รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ลักษณะทางจุลกายวิภาคและจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อที่เป็นโรค ของทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ และระบบขับถ่ายของม้าน้ำ (*Hippocamcampus* spp)

Histological Structure and Histological Structure of Digestive Tract, Reproductive Organs and Excretory Organs of Seahorse (*Hippocampus* spp)

ผศ.ดร. อัมพร ทองกู้เกียรติกูล
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล
มหาวิทยาลัยบูรพา

ทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2546
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
สิงหาคม 2547

BURAPHA UNIVERSITY LIBRARY
3 2498 00234331 5

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ประกาศคุณูปการ

การทำงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับม้าน้ำจากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล และความช่วยเหลืออย่างดีจากนักวิทยาศาสตร์ของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล

ขอขอบคุณ คุณเพชรรัตน์ จรัสโสภณเป็นผู้ช่วยวิจัยในการทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบคุณคุณเกศราภรณ์ จันทร์ประเสริฐ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ

อัมพร ทองกู้เกียรติกูล

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

30 มี.ค. 2548
190674

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญภาพ	ข
1. บทนำ	1
2. เอกสารและงานที่เกี่ยวข้อง	2
3. วิธีดำเนินการวิจัย	3
4. ผลการทดลอง	6
บรรณานุกรม	16

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงเม็ดเลือดของม้าน้ำ	8
2	แสดงโครงสร้างของตับม้าน้ำ	9
3	แสดงโครงสร้างของเหงือกม้าน้ำ	10
4	แสดงโครงสร้างของทางเดินอาหารม้าน้ำ	11
5	แสดงระยะเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียม้าน้ำศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา	13
6	แสดงระยะเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียม้าน้ำศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน	14
7	แสดงเหงือกและทางเดินอาหารม้าน้ำศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	15

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทนำ

ม้าน้ำเป็นปลากระดูกแข็งที่น่าสนใจเนื่องจากมีรูปร่างและพฤติกรรมที่แตกต่างกับปลาชนิดอื่น ม้าน้ำเป็นปลาที่มีเกล็ดหุ้มลำตัวเปลี่ยนแปลงเป็นเปลือกแข็ง มีพื้นผิวขรุขระ ม้าน้ำมีส่วนหัวที่ตั้งขึ้น มีปากยื่นยาว ตามีลักษณะโปนออกสามารถกลิ้งกลอกชำเลืองดูได้ทุกทิศทาง มีเหงือกเรียงเป็นกระจุก ส่วนหางแข็งแรง ใช้ในการเกี่ยวหรือเกาะกับวัตถุใต้น้ำ เช่นกัลปังหา สาหร่าย หญ้าทะเล และปะการัง เป็นต้น ขณะว่ายน้ำจะใช้ครีบหลังโปกพริ้วตลอดเวลา ในขณะเดียวกันครีบข้างลำตัว 1 คู่ จะพยุงให้ลำตัวตั้งตรง และลอยตัวได้ (สุรินทร์ มัจฉาชีพ, 2540) ม้าน้ำจะมีความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมีย คือ ม้าน้ำเพศผู้มีถุงหน้าท้อง (brood pouch) มีลักษณะพองออกมีไว้สำหรับบรรจุไข่ของม้าน้ำเพศเมียที่ได้รับการปฏิสนธิ ส่วนม้าน้ำเพศเมียไม่มีถุงหน้าท้อง และส่วนท้องจะเว้าเข้า

ปัจจุบันได้มีการสำรวจม้าน้ำทั่วโลกประมาณ 50 ชนิด ในประเทศไทยและน่านน้ำใกล้เคียงมีรายงานพบประมาณ 5 ชนิด คือ *Hippocampus abdominalis*, *H. trimaculatus*, *H. histrix* , *H. spinossisimus* และ *H. kuda* (สุขใจ รัตนยุวกร,2539) *H. Kuda* ม้าน้ำชนิดนี้ส่วนหัวมีขนาดใหญ่ จมูกหนายาว และยื่นตรง ลำตัวใหญ่ มีโครงร่างหนา และหนามสีดำเข้ม ไม่มีหนามยาวแหลม อาศัยอยู่ในระดับน้ำลึกปานกลาง ถึงน้ำลึก

