

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

เรื่อง ผลของสมุนไพรพญาพาน (Pseuderatherum platiferum) ต่อการเจริญเติบโต, ภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรคในปลานิล (Oreochromis niloticus)
Effect of Huan-Ngoc herb (Pseuderatherum platiferum) on growth, immune activity and disease resistance in Nile tilapia (Oreochromis niloticus)



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 104580
วันเดือนปี..... ๕ ๕ พ.ย. ๒๕๕๒



ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของสมุนไพรพญาพาน (Pseuderatherum platiferum) ต่อการเจริญเติบโต,
ภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรคในปลานิล (Oreochromis niloticus)
Effect of Huan-Ngoc herb (Pseuderatherum platiferum) on growth, immune
activity and disease resistance in Nile tilapia (Oreochromis niloticus)

ชื่อนักศึกษา นายรัฐภูมิ อวจาเมง

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)

ภาควิชารับรองแล้ว

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ ๑๕ เดือน พ.ค. พ.ศ. ๒๕๕๑

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของสมุนไพรพญาवानร (*Pseuderatherum platiferum*) ต่อการเจริญเติบโต, ภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรคในปลานิล (*Oreochromis niloticus*)
Effect of Huan-Ngoc herb (*Pseuderatherum platiferum*) on growth, immune activity and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสมุนไพรพญาวานร ต่อการเจริญเติบโต, ภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรคในปลานิลขนาดเฉลี่ย 53.53 ± 4.62 กรัม ด้วยอาหารที่ผสมใบแห้งที่บดเป็นผงละเอียดที่ 1, 2 และ 5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักอาหารเป็นเวลา 45 วัน พบว่าค่าการเจริญเติบโต และค่าการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่ามากที่สุดในกลุ่มควบคุมรองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์, 5 เปอร์เซ็นต์ และ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่า 10.58 ± 0.78 , 8.15 ± 1.06 , 5.60 ± 5.53 และ 4.68 ± 0.40 กรัม ตามลำดับ การศึกษาทางด้านภูมิคุ้มกัน พบว่าในกลุ่มทดลองที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานรมีระดับการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและค่า Superoxide สูงกว่าในกลุ่มควบคุม และการทดสอบทางด้านความต้านทานเชื้อ *Streptococcus agalactiae* พบว่าในกลุ่มทดลองที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานรมีค่าเปอร์เซ็นต์การตายและเปอร์เซ็นต์การแสดงอาการต่ำกว่าในกลุ่มควบคุม ซึ่งการเจริญเติบโตโดยการสังเกตพบว่าอาหารที่มีปริมาณสมุนไพรผสมมากอาจไม่กระตุ้นให้ปลาเกิดความอยากกินอาหาร แต่อย่างไรก็ตามผลทางด้านภูมิคุ้มกันก็มีค่ามากกว่า จึงขอสรุปว่า กลุ่มที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดโรคในปลานิล

คำนิยม

ปัญหาพิเศษในครั้งนี้จะไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ หากขาดผู้ผู้อุปการะ ช่วยเหลือ ในหลายๆ ด้าน

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ ที่เป็นที่ปรึกษาทั้งในการทำปัญหาพิเศษ รูปเล่ม การวิเคราะห์ผล และการนำเสนอ ที่ได้ตลอดมา ขอขอบคุณ ดร.จตุพร บัณฑิต ที่เอื้อเพื่ออุปกรณ์ ข้อมูล และให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทำอาหารเพื่อใช้ในการทำปัญหาพิเศษ ขอขอบคุณฯ รองศาสตราจารย์รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ ที่เอื้อเพื่อสัตว์น้ำจาก KMITL's Fish Tech Farm เพื่อใช้ในการทำปัญหาพิเศษ ขอขอบคุณคุณอาจารย์ดุสิต เอื้ออำนวย ที่ช่วยเหลือทางด้านวิธีการและเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ที่ให้ความกรุณาในการวิเคราะห์อาหารที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณคุณบุปผา จงพัฒน์, คุณนภพล เผ่าพันธ์, และคุณชิตชนก สวัสดิ์ศรี ที่ช่วยเหลืออุปกรณ์ สารเคมี และเทคนิคความรู้ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณนิพนธ์ จิตตำนาน คุณบัญชา คงเกษม และคุณแสง พักหอม ที่เอื้อเพื่ออุปกรณ์และบำรุงซ่อมแซมสถานที่ที่ใช้ในการทำปัญหาพิเศษ

