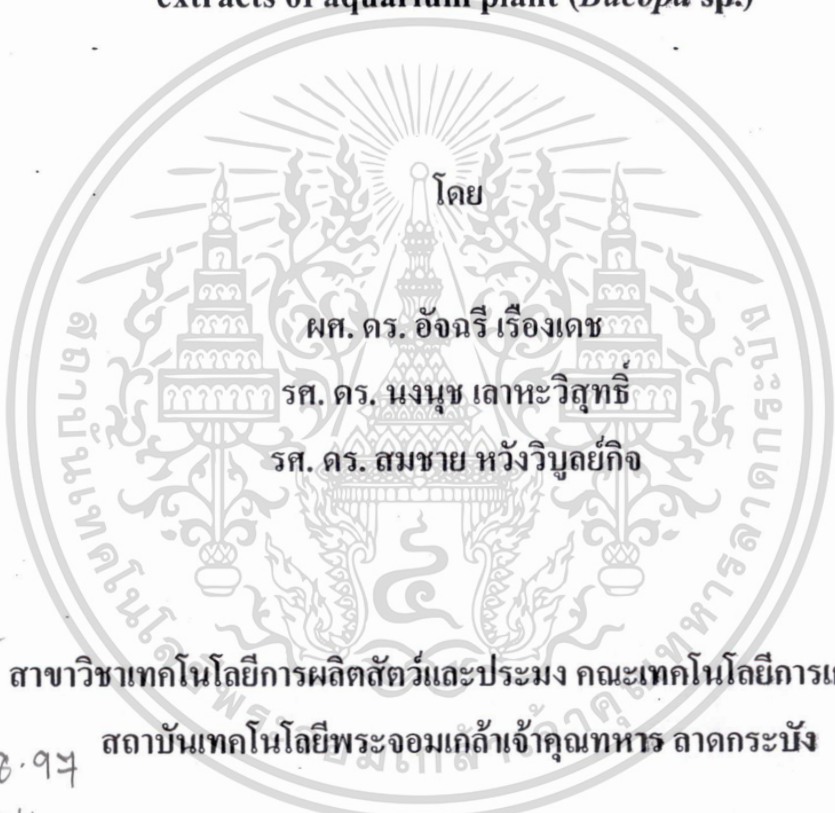


รายงานการวิจัย

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันปลาเศรษฐกิจด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ
Enhancement of non-specific immunity in commercial fish by using liquid
extracts of aquarium plant (*Bacopa* sp.)



RCH

OH

638.97

ค514ก

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เลขหมู่.....ค 1
เลขทะเบียน.....115520
วัน,เดือน,ปี.....15 ส.ค. 2554

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2552

b.....12311686.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการวิจัย

การเพิ่มภูมิคุ้มกันปลาเศรษฐกิจด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ

Enhancement of non-specific immunity in commercial fish by using liquid extracts of aquarium plant (*Bacopa* sp.)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2552

จำนวนเงิน

200,000 บาท

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เดือนตุลาคม 2551 – เดือนกันยายน 2552

หน่วยงานและผู้ดำเนินการวิจัย

ผศ. ดร. อัจฉรี เรืองเดช

E-mail: kruschar@kmitl.ac.th

รศ. ดร. นงนุช เกาหะวิสุทธิ

รศ. ดร. สมชาย หวังวิบูลย์กิจ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถ.ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

โทรศัพท์ 0-2329-8517 โทรสาร 0-2329-8517

การเพิ่มภูมิคุ้มกันปลาเศรษฐกิจด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ

บทคัดย่อ

งานวิจัยทำเพื่อศึกษาศักยภาพของพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ (*Bacopa monnieri* L.) ที่มีในประเทศไทยในการเป็นสารจากธรรมชาติที่ใช้เพิ่มภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ ด้วยวิธีสกัดพรมมิอบแห้งด้วยเอทานอล นำสารสกัดมาเคลือบอาหารเลี้ยงปลาที่ความเข้มข้นสามระดับ คือ 0.5, 1 และ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้สารสกัด ทดลองให้ปลาตุ๊กตาคอม (Clarias macrocephalus x Clarius gariepinus) และปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) กินเป็นเวลา 8 สัปดาห์ แล้วนำปลาทั้งสองชนิดมาทดสอบด้วยการทำให้ติดเชื้อแบคทีเรีย (*Aeromonas hydrophila*) ที่ก่อให้เกิดโรค บันทึกรายการตายของปลาทดลอง ผลปรากฏว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากพรมมิมีความสามารถในการต้านทานเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้กินสารสกัด ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการต้านเชื้อของสารสกัดที่ใช้คือ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารในปลาคู และ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารในปลากะพงขาว ซึ่งเกิดจากสารประกอบในกลุ่มฟีนอลที่มีในพรมมิ ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริมสาร

สกัดจากพรมมิลงในอาหารสามารถช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์น้ำได้ พรรณไม้น้ำสกุลพรมมิจึงมี
คุณค่าทั้งการใช้เพื่อประดับตู้ปลาและการใช้เพื่อสรรพคุณทางเภสัช

คำสำคัญ : พรมมิ ภูมิคุ้มกัน ปลากะพงขาว ปลาดุก

Enhancement of non-specific immunity in commercial fish by using liquid extracts of aquarium plant (*Bacopa* sp.)

Abstract

The present study investigated the potential of aquarium plant, *Bacopa monnieri* L., in Thailand as a natural source of immune-stimulant for aquatic animals. Oven dried plant was extracted with ethanol. Three diet variations and in addition a control diet (without extract) were used. These contained 0.5, 1, and 2 g of extract/ kg feed. The diets were fed to commercial fish (hybrid catfish; *Clarias macrocephalus* x *Clarius gariepinus*, and barramundi; *Lates calcarifer*) for eight weeks. The fishes were infected with bacteria (*Aeromonas hydrophila*) and mortalities were recorded. The results showed that all fish fed with the diet supplemented by *B. monnieri* L. extract had higher resistance to bacterial infection than the control group. The optimum concentrations of the extract were 0.5, and 2.0 g of extract/ kg feed for catfish, and barramundi, respectively. This was due to some specific phenolic compound of the *B. monnieri* L. extract. It can be concluded that *B. monnieri* L. extract supplementation on feed could act as immune-stimulant and enhance the immune response as well as disease resistance of aquatic animals. We suggest *B. monnieri* to be suitable for aquarium plant and medicinal plant.

Keywords: *Bacopa monnieri*, Immune, Barramundi, Hybrid catfish

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	III
สารบัญตาราง	IV
สารบัญภาพ	V
บทนำ	1
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	6
ผลการทดลองและวิจารณ์	12
สรุปผลการทดลอง	21
บรรณานุกรม	22
ภาคผนวก	26



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงกับเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น	12
2	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตรารอด	13
3	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดและเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลากะพงขาว (<i>Lates calcarifer</i>)	16
4	น้ำหนักเฉลี่ยของปลากะพงขาว <i>Lates calcarifer</i> (Bloch) (กรัมต่อตัว)	19
5	ความยาวเฉลี่ยของปลากะพงขาว <i>Lates calcarifer</i> (Bloch) (เซนติเมตร ต่อตัว)	19



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของต้นพรหมมิ	2
2	แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารที่พบในพรหมมิ	3
3	Yellow flurescent lipofuscin ในเซลล์ hippocampus ของหนูภายใต้สภาวะต่างๆ	5
4	ลักษณะของพรรณไม้น้ำพรหมมิที่ปลูกไว้สำหรับการทดลอง	8
5	ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดของปลาดุกลูกผสมที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรหมมิ (a) เม็ดเลือดแดง, (b) เม็ดเลือดขาว	13
6	อัตราการรอดของปลาดุกหลังจากฉีดเชื้อ <i>Aeromonas hydrophila</i> ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง	14
7	ลักษณะที่ปลาที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรหมมิ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร หลังจาก การได้รับเชื้อ <i>Aeromonas hydrophila</i> (a) ได้รับเชื้อ 2 วัน (b) รับเชื้อ 5 วัน	15
8	ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดของปลากะพงขาว	16
9	อัตราการรอดของปลากะพงขาวหลังจากฉีดเชื้อ <i>Aeromonas hydrophila</i> ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง	17
10	ปลาในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารที่ตายหลังจากที่ฉีดเชื้อ <i>Aeromonas hydrophila</i> ที่เวลา 32 ชั่วโมง	18
11	ปลาในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรหมมิที่ความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารที่รอดหลังจากที่ฉีดเชื้อ <i>Aeromonas hydrophila</i> ที่เวลา 96 ชั่วโมง	18