ปัจจุบันนี้ม้าน้ำมีประโยชน์ใช้ทำยา ทำพวงกุญแจ เครื่องประดับต่างๆ ได้มีการส่งออกม้าน้ำไปยังต่างประเทศ ทำให้มีการจับม้าน้ำจากธรรมชาติมาก ทำให้จำนวนประชากรม้าน้ำในธรรมชาติลดลง จึงได้มีการเพาะเลี้ยงม้าน้ำ แต่การเพาะเลี้ยงม้าน้ำยังมีปัญหา เช่น ปัญหาเกี่ยวกับพ่อแม่พันธุ์ม้าน้ำ และโรคม้าน้ำ เป็นต้น

การศึกษาครั้งนี้ศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อของม้าน้ำที่เป็นโรคเพื่อเปรียบเทียบกับม้าน้ำปกติ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Barber และคณะ (1981) ได้รายงานการศึกษาโครงสร้างเซลล์เม็ดเลือดของปลา Antartic icefish (*Chaenocephlus aceratus*) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบเซลล์ลิมโฟไซต์ เซลล์โมโนไซต์ และเกล็ดเลือด เซลล์ลิมโฟไซต์มี 2 ขนาดคือ เซลล์ขนาดเล็ก มีขนาดประมาณ 6.18 x 6.55 ไมโครเมตร และเซลล์ขนาดใหญ่ มีขนาดประมาณ 8.57 x 8.16 ไมโครเมตร นิวเคลียสพบที่ขอบของเซลล์ ภายในนิวเคลียสมี heterochromatin ภายในไซโทพลาสซึมพบเวสวิเคิล ไมโทคอนเดรีย เอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมชนิดหยาบ และไมโครทิวบูล โมโนไซต์เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ นิวเคลียสมีรูปร่างเกือกม้า พบที่ขอบเซลล์ ภายในไซโทพลาสซึม พบแวคคิวโอล ไลโซโซม ไมโทคอนเดรีย เอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมชนิดหยาบ และไรโบโซม และเกล็ดเลือด เซลล์มีรูปร่าง 2 แบบคือ เซลล์รูปกลมและรูปกระสวย นิวเคลียสรูปไข่ เยื่อหุ้มนิวเคลียสไม่เรียบ ภายในไซโทพลาสซึม พบเอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมชนิดหยาบ เอ็นโดพลาสมิกเรติคิวลัมชนิดเรียบ และไรโบโซม เป็นต้น

Fischer-scherl (1985) พบว่า แบททีเรียที่ระบาดในปลาทอง จะมีผลต่อเหงือกของปลาทอง ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเม็ดเลือดแดงระหว่าง pillar cells และทำให้ chloride cells ตาย

Daoust (1983) พบว่าเหงือกของปลา Rainbow trout ที่รอดจากการโปรโตซัว bronchitis ระบาด จะพบเซลล์ eosinophilic granular cells แทรกระหว่างซี่เหงือก

Swanson (1979) พบว่าปลา salmon ที่มีตับอ่อนอักเสบ มักจะพบว่าตับอ่อนจะมีเส้นใยจำนวนมากแทรกในเนื้อเยื่อตับอ่อน และเซลล์บริเวณ acini บวม

Caceci (1984) ศึกษา *Hexamita salmonis* ในปลาทองด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า *Hexamita salmonis* มีรูปร่างเหมือนลูกแพร มี flagellate ยาว

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. ตู้อบ
2. เครื่องตัดเนื้อเยื่อ
3. กล้องจุลทรรศน์ รุ่น Olympus BX50
4. สไลด์

สารเคมี

1. Bouin's solution
2. แอลกอฮอล์
3. ไซลีน
4. โพแทสเซียมไดโครเมต
5. โซเดียมไบซัลไฟต์
6. สีฮีมาทอกไซลีน
7. สี phloxine
8. Phosphotungstic acid
9. Eosin
10. Alcian-blue
11. Alcian -yellow
12. Aldehyde–fuchsin
13. Halmi mixture
14. Permount
15. Paraplast
16. Slide warmer
17. n-butyl alcohol

