

การศึกษาเหงือกของปลาตะเพียนขาว – *Puntius gonionotus* (Bleeker) ที่ได้รับผลกระทบจากทองแดงด้วย อิเล็กตรอน ไมโครสโคป

Electron Microscopic Study of the Gills of *Puntius gonionotus* (Bleeker)

Exposed to Copper

ประมาณ พรหมสุธีรักษ์^๑

Pramarn Phromsuthirak

ABSTRACT

Electron microscopic observations on the gill lamellae of Pla Tapien Khao – *Puntius gonionotus* (Bleeker) exposed to different concentrations of copper solution for 48 hr were as follows: particles which were presumably copper origin were attached to the outer surface of the epithelium; these particles were also found in the intercellular spaces; inclusions were found in the cytoplasm of both epithelial cells and chloride cells; a dead cell was noted in one occasion; and at high concentration of copper, intercellular spaces were hardly seen. These evidences showed the difficulties of gas exchange. Thus, it might be concluded that the death of the fish tested was the result of oxygen deficiency.

บทคัดย่อ

การใช้กล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอน ตรวจบริเวณ gill lamellae ของปลาตะเพียนขาว – *Puntius gonionotus* (Bleeker) ซึ่งอยู่ในสารละลายของโลหะทองแดง (CuSO_4) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้พบว่าบริเวณผิวภายนอก (outer surface) ของ epithelium จะมี particles ของส่วนประกอบของโลหะทองแดงเกาะติดอยู่มากมาย และจะพบ particles เหล่านี้ในช่องว่างระหว่างเซลล์ภายใน epithelium ด้วย มี inclusions เกิดขึ้นใน cytoplasm ของ epithelial และ chloride cells มีการตายของเซลล์เกิดขึ้น ปลาที่อยู่ในความเข้มข้นของโลหะทองแดงสูงขึ้น จะพบเซลล์ใน gill lamellae อัดตัวกันแน่นขึ้นหลักฐานต่าง ๆ เหล่านี้แสดงว่าการแลกเปลี่ยน

แก๊สระหว่างเลือดและน้ำเป็นไปได้ยากยิ่งขึ้น การตายของปลาตะเพียนขาวที่ได้รับผลกระทบจากโลหะทองแดงในระยะเฉียบพลัน (acute effect) จึงมีสาเหตุมาจากการขาดแคลนออกซิเจน

คำนำ

โลหะทองแดงและสารประกอบของโลหะทองแดง ได้ถูกนำมาใช้ในการเกษตรอย่างแพร่หลาย ถูกนำมาใช้ในการควบคุมวัชพืชในแหล่งน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นยากำจัดสาหร่าย (algicide) เป็นผลให้โลหะทองแดงมีปะปนอยู่ในแหล่งน้ำได้โดยตรง นอกจากนั้นโดยทางอ้อมโลหะทองแดงยังอาจมีปะปนอยู่ในน้ำทั้งจากการอุตสาหกรรม และโดยเหตุที่โลหะทองแดงเป็นพิษร้ายแรงต่อสัตว์น้ำ ดังผลการทดลองของประมาณ (2520) ที่พบว่า ค่า TL_{50} ในเวลา 2 วัน

¹ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus*) ขนาด 3-5 เซนติเมตร ทิ่มต่อโลหะทองแดงมีค่าเพียง 0.285 มิลลิกรัม/ลิตร เท่านั้น ทองแดงจึงเป็นโลหะหนักชนิดหนึ่งที่จะได้รับความสนใจ และสอบสวนในแหล่งน้ำใดก็ตามที่ต้องการให้มีกำลังผลิตของสัตว์น้ำสูง (Mount, 1968) ดังนั้นความเป็นพิษของโลหะทองแดงจึงได้มีการศึกษากันโดยทั่วไป

อย่างไรก็ตามความเป็นพิษของโลหะทองแดงที่มีต่อสัตว์น้ำได้มีการศึกษากันแล้ว ส่วนที่จะศึกษาเน้นหนักเกี่ยวกับผลกระทบที่จะเกิดจากโลหะทองแดงต่อเหงือกปลาไม่น้อยมาก โดยทั่วไปการที่ปลาจะรับเอาโลหะหนักเข้าสู่ร่างกายได้นั้นอาจเกิดได้ 3 ทางด้วยกัน คือ เหงือก (gills) ผิวหนัง (body surface) และทางเดินอาหาร (alimentary cannal) เนื่องจากเหงือกปลาเป็นส่วนของร่างกายปลาส่วนแรกๆ ที่จะต้องสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป (Ogawa, 1974) และเป็นอวัยวะที่สำคัญในระบบหายใจของปลา เหงือกจึงเป็นช่องทางที่สำคัญในการที่จะดูดซึมโลหะหนัก (Hughes and Flos, 1978) ผู้ที่ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับผลกระทบของโลหะหนักที่มีต่อปลา และเชื่อว่าปลาที่ทดลองตายเนื่องจากโลหะหนักไปสะสมอยู่ที่เหงือกปลา ทำให้ระบบการหายใจขัดข้อง นอกจาก Hughes and Flos (1978) แล้ว มีประมาณ (2520) และคนอื่นๆ

ความกดดันทางด้านระบบหายใจของปลานั้นนอกจากจะสังเกตได้จากอาการคันรนเพื่อให้หายใจสะดวกแล้ว อาการเริ่มแรกอาจสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงภายในเหงือกปลา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง gill lamellae หรือ secondary lamellae อาทิเช่น Matthiessen and Brafield (1973) พบว่าปลา stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) ที่ทดลองกับโลหะสังกะสี ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าระดับอันตราย เหงือกจะมี chloride cells มากขึ้น การเปลี่ยนแปลงที่ epithelium ของเหงือกปลานั้น เป็นผลให้

gill filaments เสื่อมประสิทธิภาพ สถานะของระบบหายใจขัดข้อง และปลาต้องตายในที่สุด

ด้วยเหตุผลที่กล่าวมานี้ Lloyd and Swift (1976) จึงได้เน้นว่าจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการสนองตอบทางสรีระ (physiological response mechanisms) ของปลาที่มีต่อสภาพแวดล้อม ถ้าจะมีการประเมินหรือทำลายมลพิษที่เกิดขึ้น เพื่อประโยชน์ทางการประมงโดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งนี้กรรมวิธีในการใช้ ultrastructural techniques จะเป็นประโยชน์มากในการแสดงสถานภาพของ cellular organelles ของเซลล์ เฉพาะส่วนที่มีปฏิกิริยาต่อมลพิษในสภาพแวดล้อมนั้นๆ (Fowler, Wolfe and Hettler, 1975) และยังเป็น การแสดงถึงคุณสมบัติของน้ำในขณะนั้นด้วย

การศึกษาดังนี้จึงเพื่อประเมินค่าผลกระทบของโลหะทองแดงต่อ gill lamellae ของปลาตะเพียนขาว โดยเริ่มตั้งแต่ความเข้มข้นของโลหะทองแดง ระดับต่ำจนถึงความเข้มข้นระดับสูงที่เป็นผลให้ปลาตายในระยะเวลา 2 วัน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการตรวจสอบ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียม static bioassay ได้ใช้วิธีทดลองของประมาณ (2520)

2. การเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่าง gill filaments จาก gill arch อันที่ 3 ข้างขวา (Hughes and Flos, 1978) ของปลาตะเพียนขาวที่มีขนาดความยาว 5.5-9.5 เซนติเมตร

3. การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

3.1 ดองตัวอย่างไว้ในน้ำยาผสมของ osmium tetroxide and glutaraldehyde

(Hirsch Fedorko, 1968) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ 0°ซ. (on ice)

3.2 นำตัวอย่างมา dehydrate โดยแช่ลงในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 30 %, 50 %, 70 % และ 90 % ตามลำดับ ระดับละ 10 นาที แล้วจึงแช่ตัวอย่างใน absolute ethanol 8 ครั้งๆละ 15 นาที ต่อมาแช่ตัวอย่างใน propylene oxide 2 ครั้งๆละประมาณ 10 นาที

3.3 embed ตัวอย่างใน epoxy resin "Epon" (Luft, 1961) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ที่ 45°ซ. 1 วัน และที่ 80°ซ. เป็นเวลา 2 วัน

3.4 ใช้ ultramicrotome LKB ตัด sections จนได้สีทองหรือสีเทา ยัดขยาย sections ด้วยไอของ xylol และซ้อน sections ด้วย 200-mesh copper grids

3.5 ย้อม sections ด้วย uranyl acetate (Watson, 1958) นาน 40-45 นาที และ wash ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 50% และน้ำ

กลั่น ต่อมาย้อม sections อีกครั้งด้วย lead citrate (Reynolds, 1963) และ wash ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.02 นอร์แมล และ wash ด้วยน้ำกลั่นอีก 2 ครั้ง

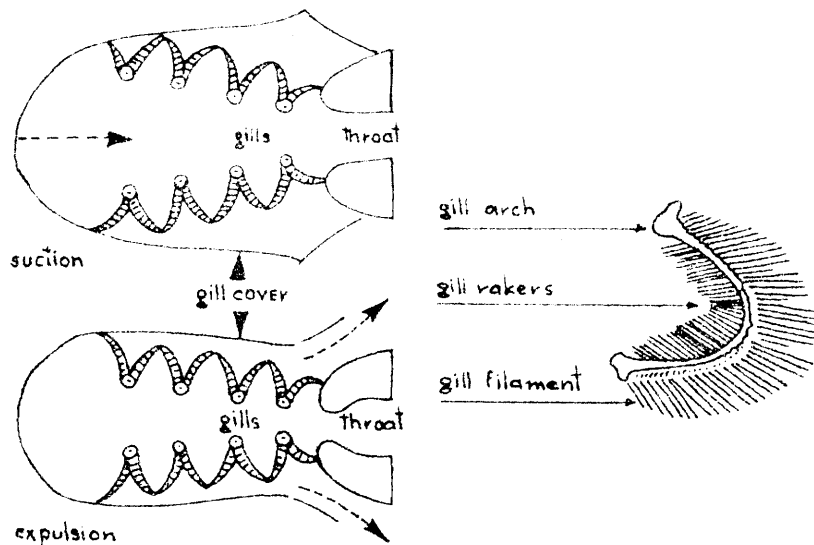
3.6 ตรวจดู sections ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ผล

ลักษณะทั่วไปของ gill lamellae

อวัยวะที่สำคัญในระบบหายใจของปลา ได้แก่ เหงือกปลาซึ่งอาจแบ่งออกเป็น 3 ส่วน (ภาพที่ 1) คือส่วนที่เป็น gill arch ซึ่งเป็นแกนกลาง ส่วนที่เป็น gill rakers ใช้ประโยชน์ในการกรองอาหาร และส่วนที่เป็น gill filaments เป็นแหล่งรับสารขาดและแลกเปลี่ยนแก๊สต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแก๊สออกซิเจนในน้ำโดยตรง

gill filaments นั้น จะแตกแขนงออก



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะเหงือกปลา (gill) ของปลากระดุกแฉียงโดยทั่วไป

ไปเป็นส่วนที่เรียกว่า gill lamellae หรือ secondary lamellae มีลักษณะเป็นแท่งยาว (ภาพที่ 2 ก.) ซึ่งประกอบด้วย epithelial cells เป็นส่วนใหญ่ ภายในเส้นเลือดฝอย (blood capillary) วิ่งผ่านตลอดความยาวของ secondary lamellae โดยมี pillar cells (ภาพที่ 2 ข.) เป็นตัวเชื่อมเส้นเลือดฝอย ดังนั้น secondary lamellae จึงเป็นบริเวณที่สำคัญในการแลกเปลี่ยนแก๊ส (Bettex-Galland and Hughes, 1973)

secondary lamellae จะมีชั้นของ epithelial cells ที่มีความหนาเพียง 1-2 ชั้น (ภาพที่ 2 ก. และ 3 ก.) จะมีช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular spaces) อยู่โดยทั่วไป นอกจากนี้จะมี basement membrane ที่หุ้มรอบเส้นเลือดฝอยค่อนข้างบาง (รายละเอียดดูใน Hughes and Wright, 1970) ด้านนอกของชั้น epithelium จะปกคลุมด้วยชั้นของเมือก (mucus) (ภาพที่ 3 ก.ข.) ลักษณะที่เป็นองค์ประกอบต่างๆ ดังกล่าวนี้ แก๊สจึงซึมผ่านเข้าออกได้ง่าย

chloride cells (ภาพที่ 4) และ mucous cells จะพบมากบริเวณส่วนฐาน (proximal) ของแขนงของ gill lamellae และในบริเวณ gill lamellae จะพบเซลล์เหล่านี้น้อย (Hughes and Wright, 1970)