บทนำ

การเลี้ยงสัตว์น้ำปัญหาหลักอย่างหนึ่งคือโรค โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย และไวรัส มักจะก่อให้เกิดการตายอย่างรวดเร็ว โรคที่เกิดจากแบคทีเรียประกอบด้วย วัณโรคปลา (*Mycobacterium* หรือ *Nocardia*) ที่ทำให้ปลามีแผลตามลำตัว โรคครีบเปื่อย ตกเลือดจากเชื้อ *Aeromonas* sp. โรคติดเชื้อจาก *Streptococcus* -sp. ซึ่งสามารถทำให้ปลาตายได้ 70-80 % ภายใน 3 วันและเชื้อนี้ยังติดต่อยาปฏิชีวนะ sulfamethaxazol และ nalidixic acid (ยาวนิติก และคณะ, 2543) ลักษณะปลาที่ป่วยจะมาอยู่รวมกันเป็นกลุ่มบริเวณก้นบ่อหรือบริเวณที่มีน้ำไหลเอื่อย ปลาจะเริ่มว่ายน้ำช้าลงและไร้ทิศทาง ตัวปลาจะมีอาการท้องบวมเป่ง ตาโปนเหงือกซีด และมีจุดเลือดออกตามลำตัวแล้วตายไปในที่สุด ซึ่งโรคที่เกิดจากแบคทีเรียหรือไวรัสจะสามารถป้องกันได้ถ้าปลามีภูมิคุ้มกันที่ดี การเสริมภูมิคุ้มกันโดยการผสมสมุนไพรรวมกับอาหารจึงเป็นสิ่งที่ผู้เลี้ยงปลาให้ความสนใจ เนื่องจากเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ

แม้แต่สารที่มีตามธรรมชาติอย่างออกซิเจนก็อาจเป็นปัญหาได้ สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนเพื่อเป็นแหล่งของพลังงานแก่ร่างกาย แต่ในบางกรณีที่มีโมเลกุลของออกซิเจนมากเกินไปในรูปของอนุมูลอิสระ โมเลกุลเหล่านี้จะเข้าไปทำลายโมเลกุลอื่น ๆ ของร่างกายทำให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์และเนื้อเยื่อ ซึ่งอาจส่งผลต่อการทำลาย DNA ทำให้เซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นมีความผิดปกติ หรือทำให้อีนาไซม์ในร่างกายทำงานผิดปกติไป ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระเหล่านี้เรียกว่าเกิดการออกซิเดชันเป็นที่ทราบกันว่า สารต้านอนุมูลอิสระที่มีมากเกินไปในร่างกายส่งผลให้ร่างกายอ่อนแอมีภูมิคุ้มกันลดลง การป้องกันเซลล์จากการทำลายของอนุมูลอิสระเหล่านี้ จะต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เพราะสารต้านอนุมูลอิสระจะไปทำให้อนุมูลอิสระเป็นกลาง (neutralize) ซึ่งจะไม่เป็นอันตราย บางครั้งการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะก็จะแก้ปัญหาไม่ทัน ในปัจจุบันจึงนิยมใช้การเสริมให้ตัวสัตว์น้ำมีภูมิคุ้มกันที่ดี มีความสามารถในการกำจัดเชื้อโรคแปลกปลอมได้ด้วยตนเอง ความรุนแรงของปัญหาจะน้อยลง สารต้านอนุมูลอิสระนี้จะได้จากอาหาร พวกวิตามินซี วิตามินอี เบต้ากลูแคน แอสต้าแซนทิน เกลือแร่ หรือพวกไมโซสารอาหารที่มักจะได้มาจากพืช เช่นพวกสารเคมีจากพืช (phytochemicals) เช่นกลุ่ม flavonoids, polyphenols และ anthocyanin

พรรณไม้น้ำที่มีความสวยงามและนิยมใช้ประดับตู้ปลาที่ชื่อว่าพรมมิหรือ หยกน้ำตา (*Bacopa monniera*) ก็มีสรรพคุณเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระที่น่าสนใจ ได้มีการทดลองถึงคุณค่าในการเพิ่มความจำให้กับพวกที่เป็นอัลไซเมอร์ ใช้ในการต้านการติดเชื้อ และที่สำคัญคือมีสรรพคุณในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย (Russo, 2005) พรมมิ เป็นพรรณไม้น้ำที่มีการศึกษาถึงคุณสมบัติในการใช้เป็นสมุนไพรกันมากในประเทศอินเดีย มีชื่อสามัญว่า Dwarf bacopa อยู่ในสกุล SCROPHYLARIACEAE เป็นพรรณไม้น้ำสะเทินน้ำสะเทินบกชอบขึ้นในที่ชื้นแฉะ เช่นขอบสระน้ำ ลักษณะลำต้นใหญ่ อวบน้ำ ไม่เอกลักษณะเป็นเอกลักษณะที่สวนไวสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับว่าดีเกินไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีขน เลื้อยทอดไปตามพื้นและชูยอดขึ้น ใบเป็นใบเดี่ยว รูปไข่ค่อนข้างยาว โคนใบแคบ ปลายใบกว้างมนกลม ขอบใบเรียบ เส้นใบเรียงตัวคล้ายพัด แตกจากลำต้นแบบตรงกันข้าม ดอกเป็นดอกเดี่ยว ออกตามซอกใบกลีบดอกสีขาวหรือสีครามอ่อน ตอนโคนติดกันเป็นหลอด ตอนปลายแยกเป็น 5 กลีบ เกสรตัวผู้มี 4 อัน ติดอยู่กับกลีบดอก กลีบดอกสีน้ำเงิน ม่วงหรือขาว โคนดอกติดกัน (ภาพที่ 1) ใช้ปลูกเป็นไม้ประดับในตู้ปลาหรือในสวนน้ำ (Russo and Borrelli, 2005)



ภาพที่ 1 ลักษณะของต้นพรหมมิ

ที่มา: <http://www.ku.ac.th/AgrInfo/thaifish/aqplant/aqpt129.html> (November,2008)

สารที่พบเป็นองค์ประกอบในพรหมมิ (*Bacopa monniera*)

Bose and Bose (1931) อ้างโดย Russo and Borrelli (2005) รายงานว่าสามารถแยกสารอัลคาลอยด์ “brahmine” จากพรหมมิ ซึ่งมีส่วนประกอบของ bacosides และ triperpenoid saponin สารที่แยกได้จากพรหมมิ ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