วิธีการดำเนินการทดลอง

1. นำตัวอย่างม้าน้ำที่ปกติ และเป็นโรคมาสลบด้วยสารละลาย Tricaine methane salfonate ความเข้มข้น 1ppt แล้ววัดขนาดและศึกษาลักษณะภายนอกของม้าน้ำ และลักษณะสีของอวัยวะภายในเช่น ระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ ระบบขับถ่าย
2. ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อสำหรับศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตัดเนื้อเยื่อที่ต้องการศึกษาเช่น เหงือก gonad และลำไส้ส่วนต่างๆ ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แช่ในสารละลาย Bouin's นาน 24 ชั่วโมง ภายหลังนำเปลี่ยนเนื้อเยื่อใสในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% และเปลี่ยนแอลกอฮอล์จนกระทั่งชิ้นเนื้อเยื่อไม่มีสารสีเหลือง แล้วจึงนำชิ้นเนื้อเยื่อดังกล่าวใส่ในแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นมากขึ้นเพื่อผ่านขบวนการดึงน้ำออก (dehydration) จากความเข้มข้น 70%,80%,90% และ 95%ตามลำดับ ขั้นละ1 ชั่วโมง จากนั้นนำชิ้นเนื้อเยื่อไปแช่ด้วยแอลกอฮอล์100% 2ครั้ง ครั้งละ 2 ชั่วโมง นำชิ้นเนื้อเยื่อไปฝังใน paraplast และตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนาประมาณ 4 ไมครอน นำ sections ที่ได้มาติดบนสไลด์ที่เคลือบด้วยเจลาติน จากนั้นวางบน slide warmer นาน 24 ชั่วโมง นำสไลด์ที่ได้ไปย้อมสี hematoxylin และ eosin ตามขั้นตอนการย้อมสี

3. การย้อมสี hematoxylin และ eosin (ดัดแปลงจาก humason,1972)

นำสไลด์ที่วาง sections แล้วไปแช่ในสารละลาย xylene 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ภายหลังนำมาเปลี่ยนใส่แอลกอฮอล์ความเข้มข้น100%, 90%, 80% และ 70% ตามลำดับ ครั้งละ 5 นาที และแช่ในน้ำกลั่นนาน 5 นาที ย้อมด้วยสี hematoxylin นาน 5 วินาที แช่ในน้ำประปาไหลผ่านนาน 15 นาที แช่ในแอลกอฮอล์ 70% และ 90% ตามลำดับ ครั้งละ 5 นาที ย้อมด้วยสี eosin นาน 5 วินาที แช่ใน n-butyl alcohol 3 ครั้ง ครั้งละ 5,10 และ 15 นาที ตามลำดับ แช่ใน xylene 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที หยด permount ปิดสไลด์ด้วย cover glass วางบน hot plate นาน 24 ชั่วโมง แล้วไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ต่อไป

4. การเตรียมตัวอย่างสำหรับศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

นำเนื้อเยื่อที่ต้องการศึกษาแช่ในสารละลาย 2.5% กลูตาร์อัลดีไฮด์ pH 7.4 ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ นำเนื้อเยื่อทั้งหมดใส่ในสารละลาย 1% ออสเมียมเตตรอกไซด์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ดึงน้ำออกจากตัวอย่างด้วยแอลกอฮอล์ (ความเข้มข้น 50% ถึง 100%) นานขั้นละ 10 นาที จากนั้นนำเนื้อเยื่อใสในสารละลายโพไพลีน ออกไซด์ (propylene oxide,P.O.) 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที แล้วนำเนื้อเยื่อใสในสารละลาย P.O. : อะราไดต์ (aradite) (อัตราส่วน1:1) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และ นำเนื้อเยื่อใสใน P.O. : อะราไดต์ (อัตราส่วน 1:2) แล้วทิ้งไว้ค้างคืน นำเนื้อเยื่อembedded ใน อะราไดต์ ที่อุณหภูมิ 45°และ 60°นำเนื้อเยื่อมาตัดให้เป็นชิ้นบาง ชิ้นละ 200-300° A แล้วย้อมด้วยสียูรานิล อะซีเตรต (uranyl acetate) (Watson ,1958) นาน 7 นาที และ เลด ซีเตรต (lead citrate) (Reynold, 1963) นาน 12 นาที แล้วนำเนื้อเยื่อที่ได้ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

5. การเตรียมตัวอย่างสำหรับศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ตัดเนื่อเยื่อ ที่ต้องการศึกษาทุกกลุ่มการทดลองแช่ในน้ำยา Karnovsky

