประดับในตู้ปลา เพื่อความสวยงาม นอกจากนี้ ทวี และคณะ (2529) รายงานว่ามีการนำม้าน้ำไปใช้ทำยารักษาโรคต่างๆ ได้อีกด้วย จึงเป็นผลให้ประชากรม้าน้ำมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็ว เจริญเติบโตไม่ทันนอกจากนี้คุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสมในการดำรงชีวิตของม้าน้ำวัยอ่อนก็มีส่วนในการทำให้ประชากรม้าน้ำลดลง และอาจสูญพันธุ์ไปได้ในอนาคต ถ้าหากไม่มีการอนุรักษ์ และเพาะเลี้ยงกันอย่างจริงจัง อย่างไรก็ตามสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลได้พยายามศึกษาถึงการเพาะเลี้ยง มีการอนุบาลม้าน้ำในห้องปฏิบัติการได้ และพยายามจะขยายพันธุ์เพื่อปล่อยสู่ธรรมชาติ และผลักดันให้เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจตัวใหม่ของไทย จากประสบการณ์ในการเพาะเลี้ยงนั้น ปัญหาที่เกิดขึ้นและพบเป็นจำนวนมากคือ การเกิดโรคท้องบวมในม้าน้ำ ทำให้ผลกระทบในการทำงานเพาะเลี้ยง และขยายพันธุ์ เกิดผลไม่ดีเท่าที่ควร

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ทราบลักษณะอาการของโรคท้องบวมที่เป็นอันตรายกับม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker)
2. เพื่อให้ทราบลักษณะทางจุลกายวิภาคของโรคท้องบวมเปรียบเทียบกับอวัยวะปกติของม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker)
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานของการหาแนวทางในการป้องกันและรักษา
4. เป็นข้อมูลสนับสนุนการศึกษา และป้องกันการเพาะเลี้ยง และขยายพันธุ์ม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ต่อไป

การตรวจเอกสาร

ม้าน้ำ (seahorse) เป็นปลากระดูกแข็งชนิดหนึ่งที่มีรูปร่างประหลาดไม่เหมือนปลาทั่วไป ม้าน้ำ จัดอยู่ในครอบครัว Synganthide ในสกุล Hippocampus ม้าน้ำทั่วโลกพบประมาณ 50 ชนิด (Straughan, 1961) สำหรับในประเทศไทย และบริเวณน่านน้ำใกล้เคียงเท่าที่พบมีประมาณ 5 ชนิด คือ *H. abdominalis*, *H. trimaculatus*, *H. histrix*, *H. spinossissimus*, *H. kuda* ในสาธารณะประชาชนจีนพบม้าน้ำหลายชนิดเช่นกัน เช่น *H. kuda*, *H. japonicus*, *H. trimaculatus*, *H. histrix* (Chen Jia Xin, 2533) ที่มีมากที่สุดได้แก่ *H. kuda* สำหรับม้าน้ำที่นิยมเลี้ยงกันในต่างประเทศ เช่น ในสหรัฐอเมริกา หรือในยุโรป มักจะเป็นม้าน้ำขนาดใหญ่ คือ *H. hudsonius* ม้าน้ำชนิดนี้มีลำตัวยาวประมาณ 8 นิ้ว และม้าน้ำแคระ คือ *H. zosterae* ซึ่งมีความยาวเพียง 1-2 นิ้วเท่านั้น (ทวี และคณะ, 2529) ลักษณะทั่วไปของม้าน้ำมีส่วนหัว และปากยื่นยาวมีดวงตาที่สามารถชำเลืองได้รอบทิศทาง มีเหงือกเรียงเป็นกระจุก เกล็ดที่ปกคลุมร่างกายเปลี่ยนแปลงไปเป็นเกราะ หรือแผ่นกระดูก ไม่มีครีบหาง แต่มีหางที่แข็งแรงสำหรับยึดเกาะ และช่วยในการทรงตัว สีตัวของม้าน้ำที่พบในธรรมชาติโดยทั่วไปมีสีดำ แต่บางครั้งจะพบม้าน้ำมีสีเขียว, เหลือง, น้ำตาล, แดงสด, หรือสีอื่นๆ สีของม้าน้ำอาจเปลี่ยนแปลงไปตามสิ่งแวดล้อม เป็นการปรับสีลำตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีเพื่อเป็นการอำพรางศัตรูที่จะเข้ามาทำอันตราย และการปรับสีนั้นต้องใช้เวลาหลายชั่วโมงขึ้นอยู่กับอารมย์ และปริมาณของแสงอีกด้วย ม้าน้ำเป็นสัตว์ที่กินอาหารเก่ง ม้าน้ำตัวหนึ่งอาจกินไรน้ำเค็ม (artemia) วันละ 3,000-4,000 ตัว สุรพล และณัฐวุฒิ (2536) ศึกษาการเปรียบเทียบอาหาร 3 ชนิด ในการอนุบาลม้าน้ำวัยอ่อนพบว่า ลูกกุ้งแชบ๊วยทำให้มีอัตราการรอดของลูกม้าน้ำได้ดีกว่าไรน้ำเค็ม และแพลงก์ตอนซึ่งสอดคล้องกับ Chen Jia Xin (2533) กล่าวว่าอาหารที่เป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงปลาม้าน้ำให้เจริญเติบโตได้ดี คือ ตัวอ่อนของกุ้งเล็กๆ และสัตว์ในกลุ่มเดียวกัน Stephens และ Dundton (1976) กล่าวว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยงม้าน้ำจะอยู่ในช่วง 26 องศาเซลเซียส และอย่าปล่อยให้อุณหภูมิสูงขึ้นกว่า 32 องศาเซลเซียส หรือลดลงต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส วัยเจริญพันธุ์ของม้าน้ำขึ้นกับชนิด และอุณหภูมิของน้ำ, โภชนาการและสิ่งแวดล้อม ม้าน้ำในประเทศไทยเมื่อมีอายุประมาณ 1 ปี ก็พร้อมจะทำการผสมพันธุ์ แต่ม้าน้ำในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนมีอายุเพียง 100 วัน ก็สามารถผสมพันธุ์ได้แล้ว ม้าน้ำแต่ละชนิดจะมีช่วงเวลาในการผสมพันธุ์นั้นแตกต่างกัน ม้าน้ำเมื่อโตเต็มวัยจะมีขนาดลำตัวยาวประมาณ 12-14 เซนติเมตร

ในห้องปฏิบัติการของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล ได้มีการทดลอง ศึกษาค้นคว้าเทคนิควิธีการเลี้ยงม้าน้ำเป็นเวลาช้านาน ปัญหาที่เราพบ และเป็นอุปสรรคในการทำงานเพาะเลี้ยง และอนุบาล, ขยายพันธุ์ม้าน้ำก็คือ การเกิดอาการท้องบวม ทำให้ม้าน้ำลอยน้ำตลอดเวลา จนผิวหนังบริเวณที่บวมเปื่อยเน่า ทำให้ม้าน้ำตายได้ในเวลา 2-3 วัน จากอาการดังกล่าวทำให้ผลผลิตม้าน้ำที่ได้ลดจำนวนลง การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของโรคท้องบวมในม้าน้ำ

Hippocampus kuda (Bleeker) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ดังกล่าว จะทำให้ได้ข้อมูลด้านโรคมากขึ้น และเป็นพื้นฐานของข้อมูลในการทำงานด้านโรค และค้นคว้าเพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงม้าน้ำให้สมบูรณ์มากขึ้น

จากการตรวจค้นเอกสารไม่พบการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับม้าน้ำเท่าใดนัก คงมีเพียงแต่การศึกษาในเรื่องการเพาะเลี้ยง, การอนุบาลของม้าน้ำและลักษณะทางกายวิภาค และจุลกายวิภาคของปลากระดูกแข็งเท่านั้น แต่ก็สามารถนำมาเป็นข้อมูลได้บ้างบางส่วน เพื่อนำมาเป็นแนวทางสำคัญในการเปรียบเทียบ

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะที่ปกติ อวัยวะปกติที่นำมาใช้เปรียบเทียบลักษณะเมื่อเกิดโรค เช่น ผิวหนัง, เหงือก, ตับ, ไต

ผิวหนัง (Skin)

ผิวหนังคือส่วนที่ทำหน้าที่ปกคลุมร่างกาย สามารถแบ่งออกได้เป็น 6 ชั้นย่อย ได้แก่

1. ชั้น cuticle เป็นกลุ่มของเซลล์ชั้นนอกสุด ที่ถูกสร้างมาจากกลุ่มเซลล์ทรงสูง (columnar cells) มักเป็นชั้นเซลล์ที่ไม่มีชีวิต มีความแข็งแรง เหนียว และทนทานบางชนิดเป็นเคอราติน หรือบางชนิดเป็นไคติน ส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกไคติน ซึ่งมีองค์ประกอบของแคลเซียม และพบในกลุ่มของสัตว์น้ำที่สามารถลอกคราบได้ เช่น ปู, กุ้ง แต่ในปลาไม่พบชั้นนี้

2. ชั้น epidermis มักประกอบไปด้วยเซลล์หลายชั้น ถ้าจัดเรียงตัวจากชั้นล่างสุดขึ้นมาสามารถแบ่งชั้นย่อยๆ ได้อีก ดังนี้

- stratum germinativum เป็นเซลล์ชั้นล่างสุด เป็นเซลล์รูปทรงสูง และเมื่อเซลล์แบ่งตัว เซลล์เหล่านี้จะถูกดันให้ออกด้านนอก และเซลล์ที่ถูกดันออกมาจะเปลี่ยนรูปร่างจากเซลล์ทรงสูงมาเป็นเซลล์รูปทรงกลม และค่อยๆ แบนลงตามลำดับ

- transitional layer เป็นชั้นถัดขึ้นไป รูปร่างของเซลล์จะเป็นทรงกลม หรือรูปเหลี่ยม และจะเริ่มแบนเป็นรูปไข่

- stratum cornium เป็นชั้นนอกสุด เซลล์มีลักษณะแบน และไม่มีนิวเคลียส จากลักษณะของชั้นย่อยๆ ที่พบในชั้น epidermis ทำให้ทราบว่าเซลล์เยื่อบุผิวเป็นชนิด stratified squamous cells และจะพบเซลล์ goblet cell ซึ่งเป็น mucous secreting cell, pigment cell, granular cell, lymphocyte และ macrophage กระจายอยู่ทั่วไป