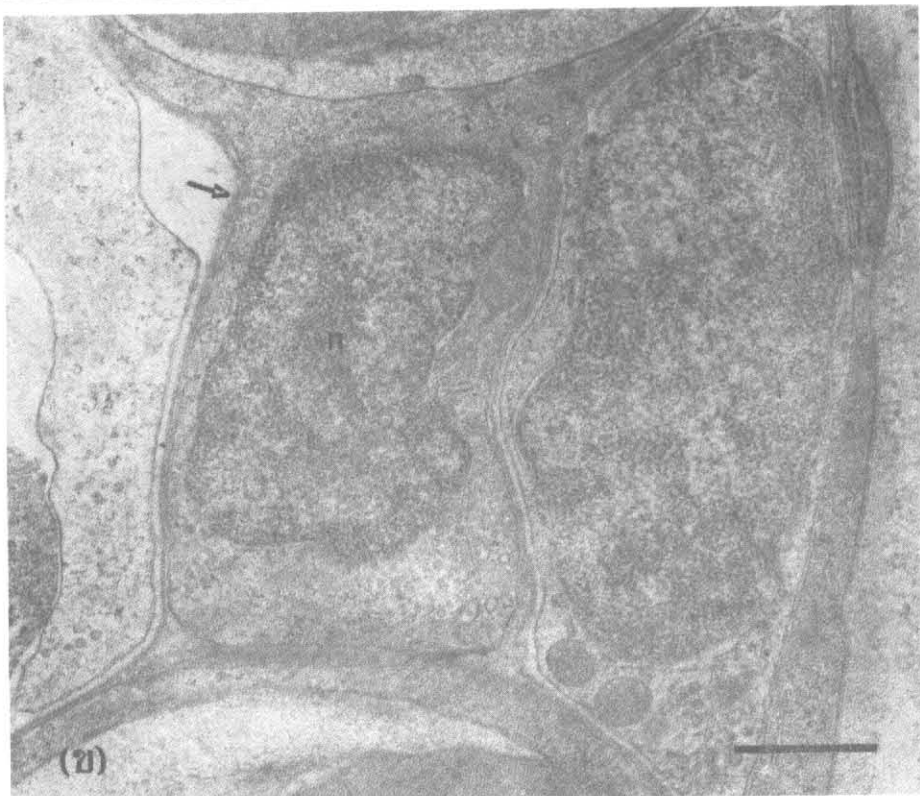
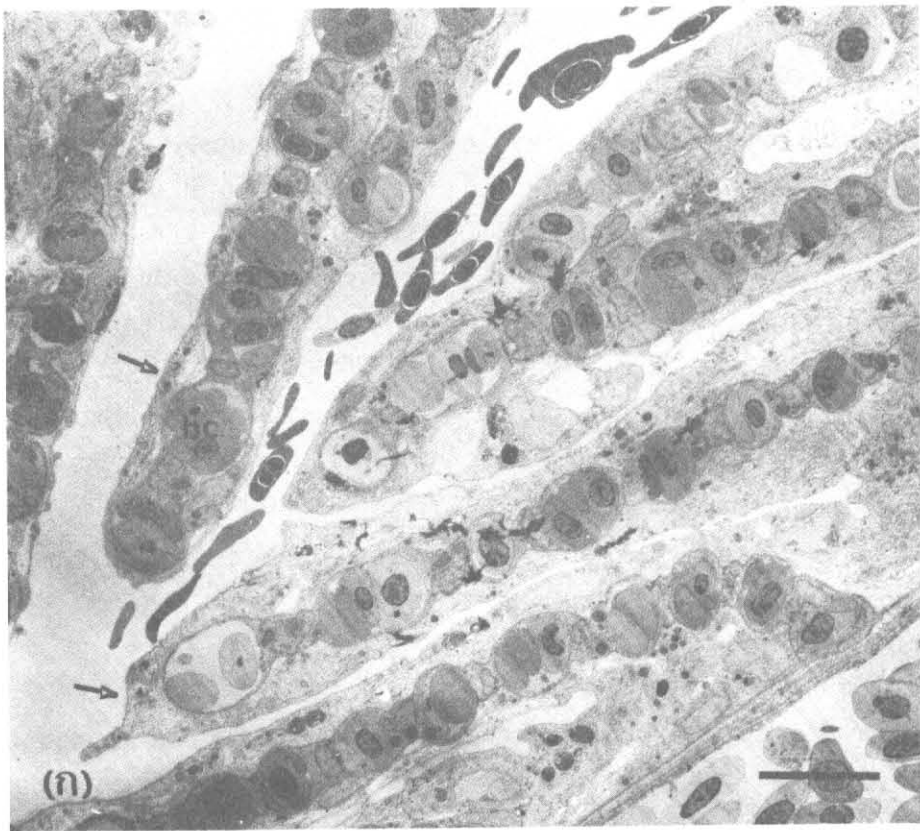
ผลกระทบที่ gill lamellae ได้รับเนื่อง จากโลหะทองแดง

ปลาที่อยู่ในน้ำที่มีระดับความเข้มข้นของโลหะทองแดง 0.5 ส่วนในล้านเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะพบว่าบริเวณด้านนอก (outer surface) ของ epithelial cells มี particles ของส่วนประกอบของโลหะทองแดงเกาะอยู่โดยทั่วไป (ภาพที่ 5 ก.) รวมทั้งซึมแทรกผ่านเข้าไปในช่องว่างระหว่างเซลล์ด้วย (ภาพที่ 5 ข.)

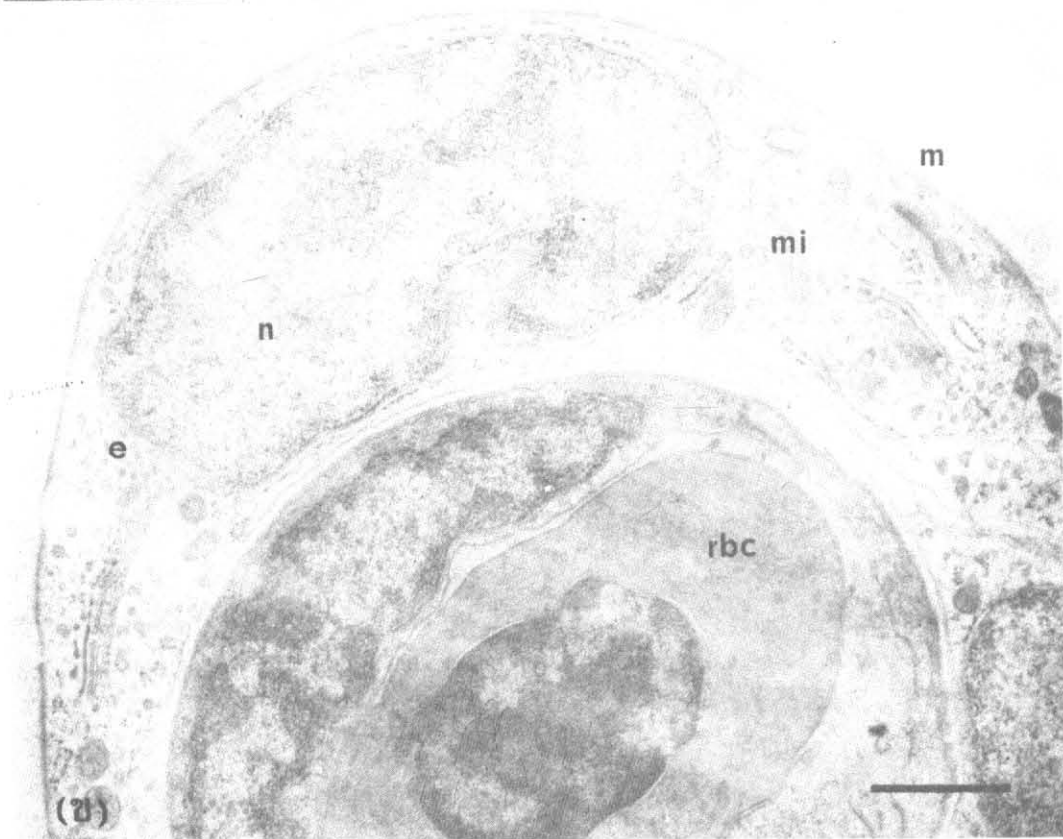
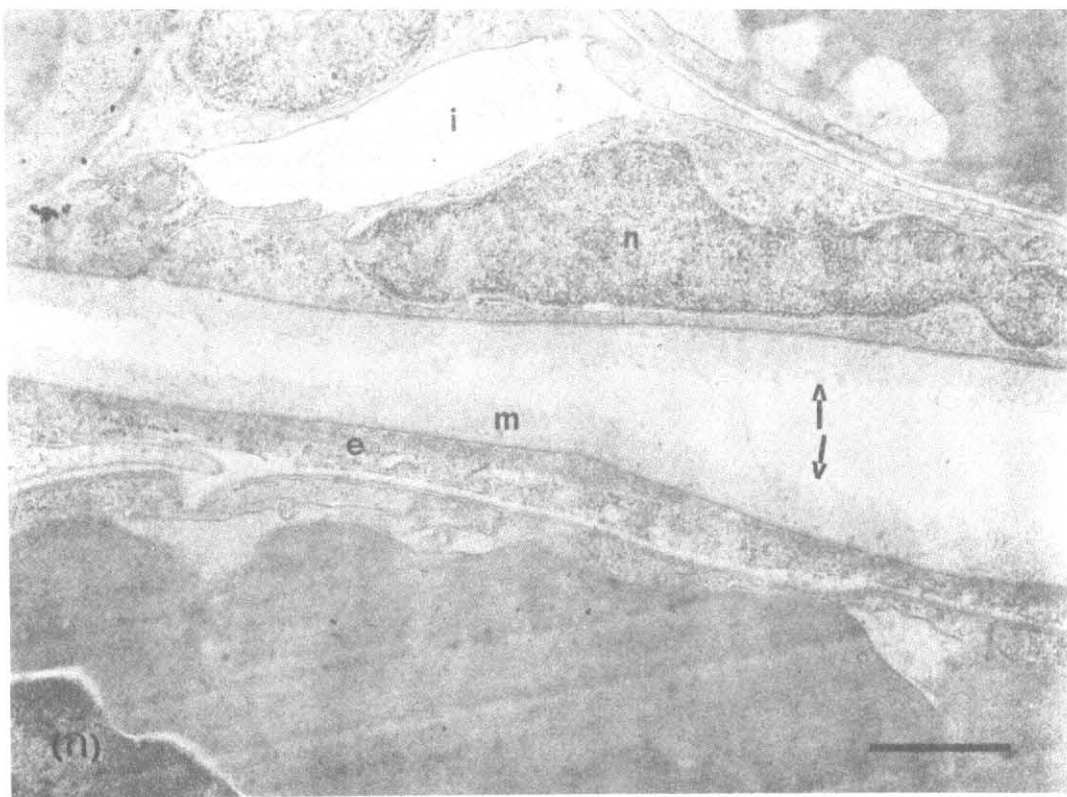
epithelial cells และ chloride cells จะมี การเปลี่ยนแปลงโดยพบว่ามี inclusions อยู่ในเซลล์ (ภาพที่ 6 ก.) นอกจากนี้จะพบ blood cells 2 ชนิดอยู่ด้วย คือ lymphocytes และ eosinophils (รูปที่ 6 ข.) (รายละเอียดดูใน Phromsuthirak, 1977) ในปลาที่อยู่ในน้ำที่มีระดับความเข้มข้นของทองแดง 10 ส่วนในล้าน จะพบว่ามี inclusions เกิดขึ้นมากใน epithelial cells และใน chloride cells (ภาพที่ 7 ก.) โดยเฉพาะอย่างยิ่งน่าจะเกิดการตายของเซลล์ด้วย (ภาพที่ 7 ข.)