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

(2%paraformaldehyde และ 4% glutaraldehyde ในสารละลาย 0.1M sodium cacodylate buffer, pH7.8) ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยสารละลาย 0.1M sodium cacodylate buffer 3 ครั้ง แล้วนำเนื้อเยื่อไปผ่านขั้นตอนดึงน้ำออก (dehydration) ด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นจาก 50%, 70%, 80%,90%,95% และ 100% ตามลำดับ ขั้นตอนละ 15 นาที แล้วจึงนำเนื้อเยื่อมาทำให้แห้งด้วยเครื่อง critical point drying machine นำเนื้อเยื่อที่ผ่านการทำให้แห้งมาติดบน aluminum stubs และ coated ด้วยทอง แล้วจึงนำเนื้อเยื่อที่ได้ ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ผลการทดลอง

ม้าน้ำที่เป็นโรคที่พบในม้าน้ำที่เลี้ยงที่สถาบันวิทยาศาสาตร์ทางทะเล สามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 ม้าน้ำกลุ่มนี้จะมีอาการบวมของหาง ทำให้ม้าน้ำลอยตัว เอาส่วนหางขึ้น ทำให้ม้าน้ำกินอาหารลำบาก เมื่อผ่าดูอวัยวะต่างๆไม่มีความผิดปกติ

กลุ่มที่ 2 ม้าน้ำกลุ่มนี้ไม่กินอาหาร เมื่อผ่าดูอวัยวะภายในช่องท้อง จะมีไขมันสีเหลืองจำนวนมาก และพบเมือกมากบริเวณทางเดินอาหารและลำไส้

กลุ่มที่ 3 ม้าน้ำกลุ่มนี้ เหงือกมีสีซีด

ผลการศึกษาทางด้าน histology

เม็ดเลือด ลักษณะโครงสร้างของเม็ดเลือดของม้าน้ำที่เป็นโรคเมื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาไม่มีความแตกต่างจากเม็ดเลือดของม้าน้ำที่ปกติ ดังภาพที่ 1A และ 1B

ตับ ลักษณะโครงสร้างของตับของม้าน้ำที่เป็นโรคเมื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาไม่มีความแตกต่างจากโครงสร้างของตับของม้าน้ำที่ปกติ ดังภาพที่ 2A และ 2B

เหงือก เหงือกของม้าน้ำที่เป็นโรคกลุ่มที่ 3 จะมีเซลล์ที่มีลักษณะบวม ดังภาพที่ 3A แต่เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดไม่พบความผิดปกติของเหงือก ดังภาพที่ 7A

ระบบทางเดินอาหาร เมื่อนำทางเดินอาหารของม้าน้ำกลุ่มที่ 2 ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา พบเซลล์ 2 ชนิด ชนิดแรกเซลล์เมือกมีลักษณะกลม ฐานกว้าง คล้ายแจกันนิวเคลียสกลมบริเวณกลางเซลล์ เซลล์ชนิดนี้จะพบจำนวนมาก เซลล์ชนิดที่ 2 เซลล์เยื่อบุผิว เซลล์ทรงสูง นิวเคลียสยาวพบบริเวณกลางเซลล์ ซึ่งในม้าน้ำปกติพบเซลล์ทั้งสองชนิด แต่พบจำนวนของเซลล์เมือกน้อยกว่าดังภาพที่ 4A และ 4B

เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย เมื่อนำโกนาด (gonad) ของม้าน้ำกลุ่มที่ 3 มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา พบว่าม้าน้ำกลุ่มนี้มีการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ได้เป็นปกติ พบเซลล์สืบพันธุ์ระยะต่างๆ ดังภาพที่ 5A ถึง 5E และเมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านไม่พบความผิดปกติของเซลลและโครงสร้างภายในเซลล์ดังภาพที่ 6A ถึง 6D