3. ชั้น basement membrane เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นบางๆ ที่เรียงตัวกันอย่างหนาแน่นแทรกระหว่างชั้น epidermis กับชั้น dermis และแยกทั้งสองชั้นได้อย่างชัดเจน

4. ชั้น dermis ส่วนใหญ่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อประสาน, มีกล้ามเนื้อ, เส้นประสาท, เส้นเลือด และต่อมต่างๆ เป็นองค์ประกอบ และมักพบ pigment cell และเกล็ด (scale) ในชั้นนี้ด้วย ชั้น dermis สามารถแบ่งออกเป็นชั้นย่อยๆ ได้แก่

- stratum spongiosum หรือ superficial layer ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อประสานที่เรียงตัวกันอย่างหลวมๆ

- stratum compactum หรือ deep layer เป็นกลุ่มเนื้อเยื่อประสานที่เรียงตัวกันอย่างหนาแน่น

5. ชั้น hypodermis ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวกันอย่างหลวมๆ มีเส้นประสาท, เส้นเลือด และเซลล์ไขมันเป็นองค์ประกอบ

6. ชั้น subcutaneous muscle ประกอบไปด้วยชั้นกล้ามเนื้อเป็นส่วนใหญ่ และมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันแทรกปะปนบ้างเล็กน้อย พบเส้นเลือดและเส้นประสาท กระจายอยู่ทั่วไป

ในส่วนของปลากระดูกแข็ง กรรณิกา (2527), Patt and Patt (1969) ได้แบ่งผิวหนังของปลากระดูกแข็งออกเป็น 2 ชั้นกว้างๆ ได้แก่ชั้น epidermis และชั้น dermis ชั้น epidermis จะบางกว่าชั้น dermis ความบางของชั้นผิวหนัง และลักษณะของเซลล์ในชั้น epidermis และชั้น dermis จะเป็นลักษณะเด่นที่สำคัญในการใช้แยกชนิดของปลาได้ และชั้นทั้งสองจะแยกออกจากกันได้ชัดเจนบริเวณ basement membrane

เหงือก (Gill)

ปลากระดูกแข็งโดยทั่วๆ ไปส่วนใหญ่หายใจด้วยเหงือกแต่ก็มีบางชนิดที่หายใจด้วยปอด ในที่นี้จะกล่าวถึงปลาที่หายใจด้วยเหงือกเท่านั้น เหงือกแต่ละอันมีลักษณะเป็น hemibranch แตกแขนงด้านเดียว ประกอบไปด้วย gill arch, gill filament, gill lamellae

gill arch มีลักษณะเป็นแกนกระดูก ในปลาวัยอ่อนจะพบว่าอาจเป็นกระดูกอ่อน แต่เมื่อมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนแปลงกลายเป็นกระดูกแข็งได้ โดยปกติของปลาทั่วๆ ไป gill arch มักมี 5 คู่ และมี 4 คู่ที่มี gill filament อยู่ แต่จะมี 1 คู่ ที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นช่องปากของทางเดินหายใจอาหารเป็นพวก pharyngeal bone และไม่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับทางเดินหายใจ

gill filament เป็นแขนงที่ยื่นออกมาจาก gill arch โดยบริเวณส่วนฐานของ gill filament จะมี gill septa ซึ่งมีกล้ามเนื้อลายเป็นส่วนประกอบ ทำหน้าที่ยึด gill filament ให้ติดกับ gill arch กล้ามเนื้อลายบริเวณนี้ทำหน้าที่ให้เหงือกเคลื่อนไหวได้ บริเวณ gill filament อาจพบกระดูกอ่อนช่วยค้ำจุลอยู่ พบว่าเยื่อบุผิวของ gill filament เป็นชนิด stratified squamous epithelium ซึ่งบางที่อาจพบ goblet cell แทรกบ้างจำนวนเล็กน้อยที่บริเวณขอบๆ

gill lamellae เป็นแขนงที่ยื่นออกจาก gill filament บริเวณนี้เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซ เยื่อบุผิวของ gill lamellae เป็น respiratory epithelium ทำหน้าที่แพร่ก๊าซ โดยก๊าซออกซิเจน จะเข้าสู่กระแสเลือด ส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในร่างกายจะถูกดันออกไปสู่น้ำภายนอกร่างกาย เยื่อบุผิวของ gill lamellae เป็นชนิด simple squamous หรือ simple low columnar ไซโทพลาซึมของเซลล์เยื่อบุผิวนี้จะมีจำนวนน้อยมากภายใน gill lamellae จะมี capilary ขนาดเล็กๆ มักเป็นเยื่อบุผิวแบบเพียงเซลล์เดียว capilary เหล่านี้จะเชื่อมต่อกันภายใน gill lamellae โดยมี supporting cell หรือ pillar cell ที่เปลี่ยนแปลงมาจาก respriratory epithelium ช่วยในการยึดจับ (กรรณิกา, 2529)

Roberts (1978) กล่าวว่า pillar cell จะทำหน้าที่สำคัญ ดังนี้

1. การแลกเปลี่ยนก๊าซ
2. การควบคุมของเหลวในร่างกาย และแลกเปลี่ยน ions
3. และเกี่ยวข้องกับความดันในการหมุนเวียนของเลือด

กรรณิกา (2529) กล่าวว่า เหงือกของปลากระดูกแข็งที่พบในทะเลบางชนิดจะมีเซลล์พิเศษที่ทำหน้าที่ขับเกลือคลอไรด์ออกจากเซลล์ เราเรียกว่า chloride cell หรือ acidophilic cell มักพบเซลล์ชนิดนี้บริเวณฐานของ gill lamellae เซลล์ชนิดนี้จะเป็นเซลล์ทรงสูง และติดสีกรดได้ดี ถ้าย้อมสี H + E จะพบว่าจะมีสีส้มแดงของ eosin ชัดเจน ถ้าดูจากกล้อง electron microscope พบว่าภายในเซลล์มี mitochondria และ smooth endoplasmic reticulum เป็นจำนวนมาก บางครั้งที่ผิวของเซลล์อาจพบผลึกของเกลือที่พร้อมจะถูกขับออกได้ โดยขบวนการ osmoregulation ของเซลล์ได้

ตับ (Liver)

ตับเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญ และเป็นต่อมที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในร่างกาย ในระยะตัวอ่อน ตับทำหน้าที่สร้างเม็ดเลือด และเมื่อโตเต็มที่ ตับจะมีหน้าที่หลักในการกำจัดของเสีย และสร้างน้ำดี, กำจัดสิ่งแปลกปลอม และทำลายสารพิษ

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของตับ พบว่าตับถูกหุ้มด้วย capsule ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อประสาน และเนื้อเยื่อประสานนี้จะแทรกเข้าไปใน parenchyma ทำให้ปลามีลักษณะเป็น lobular structure เซลล์ hepatic cell cord เห็นได้ชัดบริเวณรอบๆ ของตับ ตรงกลาง cord แต่ละอันเป็น bile canaliculus เซลล์ตับเป็นรูปปิรามิด หรือรูปหลายเหลี่ยม ปลายแคบจะหันเข้าทาง bile canaliculi เซลล์ hepatic cell cord จะมีนิวเคลียสกลม และมักมีนิวคลีโอลัส 1 อัน เซลล์ตับจะมีไขมันสะสมเป็นจำนวนมาก และมี vacuole มากมายในไซโทพลาซึม และตำแหน่งของนิวเคลียสจะอยู่ใกล้กับ sinusoid มากกว่าใกล้กับ intercellular bile conaliculi เซลล์ตับจะแยก lumen ของ sinusoids ออกจาก lumen ของ bile canals และพบ reticuloendothelial cell บุ sinusoid ด้วย น้ำดีที่สร้างออกจากเซลล์ตับจะเข้าสู่ bile canaliculi และรวมกันเป็น bile duct ต่อมาจะรวมกับ hepatic duct ออกจากตับ และเปิดเข้าสู่ duodenum ผนังของ bile duct และ hepatic duct บุด้วย simple columnar epithelium และในตับของปลาบางชนิด จะพบว่ามี pancreatic tissue แทรกเข้าไปในเนื้อตับ โดยจะพบตามแขนงของ portal vein เนื้อเยื่อเหล่านี้จึงรวมกันเรียกว่า hepatopancreas

ไต (Kidney)

ไตของปลากระดูกแข็งมีความแตกต่างกัน บางชนิดเป็นรูปยาวหรืออาจเป็นแบบ compact บางชนิดมีท่อไตยาว และขดกันแน่น บางพวกก็มีท่อไตสั้น ปลากระดูกแข็งที่อยู่ในทะเลหลายชนิด มี glomeruli เล็ก หรืออาจไม่มี glomeruli พวกนี้จะมีความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพ hypertonic ของน้ำทะเลได้ดี น้ำจะถูกสงวนไว้โดยวิธีการดูดกลับ พวกปลาที่ไม่มี

glomerulus จะมีการขับถ่ายของเสียสู่ renal tubule โครงสร้างของไตประกอบด้วย renal corpuscle และ renal tubule

renal corpuscle ประกอบด้วย glomerulus และ Bowman's capsule

renal tubule ประกอบด้วย

- neck segment มีผนังบางบุด้วย cuboidal epithelium บางเซลล์พบว่ามี cillia
- proximal segment ผนังเป็น low columnar และมี brush border อยู่ขอบบนของเซลล์ proximal segment เป็น renal tubule ที่ยาวกว่าอื่นๆ
- Distal segment ผนังบุด้วย cuboidal epithelium ไม่พบ brush border
- Collecting duct บุด้วย tall columnar cell ไม่พบ brush border เช่นกัน ไตของปลากระดูกแข็งพบว่ามี lymphoid กระจายทั่วไป (กรรณิกา, 2527) (Patt and Patt, 1969) (Andrew and Hickman, 1974)

จากการตรวจเอกสารข้อมูลทางด้านโรค พบว่า ข้อมูลที่พบมักจะกล่าวถึงลักษณะ และสาเหตุของโรคโดยทั่วๆ ไป