ขอขอบคุณนางสาวชลดา มีอนันต์ นางสาวภัทราภรณ์ สืบสำราญ นางสาวนพรัตน์ ศรีเมือง นายภราดร สุทธิพรหม นายณัฐพงษ์ แก้วมณี นายณัฐติชาติ ชัยมโน นายชวิน สวัสดิ์ลักษณ์ นายวัชรพล สุรักษา นายไพโรจน์ ณรงค์วงศ์วัฒนา นายธนกร ปรินานี นายเฉลิมศักดิ์ เจียดำรงค์ นางสาวกิตติยา พันมี นางสาวศิริรัตน์ กอวงศ์ และเพื่อนๆ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง ที่ช่วยเหลือทางด้านวิเคราะห์ผลทั้งทางห้องปฏิบัติการ และทางสถิติ แรงงาน ความรู้ ทักษะ เทคนิคต่างๆ และกำลังใจที่ได้ตลอดช่วงเวลาในการทำปัญหาพิเศษ

ขอขอบคุณนายอุทัย และนางพุลทรัพย์ เนียมโปลัง รวมถึงบรรดาญาติพี่น้องที่ อุปการะทางด้านค่าเลี้ยงดู ค่าใช้จ่าย รวมถึงให้ความหวัง กำลังใจ และความอบอุ่น จนกระทั่งจบการศึกษาในระดับปริญญาตรี

สุดท้ายขอขอบคุณนายวิรัตน์นันท จินดารมย์ ที่คอยดูแล เป็นกำลังใจ อุปการะ และคอยช่วยเหลือในด้านต่างๆ ด้วยความปรารถนาดีตลอดมา

นายรัฐภูมิ อาจเม่น

พฤษภาคม 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผลการทดลองและวิจารณ์	17
สรุปและข้อเสนอแนะ	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	26



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของต้นว่านพญาพานร (<i>Pseuderanthemum palatiferum</i>)	5
2	คุณค่าทางโภชนาการของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง (Commercial food)	14
3	เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนและไขมันของอาหารที่ใช้ในการทดลอง	17
4	ค่าการเจริญเติบโตในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 6	18
5	ค่าอัตราแลกเปลี่ยนในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 6	18
6	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 6	18
7	ค่าความสามารถของเม็ดเลือดขาวในการกำจัดสิ่งแปลกปลอม	19
8	ค่าการดูดกลืนแสงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Superoxide เมื่อสิ้นสุดการทดลอง	19
9	ค่าเปอร์เซ็นต์การตายและเปอร์เซ็นต์การแสดงอาการของเชื้อ <i>Streptococcus agalactiae</i> ฉีดเชื้อแบคทีเรียเข้าช่องท้องเป็นเวลา 10 วัน	20
ตาราง ภาคผนวกที่		หน้า
1	ค่าดัชนีชี้วัดการกำจัดสิ่งแปลกปลอม (Phagocytic index) ค่าการทำลายเซลล์แบคทีเรียในเม็ดเลือดขาว (Phagocytic activity) และค่าการดูดกลืนแสงในการหาค่า Superoxide (NBT)	26
2	ตารางแสดงอัตราการตายสะสม อัตราการออกอาการ เปอร์เซ็นต์การตายและเปอร์เซ็นต์การออกอาการในปลานิลทั้ง 4 กลุ่มทดลองที่ฉีดเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 10 วัน	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ว่านพญาวานร หรือ ฮว่าน ง็อก	2
2	Stigmasterol (C ₂₉ H ₄₈ O)	3
3	β – Sitosterol (C ₂₉ H ₄₈ O)	4
4	β – Apigenin-7-O-Glucoside (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀)	4
5	ลักษณะรูปร่างของเชื้อ <i>Aeromonas hydrophila</i> เมื่อย้อมสีด้วย gram stain	7
6	แผลบริเวณลำตัวอันเนื่องจาก <i>Aeromonas hydrophila</i>	8
7	ลักษณะของเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	9
8	แผลบริเวณคอดหาง (Caudal peduncle) อันเนื่องจากเชื้อ <i>Streptococcus</i> sp.	10
9	การแยกชิ้นของสารละลายเลือดหลังจากปั่นเหวี่ยงที่ 400g นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	15
10	แบคทีเรียที่ได้จากการนำปลาโกล์ตายในระหว่างทดลองไปเพาะเพื่อตรวจหาการติดเชื้อ <i>Streptococcus agalactiae</i>	21
11	อัตราการตายสะสมในปลานิลทั้ง 4 กลุ่มทดลองที่ฉีดเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 10 วัน	21
12	ลักษณะอาการของปลานิลที่เป็นโรค Streptococcosis	22