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 1 เม็ดเลือดของม้าน้ำ

A: เม็ดเลือดของม้าน้ำปกติ

RBC แสดงเม็ดเลือดแดง

P แสดงเกล็ดเลือด

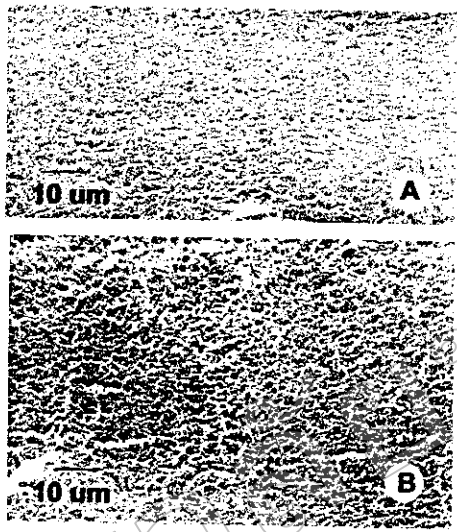
B: เม็ดเลือดของม้าน้ำที่เป็นโรค

M แสดงโมโนไซต์

L แสดงลิมโฟไซต์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

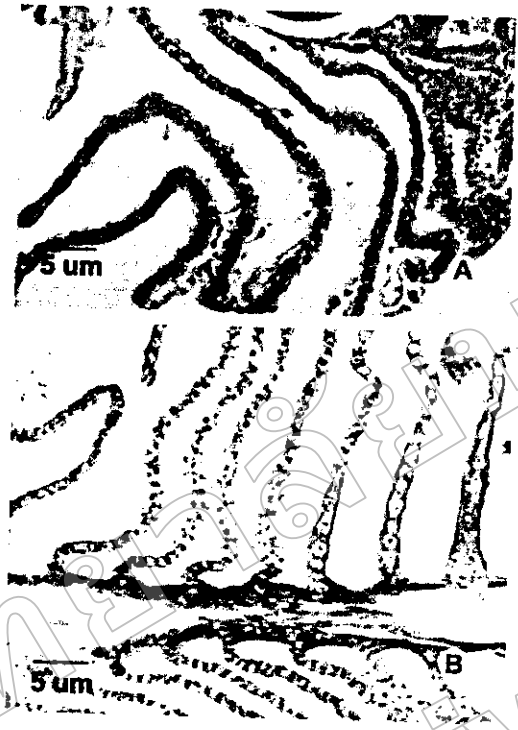


ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของตับย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin

A เซลล์ตับของม้าน้ำปกติ

B เซลล์ตับของม้าน้ำที่เป็นโรค

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

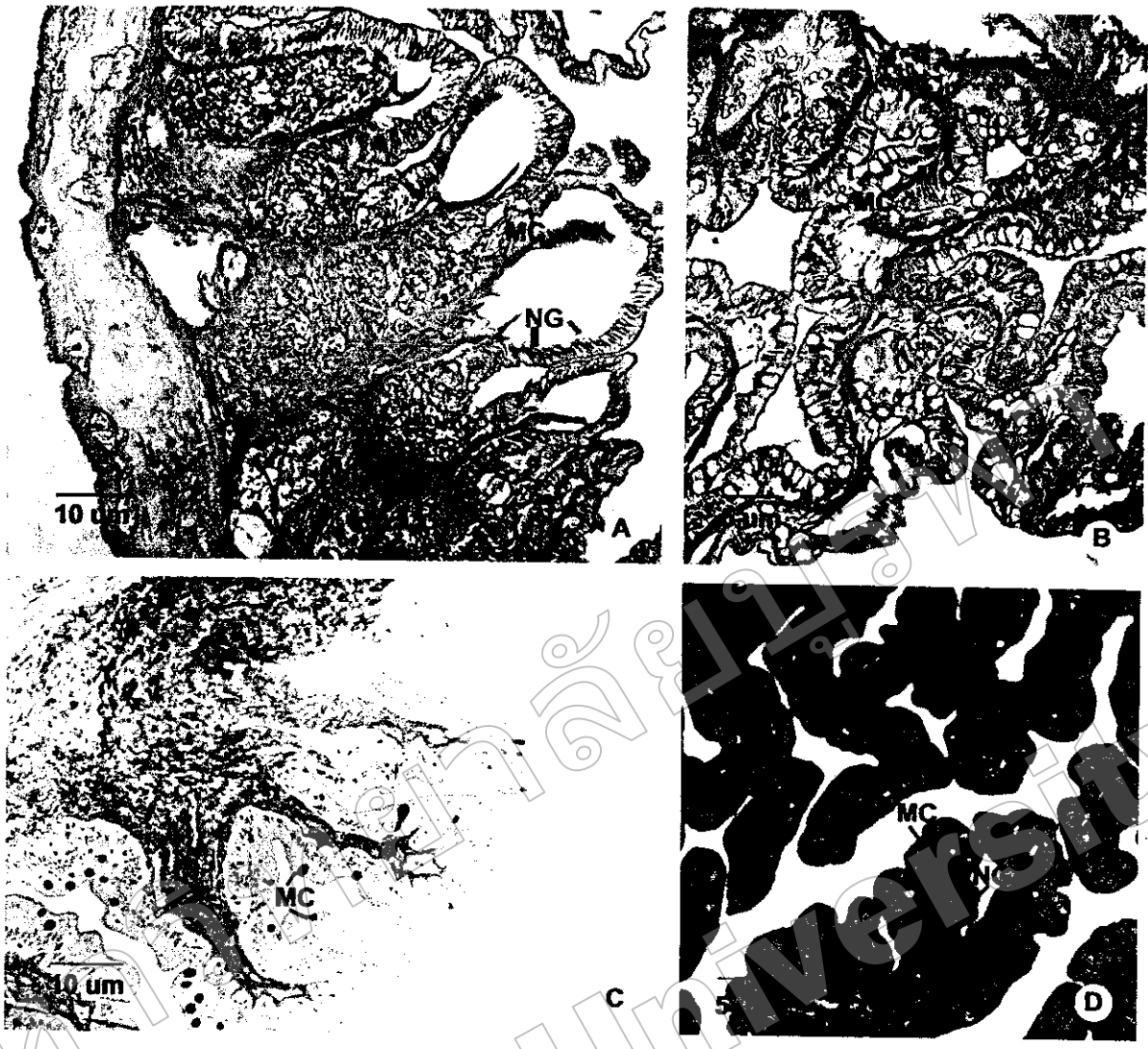


ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างของเหงือกม้าน้ำ

A: เหงือกม้าน้ำปกติ

B: เหงือกม้าน้ำที่เป็นโรค

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของทางเดินอาหารของม้าน้ำ

A: แสดงโครงสร้างของหลอดอาหารของม้าน้ำเป็นโรค

B: แสดงโครงสร้างของลำไส้ของม้าน้ำปกติเป็นโรค

C: แสดงโครงสร้างของหลอดอาหารของม้าน้ำปกติ

D: แสดงโครงสร้างของลำไส้ของม้าน้ำปกติ

MC แสดง mucus cell

NG แสดง non granular cell

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 5 แสดงระยะของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียของม้าน้ำ