Wong (1982) และ Vincent (1995) กล่าวว่า ม้าน้ำเป็นปลาที่มีความไวต่อการติดเชื้อค่อนข้างมาก สาเหตุส่วนใหญ่ของการติดเชื้อในม้าน้ำมาจากโปรโตซัว, แบคทีเรีย และกลุ่มซีเลนเทอเรตบางชนิด โปรโตซัว และซีเลนเทอเรตเป็นกลุ่มของพาราไซท์ภายนอกที่เกาะตามผิวหนัง และเหงือก และจะพบบ่อยในม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) และ *Hippocampus trimaculatus* ส่วนการติดเชื้อของแบคทีเรียมักติดเชื้อบริเวณทางเดินอาหาร และเป็นสาเหตุที่สำคัญทำให้ม้าน้ำไม่กินอาหาร และเกิดอาการท้องบวม

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของโรคในปลาพบว่า บริเวณผิวหน้าของปลาเมื่อเกิดอาการติดเชื้อหรือพบบาดแผลมักพบว่าบริเวณ goblet cell และ club cell มีการอักเสบและเกิดการบวมน้ำ และเนื้อเยื่อบริเวณชั้น epidermis เน่าเปื่อย pigment cell มีการเคลื่อนที่ไป อาการอักเสบและตกเลือดทำให้พบเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophill และเมื่อเกิดอาการเรื้อรังจะพบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ถ้ามีอาการระคายเคืองเรื้อรัง พบว่าชั้น epidermis จะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น ผิวหนังเมื่อติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Aromonas หรือ Vibrio จะทำให้เกิดรอยแผลเน่าเปื่อย บริเวณเหงือก อาการที่พบคือ มีการสูญเสีย epithelium ของ gill lamellae เส้นเลือดโป่งพอง และเมื่อมีอาการเรื้อรังเซลล์จะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว และบางครั้งอาจเกิดการบวมน้ำด้วยในตับ อาการที่พบคือ มีการตกเลือดและเกิดเนื้องอกขนาดเล็กที่ตับ บางครั้งมีการติดเชื้อตามแนวของ hepatocyte บริเวณไต เมื่อเกิดโรคมักพบว่า มีหินปูนจับตัวที่เนื้อเยื่อไต บางครั้งพบว่าไตมีการบวม ตกเลือด อักเสบ และมีเนื้องอกที่ไต เซลล์ malanomacrophage หายไปทำให้ไตซีดได้ (Robert,1995)

อุปกรณ์และวิธีการ

นำม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ที่ปกติ และที่มีอาการท้องบวม จากห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ในส่วนงานเพาะเลี้ยง และขยายพันธุ์ม้าน้ำ ของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล โดยทำการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของม้าน้ำ โดยนำอวัยวะที่ต้องการและแสดงอาการผิดปกติ ได้แก่ ผิวหนัง, เหงือก, ตับ และไต จากนั้นนำไปแช่ในน้ำยาคงสภาพ Bouin's solution นานประมาณ 24-48 ชั่วโมง แล้วนำไปผ่านขบวนการทางพาราฟินเทคนิค (Luna, 1990) ด้วย Automatic Tissue Processer

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
1	70% alcohol	2-5
2	80% alcohol	1½
3	95% alcohol I	1½
4	95% alcohol II	1½
5	100% alcohol I	2
6	100% alcohol II	2
7	100% alcohol III	2
8	dioxane I	2
9	dioxane II	2
10	dioxane II	2
11	Paraplast I	2
12	Paraplast II	2

จากนั้นนำชิ้นเนื้อไปหล่อด้วยพาราพลาสต์ แล้วนำไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ (rotary microtome) ให้มีความหนาประมาณ 6 ไมครอน นำตัวอย่างที่ได้มาติดบนสไลด์ที่ทาด้วย egg-albumin adhensive แล้วนำไปย้อมสี Harris hematoxylin and Eosin (Luna, 1960) สไลด์ที่ผ่านขบวนการย้อมสีจะนำไปปิดด้วย cover glass และนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ต่อไป

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ได้ทำการศึกษาเทคนิคและวิธีการในการเพาะเลี้ยงอนุบาล และขยายพันธุ์ม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) เป็นเวลาช้านาน และได้ผลเป็นที่น่าพึงพอใจ แต่ปัญหาที่พบตามมา และพยายามศึกษา และทำการแก้ไข คือ ปัญหาการเกิดโรคในม้าน้ำ และโรคที่พบมากที่สุด คือ โรคท้องบวมในม้าน้ำ พบทั้งเพศผู้ และเพศเมีย แต่จะพบในเพศผู้มากกว่า เนื่องจากเมื่อเกิดอาการท้องบวม บริเวณถุงหน้าท้องจะพองชัดเจนมาก และเห็นได้ง่ายกว่าในเพศเมีย และสามารถทำการรักษาได้ทันท่วงที แต่ในเพศเมียบริเวณช่องท้องจะบวมพอง และแสดงอาการก็ต่อเมื่อติดเชื้อมากจนกระทั่งเกิดเป็นแผลเปื่อย หรือส่วนของไส้ตรง(rectum)ถูกดันออกมาทางทวารหนัก อาการที่พบมักจะรักษาได้ยากกว่า และทำให้ตายได้

สรุปอาการของโรคท้องบวมที่พบ

1. ม้าน้ำมีอาการเครียด กินอาหารน้อย และลอยตัวนิ่งๆ ใกล้ผิวน้ำบ่อยๆ
2. ช่องท้อง และถุงหน้าท้องพองโต โดยไม่ได้ตั้งท้อง
3. ม้วนตัวแน่น บิดหางไปมาม้วนไปด้านหน้า และด้านหลัง พยายามว่ายน้ำหาสิ่งยึดเกาะเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวลอยสู่ผิวน้ำ
4. มักพบลอยตัวขนานกับผิวน้ำ และพยายามว่ายน้ำเอาหัวลงเพื่อให้ทรงตัวได้
5. เมื่อช่องท้องและถุงหน้าท้องบวมมากๆ บางครั้งทำให้เกิดการบวมพองที่ปลายหางด้วย และเมื่อทิ้งไว้โดยไม่ทำการรักษา ผิวหนังบริเวณที่บวมพองเมื่อสัมผัสกับอากาศนานมาก ทำให้เกิดการอักเสบเป็นแผลเปื่อยเน่า และทำให้ม้าน้ำตายได้ในที่สุด (ภาพที่ 2, 3, 5, 6)

จากลักษณะอาการของโรคท้องบวมเมื่อศึกษาลักษณะทางกายวิภาค และจุลกายวิภาค พบว่า ลักษณะทางกายวิภาคที่ผิดปกติ ผิวหนังบริเวณช่องท้อง และตามลำตัวมีลักษณะบวมพองเห็นได้ชัดเจน บางครั้งทำให้เกิดการบวมที่ผนังรอบดวงตาด้วย (ภาพที่ 2, 3, 4) ลักษณะดังกล่าวเห็นได้ชัดเจน และแยกความแตกต่างจากม้าน้ำที่ปกติได้เลย (ภาพที่ 1) เมื่อเปิดช่องท้อง และถุงหน้าท้อง พบว่าบริเวณเยื่อยึดผนังช่องท้อง (pericadium) และเยื่อยึดบริเวณถุงหน้าท้อง (mesentery) จะมีฟองอากาศหลายขนาดกระจายอยู่ทั่วไป ลักษณะดังกล่าวจึงทำให้ผนังช่องท้องบวมได้ (ภาพที่ 5, 6) แต่ในตำแหน่งของอวัยวะอื่นๆ ไม่มีฟองอากาศให้เห็น หรือแสดงลักษณะผิดปกติ สีของผิวหนังบางครั้งเมื่อปล่อยทิ้งไว้นานๆ บริเวณที่บวมพอง จะเกิดอาการถลอกและกลายเป็นแผลเน่าเปื่อย ส่วนบริเวณเหงือก, ตับ และไต ยังคงมีสีปกติ มองภายนอกไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ ให้เห็น (ภาพที่ 6)

ลักษณะทางจุลกายวิภาคที่ผิดปกติ

อวัยวะที่เกิดความผิดปกติเมื่อม้าน้ำมีการเกิดโรค ได้แก่ ผิวหนัง, เหงือก, ตับ และไต อวัยวะดังกล่าวมักเป็นตำแหน่งที่เชื้อโรคมักเข้าไปทำลาย เช่นเดียวกับชนิดอื่น การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคที่เกิดโรคจะต้องทำการศึกษาเปรียบเทียบกับลักษณะที่ปกติของอวัยวะนั้นในตำแหน่งเดียวกัน เพื่อให้เห็นความแตกต่างที่ชัดเจน

ผิวหนัง (Skin)

ลักษณะของผิวหนังที่ปกติ (ภาพที่ 7, 9, 11) ผิวหนังคือส่วนที่ทำหน้าที่ปกคลุมร่างกาย และเป็นส่วนแรกที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอก ตลอดเวลา เมื่อเกิดความผิดปกติ หรือการติดเชื้อ บริเวณของผิวหนังจึงเป็นส่วนแรกของการสัมผัส

ผิวหนังของม้าน้ำที่ปกติ มีลักษณะคล้ายกับปลากระดูกแข็งที่มีเกล็ดทั่วๆ ไป กรรณิกา (2527), patt and Patt (1969) ประกอบไปด้วยชั้น epidermis และชั้น dermis ชั้น epidermis มีลักษณะอ่อนและบางกว่าชั้น dermis ความหนาบางของชั้นเหล่านี้ใช้แยกชนิดของปลาได้

1. ชั้น epidermis เป็นชั้นบางๆ ประกอบไปด้วยเซลล์หลายชั้น โดยชั้นล่างมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกยาว และค่อยๆ เปลี่ยนเป็นรูปหลายเหลี่ยมแบนลงเรื่อยๆ จนเซลล์ชั้นบนสุดมีรูปร่างแบนไม่พบ keratin หรือ cuticle ปกคลุมจะพบ unicellular mucous gland พวก goblet cell ขนาดใหญ่และมี จำนวนมากกระจายทั่วไป พบส่วนของเกล็ดเคลือบผิวด้านบนเป็นแผ่นเดียวหุ้มทั้งตัว (อาจ, ม.ป.ป)