วิจารณ์

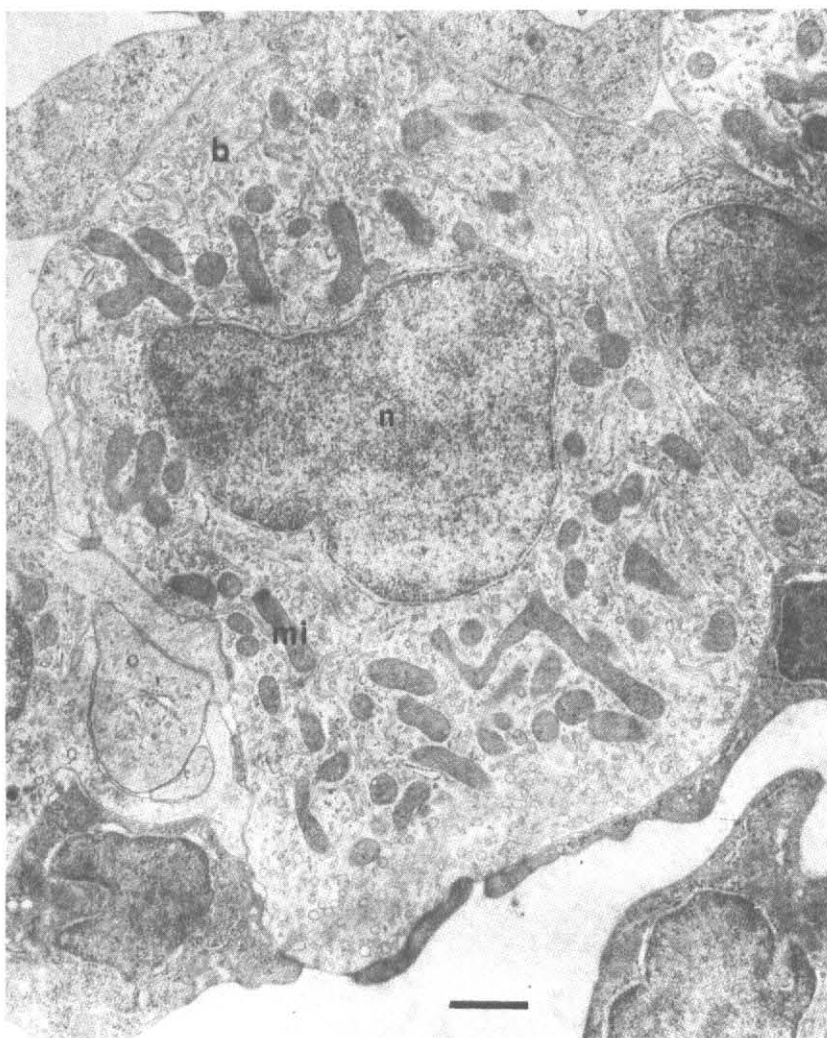
ระดับความเป็นพิษและ/หรือความเข้มข้นของโลหะทองแดงที่ละลายในน้ำอาจเปลี่ยนแปลงไป โดยมีสาเหตุจากโลหะทองแดงบางส่วนดูดซับติดกับสารแปลกปลอม (particulate matter) บางส่วนตกตะกอน และบางส่วนรวมกับสารรวมสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ (Stumm and Bilinski, 1973) ความเป็นกรดเป็นด่าง, ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำสามารถเปลี่ยนแปลงความเป็นพิษของโลหะทองแดงได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ความกระด้างของน้ำ โดยเฉพาะปริมาณแคลเซียมในน้ำมีผลกระทบต่อความเป็นพิษของสารพิษหลายชนิดอย่างมาก Lewis (1978) ได้กล่าวถึงความ เป็นพิษของโลหะทองแดงที่ทำให้ปลาตายในสิ่งแวดล้อมต่างๆ กันนี้ว่า มีรายงานไว้ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 0.002-470 มิลลิกรัม/ลิตร และ Mount (1968) ได้รายงาน ว่า ค่า LC_{50} ของโลหะทองแดงที่มีต่อปลา fathead minnows ในน้ำที่มีความกระด้าง 200 มิลลิกรัม $CaCO_3$ /ลิตร มีค่าน้อยกว่า 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นต้น ในการทดลองครั้งนี้ ระดับความเข้มข้นของ โลหะทองแดงจะเป็นตัวกำหนดให้ปลาตะเพียนขาวที่ใช้ทดลองตายจึงมีค่าเปลี่ยนแปลงไปไม่แน่นอนเสมอไป เช่นกัน