คำนำ

การเลี้ยงปลานิล *Oreochromis nilotica* เป็นอุตสาหกรรมที่สำคัญ เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งซึ่งมีคุณค่าทางเศรษฐกิจนับตั้งแต่ปี พ.ศ.2508 เป็นต้นมา ซึ่งปกติแล้วการเลี้ยงปลาจะทำในพื้นที่ที่ปิดล้อม เช่น ปอหรือกระชังตาข่ายเพื่อให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่คือการเลี้ยงแบบหนาแน่น ซึ่งการเลี้ยงในลักษณะที่หนาแน่นเกินไป การขนส่ง การคัดเกรดและคุณภาพน้ำที่ไม่ดีอาจก่อให้เกิดความเครียดแก่ปลา ส่งผลทำให้สิ่งแวดล้อมทางกายภาพแย่งลงและเพิ่มความไวต่อการเกิดโรค (Sakai,1998;Christybapita et al,2007) โดยแบคทีเรียที่สร้างความเสียหายในอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลานิล ได้แก่เชื้อ *Streptococcus agalactiae* ซึ่งแนวทางในการจัดการโรคที่เกิดจากแบคทีเรียนี้สามารถทำได้โดยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเป็นการควบคุมโรคปลา ซึ่งได้แก่การใช้วัคซีนแต่มีราคาแพงและมีประสิทธิภาพเฉพาะทางโรคเท่านั้น ส่วนการใช้ยาปฏิชีวนะสามารถควบคุมได้ แต่ยาปฏิชีวนะที่ต้านเชื้อจะถ่ายทอดสู่สิ่งแวดล้อมและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ รวมถึงการสะสมของยาปฏิชีวนะในสิ่งแวดล้อมและในปลา ซึ่งนั่นอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม(Sakai,1998; Divyagnaneswari et al.2006; Abutbul et al,2004) เนื่องด้วยเหตุผลเหล่านี้จึงได้มีการนำผลผลิตจากพืชมาพัฒนาวิธีการยับยั้งแบคทีเรียซึ่งเป็นหลักและวิธีการจากแหล่งธรรมชาติ โดยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบธรรมชาติเป็นการเข้ากันได้ของสิ่งมีชีวิต, การลดจำนวนสิ่งมีชีวิตลงได้, มีประสิทธิภาพและรักษาสีสิ่งแวดล้อม ซึ่งการพัฒนาตัวยาที่ต่อต้านแบคทีเรียและการสะสมของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมและในปลามีการนำไปสู่การควบคุมที่สมบูรณ์และลิมิตในการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีอื่นๆ ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการผลิตสัตว์น้ำคุณภาพใช้บริโภคและส่งออกต่อไป (Christybapita et al,2007; Divyagnaneswari et al.2006; Abutbul et al,2004)