2. ชั้น dermis ของม้าน้ำมีความหนามากกว่าชั้น epidermis มากทั้ง 2 ชั้น จะแยกจากกันชัดเจนที่บริเวณ basement membrane ซึ่งประกอบไปด้วย pigment cell ชนิด melanocyte เรียงตัวเป็นแนวยาว ชั้น dermis ประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวกันแน่น พบเส้นประสาทและเส้นเลือดขนาดเล็กๆ ในชั้นนี้เป็นชั้นของเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างเกล็ด ลักษณะของเกล็ดม้าน้ำจะเป็นเกล็ดเหลี่ยมหรือเกล็ดเคลือบ (ganoid scale) ที่เคลือบปกคลุมผิวเป็นแผ่นเดียวทั้งตัว ตัวเกล็ดไม่มีสี ลักษณะของเกล็ดคล้ายกับการเคลือบฟันที่มีฐานของเกล็ดกลมฝังในชั้น dermis ส่วนบนของฐานมีลักษณะเป็นหนามแหลมยกสูงขึ้น เคลือบไปบนผิวหนังทุกส่วนของลำตัว

ผิวหนังของม้าน้ำเมื่อเกิดโรคท้องบวม (ภาพที่ 8, 10, 12) ในชั้น epidermis พบว่าเกล็ดที่ปกคลุม และ unicellular mucus gland ชนิด goblet cell ที่พบลดจำนวนลงหรือหลุดหายไป ในตำแหน่งของผิวหนังที่เป็นแผลเปื่อยพบว่าชั้น epidermis ลอกหลุดหายไป ในชั้น dermis ที่บริเวณชั้น basement membrane การสะสมของ melanocyte มากขึ้นไปในบางบริเวณแต่บางบริเวณมีจำนวนลดลง ไม่สม่ำเสมอเหมือนปกติ และบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในชั้นนี้พบว่าเซลล์มีจำนวนลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัด มีการสูญเสียเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันไปทำให้พบเห็นแต่ collagen fiber ที่แตก และแยกออกจากกัน และเกาะเรียงตัวกันแบบหลวมๆ

เหงือก (Gill)

ลักษณะของเหงือกที่ปกติ (ภาพที่ 13, 15, 17) ของม้าน้ำเหมือนปลากระดูกแข็งโดยทั่วๆ ไป ซึ่งประกอบไปด้วย gill arch, gill filament และ gill lamellae ลักษณะทางกายวิภาคของเหงือกม้าน้ำแตกต่างจากปลากระดูกแข็งคือมีลักษณะเป็นพูคล้ายเครือกล้วย

gill arch เป็นแกนกระดูกที่ประกอบไปด้วยกระดูกอ่อน ชนิด hyalin cartilage และแตกแขนงให้ gill filament และ gill lamellae ในม้าน้ำ gill arch มี 5 คู่ คู่แรกจะติดบริเวณช่องปากของท่อทางเดินอาหารไม่พบ gill lamellae และอีก 4 คู่ จะเรียงตัวต่อขนานวัน และมี gill lamellae ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนก๊าซ gill filament เป็นแขนงของเหงือกที่เชื่อมต่อกับ gill arch พบเซลล์เยื่อบุผิวเป็นชนิด stratified squamous epithelium พบ goblet cell บ้างแต่ไม่มากนัก

gill lamellae เป็นส่วนที่ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนก๊าซโดยตรงกับน้ำ เซลล์เยื่อบุผิวเป็นชนิด simple squamous epithelium ภายในพบหลอดเลือดฝอย (capilary) ขนาดเล็กๆ เชื่อมต่อกันโดยมี supporting cell หรือ pillar cell ช่วยในการเชื่อมต่อและยึดจับลักษณะของ supporting cell หรือ pillar cell จะอยู่ระหว่าง capilary เซลล์มีขนาดเล็ก และนิวเคลียส์ก็มีขนาดเล็กด้วย มักเรียงตัวขวางเชื่อมอยู่ลักษณะแตกต่างของเซลล์เม็ดเลือดแดงชัดเจนในม้าน้ำ ซึ่งเป็นปลาทะเล จะพบเซลล์พิเศษ chloride cell หรือ acidophilic cell ที่ทำหน้าที่ขับเกลือคลอไรด์ออกจากเซลล์ และควบคุมสมดุลของอิออน ของเกลือในร่างกายปลา ลักษณะเด่นของเซลล์ chloride cell จะติดสีส้มแดงของ eosin ชัดเจน เนื่องจากมีความเป็นกรดสูง และพบว่าเป็น granular cell ด้วย จึงทำให้แยกได้ชัดเจน

ลักษณะเหงือกของม้าน้ำที่เกิดอาการท้องบวม (ภาพที่ 14, 16, 18) บริเวณ gill filament พบเซลล์มีการตาย (necrosis) และสูญเสียไป อาการที่พบบริเวณ gill filament แสดงอาการให้พบได้ไม่ชัดเจนเท่าบริเวณ gill lamellae เพราะบริเวณนี้เป็นบริเวณที่สัมผัสกับน้ำและสิ่งแวดล้อม โดยตรง ความผิดปกติที่พบบริเวณ gill lamellae พบว่า supporting cell หรือ pillar cell เกิดการบวม (edema) และเกิดการตายของเซลล์ (necrosis) และยังพบว่านิวเคลียสของเซลล์เหงือกมีการรวมตัวกันของโครมาตินทำให้นิวเคลียสหดตัวรวมกันเรียกว่า pycnotic nucleus ไซโทพลาซึมมีการรวมกันทำให้เห็นเซลล์มีสีเข้มขึ้น และไซโทพลาซึมสลายตัวทำให้เกิดเป็น vacuole ขนาดใหญ่ภายในเซลล์

ตับ (Liver)

ตับเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่หลักในการกำจัดของเสีย, กำจัดสิ่งแปลกปลอม และทำลายสารพิษ ฉะนั้นม้าน้ำที่มีอาการติดเชื้อโรค ตับจะถูกทำลายชัดเจนมาก

ลักษณะของตับปกติ (ภาพที่ 19, 21, 23) ม้าน้ำมี pancreatic tissue แทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อตับตามแขนงของ portal vein ซึ่งเราเรียกลักษณะแบบนี้ว่า hepatopancreas เป็นลักษณะที่พบมากในปลากระดูกแข็งทั่วไป ตับของม้าน้ำมี capsule หุ้มเป็นเยื่อบางๆ มี 2 lobe พบถุงน้ำดีขนาดใหญ่ ฝังตัวในเนื้อเยื่อตับ รูปร่างของตับคล้ายใบไม้ที่บิดหรือม้วนตัว เนื้อเยื่อ

ของเซลล์ตับประกอบไปด้วย hepatic cell ที่มีรูปร่าง ไม่แน่นอน อาจเป็นทรงกลม, ทรงปิรามิด หรือ ทรงสูง บริเวณไซโทพลาซึม มี vacuole ขนาดใหญ่จำนวนมากมาย นิวเคลียสกลมอยู่ติดกับขอบเซลล์ บริเวณตรงกลางของ lobule มี sinusoid ที่เป็นแอ่งเลือดขนาดเล็ก แทรกระหว่างเซลล์ตับ และ sinusoid จะรวมเชื่อมเข้ากับท่อ hepatic duct ที่ไฟเปิดเข้าสู่ duodenum บริเวณของ portal vein จะพบเนื้อเยื่อของตับอ่อน (pancreatic tissue) มารวมกลุ่ม และทำหน้าที่ร่วมกัน

ลักษณะของเซลล์ตับที่ผิดปกติ (ภาพที่ 20, 22, 24) พบว่าเกิด necrosis และแยกออกจากกันของ hepatic cell. เยื่อหุ้มเซลล์แตกออกไม่เห็นขอบเขตของเซลล์ชัดเจน และเกิด pycnotic nucleus ของนิวเคลียสที่มีโครมาติดหดรวมกันทำให้มองเห็นเป็นจุดหรือเป็นกลุ่มๆ ทำให้ไม่สามารถแยกเซลล์ตับออกเป็นแต่ละเซลล์ได้ แอ่งเลือดขนาดเล็กที่เรียกว่า sinusoid ก็หายไปและเกิดเป็นช่องว่างแทน เซลล์ degenerate หายไปหมด และบริเวณ pancreatic tissue รอบๆ portal vein ก็มีสีจางลง เนื่องจากเซลล์มี pigment cell น้อยลงไปด้วย

ไต (Kidney)

ไตของม้าน้ำเป็นท่อยาวตั้งแต่กึ่งกลางลำตัว ขนานไปกับแนวกระดูกสันหลังของปลา บริเวณส่วนปลายของไตจะเป็นก้อนโดยมีตำแหน่งอยู่ถัดจากถุงลมของม้าน้ำมาทางด้านล่าง บริเวณ coelom เรียกว่า opisthonephros เนื้อเยื่อไต ประกอบไปด้วย renal corpuscle กับ renal tubules

ลักษณะไตของม้าน้ำปกติ (ภาพ 25, 27) ไม่พบ renal corpuscle พบเพียง renal tubule ซึ่งเป็น ท่อขนาดต่างๆ ใหญ่ และเล็กกระจายอยู่ทั่วไป เยื่อบุผิวของ renal tublue เป็น cuboidal epithelium บางครั้งพบเป็น low columnar epithelium อาจพบ brush border หรือไม่ก็ได้ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบๆ ท่อจะประกอบไปด้วย hemopoietic tissue จำพวกเซลล์เม็ดเลือดแดง, เซลล์เม็ดเลือดขาว และ macrophage และพบ pigment cell กระจายอยู่ทั่วไปด้วย พบ opisthonephric duct เป็นท่อแทรกบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และทำหน้าที่เป็นทางออกของปัสสาวะ

ไตของปลาม้าน้ำที่ผิดปกติ (ภาพ 26, 28) พบว่าบริเวณ renal tubule เนื้อเยื่อเกิดการตาย (necrosis) เยื่อหุ้มเซลล์แตกทำให้ไม่พบ lumen ของท่อ บริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน พบ lymphatic tissue จำนวนมาก