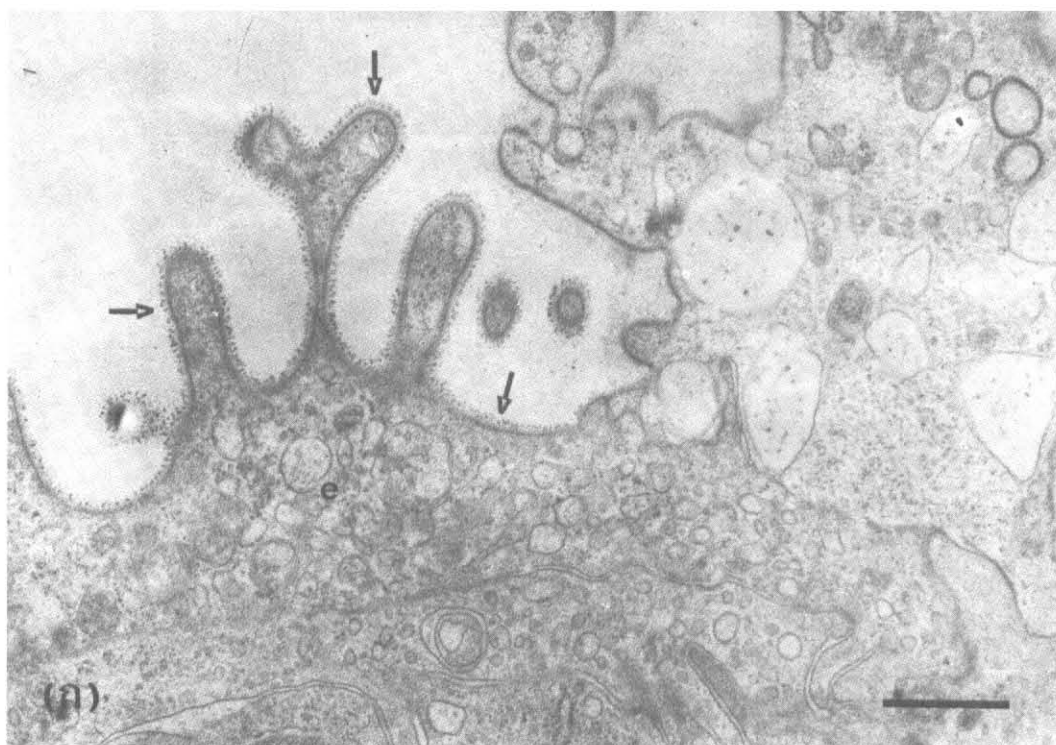
ภาพที่ 2 ลักษณะปกติของเหงือกปลา (ก) แสดง gill lamellae (ลูกครี) สังเกตเห็นเลือดฝอย (bc) ที่วิ่งตลอดความยาวของ gill lamellae โดยจะเห็นเม็ดเลือดแดงอยู่ภายใน. Bar = 10 μ m (ข) section ของ gill lamellae แสดง "pillar cell" (ลูกครี) ซึ่งพบใน blood capillary; n, nucleus. Bar = 1 μ m



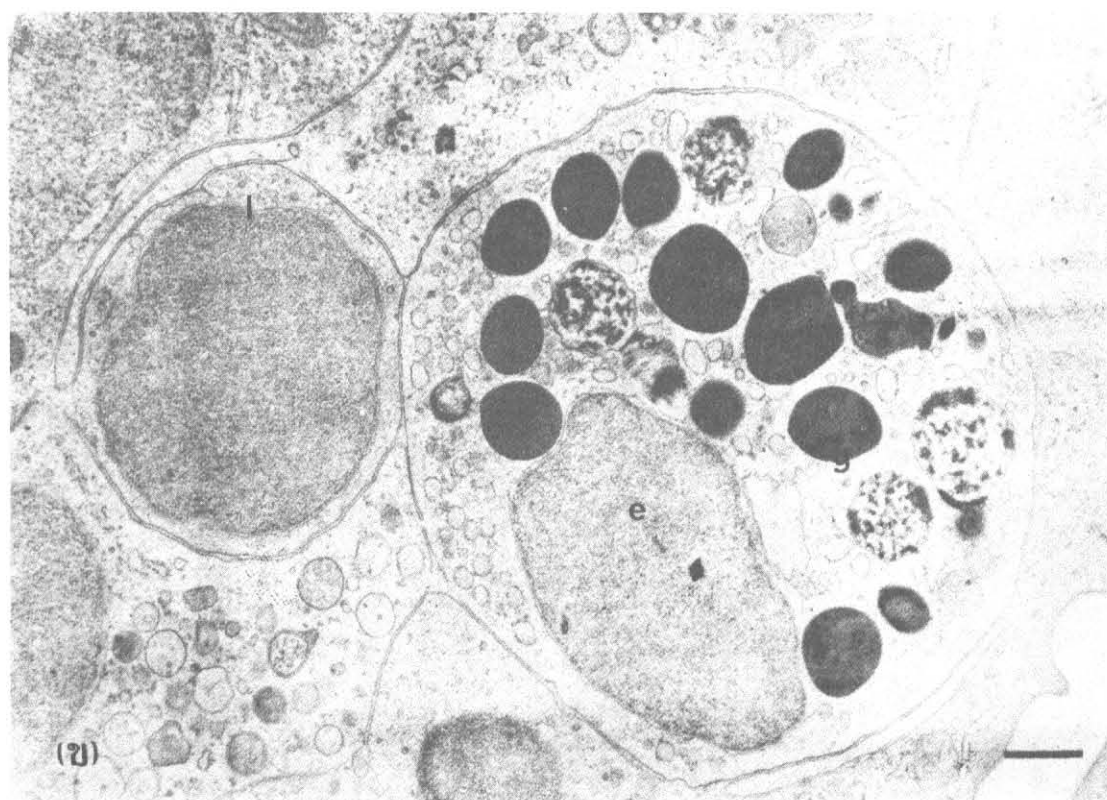
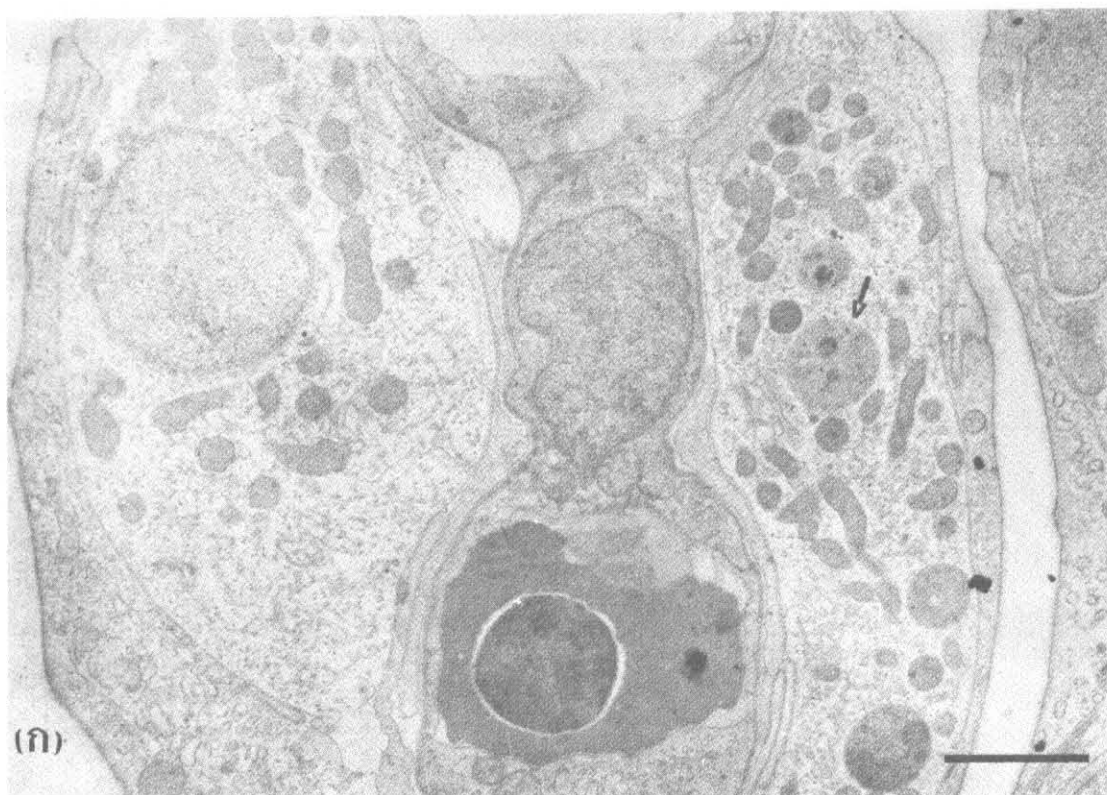
ภาพที่ 3 ลักษณะปกติของเหงือกปลา (ก) แสดงส่วนผิวนอกของ gill lamellae (ลูกศรชี้) สังเกตช่องว่างระหว่างเซลล์ (i); e, epithelial cells; m, mucus; n, nucleus. Bar = 1 μ m (ข) แสดงผิวนอกส่วนปลายของ gill lamellae; e, epithelial cell; m, mucus; mi, mitochondria; n, nucleus; rbc, red blood cell. Bar = 1 μ m