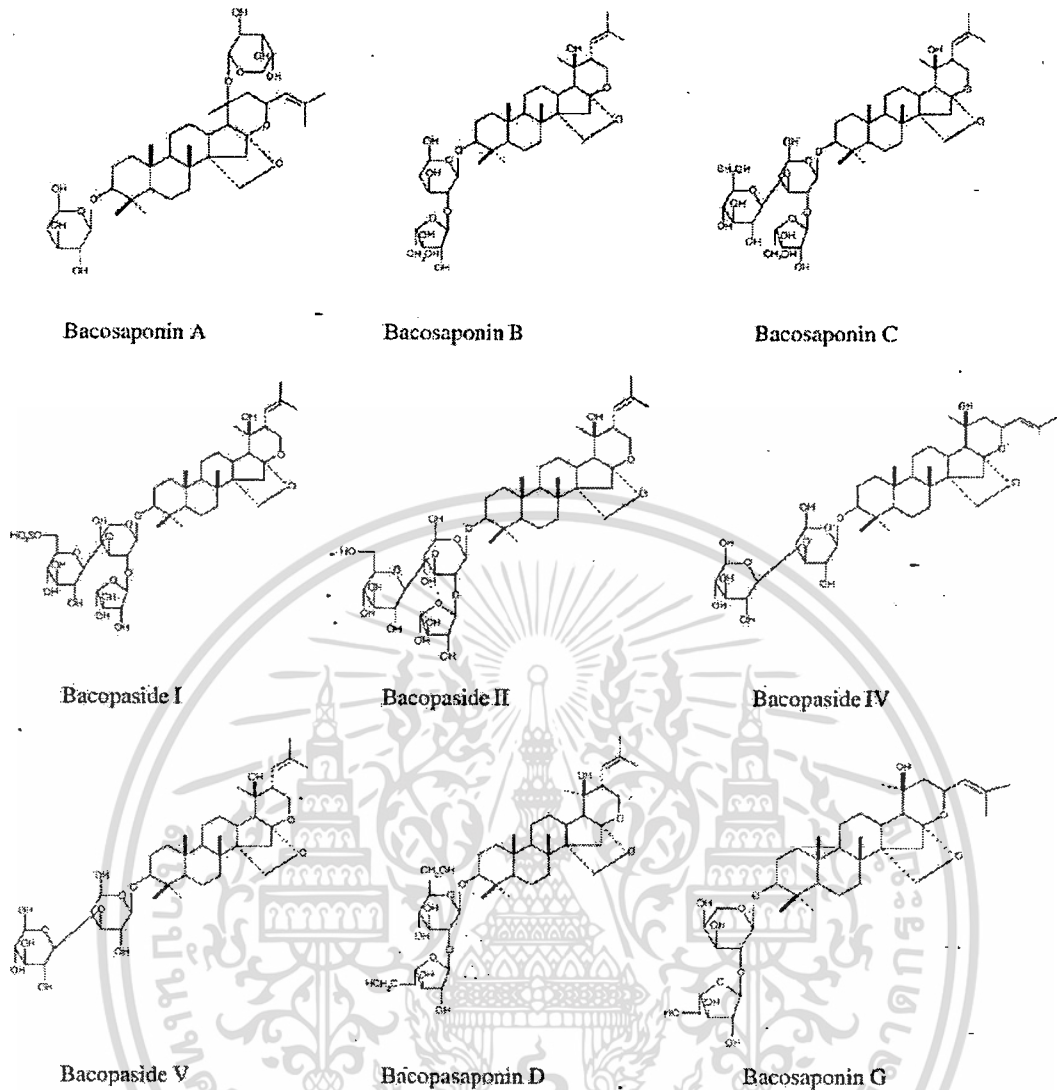


Fig. 1. Chemical structure of some saponins isolated from BM.

ภาพที่ 2 แสดง โครงสร้างทางเคมีของสารที่พบในพรมมิ

ที่มา : Russo and Borrelli (2005)

ประโยชน์ของสารสกัดจากพรมมิ (*Bacopa monniera*)

1.ต่อต้านการเกิดแผลและการอักเสบ

Jain *et al.* (1994) อ้างโดย Russo and Borrelli (2005) กล่าวว่าสารสกัดจากพรมมิสามารถยับยั้งการอักเสบได้ โดยเมื่อร่างกายมีสิ่งมากระตุ้นให้เกิดการอักเสบ ซึ่งสารที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบคือ prostaglandin สารสกัดจากพรมมิไม่ได้ยับยั้งการอักเสบของบาดแผลโดยตรงแต่จะไปลดปริมาณของ prostaglandin ทำให้แผลมีการอักเสบน้อยลง Channa *et al.* (2006) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการต่อต้านการอักเสบนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีกเสบโดยใช้สารสกัดจากพรมมิ โดยนำหนูน้าหนัก 120 – 180 กรัม มาฉีดคาราจีแนนเพื่อเหนียวนาให้ เกิดการอักเสบปริมาณ 50 ไมโครลิตร ที่อุ้งเท้าขวา เมื่อครบ 30 นาที แบ่งหนุออกเป็นกลุ่มเพื่อฉีด แอสไพรีน และสารสกัดจากพรมมิปริมาณ 50 – 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าที่บริเวณช่องท้อง หลังจากนั้นเมื่อครบ 1 ชั่วโมงทำการวัดขนาดของอุ้งเท้า และทำการฉีกวัดอีกโดยเว้นระยะ 1 ชั่วโมงจน ครบ 4 ชั่วโมง แล้วนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกัน พบว่าสารสกัดจากพรมมิ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้การบวมของอุ้งเท้าลดลง 33 -95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลดีกว่าแอสไพรีน ที่ทำให้การบวม ของอุ้งเท้าลดลงเพียง 28 – 60 เปอร์เซ็นต์

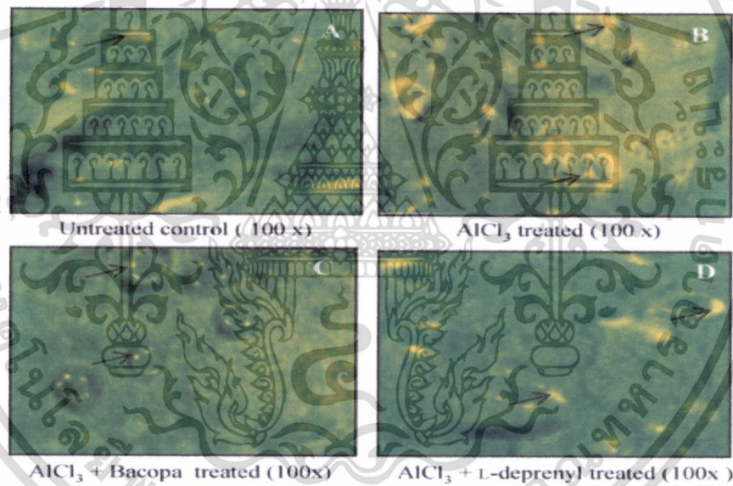
2. ต่อต้านการเกิดความเครียด

ความเครียดเกิดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม หรือเกิดจากเชื้อโรคที่มีอยู่ในธรรมชาติ ความเครียดมีผลกระทบต่อภาวะสมดุลในร่างกายและระบบภูมิคุ้มกัน เป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดโรคเป็นจำนวนมาก Rai *et al.*, 2003 ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากพรมมิ มาใช้ในการต่อต้านการเกิดความเครียดที่เกิดแบบเฉียบพลัน (AS) และความเครียดที่เกิดแบบเรื้อรัง (CS) โดยแบ่งหนุออกเป็นกลุ่มที่ได้รับความเครียดแบบ AS และ CS ซึ่งหนุกลุ่ม AS ให้กินสารสกัดจากพรมมิปริมาณ 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และนำโสมมาใช้ในการเปรียบเทียบผลโดยให้กิน โสมปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 3 วันส่วนหนุกลุ่ม CS ให้กินสารสกัดจากพรมมิและ โสมปริมาณเท่ากับของหนุกลุ่ม AS แต่ให้กิน 45 นาทีก่อนหนุได้รับความเครียดต่อเนื่อง 7 วัน ทดลองทำให้เกิดความเครียดโดยขังหนุไว้ในกระบอกลวดพลาสติกครึ่งทรงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร ยาว 12 เซนติเมตร เพียงลำพัง เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำการฆ่าหนุทันที และเจาะเลือดมาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกพลาสมาไปวัดปริมาณกลูโคส ในเลือด พบว่าหนุกลุ่ม AS มีระดับกลูโคสในเลือดสูงขึ้นเมื่อได้รับความเครียดแต่เมื่อได้รับสารสกัดจากพรมมิและโสม ทำให้ระดับกลูโคสในเลือดลดลง ซึ่งระดับกลูโคสในเลือดที่ลดลง แสดงว่าหนุมีความเครียดน้อยลง แต่ในหนุกลุ่ม CS พบว่าระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อได้รับความเครียดอย่างต่อเนื่องร่างกายจำเป็นต้องใช้พลังงานจากกลูโคสมาใช้ในการปรับภาวะสมดุลของร่างกาย แต่ถ้าไม่พอจะไปดึงพลังงานจากไขมันมาใช้ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพรมมิสามารถช่วยรักษาระดับกลูโคสในเลือดไว้เป็นพลังงานในการรักษาภาวะสมดุลของร่างกายให้อยู่ในภาวะที่เหมาะสม

3. การออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท

พรมมิถูกนำมาใช้ในการรักษาระบบประสาทเป็นพิษ ช่วยพัฒนาสติปัญญาและความทรงจำ นำมารักษาโรคลมชัก โรคนอนไม่หลับและโรคหอบ (Vohora *et al.*, 2000) พรมมิยังแสดงการสร้างเสริมของกิจกรรม protein kinase ในสมองส่วน hippocampus ซึ่งสามารถช่วยให้เกิดกิจกรรมการกระตุ้นความทรงจำ (Russo and Borrelli, 2005) สารสำคัญในพรมมิที่แสดงผลในการสร้างเสริมความ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น เมื่อนุญาตเห็นาเบเซบระเอียงนี้ในการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทรงจำคือซาโปนินบาโคไซค์เอและบี (Vohora *et al.*, 2000) Jyoti *et al.*, 2007 รายงานว่าอลูมิเนียมในธรรมชาติเป็นสาเหตุในการเกิด oxidative stress จำได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการต่อต้านการชักนำของอลูมิเนียมในการเกิด oxidative stress ในสมอง ส่วน hippocampus ของหนูโดยใช้สารสกัดจากพรมมิและใช้ L-deprenyl มาเปรียบเทียบ ผลที่ได้ในการศึกษาจะใช้หนูน้ำหนัก 350 – 400 กรัม มาแบ่งเป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมให้กินแต่น้ำเท่านั้น กลุ่มที่ 2 ให้กินอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน กลุ่มที่ 3 ให้กินอลูมิเนียมคลอไรด์ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ร่วมกับสารสกัดจากพรมมิ 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ 4 ฉีคอลูมิเนียมคลอไรด์ร่วมกับ L-deprenyl ที่บริเวณช่องท้องทำการศึกษาเป็นเวลา 5 สัปดาห์หลังจากนั้นทำการตรวจสอบการสะสมของ lipofuscin ด้วย fluorescent microscope พบว่ามีการสะสมเพิ่มขึ้นของ pigment ซึ่งส่วนที่มีการสะสมจะเกิดการเรืองแสง เมื่อให้อลูมิเนียมคลอไรด์ (ภาพที่ 3 A และ B) การสะสมของ lipofuscin ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากพรมมิและ L-deprenyl (ภาพที่ 3 C และ D) ซึ่งการชักนำของอลูมิเนียมจะทำให้เกิดการรวมตัวกันของโครมาติน และมีการสะสม pigment ซึ่งจากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าการชักนำของอลูมิเนียมทำให้เกิด oxidative stress