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของโรคท้องบวมในม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ได้ทำการศึกษาม้าน้ำที่เกิดโรคท้องบวมไม่ว่ายน้ำ และลอยตัวอยู่เหนือผิวน้ำ เปรียบเทียบกับม้าน้ำปกติ โดยนำอวัยวะที่พบว่าแสดงอาการของโรค ได้แก่ ผิวหนัง, เหงือก, ตับ และไต ผลการทดลองพบว่า

ผิวหนัง

ผิวหนังของม้าน้ำเมื่อเกิดโรคท้องบวม ในชั้น epidermis พบว่าเกล็ดที่ปกคลุม และ goblet cell ลดจำนวนลง หรือหลุดลอกหายไป และเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันในชั้น dermis ลดจำนวนลง และ collagent fiber แตก และแยกออกจากกัน

เหงือก

บริเวณ gill filament และ gill lamellae พบเซลล์เกิด edema และ necrosis และพบว่านิวเคลียสของเซลล์เกิด pycnotic nucleus ภายในไซโทพลาสซึมเกิดเป็น vacuole ขนาดใหญ่

ตับ

ตับเกิด necrosis และมีการแยกออกจากกันของ hepatic cell เยื่อหุ้มเซลล์แตกออกทำให้ไม่เห็นขอบเขตของเซลล์ นิวเคลียสเกิด pycnotic nucleus ไม่พบ sinusoid ทำให้เนื้อเยื่อตับไม่สามารถแยกออกเป็นให้เห็นเป็นเซลล์เดี่ยวๆ ได้

ไต

บริเวณ renal tubule เกิด necrosis เยื่อหุ้มเซลล์แตกทำให้ไม่พบ lumen ของท่อ และบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันพบ lymphatic tissue จำนวนมาก

เอกสารอ้างอิง

กรรณิกา ชัชวาลวานิช. 2529. มิญชวิทยาเปรียบเทียบ. ภาควิชาสัตววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 371 น.

ทวี หอมชง, วนัดดา คมเวช และสาธิต โกวิทวที. 2529. การเลี้ยงม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ในห้องปฏิบัติการ. เอกสารงานวิจัยเลขที่ 19/2529. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล 16 หน้า.

สุรพล ฉลาดคิด และณัฐวุฒิ เหลืองอ่อน. 2536. การเปรียบเทียบชนิดของอาหาร และความเค็มที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของม้าน้ำวัยอ่อน *Hippocampus kuda* (Bleeker) เอกสารงานวิจัยเลขที่ 55/2536 สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล. 27 หน้า.

อาจ แจ่มเมฆ. กายวิภาคศาสตร์เปรียบเทียบของคอร์เดต. เอกสารประกอบการเรียนการสอน. ภาควิชาสัตววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 254 หน้า.

Andrew, W. and C.P. Hickman, 1974. Histology of the Vertebrates. The C.V. Mosby Company, Saint Louis.

Chen Jia Xin. 2533. สรุปย่อการเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเล 5 ชนิด ในสาธารณรัฐประชาชนจีน. เอกสารหมายเลข SF/WP/90/1, มิถุนายน โครงการฟาร์มทะเลองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ, RAS/90/002

Luna, L.G. 1960. Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology. 3d rd., McGraw- Hill Book Co., New York. 258 p.

Patt, D.I. and G.R. Patt. 1969. Comparative Vertebrate Histology. Harper Row, New York. 438 p.

Roberts, R.J. 1978. Fish Pathology. Bailliere Tindall. London. 318 p.

Roberts, R.J. 1995. Short Course on Fin-fish Histopathology. The Aquatic Animal Health Research Insititute, Department of Fisheries, Kasetsart University. Bangkok. Thailand. 98p.

Stephens, C. and D. Dunton. 1976. The Complete Homne aquarium Handbook, Saltwater Freshwater. Chilton Book Co., Radnor, Pennsylvania. 212 p.

Straughan, R.P.L. 1961. Keeping Seahorse. T.F.H. Publication Inc. Jersey City, N.J. 33 p.

Vincent. A.C.J. 1995. Rough Notes on Seahorse Keeping. Department of Zoology, University of Cambridge, Cambridge, UK.

Wong. F. 1982. Culture of seahorse. In : Fish Biology and Its Mariculture. Complied by Aquaculture Institute of Shanghai, Agriculture Publication Beijing Press.

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมีและวิธีการย้อมสีทางพาราฟินเทคนิค

น้ำยาคงสภาพ Buffered neutral formalin (pH 7)

Formalin, 37-40%	100 มล.
Distilled water	900 มล.
Sodium phosphate dibasic (anhydrous)	6.5 กรัม
Sodium phosphate monobasic	4 กรัม

น้ำยาคงสภาพ Bouin's solution

Picric acid (sat., aqu.)	50 มล.
Formalin, 37-40%	250 มล.
Glacial acetic acid	50 มล.
ผสมเข้าด้วยกัน	

กลุ่มที่ 1 ย้อมสี Harris hematoxylin และ eosin method

1.1 Harris hematoxylin

Hematoxylin crystal	5 กรัม
Absolute alcohol	50 กรัม
Ammonium alum	100 กรัม
Mercuric oxide	2.5 กรัม
Distilled water	1,000 มล.

ต้มน้ำกลั่นให้เดือดแล้วเติม ammonium alum คนให้ละลาย ละลายผง hematoxylin ใน absolute alcohol แล้วเติมลงในสารละลายที่กำลังเดือด คนให้เข้ากัน หลังจากนั้นยกบีกเกอร์ลงจากเตา แช่ลงในภาชนะที่มีน้ำเย็นหล่อ เติม mercuric oxide ลงไปอย่างช้าๆ ทีละน้อย คนให้สารละลายเข้ากันจนได้สีน้ำเงินเข้ม เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล (เติม glacial acetic acid 2-4 มล./100 มล. ของสารละลายก่อนใช้)

1.2 Eosin-pholoxine solution

1.2.1 Stock eosin

- Eosin Y	1 กรัม
Distilled water	100 มล.

1.2.2 Stock phloxine

Phloxine B	1 กรัม
Distilled water	100 มล.

1.2.3 Working solution

Stock eosin	100 มล.
Stock phloxine	10 มล.
Alcohol 95%	780 มล.
Glacial acetic acid	4 มล.

เติม glacial acetic acid 0.5 มล./100 มล. ของ working solution

1.3 Acid alcohol, 1%

Alcohol 70%	1,000 มล.
Hydrochloric acid	10 มล.

1.4 Ammonium water, 0.2%

Distilled water	1,000 มล.
Ammonium hydroxide	2.3 มล.

วิธีการย้อมสี Harris hematoxylin และ eosin

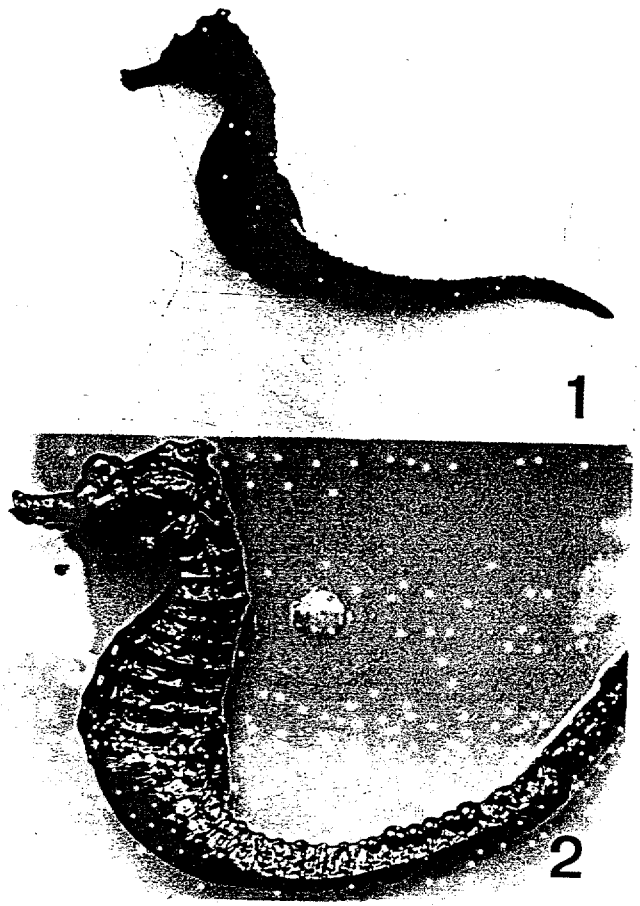
1) นำ paraffin section ไป deparaffinized และ hydration จนถึงน้ำกลั่น
2) แช่ใน Harris hematoxylin 5-8 นาที
3) ล้าง (rinse) ในน้ำประปาที่ไหลจน section เป็นสีน้ำเงิน 5-10 นาที
4) Differentiate ใน 1% acid alcohol โดยจุ่ม 3 ครั้ง
5) แช่ในน้ำประปาที่ไหล 3-5 นาทีจน section เป็นสีน้ำเงินอีกครั้ง
6) แช่ใน ammonium water 1 นาที
7) แช่ในน้ำประปาที่ไหล 5-10 นาที
8) แช่ใน eosin solution 15 วินาที – 2 นาที
9) Dehydration และ clearing
10) Mount ด้วย permount

ผล : - นิวเคลียสติดสีน้ำเงินม่วง
- ไซโทพลาซึม เป็นสีชมพูแดง

ภาคผนวก ข

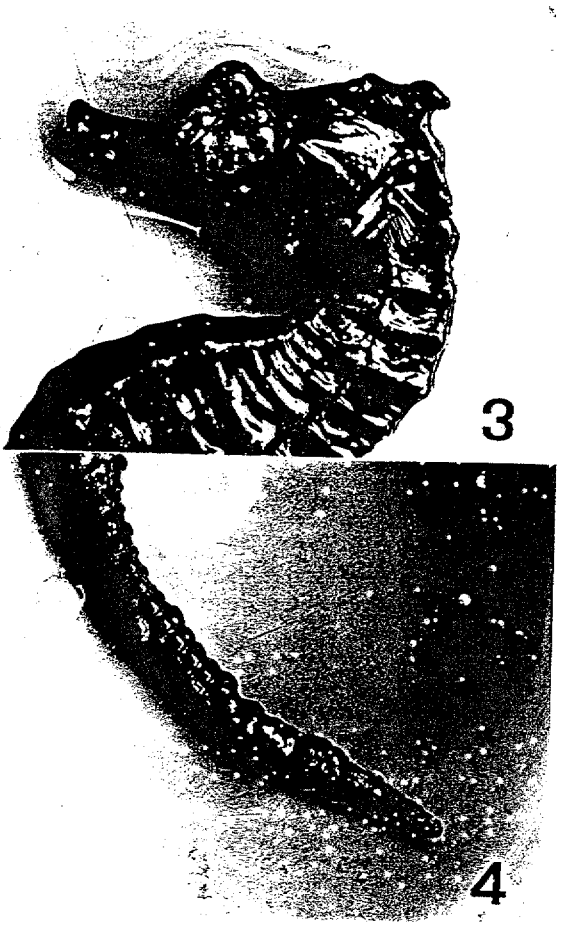
ภาพที่ 1 ภาพม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ปกติที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 2 ภาพม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) ที่เกิดอาการท้องบวม
บริเวณปลายหาง และผิวหนังรอบดวงตาบวม