A: ระยะ Oogonia

Og แสดง เซลล์ระยะ oogonia

B: ระยะ Oogonia

C: ระยะ Yolk granule

nu แสดง นิวคลีโอลัส

N แสดง นิวเคลียส

RER แสดง เอ็นโดพลาสมิกแบบหยาบ

LD แสดง lipid droplet

D: ระยะ vitellogenic

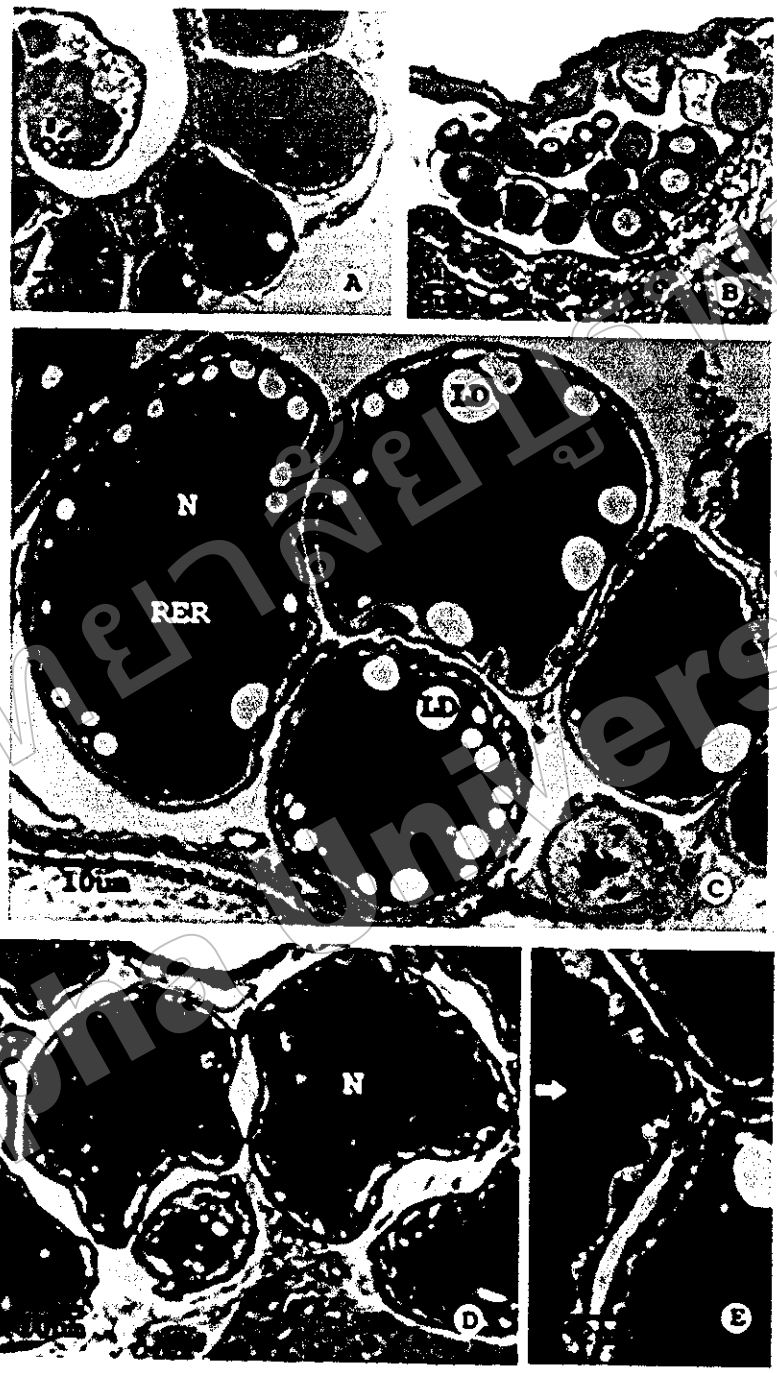
N แสดง นิวเคลียส

F: ระยะ vitellogenic

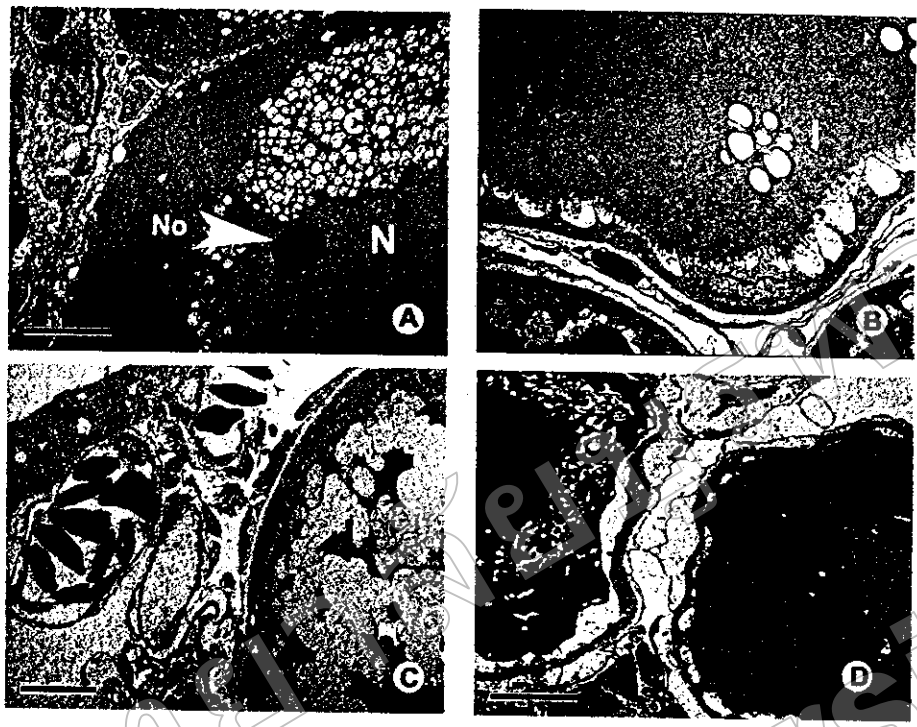
ลูกศร แสดง granule

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

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



190674



ภาพที่ 6 แสดงระยะของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียของม้าน้ำศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