ภาพที่ 3 Yellow fluorescent lipofuscin ในเซลล์ hippocampus ของหนูภายใต้สภาวะต่างๆ

ที่มา : Jyoti *et al.* (2007)

ระบบภูมิคุ้มกัน

หน้าที่สำคัญของเม็ดเลือดขาวคือ ต่อต้านการติดเชื้อและกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายมี 5 ชนิดคือ neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils และ basophils เรียงลำดับที่พบจากมากไป) มีแหล่งกำเนิดที่ (น้อยpluripotent stem cell ในไขกระดูกเช่นเดียวกับเม็ดเลือดแดง Polymorphonuclear (PMN) neutrophils ใช้เวลาในการสร้าง 7 – 14 วัน มีอายุ 6 ชั่วโมง หน้าที่หลักคือการทำลายและจับกิน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย (phagocyte) ถ้ามีการติดเชื้อแบคทีเรียและบาดเจ็บจะทำให้ neutrophils สูงขึ้น ซึ่งเป็นผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น บ่อยครั้งเมื่อมีการกระตุ้นการสร้าง neutrophils จะมี immature neutrophils เข้าสู่กระแสการไหลเวียน ซึ่งจะพบมากในภาวะการติดเชื้อแบคทีเรีย

Lymphocytes แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ T-cell และ B-cell T-cell ทำหน้าที่เกี่ยวกับ cellular – type immune reaction B-cell ทำหน้าที่เกี่ยวกับ humoral immunity หน้าที่อันดับ (สร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย) แรกของ Lymphocytes คือ ต่อสู้การติดเชื้อแบคทีเรียที่เรื้อรัง และการติดเชื้อไวรัสอย่างเฉียบพลัน Monocytes เป็น phagocytic cell ต่อสู้กับแบคทีเรียคล้ายกับ neutrophils แต่ร่างกายสร้างได้เร็วกว่าและอายุยาวนานกว่า neutrophils

Rajesh Kumar. *et al* (2008) รายงานว่ามีความเป็นไปได้ในการใช้ chitosan nanoparticles ในการนำเข้าสู่ทางช่องปากของ DNA vaccine ในปลากระพงขาว (*Lates calcarifer*) จากนั้นกระตุ้นด้วย *Vibrio (Listonella) anguillarum* จะพบว่าปลากระพงขาวที่ได้รับวัคซีนจะสามารถป้องกันเชื้อได้ปานกลาง

เป็นที่น่าสนใจว่าการศึกษาในการใช้สารสกัดจากพรมมิในสัตว์น้ำยังไม่มีข้อมูลเพียงพอ ที่จะสนับสนุนว่าสารจากพรมมิจะช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่สัตว์น้ำได้ในระดับใด ซึ่งจะสามารถลดการใช้จ่ายหรือสารเคมีสังเคราะห์ และปลอดภัยต่อผู้เลี้ยงสัตว์น้ำ ลดการใช้สารเคมีหรือยาปฏิชีวนะที่อาจมีผลตกค้างในเนื้อเยื่อ รวมทั้งยังเพิ่มมูลค่าของพรมมิไม่น้ำชนิดนี้ให้เป็นที่นิยมได้ด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัยคือศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิที่พบในประเทศไทย เพื่อทราบถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นสารสมุนไพรเพื่อการป้องกันรักษาโรค โดยใช้ปลาอุกเป็นตัวแทนปลาน้ำจืด และปลากระพงขาวเป็นตัวแทนปลาน้ำกร่อยในการทดสอบ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการผลิตสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะและการนำเข้าสู่สารเคมีจากต่างประเทศ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. การนับเซลล์เม็ดเลือดปลา

1.1 เลือดปลากระพงขาว และปลาอุก

1.2 เข็มฉีดยา

1.3 สไลด์

1.4 หลอด hematocrit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 1.5 Cover glass
- 1.6 ผ้าขนหนู
- 1.7 ยาสลบ
- 1.8 ถาดพาราฟิน

2. การสกัดสาร

- 2.1 พรรณ ไม้ น้ำพรมมิ
- 2.2 เครื่องปั่นน้ำผลไม้
- 2.3 เครื่องชั่งน้ำหนัก
- 2.4 ขวดสีชา 500 มิลลิลิตร
- 2.5 มีด เขียง กรรไกร
- 2.6 ผ้าขาวบาง
- 2.7 ปีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร
- 2.8 ถาดผสมอาหาร
- 2.9 เอทานอล 90 %
- 2.10 กระดาษฟลอยด์อะลูมิเนียม
- 2.11 rotary evaporator รุ่น Heildolph
- 2.12 กระดาษกรอง เบอร์ 2
- 2.13 น้ำกลั่น
- 2.14 กรวยกรอง

3. การเปรียบเทียบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ

- 3.1 เชื้อ *Aeromonas hydrophila*
- 3.2 เครื่องแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อ

4. ชุดอาหาร

- 4.1 อาหารปลากระพง และปลาดุก
- 4.2 สารสกัดพรมมิ
- 4.3 amino tonic

5. อุปกรณ์อื่นๆในการทดลอง

- 5.1 ถังขนาด 100 ลิตร จำนวน 16 ใบ (ทดลองที่ละชนิดของสัตว์น้ำ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 หัวทรายและสายลม

5.3 สายยาง

5.4 ปิมน้ำ

5.5 เครื่องวัดความเค็ม (Salinometer)

วิธีการ

แผนการทดลอง

ดำเนินการทดลองกับปลาที่ละชนิด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design: CRD) โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ ใช้ปลาถึงละ 20 ตัว ดังนี้

ขั้นตอนการทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำสัตว์ทดลองมาเลี้ยงปรับสภาพเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ระหว่างการปรับสภาพให้ปลากินอาหารสำเร็จรูป 3% ของน้ำหนักตัว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ต่อวัน โดยให้เวลา 9:00 และ 16:00 น. คัดเลือกปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันมาทดลอง โดยใส่ปลาลงในถังขนาด 100 ลิตร ถึงละ 20 ตัว ปลาอุกผสม (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus*) เลี้ยงในน้ำจืด ปลากะพงขาว เลี้ยงในน้ำที่มีระดับความเค็ม 10 ppt



ภาพที่ 4 ลักษณะของพรรณไม้น้ำพรมมิที่ปลูกไว้สำหรับการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารสกัดจากพรมมิ

1. นำพรมมิจากฟาร์ม (ภาพที่ 4) ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา หลังจากนั้นหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ
2. อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน นำมาบดให้ละเอียด
3. สกัดสารจากพรมมิไม่น้ำพรมมิโดยใช้พรมมิ 600 กรัม น้ำหนักแห้งต่อเอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์ 1 ลิตร แช่ไว้เป็นเวลา 3 วัน โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง
4. กรองสารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิด้วยกระดาษกรอง แล้วนำสารสกัดที่กรองได้ ไปแยกเอทานอลจนเหลือแต่สารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิด้วยเครื่อง Evaporator ยี่ห้อ Helidolph ที่ความดัน 190 – 175 Temp cool 12 -15 องศาเซลเซียส Temp bath 45 องศาเซลเซียส
5. ชั่งน้ำหนักสารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิที่ได้ แล้วนำไปทำ stock solution ด้วยเอทานอล AR-Grade 99% อัตราส่วน 1:10 เก็บรักษา stock ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปใช้เคลือบอาหารตามความเข้มข้นที่กำหนด