1
2

ภาพที่ 3 ภาพดวงตาของม้าน้ำที่บวมพอง เนื่องจากเกิดการติดเชื้อ ทำให้ม้าน้ำไม่สามารถกลอกตาไปมาได้

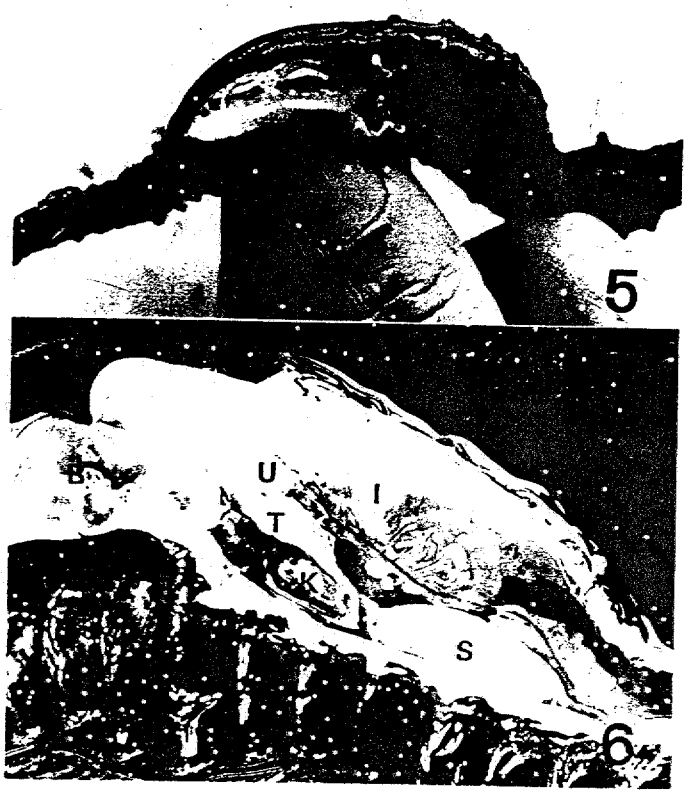
ภาพที่ 4 ภาพตลอดส่วนหางของม้าน้ำ ที่มีอาการบวมพองติดเชื้อ และเป็นสาเหตุที่ทำให้ม้าน้ำไม่สามารถทรงตัวหรือยึดเกาะได้ เนื่องจากแรงดันของอากาศ


3
4

ภาพที่ 5 ภาพถุงหน้าท้องของม้าน้ำเพศผู้ที่เกิดอาการท้องบวม พบว่ามีฟองอากาศหลากหลายขนาด และมีจำนวนมากแทรกในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

ภาพที่ 6 ภาพแสดงตำแหน่งของอวัยวะภายในช่องท้องและฟองอากาศบริเวณถุงหน้าท้อง ตับ, ถุงลม, ไต, ลำไส้, กระเพาะปัสสาวะ, อัณฑะ, ถุงหน้าท้องที่มีฟองอากาศ
Liver (L), swim bladder (s), kidney (k), intestine (I), urinary bladder (U) testis (T), ถุงหน้าท้อง (B)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

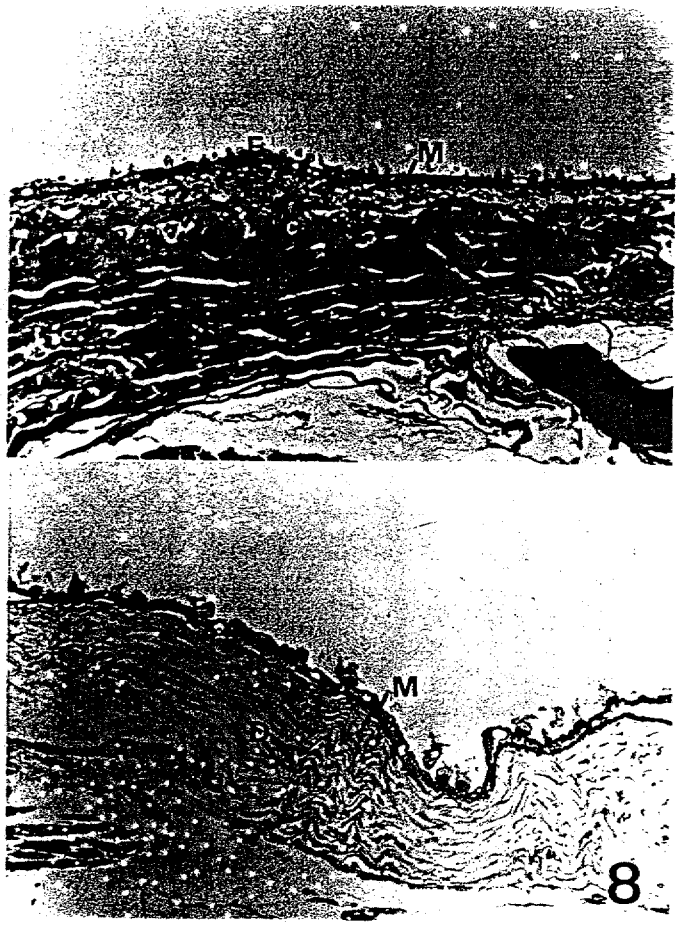


137406

599.69
ส 743 สก
ตส

ภาพที่ 7 ภาพแสดงลักษณะผิวหนังปกติของม้าน้ำ โดยแยกเป็นชั้น epidermis, basement membrane และชั้น dermis
ชั้น epidermis (E), basement membrane (M), ชั้น dermis (D)
(H+E , X 75)

ภาพที่ 8 ภาพแสดงลักษณะผิวหนังที่เกิดโรคของม้าน้ำ พบว่าชั้น dermis เนื้อเยื่อประสานถูกทำลายไปมากทำให้มีการเรียงตัวหลวมๆ แต่ยังแยกชั้น epidermis, basement membrane และชั้น dermis ได้ชัดเจน
ชั้น epidermis (E), ชั้น basement membrane (M), ชั้น dermis (D)
(H+E , X 75)


M
M
8

ภาพที่ 9 ภาพแสดงลักษณะผิวหนังปกติของม้าน้ำ พบ unicellular mucous gland ที่เรียกว่า goblet cell ในชั้น epidermis พบเนื้อเยื่อประสาน เรียงตัวหนาแน่นในชั้น dermis

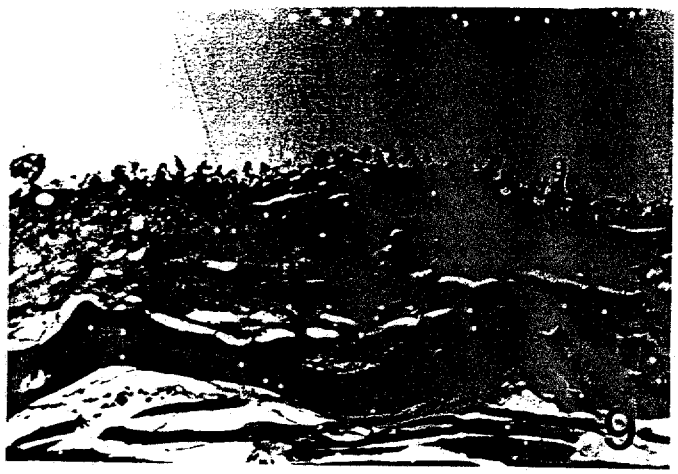
Goblet cells (g), ชั้น epidermis (E), ชั้น dermis (D)

(H+E, x 150)

ภาพที่ 10 ภาพแสดงลักษณะผิวหนังผิดปกติของม้าน้ำ พบชั้น dermis ถูกทำลายชัดเจนมาก เนื้อเยื่อประสานแตกและแยกออกจากกัน

ชั้น dermis (D), ชั้นepidermis (E)

(H+E, x 150)


9

10

ภาพที่ 11 ภาพแสดงลักษณะผิวหนังปกติของม้าน้ำ พบ goblet cell และเกล็ดเคลือบผิวหนัง ในชั้น epidermis ซึ่งแยกออกจากชั้น dermis ได้ชัดเจน และเซลล์เนื้อเยื่อประสานในชั้น dermis มีจำนวนมากทำให้ชั้นนี้มีเนื้อเยื่อประสานเรียงตัวหนาแน่น

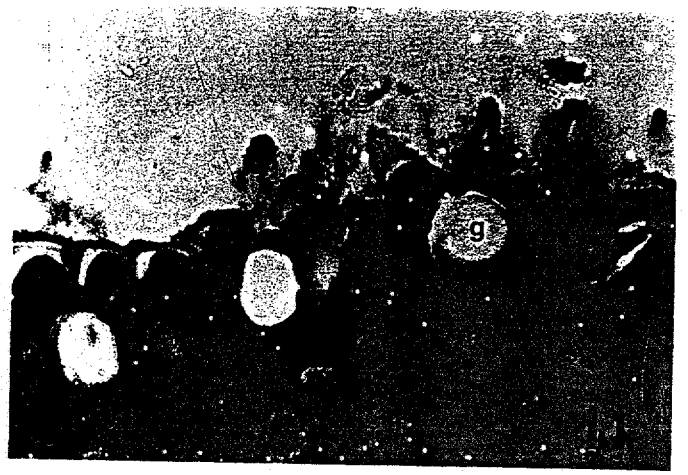
goblet cell (g), scale (sc), ชั้น dermis (D), เซลล์เนื้อเยื่อประสาน (e)