A: ระยะ vitellogenic

C แสดง cortical granule

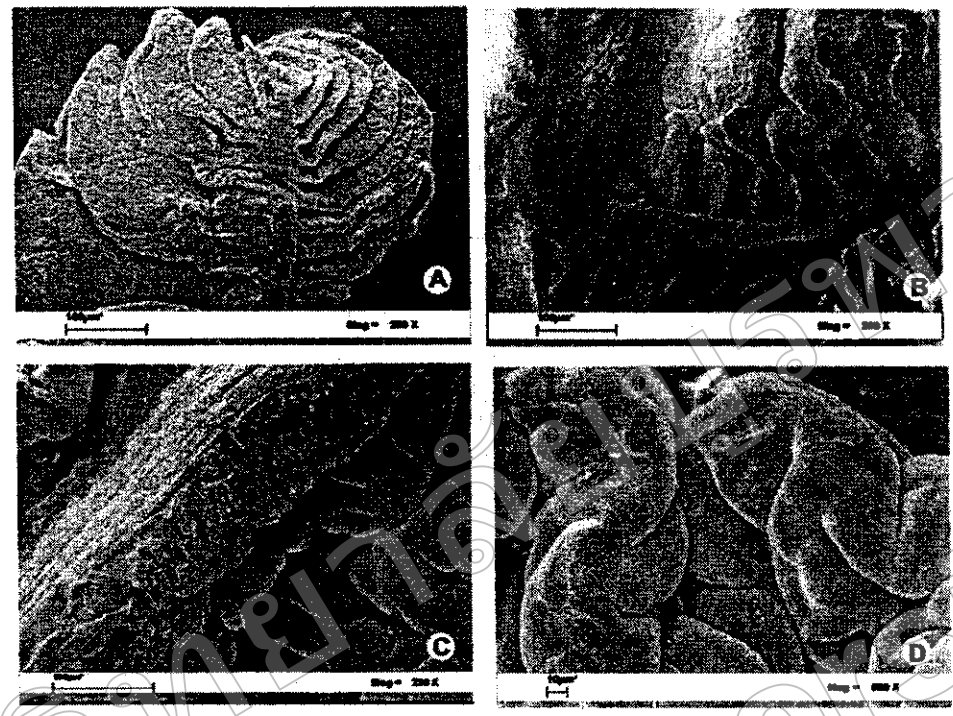
nu แสดง นิวคลีโอลัส

N แสดง นิวเคลียส

B: ระยะ Yolk granule

L แสดง lipid droplet

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 7 เหงือกและทางเดินอาหารของม้าน้ำที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

A และ B เหงือกของม้าน้ำที่เป็นโรค

C และ D ทางเดินอาหารของม้านำที่เป็นโรค

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

190674

บรรณานุกรม

สุขใจ รัตนยุวกร.2539. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ของม้าน้ำ *Hippocampus kuda* (Bleeker) 8 เดือน จากห้องปฏิบัติการ. เอกสารงานวิจัยเลขที่ 70/2539, สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา.

สุรินทร์ มัจฉาชีพ. 2540. เรื่องน่ารู้เกี่ยวกับสัตว์ทะเล. กรุงเทพ แพร่วิทยา.

Barber, D.L., J.E. Mills Westermann and M.G. white. 1981. The blood cells of the Atlantic icefish *Chaenocephalus aceratus* Lonnberge: Light and electron microscopic observations. J. Fish. Biol. 19:11-28.

Caceci, T. 1984. Scanning electron microscopy of goldfish, *Carassius auratus*, intestinal mucosa. J. Fish. Biol. 25:1-12.

Daoust, P.-Y., and H. W. Ferguson. 1983. Gill diseases of cultured salmonids in Ontario. Can. J. Comp. Med. 47: 358-362.

Fischer-scherl, T., and R. Hoffmann. 1986. Light and electron-microscope studies on the pheudobranch of the golden orfe, Leuciscus idus L. J. Fish Biol. 29:699-709.

Swanson, R. N., and J. H. Gillespie. 1979. Pathogenesis of the infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*). J. Fish. Res. Board Can. 36:587-591.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University