การเตรียมอาหาร

1. เตรียมสารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิจาก stock solution ให้มีความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร
2. ฉีดพ่นสารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิลงบนอาหารสำเร็จรูปที่เตรียมไว้ โดยใช้อาหาร 100 กรัม ต่อพรมมิ 50 ml แล้วรอให้แห้ง
3. ฉีดพ่นกลีโคลีนเพื่อดึงดูดให้ปลาอะพอกาลิน (amino tonic) ในอัตราอาหาร 100 กรัมต่อ amino tonic 10 ml เคลือบลงบนอาหารที่เตรียมไว้แล้วรอให้แห้ง
4. ให้ปลากินอาหารวันละ 2 ครั้ง ประมาณ 09.00 และ 16.00 น. โดยให้ 3% ของน้ำหนักตัวเป็นเวลา 2 เดือน

การทดลองเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลอง

แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้ปลากินอาหารที่ไม่เคลือบสารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิ

ชุดการทดลองที่ 2 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

ชุดการทดลองที่ 3 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรมมิไม่น้ำพรมมิความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดการทดลองที่ 4 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมีความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

การศึกษาผลของสารสกัดพรมที่มีผลต่อองค์ประกอบเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดปลาจำนวน 12 ตัวต่อ 1 ชุดการทดลอง ซ้ำละ 3 ตัวทำการสลบปลา เจาะเลือดบริเวณส่วนหาง ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 25G ใช้หลอดฉีดยาที่เคลือบด้วยสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อวิเคราะห์หาจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวและปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

1. ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น นำเลือดใส่ในหลอดคาปิลลารีสำหรับหาค่าฮีมาโตคริต ปิดปลายด้วยดินน้ำมัน นำหลอดคาปิลลารีเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที วัดปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

2. การนับเม็ดเลือดแดงเม็ดเลือดขาวทำการเก็บเลือดปลา นำปลาหยดลงบนสไลด์แล้ว ใช้สไลด์อีกแผ่น smear เลือดให้เป็นแผ่นบางๆ โดยลากผ่านหยดเลือด ทิ้งสไลด์ให้แห้งแล้วนำมาย้อมด้วยน้ำยา Wright และ Giemsa

3. การเปรียบเทียบความสามารถต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยมีการนำเชื้อมาใช้ทดสอบดังนี้

3.1 เพิ่มจำนวนเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ใน Nutrient broth (NB) โดยบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่ 32 องศา ประมาณ 2 ชั่วโมง

3.2 ทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและจำนวนเซลล์ของเชื้อในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยนำเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่อยู่ใน (NB) ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเทอาหารทิ้ง แล้วล้างเชื้อด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นเติม 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ปริมาตรเท่ากับปริมาตรของ NB แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากนั้นทำการเจือจางเชื้อด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเจือจางของเชื้อไปหาจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการหยดเชื้อ 10 จุด ใช้ปริมาตรจุดละ 10 ไมโครลิตร บน Nutrient broth (NB) แล้วบ่มเชื้อประมาณ 16-18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ ทำการคำนวณหาจำนวนเซลล์ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำค่าที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานและหาสมการเส้นตรง

3.3 ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยการใช้เชื้อที่มีอายุ 18-20 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อออกฤทธิ์รุนแรงมากที่สุด ทำการล้างเชื้อตามวิธีการ ข้อ 3.2 หลังจากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แล้วหาจำนวนเซลล์โดยคำนวณจากสมการเส้นตรงที่ได้ทำจากกราฟมาตรฐานแล้วทำการทดสอบดังนี้

3.3.1 นำถังขนาด 80 ลิตร จำนวน 8 ใบ โดยแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดละ 4 ใบใส่น้ำเค็มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความเต็ม 10 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 60 ลิตร โดยใส่ปลากระพงขาว ที่ได้รับอาหารที่ให้อาหารที่ผสม สารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารและปลาในกลุ่มควบคุม ถึงละ 20 ตัว ในให้อากาศตลอดเวลา

3.3.2 นำเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ฉีดเข้ากล้ามเนื้อให้มีความเข้มข้น 10^8 CFU/ml และอีกชุดฉีด 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์เข้ากล้ามเนื้อปลา จากนั้นสังเกตพฤติกรรม และ บันทึกอัตราการรอดชีวิตที่เวลา 12, 18, 24, 30, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ฉีดด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์

การบันทึกข้อมูล

บันทึกจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาทดลอง

บันทึกอัตราการรอดชีวิตของปลาหลังจากได้รับเชื้อ 12, 18, 24, 30, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

บันทึกอัตราการอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feeding Conversion Ratio : FCR)

บันทึกอัตราการเจริญเติบโต ชั่งน้ำหนัก วัดความยาว ทุกๆ 2 สัปดาห์

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for window version 16.0 เพื่อหาความสัมพันธ์ และค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มการทดลอง

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดสอบในปลาอุก

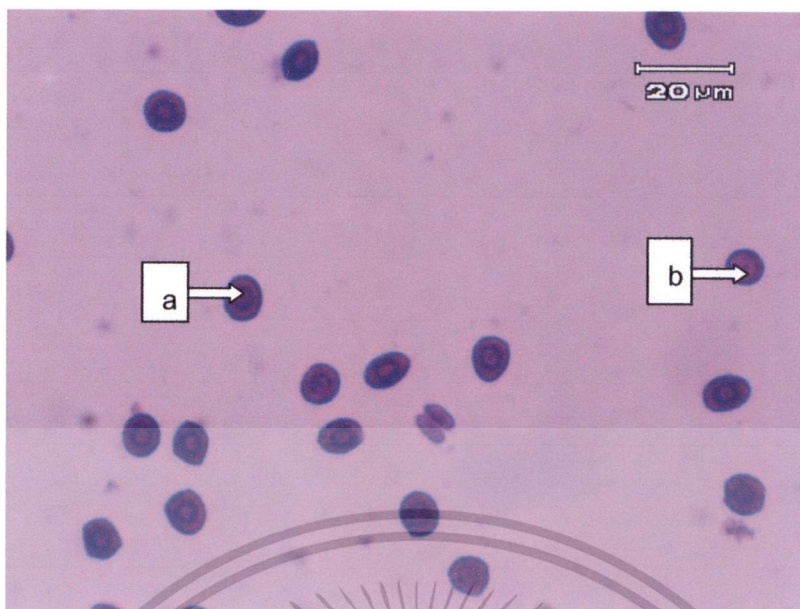
จากการตรวจนับจำนวนเปอร์เซ็นต์ของเซลล์เม็ดเลือดปลาอุกอุกผสม (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus*) พบว่าจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาว (ภาพที่ 5) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมที่มีความเข้มข้น 0.5 และ 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่น โดยมีจำนวน 14.62 ± 9.11 และ 14.55 ± 0.4 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมที่มีความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร คือปริมาณ 9.6 ± 1.08 และ 11.75 ± 4.1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และจากจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมที่มีความเข้มข้น 1 และ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่น โดยมีจำนวน 35.7 ± 0.05 และ 37.1 ± 1.25 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมที่มีความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร คือปริมาณ 18.8 ± 1.12 และ 29.2 ± 0.82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงกับเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น

สารสกัดพรมมี (กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือด	
	เม็ดเลือดขาว	เม็ดเลือดแดง
ไม่ใส่สารสกัด	9.6 ± 1.08^c	18.8 ± 1.12^c
0.5	14.62 ± 9.1^a	29.2 ± 0.82^b
1.0	14.55 ± 0.4^a	35.7 ± 0.05^a
2.0	11.75 ± 4.1^b	37.1 ± 1.25^a

ค่าเฉลี่ย \pm S.E ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$).