(H+E, X 750)

ภาพที่ 12 ภาพแสดงลักษณะผิวหนังผิดปกติของม้าน้ำพบว่าชั้น epidermis, ถูกทำลายไปหมดคงเหลือแต่ชั้น basement membrane ซึ่งประกอบไปด้วย pigmem cell เรียงตัวเป็นแถวยาว และใช้แยกชั้น epidermis กับชั้น dermis และชั้น dermis จะพบว่าเซลล์เนื้อเยื่อประสานถูกทำลายไปมาก ทำให้ fiber ของเนื้อเยื่อประสานถูกทำลายและแตกแยกออกจากกัน

basement membrane (M), pigment cell (p), ชั้น dermis (D)
เซลล์เนื้อเยื่อประสาน (c)

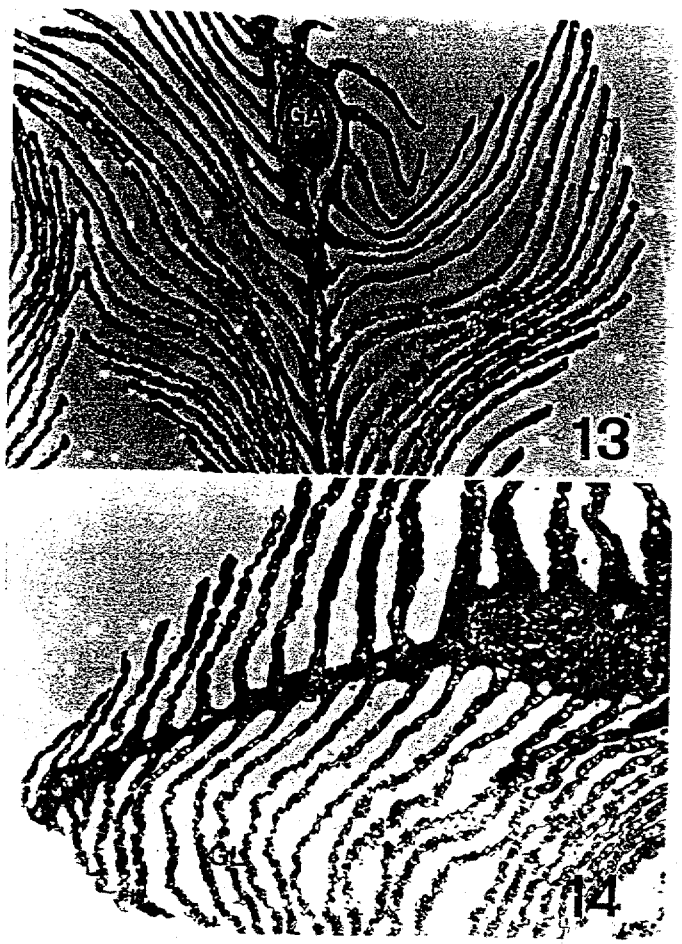
(H+E, X 750)



12

ภาพที่ 13 ภาพแสดงลักษณะเหงือกปกติของม้าน้ำ ประกอบไปด้วย gill arch gill filament และ gill lamellae
gill arch (GA), gill filament (GF), gill lamellae (GL)
(H+E, X 150)

ภาพที่ 14 ภาพแสดงลักษณะเหงือกผิดปกติของม้าน้ำ พบว่าบริเวณ gill filament เซลล์และเม็ดเลือดมีการหดตัว และบริเวณ gill lamellae พบ supporting cell หรือ pillar cell ที่เชื่อมระหว่างหลอดเลือดฝอย มีการหดตัว และตาย ทำให้มีการแลกเปลี่ยนก๊าซได้ไม่ดี
gill filament (GF), gill lamellae (GL)
(H+E, X 150)

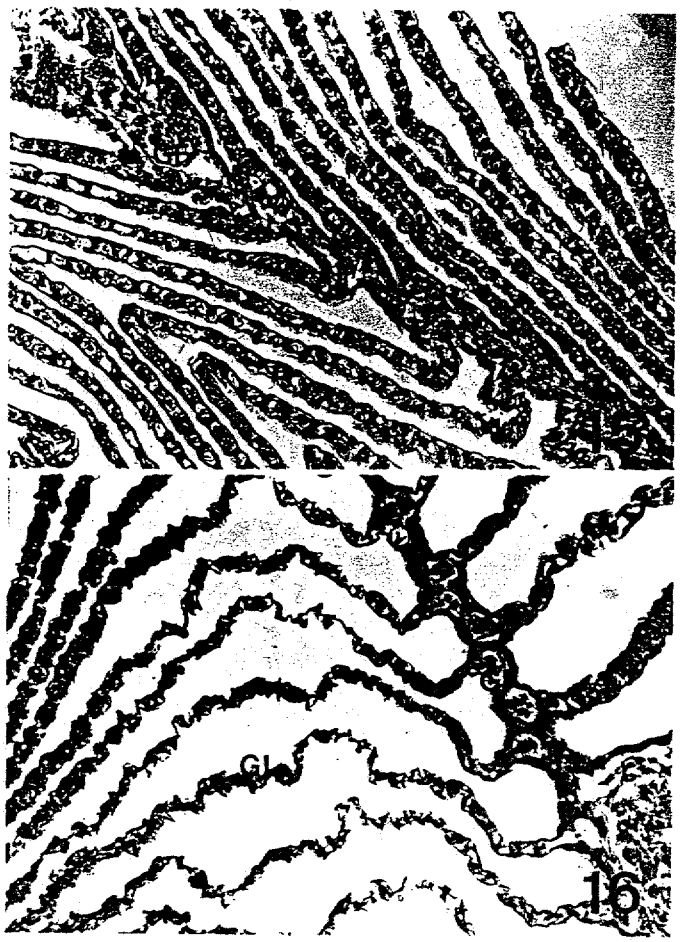

13
14

ภาพที่ 15 ภาพแสดงลักษณะเหงือกปกติของม้าน้ำ ที่แสดงการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบของหลอดเลือดฝอย และเม็ดเลือดแดงปกติ
gill filament (GF) และ gill lamellae (GL)

(H+E, X 300)

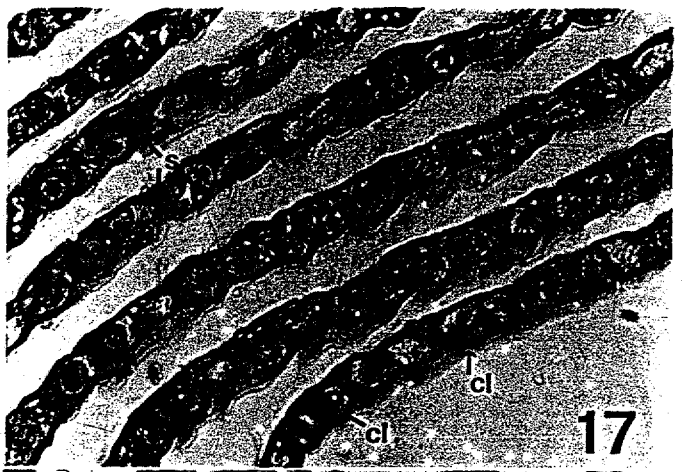
ภาพที่ 16 ภาพแสดงลักษณะเหงือกที่ผิดปกติของม้าน้ำ ที่เกิดการตายและถูกทำลายของเนื้อเยื่อ บริเวณ gill filament และ gill lamellae อย่างชัดเจน
gill filament (GF) และ gill lamellae (GL)

(H+E, X 300)


Gl
16

ภาพที่ 17 ภาพแสดงลักษณะเหงือกปกติของม้าน้ำ การเรียงตัวของเม็ดเลือดแดงในหลอดเลือดฝอย ของ gill lamellae พบ เม็ดเลือดแดง, supporting cell หรือ pillar cell และ chloride cell เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ควบคุมสมดุลของเกลือในร่างกาย
red blood cell (r), supporting cell (s), chloride cell (cl)
(H+E, X 750)

ภาพที่ 18 ภาพแสดงลักษณะเหงือกที่ผิดปกติของม้าน้ำ การเรียงตัวของเม็ดเลือดแดงที่เกิดการหดตัวในหลอดเลือดฝอย ที่ตายและถูกทำลาย, supporting cell หรือ pillar cell หดตัวลง ทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซไม่ได้
red blood cell (r), supporting cell (s)
(H+E, X 750)


cl
cl
17

18

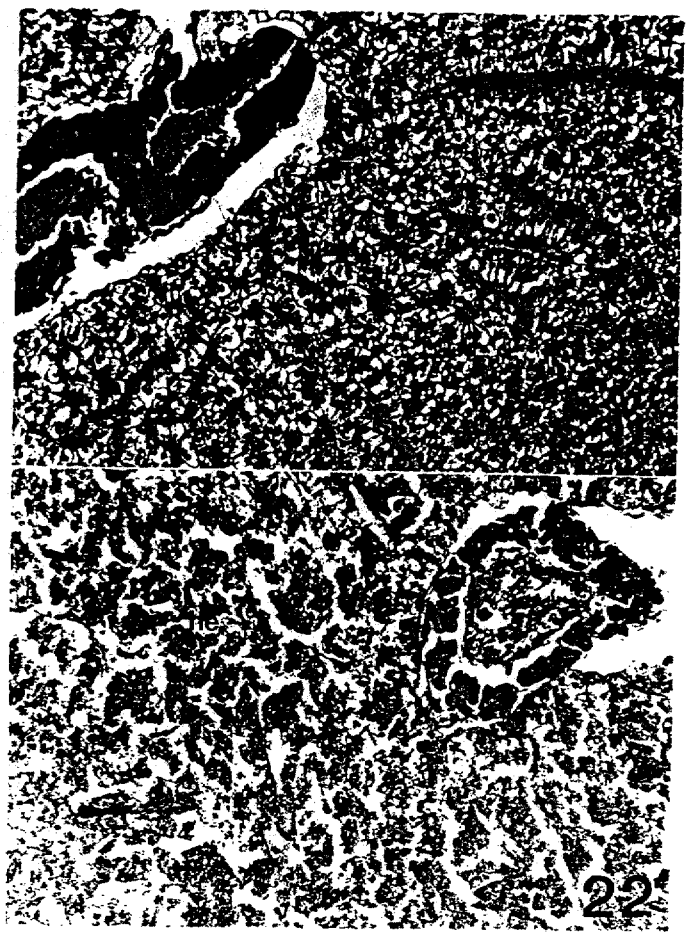
ภาพที่ 19 ภาพแสดงลักษณะตับปกติของม้าน้ำ มีการเรียงตัวของ hepatic cell อย่างเป็นระเบียบ และพบ sinusoid แทรกกระจายทั่วไปในเนื้อเยื่อตับ บริเวณ portal vein มี pancreatic tissue รวมอยู่ด้วย เรียกว่า hepatopancreas
hepatic cell (he), hepatopancreas (h), sinusoid (si)
(H+E, X 150)