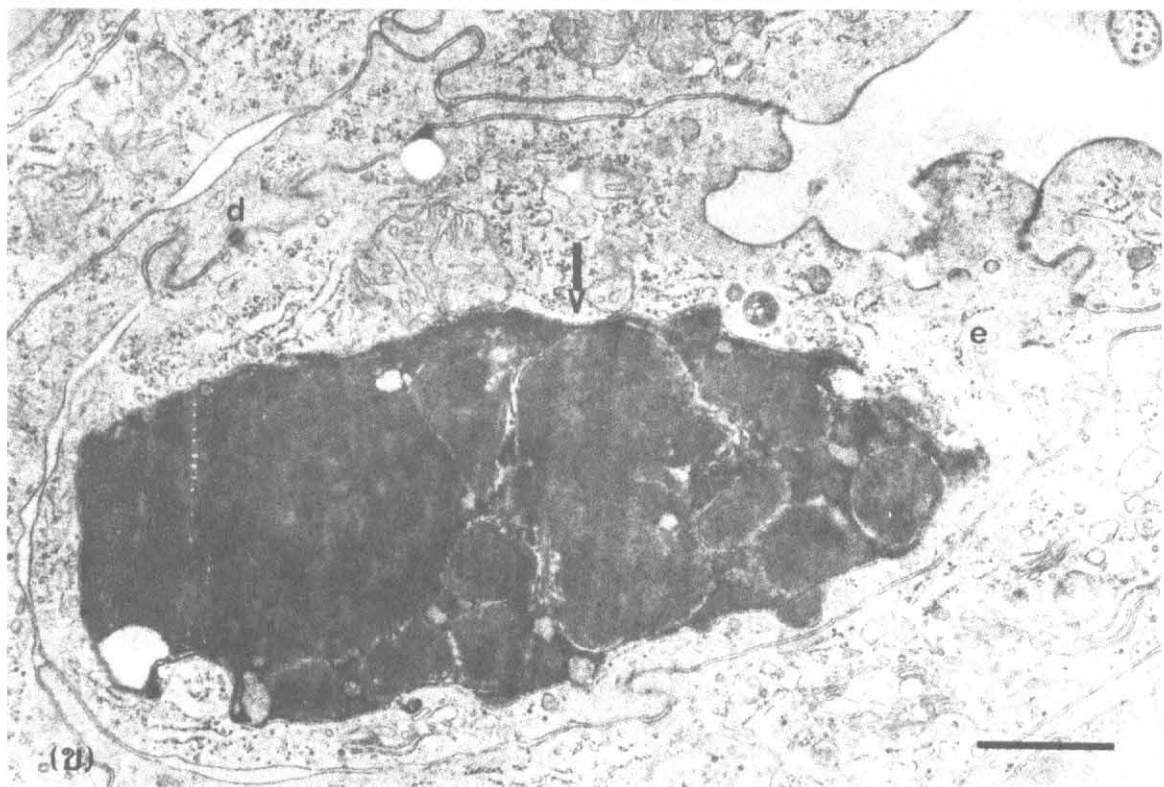
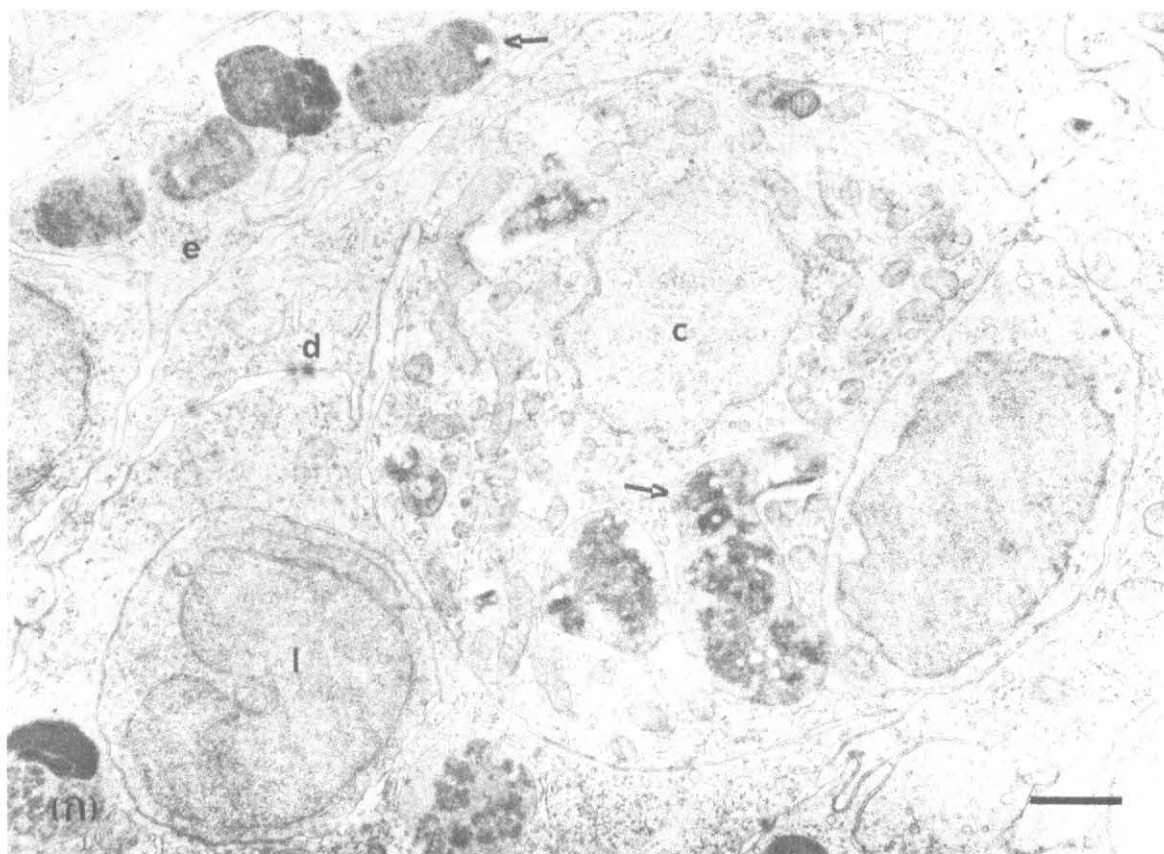
ภาพที่ 4 ลักษณะปกติของเหงือกปลา แสดง chloride cell ใน gill filament
สังเกต mitochondria (mi) และ branching tubules (b) จำนวน
มากภายในเซลล์; n, nucleus. Bar = 1 μ m