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการรอดของปลาอุกอุกผสม ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมที่มีความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 5 ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดของปลาดุกกลุ่มผสมที่ได้รับสารสกัดจากพรมมิไม่น้ำสกุลพรมมิ (a) เม็ดเลือดแดง, (b) เม็ดเลือดขาว

ตารางที่ 2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตรารอด

กลุ่ม	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก	อัตรารอด
ควบคุม	40.33±0.01	0.0841±0.018	90.00±2.04
0.25	39.31±0.00	0.0783±0.007	87.50±4.33
0.5	27.96±0.01	0.1156±0.016	88.75±4.73
1.0	34.09±0.00	0.0884±0.003	86.25±2.39

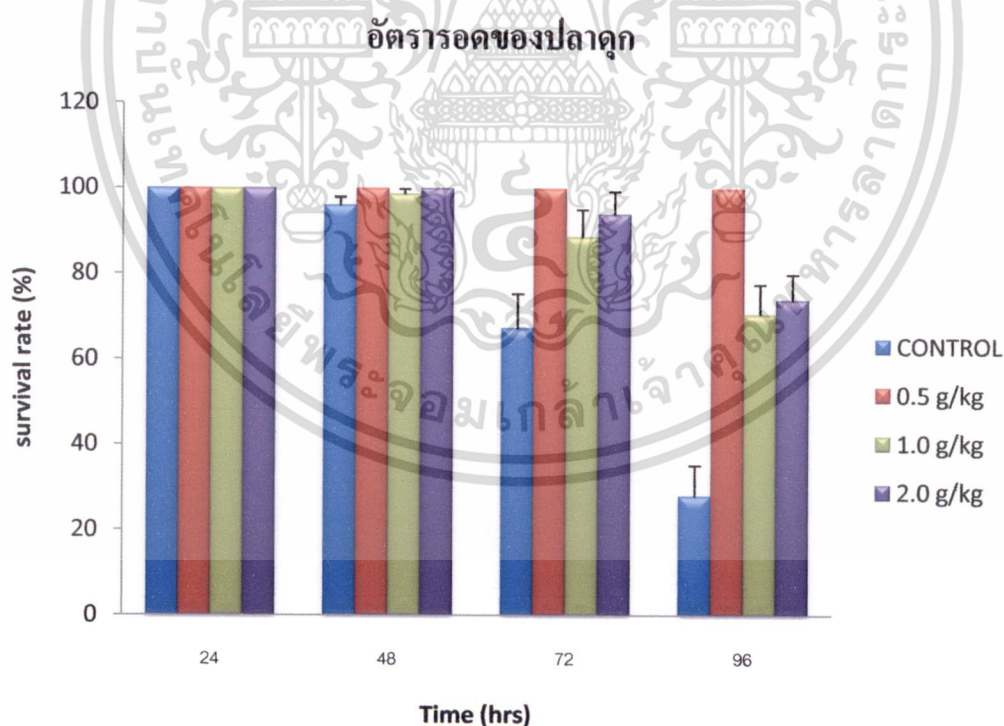
ค่าเฉลี่ย ± ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวนอง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P ≤ 0.05)

จากการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ โสมลดา และคณะ (2550) ที่ต้องการศึกษาผลของสารสกัดพรมมิ (*Bacopa monnieri*) ต่อการต้านเชื้อ *Vibrio harveyi* และปริมาณเม็ดเลือดชนิดที่มีเกรนูลในกุ้งขาวแวนนาไม (*Penaeus vannamei*) ระยะโพสลาวา อายุ 15 วัน ทดสอบโดยให้กุ้งกินอาหารผสมสารสกัดจากพรมมินาน 2 เดือน แล้วทำการทดสอบด้วยการแช่เชื้อ *Vibrio harveyi* เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า กุ้งที่ไม่ได้กินสารสกัดจากพรมมิจะมีอัตราการตายที่สูงกว่ากุ้งกลุ่มที่กินสารสกัดจากพรมมิ และสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถช่วยให้กุ้งขาวแวนนาไมต่อต้านเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการรายงานของ Miller and Leavell (1972) กล่าวว่าเม็ดเลือดขาวมีหน้าที่สำคัญคือ ทำลาย เชื้อโรคและสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย สร้างแอนไซม์ขึ้นภายในไซโตพลาสซึม นอกจากนี้ยัง ช่วยสร้างแอนติบอดี ให้ร่างกายอีกด้วย ดังนั้นเมื่อสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมสามารถเพิ่มจำนวน เซลล์เม็ดเลือดขาวในปลาคุณกผสมได้จึงน่าจะส่งผลต่อระบบคุ้มกันของปลาให้ดีขึ้นด้วย

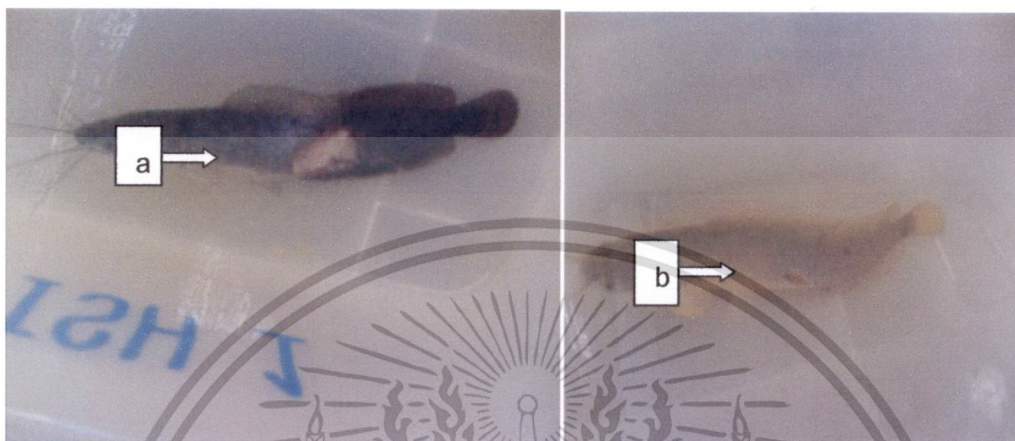
ผลจากการเหนี่ยวนำให้เกิดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยการฉีดเข้าไปในปลาคุณกผสม บริเวณกล้ามเนื้อ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมงหลังฉีดเชื้อ ปลาทุกกลุ่มการ ทดลองมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อ ผ่านไป 120 ชั่วโมง ทำการปรับอุณหภูมิให้ลดต่ำลง จะพบว่า ภายใน 120 ชั่วโมงหลังจากการปรับ อุณหภูมิ พบอัตราการรอดตาย 75 เปอร์เซ็นต์ ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมี 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และที่เวลา 144 ชั่วโมงหลังจากปรับอุณหภูมิ พบว่า กลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัดจาก พรรณไม้น้ำสกุลพรมมีอัตราการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมี 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดตาย 75 เปอร์เซ็นต์ จะพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรรณไม้น้ำพรมมี 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดตายของปลาคุณกผสม 100 เปอร์เซ็นต์ตลอดการ ทดลอง ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 อัตราการรอดของปลาคูหลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลาที่ได้รับสารสกัดจากพรมไม้น้ำสกุลพรมมี 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เมื่อได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค โดยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* สังเกตได้ว่า หลังจากได้รับเชื้อ 2 วันพบว่าเกิดแผลบริเวณที่ฉีด แผลมีขนาดกว้างและอักเสบ และหลังจากได้รับเชื้อ 5 วัน พบว่าแผลมีลักษณะแคบลง อาการอักเสบลดลง (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ลักษณะที่ปลาที่ได้รับสารสกัดจากพรมไม้น้ำสกุลพรมมี 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร หลังจาก การ ได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (a) ได้รับเชื้อ 2 วัน (b) รับเชื้อ 5 วัน

การทดสอบในปลากะพงขาว

จากการตรวจนับเซลล์เม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในทุกกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมที่มีความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีจำนวนเม็ดเลือดขาวมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ โดยมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 8.88 ± 0.23 % รองลงมาคือ กลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมที่มีความเข้มข้น 1, 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และกลุ่มควบคุม โดยมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 4.53 ± 0.20 , 2.76 ± 0.31 และ 1.11 ± 0.09 % ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

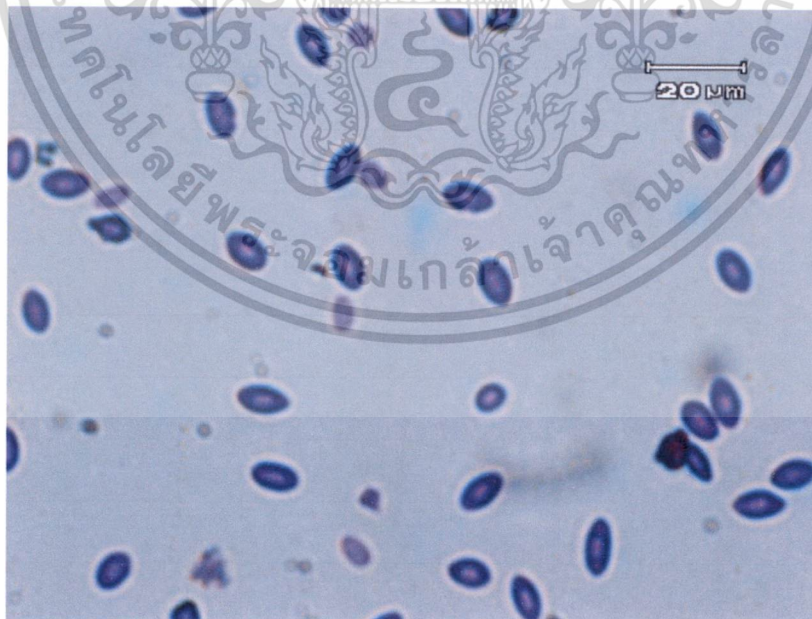
จำนวนเม็ดเลือดแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมที่มีความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่น โดยมีจำนวน 6.06 ± 0.26 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับอาหารที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมที่มีความเข้มข้น 0.5, 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร คือมีจำนวน 4.08 ± 0.46 , 3.42 ± 0.19 และ 2.58 ± 0.18 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมที่มีความเข้มข้นนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตสูงที่สุดคือ 33.33 % ซึ่งในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5, 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีจำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตคือ 26.04%, 28.57% และ 25% ตามลำดับ(ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดและเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลากะพงขาว *Lates calcarifer*