ภาพที่ 20 ภาพแสดงลักษณะตับผิดปกติของม้าน้ำ hepatic cell ถูกทำลายอย่างชัดเจน ไม่สามารถแยกออกเป็นเซลล์ได้ และไม่สามารถแยกให้เห็น เป็นแอ่งเลือดขนาดเล็กที่เรียกว่า sinusoid ได้เช่นกัน และบริเวณ hepatopancreas ก็ถูกทำลายเช่นกัน
hepatic cell (he), hepatopancreas (h)
(H+E, X 150)

19
20

ภาพที่ 21 ภาพแสดงลักษณะตับปกติของม้าน้ำ การเรียงตัวของ hepatic cell เป็นlobule มากขึ้น นิวเคลียสของเซลล์จะอยู่บริเวณฐาน และบริเวณรอบๆ เซลล์ส่วนใกล้กับฐานเซลล์มีแอ่งเลือดขนาดเล็ก (sinusoid) แทรกทั่วไป
hepatic cell (he), sinusoid (si), hepatopancreas (h)
(H+E, X 300)

ภาพที่ 22 ภาพแสดงลักษณะตับผิดปกติของม้าน้ำ พบ hepatic cell ตายและถูกทำลายไป cell membrane ไม่ชัดเจน ทำให้มองไม่เห็นเป็นเซลล์ๆ นิวเคลียสของเซลล์สลายไปไม่พบแอ่งเลือดขนาดเล็กรอบๆ เซลล์
hepatic ceil (he), hepatopancreas (h)
(H+E, X 300)


22

ภาพที่ 23 ภาพแสดงลักษณะตับปกติของม้าน้ำ ขยายขนาดมากขึ้น ทำให้เห็นรายละเอียดได้ชัดเจน ได้แก่ การเรียงตัวของ hepatic cell และ sinusoid ภายใน hepatic cell พบว่านิวเคลียสของเซลล์จะเรียงตัวที่ฐาน ไซโทพลาซึมถูกดันไปอยู่รอบเซลล์ และพบ vacuole ขนาดใหญ่ภายในเซลล์

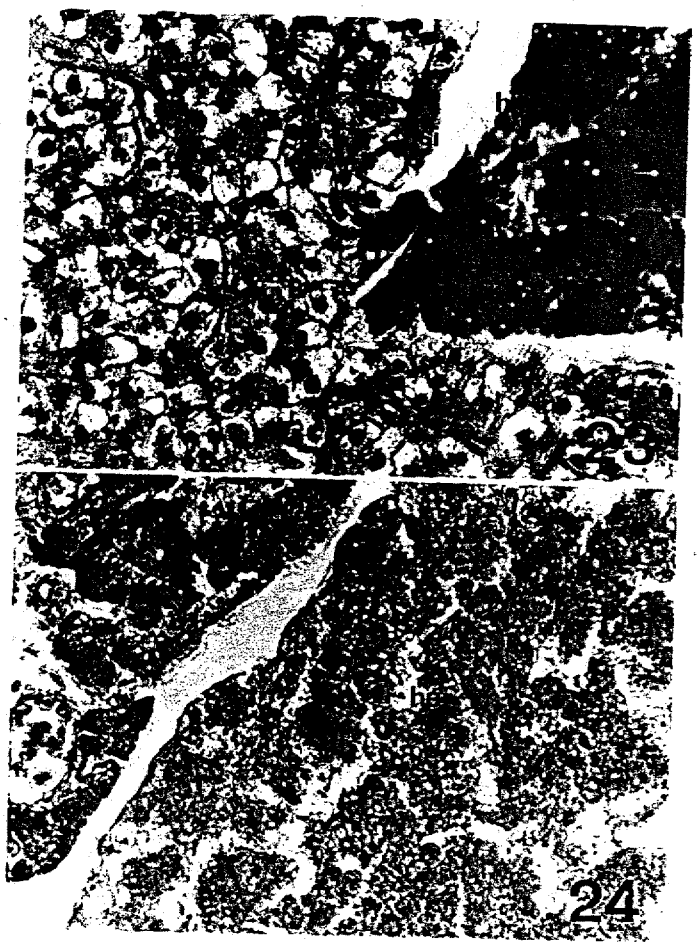
hepatic cell (he), hepatopancreas (h), sinusoid (si)

(H+E, X 750)

ภาพที่ 24 ภาพแสดงลักษณะตับที่ผิดปกติของม้าน้ำ hepatic cell มีการตายและสลายไป ไม่พบขอบเขต และนิวเคลียสของเซลล์ และไม่พบ sinusoid

hepatic cell (he), hepatopancreas (h),

(H+E, X 750)

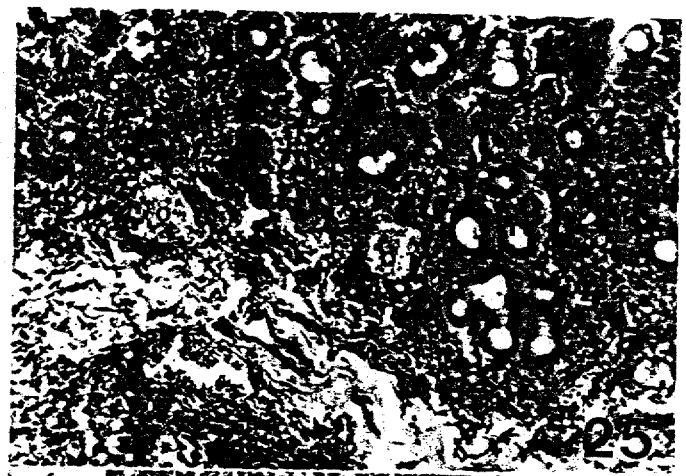

23
24

ภาพที่ 25 ภาพแสดงลักษณะของไตปกติของม้าน้ำ ไม่พบ renal corpuscle พบเฉพาะ renal tubule เท่านั้น และพบ opisonephric duct
renal tubule (rt), opisonephric duct (o)

(H+E, X 300)

ภาพที่ 26 ภาพแสดงลักษณะของไตผิดปกติของม้าน้ำ พบ lymphatic tissue จำนวนมากในเนื้อเยื่อตับ และไม่พบ lumen ของ renal tubule และเซลล์เนื้อเยื่อของไตแตกและแยกออกจากกัน
lymphatic tissue (l), renal tubule (rt)

(H+E, X 300)


25

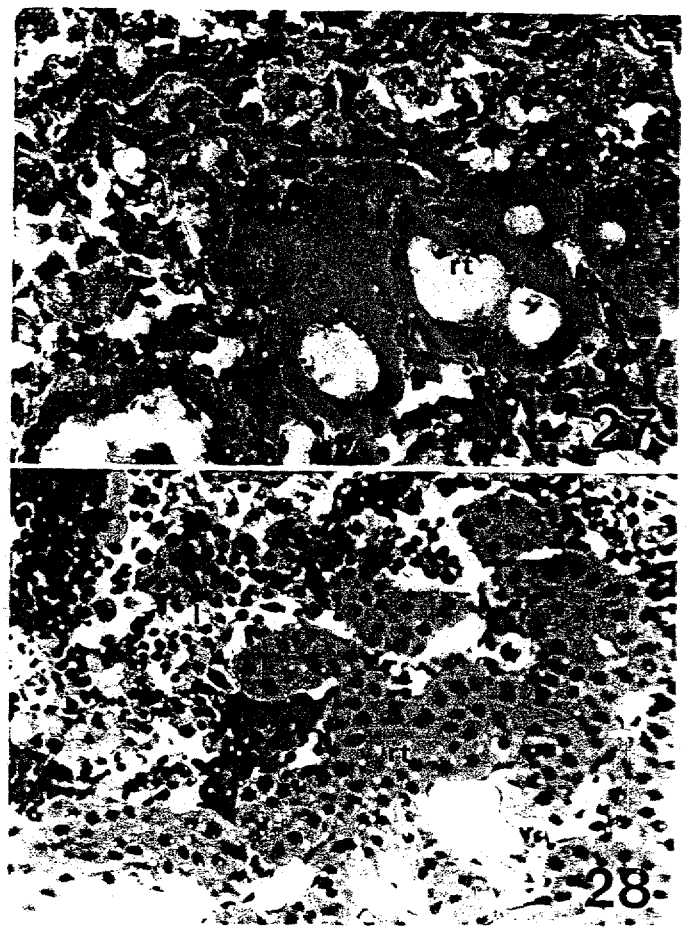
26

ภาพที่ 27 ภาพแสดงลักษณะของไตปกติของม้าน้ำ epithelium ของ renal tubule เป็นชนิด cuboidal หรือ low columnar epithelium และพบเม็ดเลือดแดงกระจายอยู่ทั่วไป พบ opisonephric duct ซึ่งเป็นท่อรวมปัสสาวะ
renal tubule (rt), opisonephric duct (o)

(H+E, X 750)

ภาพที่ 28 ภาพแสดงลักษณะของไตที่ผิดปกติของม้าน้ำ บริเวณ renal tubules ไม่พบ lumen และเซลล์ของเนื้อเยื่อไต แตกและแยกออกจากกัน คล้ายกับว่าเนื้อเยื่อประสานภายในไตถูกทำลายไป และพบ lymphatic tissue เป็นจำนวนมาก
renal tubule (rt), lymphatic tissue (l)

(H+E, X 750)


27
28

137406

ขัณฑพาธห้องศูนย์ข้อมูล
ภาคตะวันออก