ภาพที่ 5 เหยื่อปลา ที่ระดับความเข้มข้นของโลหะทองแดง 0.5 ppm ระยะเวลา 48 ชั่วโมง
 แสดง (ก) particulate substances (ลูกศรชี้) ติดอยู่ที่ mucus ผิวนอกของ
 epithelial cell, e, ใน gill filament. Bar = 1 μ m (ข) particulate
 substances (ลูกศรชี้) ในช่องว่างระหว่างเซลล์. Bar = 0.5 μ m



ภาพที่ 6 เหงือกปลาที่ระดับความเข้มข้นของโลหะทองแดง 0.5 ppm ระยะเวลา 48 ชั่วโมง แสดง
 (ก) inclusions (ลูกครีซี) ใน chloride cell ใน gill lamellae. Bar = 2 μ m
 (ข) ใน gill filament มี intrusive cells หรือเซลล์เม็ดเลือดเข้ามาเกี่ยวข้องกับ
 l, lymphocyte; eo, eosinophil; g, granules. Bar = 1 μ m



ภาพที่ 7 เหนือปลาที่ระดับความเข้มข้นของโลหะทองแดง 10 ppm ระยะเวลา 48 ชั่วโมง แสดง (ก) inclusions (ลูกศรชี้) ใน epithelial cell, e; และใน chloride cell, c โปรคสังเกิด lymphocyte, l; d, desmosome. Bar = 1 μ m (ข) เซลล์ที่ตายแล้วหรือ inclusion ขนาดใหญ่ (ลูกศรชี้) ใน epithelial cell, e; d, desmosome. Bar = 1 μ m

โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อ การ ทดลอง กระทำ การ
ตรวจสอบทางด้าน histology ของปลาแต่ละ
ตัว

สำหรับการศึกษาทางด้าน histology ได้
ทำการ ตรวจสอบ เฉพาะ ผล กระทบ ที่เกิดขึ้นกับ
เหงือกปลาบริเวณส่วนที่เรียกว่า gill lamellae
เท่านั้น ด้วยเหตุผลที่ Hughes and Flos (1978)
ได้อ้าง Joyner (1961) ที่ได้พบว่ามากกว่า
ครึ่งหนึ่งของ โลหะ สังกะสี จะตรวจพบที่เหงือก
และลำไส้ของปลา ส่วนใน ตับ ไต ผิวหนัง
กล้ามเนื้อ กระดูก และม้าม จะพบปริมาณ
น้อยจึงน่าจะเชื่อได้ว่าผลกระทบส่วนใหญ่จะเกิด
บริเวณเหงือกปลา และจากการศึกษาของ
Hughes and Flos (1978) ได้แสดงว่าการที่
เหงือกของปลาเทราท์ ได้รับผลกระทบจากโลหะ
สังกะสีนั้นเป็นผลให้ความสามารถ ในการแลกเปลี่ยน
แก๊สลดลง จึงทำให้ปลาตายเพราะได้
รับออกซิเจนไม่พอเพียงหรือขาดออกซิเจน

นอกจากผลกระทบที่เกิดขึ้นกับเหงือกปลา
นั้นมิได้มีส่วนเกี่ยวข้องกับปริมาณของโลหะหนัก
ในตัวปลาแต่อย่างใด ดังเช่น Lloyd (1960)
ได้พบว่าถ้าฉีดสารพิษเข้าไปในตัวปลา ปลาจะ
มีชีวิตอยู่ ได้นาน กว่าเอาสารพิษใส่ในน้ำที่ปลา
อาศัยอยู่ สารพิษที่มีเจือปนอยู่ในน้ำ จะตรวจ
พบที่บริเวณเหงือกและไตได้เป็นปริมาณมาก แต่
ถ้าสารพิษถูกฉีดเข้าไปในตัวปลา กลับตรวจพบ
ที่บริเวณเหงือกเป็นปริมาณน้อย เป็นเครื่องยืนยัน
ว่าสารพิษจะสะสมอยู่บริเวณผิวหนังนอกของ
gill lamellae รวมทั้งจะมีโลหะหนักบางส่วน
เข้าไปภายใน epithelium (ภาพที่ 5 ข.)

การศึกษาค้นคว้ายังพบว่า epithelial cell
บางเซลล์ตายไปด้วย (ภาพที่ 7 ข.) ซึ่งสอดคล้อง
กับการศึกษาของ Abel (1976) ที่ศึกษา
พิษของ anionic detergent ที่มีต่อเหงือกของ
ปลา brown trout (*Salmo trutta* L.) และ
รายงาน bahwa เซลล์ของเหงือกปลาจะเกิดการย่อยตัว

เอง (autolysis) ซึ่งเกิดจากน้ำย่อยภายในเซลล์
และจะเกิด lesion ที่ cell membrane หลังจากนั้น
ก็จะเกิดปฏิกิริยาโดยตรงของ detergent
ในองค์ประกอบของเซลล์ เซลล์ของเหงือกปลา
ตะเพียนขาวที่ตายนั้นอาจเป็นข้อสันนิษฐานแบบที่
Abel (1976) ได้รายงานไว้ก็ได้ อย่างไรก็ตาม
เท่าที่ตรวจพบมีเซลล์ตายเพียงเซลล์เดียวเท่านั้น