กลุ่ม	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือด	
	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดง
ควบคุม	1.11±0.09 ^a	4.08±0.46 ^b
0.5	2.76±0.31 ^b	3.42±0.19 ^{ab}
1.0	4.53±0.20 ^c	2.58±0.18 ^a
2.0	8.88±0.23 ^d	6.06±0.26 ^c

ค่าเฉลี่ย ± S.D. ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

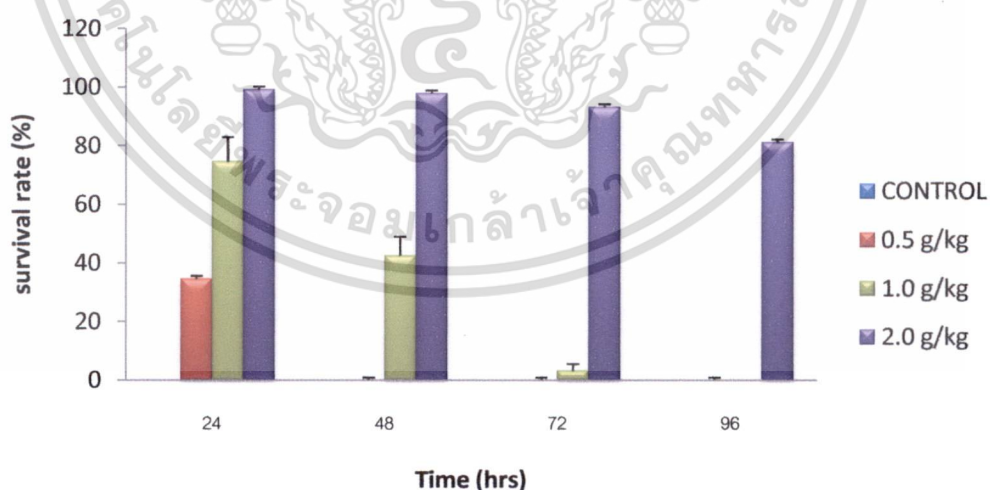


ภาพที่ 8 ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดของปลากะพงขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ฉีดเข้าตัวปลาตะเพียนขาว *Lates calcarifer* (Bloch) บริเวณกล้ามเนื้อข้างลำตัว ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง หลังฉีดเชื้อ ปลาในทุกลักษณะการทดลองมีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เมื่อผ่านไป 18 ชั่วโมง ปลาตะเพียนขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดที่ 30% กลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 70% และกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 100% หลังจากใส่เชื้อ 24 ชั่วโมง ปลาตะเพียนขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 0% กลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 30% และกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 100% หลังจากใส่เชื้อ 30 ชั่วโมง ปลาตะเพียนขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 0% และกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 30% หลังจากใส่เชื้อ 48, 72 และ 96 ชั่วโมงปลาตะเพียนขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 0% และกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดที่ 30% (ภาพที่ 9)

อัตราการรอดของปลาตะเพียนขาว



ภาพที่ 9 อัตราการรอดของปลาตะเพียนขาวหลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง



ภาพที่ 10 ปลาในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารที่ตายหลังจากที่ฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 32 ชั่วโมง



ภาพที่ 11 ปลาในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิที่ความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารที่รอดหลังจากที่ฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 96 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้ อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมีที่ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารเมื่อสิ้นสุดการ ทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวหลังสิ้นสุดการทดลอง เป็น 12.25 ± 1.28 , 10.88 ± 0.41 , 11.56 ± 0.31 และ 11.40 ± 0.15 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และมีความยาวเฉลี่ย ต่อตัวหลังสิ้นสุดการทดลองเป็น 9.80 ± 0.34 , 9.29 ± 0.08 , 9.53 ± 0.12 และ 9.62 ± 0.04 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feeding Conversion Ratio) ของแต่ละกลุ่มการทดลองแสดงใน ตารางที่ 5

ตารางที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ยของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) (กรัมต่อตัว)

กลุ่มการทดลอง	น้ำหนักปลากะพงขาว (กรัม /ตัว)		
	เริ่มต้นการทดลอง	สิ้นสุดการทดลอง	FCR
ควบคุม	1.56 ± 0.00^a	13.54 ± 1.40^a	2.51 ± 0.05^a
0.5	1.56 ± 0.00^a	11.92 ± 0.46^a	2.57 ± 0.04^a
1.0	1.56 ± 0.00^a	11.55 ± 0.24^a	2.55 ± 0.03^a
2.0	1.56 ± 0.00^a	12.38 ± 0.64^a	2.63 ± 0.13^a

ค่าเฉลี่ย \pm S.D. ที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน ในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 5 ความยาวเฉลี่ยของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) (เซนติเมตร ต่อตัว)

กลุ่มการทดลอง	ความยาวปลากะพงขาว (เซนติเมตร /ตัว)	
	เริ่มต้นการทดลอง	สิ้นสุดการทดลอง
ควบคุม	4.9 ± 0.00^a	11.25 ± 0.28^a
0.5	4.9 ± 0.00^a	10.69 ± 0.24^a
1.0	4.9 ± 0.00^a	10.77 ± 0.12^a
2.0	4.9 ± 0.00^a	10.58 ± 0.11^a

ค่าเฉลี่ย \pm S.D. ที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน ในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ผลที่ได้จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพรมมิที่เสริมให้กับปลาควก และปลากะพงขาวกิน สามารถช่วยให้ปลาเพิ่มกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้น โดยจะมีบทบาทเกี่ยวกับเอนไซม์อะซิติลโคลิเนส และ ลิพิดเปอร์ออกซิเดส ซึ่งจากการรายงานของ Anbarasi *et al.* (2006) กล่าวว่าพรมมิช่วยลดอันตรายจากควันบุหรี่ด้วยการทำหน้าที่ดักจับอนุมูลอิสระและต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันช่วยป้องกันสมองไม่ให้เกิดความเสียหาย รวมทั้งยังส่งเสริมความสามารถของวิตามินซี วิตามินอี และ วิตามินเอที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับกลูตาไธโอน ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส อะซิติลโคลิเนส กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส และ กลูตาไธโอนรีดักเตส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจนับเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต พบว่าปลา ลูกกลุ่มที่ให้อาหารด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารให้ผลในการ พบเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตได้มากที่สุด และจากการเหนี่ยวนำ ให้เกิดโรคโดยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และเมื่อมีการกระตุ้นให้ปลาเกิดความเครียดพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีความต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้ดีที่สุด

จากการตรวจนับเซลล์เม็ดเลือดของปลากะพงขาว พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ผสมสารสกัดจาก พรมมิที่มีความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่ม อื่นๆ และจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ฉีดเข้าตัวปลากะพงขาว บริเวณกล้ามเนื้อข้างลำตัว ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ ความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดตายสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และมีการตาย ช้ากว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆ โดยเริ่มมีการตายที่เวลา 30 ชั่วโมงหลังจากการใส่เชื้อ ส่วนการเจริญเติบโต ของปลากะพงขาวในแต่ละชุดการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน

จากการทดลองนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่าความเข้มข้นของสารสกัดพรมมิ ในระดับที่สามารถทำ ให้ปลามีภูมิคุ้มกันสูงขึ้นมากที่สุด จะแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา ปลาที่อยู่ในน้ำจึงต้องการสาร สกัดจากพรมมิเพียง 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ขณะที่ปลากะพงขาวที่เลี้ยงในน้ำกร่อย ต้องการสาร สกัดจากพรมมิที่มีความเข้มข้น 2 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร โดยทำให้ปลาทั้งสองชนิดมีความสามารถในการ ต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้ดีที่สุด และสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดได้มากที่สุดเมื่อ เทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นๆ

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาต่อไปว่าถ้าทำการเก็บเม็ดเลือด และระดับความเหมาะสมของการได้รับสาร สกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ เพื่อจะได้ทดสอบภูมิคุ้มกัน ที่สามารถใช้ในการ รักษาโรคแบบเฉียบพลัน

บรรณานุกรม

- เขาวินิตย์ ดลยดล จีรนนท์ อุไรประสิทธิ์ สุทธิณี ภูวนารถ และสถาพร ดิเรกบุษราคม. 2543. การประยุกต์ การตรวจวัดผลการจับกินสิ่งแปลกปลอมในปลา. วารสารการประมง ปีที่ 53 ฉบับที่ 5 หน้า 461-466.
- เขาวินิตย์ ดลยดล สถาพร ดิเรกบุษราคม และเพ็ญศรี เมืองเขาว. 2543. คุณสมบัติของเชื้อและการเกิด โรคจากเชื้อ B-hemolytic *Streptococcus* sp. ในปลากระพงขาวที่เลี้ยงในจังหวัดปัตตานีและ จังหวัดสงขลา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 8 / 2543. กลุ่มโรคและพยาธิสัตว์น้ำชายฝั่ง สถาบันวิจัย การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 11 หน้า.
- โสมลดา ประเสริฐสม นงนุช เลาหะวิสุทธิ และอัจฉรี เรืองเดช. ผลของสารสกัดพรมมิ (*Bacopa monnieri*) ต่อการต้านเชื้อ *Vibrio harveyi* และปริมาณเม็ดเลือดชนิดที่มีเกรนูลในกุ้งขาวแวน นานาไม. เมษายน. 2550. <http://www.riclib.nrct.go.th/new/book/2551/jun2.pdf>.
- Anbarasi, K., G. Vani, K. Balakrishna and C.S. Devi. 2006. Effect of bacoside A on brain antioxidant status in cigarette smoke exposed rats. *Life Sci.* 78: 1378-84.
- Bafna, P. A. and R. Balaraman. 2005. Antioxidant activity of DHC-1, an herbal formulation, in experimentally-induced cardiac and renal damage. *Phytotherapy Research.* 19: 216-221.
- Bhattacharya, S. K., A. Bhattacharya, A. Kumar and S. Ghosal. 2000. Antioxidant activity of *Bacopa monniera* in rat frontal cortex, striatum and hippocampus. *Phytotherapy Research.* 14: 174-179.
- Bose, K. C. and N.K. Bose. 1931. Observations on the action and use of *Herpestis monniera*. *J. Indian Med. Assoc.* 1:60. (cited by Russo and Borrelli, 2005)
- Carpio, Y., M. L. Juana, K. Leon, R. Morales and M.P. Estrada. 2008. Novel function of recombinant pituitary adenylate cyclase activating polypeptide as stimulator of innate immunity in African catfish (*Clarias gariepinus*) fry. *Fish & Shellfish Immunology* 25:439 – 445.
- Channa, S., A. Dar, S. Anjum, M. Yaqoob and A. Rahman. 2006. Anti-inflammatory activity of *Bacopa monniera* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 104: 286 – 289.
- Chaudhuri, P. K., R. Srivastava, S. Kumar and S. Kumar. 2004. Phytotoxic and antimicrobial constituents of *Bacopa monnieri* and *Holmskioldia sanguinea*. *Phytotherapy Research* 18:114-117.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Divyagnaneswari M., D. Christyapita and R. D. Michael. 2007. Enhancement of nonspecific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* leaf fractions. *Fish & Shellfish Immunology* 23: 249-259.
- Jain, P., N. K. Khanna, T. Trehan, V. K. Pendse, and J. L. Godhwani. 1994. Antiinflammatory effect of an Ayurvedic preparation, *Brahmi Rasayan*, in rodents. *Indian J. Exp. Biol.* 32:633-636. (cited by Russo and Borrelli,2005)
- Jyoti, A. and D. Sharma. 2006. Neuroprotective role of *Bacopa monniera* extract against aluminium-induced oxidative stress in the hippocampus of rat brain. *NeuroToxicology* 27: 451 – 457.
- Jyoti, A., P. Sethi and D. Sharma. 2007. *Bacopa monniera* prevents from aluminium neurotoxicity in the cerebral cortex of rat brain. *Journal of Ethnopharmacology* 111: 56 – 62.
- Kim K.H., Y. J. Hwang and S. C. Bai. 1999. Resistance to *Vibrio alginolyticus* in juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*) fed diets containing different doses of aloe. *Aquaculture* 180:13–21.
- Klinger, R.C., V.S. Blazer and C. Fchevarria. 1996. Effects of dietary lipid on the hematology of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 147: 225 – 233.
- Koprucu, S.S., K. koprucu, M.S. ural, U. Ispir and M. Pala. 2006. Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 86:99-105.
- Kumar Rajesh, V.P. Ishaq Ahmed, V. Parameswaran, R. Sudhakaran, V.Sarath Babu and A.S. Sahul Hameed. 2008. Potential Use of chitosan nanoparticles for oral delivery of DNA vaccine in Asian seabass (*Lates calcarifer*) to protect from *Vibrio* (*Listonella*) *anguillarum*. *Fish & Shellfish Immunology* 25:47-56.
- Kumari, J. and P.K. Sahoo. 2005. Effects of cyclophosphamide on the immune system and disease resistance of Asian catfish *Clarias batrachus*. *Fish & Shellfish Immunology* 19: 307 – 316.
- Kumari, J., P.K. Sahoo, T. Swain, S.K. Sahoo, A.K. Sahu and B.R. Mohanty. 2006. Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asian catfish *Clarias batrachus*. *Aquaculture* 252:121-127.
- Liu, C.-H. and J.-C. Chen. 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 16: 321-334.

<http://www.fisheries.go.th/if-phattalung/FisheriesCulture.htm> (December,2008)

<http://www.ku.ac.th/AgrInfo/thaifish/aqplant/aqpt129.html> (November,2008)

http://www.nicaonline.com/articles10/site/view_article.asp?idarticle=3063 (April,2009)

<http://www.rbru.ac.th/courseware/science/4031102/lesson5/lesson5.6.html> (April,2009)

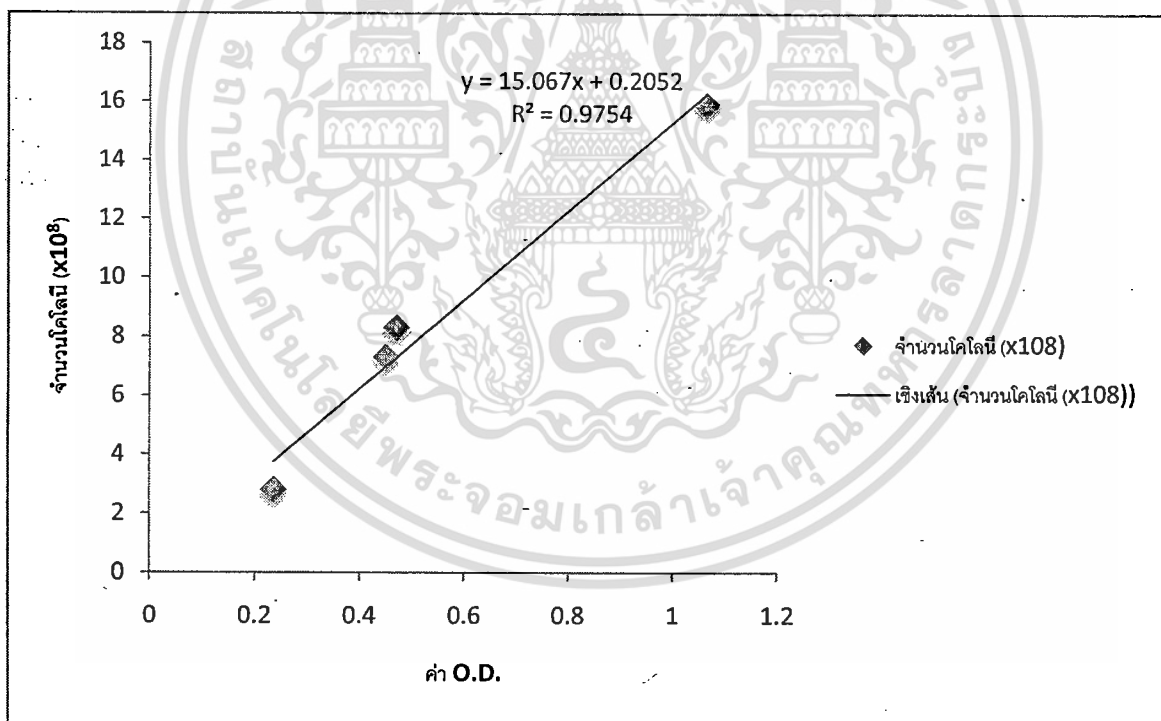


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ
จำนวนโคโลนีที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน

O.D.	จำนวนโคโลนี x10 ⁸
0.236	2.8
0.45	7.3
0.47	8.3
1.066	15.9



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนโคโลนี
ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้