ระยะทางระหว่างน้ำและเลือดที่ gill la-
mellae เป็นตัวเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ใช้อธิบาย
การแลกเปลี่ยนแก๊ส Skidmore and Tovell
(1972) กล่าวว่า gill lamellae ที่ได้รับผล
กระทบจาก โลหะหนัก จะเกิดช่องว่าง ระหว่าง
เซลล์มากขึ้นเป็นผลให้ระยะทางการรับออกซิเจน
จากน้ำยาวมากขึ้น แต่จากการศึกษาครั้งนั้นกลับ
พบในทางตรงกันข้าม กล่าวคือ gill lamellae
ที่ได้รับผลกระทบจากโลหะทองแดง (ภาพที่ 6 ก.
และ 7 ก.) จะมี epithelial cells อยู่ในลักษณะ
แนบชิดกันมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ gill
lamellae ปกติ ดังนั้นน่าจะสันนิษฐานได้ว่า
แม้ว่าระยะทางการรับออกซิเจนจากน้ำจะลดลง
แต่การที่เซลล์เบียดกันแน่นกว่าปกติก็น่าจะเป็น
ผลให้การซึมแทรกของ แก๊ส เป็น ไปได้ยากขึ้น
ยิ่งกว่านั้นการที่มี particles ของโลหะทองแดง
ไปเกาะติดผิวของ gill lamellae ก็ยังจะ
เป็นตัวกั้น การ แลก เปลี่ยน แก๊ส เพิ่ม ขึ้นโดยลด
พื้นที่ผิวของ gill lamellae ที่ใช้ในการแลกเปลี่ยน
แก๊สได้ลงไป

ผลกระทบที่เกิดขึ้นกับ chloride cells นั้น
ยังไม่เข้าใจอย่างแน่ชัด โดยปกติจะพบ chloride
cells มากบริเวณ gill filaments และส่วน
ฐานของ gill lamellae (Matthiessen and
Brafeld, 1973) และจะพบน้อยใน gill la-
mellae สภาพภายใน chloride cells ที่ติด
ปกติก็จะมี inclusions เกิดขึ้น (ภาพที่ 6 ก.
และ 7 ก.) ซึ่งอาจจะเป็นผลสืบเนื่องมาจากการ
สนองตอบต่อ โลหะ ทองแดง อย่างไรก็ตาม

Matthiessen and Brafield (1968) ได้ทำการทดลองผลกระทบของโลหะสังกะสีกับปลา *Gasterosteus aculeatus* ในน้ำกลั่น พบว่าจำนวนของ chloride cells ที่ gill filaments ไม่เพิ่มจำนวนขึ้น แต่มี secretory activities เพิ่มขึ้น เนื่องจากมี tubules ของ smooth endoplasmic reticulum บวมหรือพองออก และมีลักษณะ electron-transparent มากขึ้น การที่ทราบกลไกทั้งหมดที่เกิดขึ้นของโลหะทองแดงที่มีผลกระทบต่อ gill lamellae นั้น จะสมบูรณ์ได้เมื่อมีการศึกษาต่อไปอีก และจากการศึกษาครั้งนี้อย่างน้อยทำให้ทราบว่า particles ของโลหะทองแดงไปเกาะที่ผิวนอกของ epithelial cells จริง และเชื่อได้ว่าสาเหตุการตายของปลาทดลองเกิดขึ้นเนื่องจากออกซิเจนไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปสู่เลือดในบริเวณ gill lamellae ได้ เป็นผลให้การได้รับออกซิเจนเกิดขึ้นน้อยลง เกิดการขาดแคลนออกซิเจนในระบบหายใจ เป็นผลให้ปลาตายในที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- ประมาณ พรหมสุทริรักษ์. 2520 ผลของ heavy metals ที่มีต่อปลาน้ำจืดบางชนิดใน : รายงานการสัมมนาทางวิชาการ "ปัญหามลภาวะของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย" เอกสารหมายเลข 2. กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 250-291.
- Abel, P.D. 1976. Toxic action of several lethal concentrations of an anionic detergent on the gills of the brown trout (*Salmo trutta* L.). *J. Fish. Biol.* 9 : 441-446.
- Bettex-Galland, M. and G.M. Hughes. 1973. Contractile filamentous material in the pillar cells of fish gills. *J. Cell. Sci.* 13 : 359-370.
- Fowler, B.A., D.A. Wolfe and W.F. Hettler. 1975. Mercury and iron uptake by cytosomes in mantle epithelial cells of quahog clams (*Mercenaria mercenaria*) exposed to mercury. *J. Fish Res. Board Can.* 32 : 1767-1775.
- Hirsch, J.G. and M.E. Fedorko. 1968. Ultrastructure of human leucocytes after simultaneous fixation with glutaraldehyde and osmium tetroxide and "postfixation" in uranyl acetate. *J. Cell. Biol.* 38 : 615-627.
- Hughes, G.M. and R. Flos. 1978. Zinc content of the gills of rainbow trout (*S. gairdneri*) after treatment with zinc solutions under normoxic and hypoxic conditions. *J. Fish Biol.* 13 : 717-728.
- Hughes, G.M. and D.E. Wright. 1970. A comparative study of the ultrastructure of the water-blood pathway in the secondary lamellae of teleost and elasmobranch fishes ben-thic forms. *Z. Zellforsch.* 104 : 478-493.
- Joyner, T. 1961. Exchange of zinc with environmental solutions by the brown bullhead. *Trans. Am. Fish. Soc.* 90 : 444-448. (From Hughes and Flos, 1978).
- Lewis, M. 1978. Acute toxicity of copper, zinc and manganese in single and mixed salt solutions to juvenile longfin dace. *Agosia chrysogaster*. *J. Fish Biol.* 13 : 695-700.
- Lloyd, R. 1960. The toxicity of zinc sulphate to rainbow trout. *Ann. Appl. Biol.* 48 : 84-94.

- Lloyd, R. and D.J. Swift. 1976. Some physiological responses by freshwater fish to low dissolved oxygen, high carbon dioxide, ammonia and phenol with particular reference to water balance. In *Effects of pollutants on aquatic organisms*, edited by A.P.M. Lockwood. Cambridge University Press. pp. 47-70.
- Luft, J.H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. biophys. biochem. Cytol.* 9 : 409-414.
- Matthiessen, P. and A.E. Brafield. 1973. The effects of dissolved zinc on the gills of the stickleback, *Gasterosteus aculeatus* (L). *J. Fish. Biol.* 5 : 607-613.
- Mount, D.I. 1968. Chronic toxicity of copper to fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque). *Water Res.* 2 : 215-223.
- Ogawa, M. 1974. The effects of bovine prolactin, sea water and environmental calcium on water influx in isolated gills of the euryhaline teleosts, *Anguilla japonica* and *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 49A, 545-553.
- Phromsuthirak, P. 1977. Electron microscopy of wound healing in the skin of *Gasterosteus aculeatus*. *J. Fish. Biol.* 11 : 193-206.
- Reynolds, E. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17 : 208-212.
- Skidmore, J.F. and P.W.A. Tovell. 1972. Toxic effects of zinc sulphate on the gills of rainbow trout. *Water Res.* 66 : 217-230.
- Stumm, W. and H. Bilinski. 1973. Trace metals in natural waters : difficulties of interpretation arising from our ignorance of their speciation. *Adv. Water Poll. Res.* 6 : 39-52.
- Watson, M.L. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. biophys. biochem. Cytol.* 4 : 475-478.