วัตถุประสงค์

- 1.เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบว่านพญาวานรในปริมาณ 0, 1, 3, และ 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 6 สัปดาห์
- 2.เพื่อศึกษาผลของการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลานิลเมื่อได้รับอาหารผสมใบว่านพญาวานรในปริมาณ 0, 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 6 สัปดาห์
- 3.เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการต้านทานการติดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบว่านพญาวานรในปริมาณ 0, 1, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถหาแนวทางในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและต้านทานโรคสเตรปโตคอคคัส เพื่อลดการสะสมของยาปฏิชีวนะในสิ่งมีชีวิตและไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ว่านพญาวานร หรือ ว่านง็อก (Huan-Ngoc)



ภาพที่ 1 ว่านพญาวานร หรือ ว่านง็อก

ที่มา: http://www.igetweb.com/www/armytani/private_folder/dsc00107.jpg

ว่านง็อก (*Pseuderatherum platiferum*) มีชื่อเรียกเป็นภาษาไทยว่า ว่านพญาวานร ว่านลิง หรือว่านห่างลิง เป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งสายพันธุ์ Acanthaceae ซึ่งนำเข้ามาจากประเทศเวียดนาม เป็นพันธุ์ไม้ลักษณะเตี้ย สูงประมาณ 1 เมตร ใบมีลักษณะเป็นใบอ่อนสีเขียว ปลายเรียวแหลม แตกกิ่งก้านสาขามากโดยออกตามโคนง่ามใบ สามารถขยายพันธุ์ได้ง่าย เจริญเติบโตได้เร็วดีในที่ร่มหรือมีแดดรำไร โดยสรรพคุณในการรักษามีดังนี้

1. รักษาคนสูงอายุ ปวดเมื่อยตามร่างกาย ทำงานหนัก เกิดประสาทหลอน
2. รักษาเป็นไข้หวัด ความดันโลหิตสูง
3. รักษาอาการมีบาดแผล เกล็ด ขัดขอก กระดุกหัก
4. รักษาอาการทางเดินอาหารไม่ปกติ
5. รักษาอาการโรคกระเพาะอาหาร โรคเลือดออกในลำไส้ เกี่ยวกับกระเพาะปัสสาวะ
6. รักษาอาการคอกพอก ตับอักเสบ
7. รักษาอาการไตอักเสบ ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะขุ่นข้น
8. รักษาอาการโรคมะเร็งปอดมีอาการปวดต่างๆ โดยไม่ทราบสาเหตุ
9. รักษาโรคตาทุกชนิด เช่น ตาแดง ตาต้อ ตาหือเลือด
10. รักษาอาการมดลูกหย่อนของหญิงคลอดบุตรใหม่
11. รักษาโรคความดันโลหิตสูง ความดันโลหิตต่ำ โรคประสาทอ่อนๆ
12. สามารถใช้กับสัตว์ได้ จากเอกสารระบุว่าใช้กับไก่ชนหลังจากชนไก่แล้ว ต้องการให้ไก่

ฟื้นจากอาการบาดเจ็บ ให้ไก่กินใบของต้นสมุนไพรว่านง็อก จะฟื้นตัวได้เร็ว

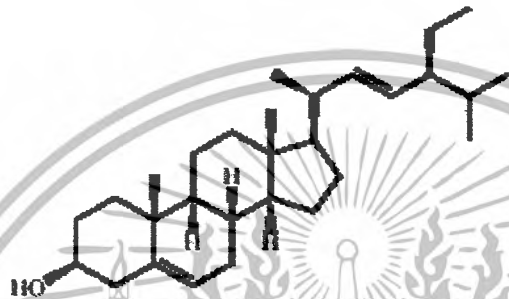
ส่วนสำคัญคือ ใบ ใช้เคี้ยวกินสดๆ หรือคั้นและกรองเอาน้ำขึ้นๆ รับประทานหรือต้มเป็นน้ำแกงรับประทานได้ ส่วนเปลือกและรากไม้ สามารถต้มกลั่นเป็นสุราได้ ใบไม่มีกลิ่นและรส สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้มเอาน้ำใส่ๆ ต้ม ส่วนการรับประทานมากหรือน้อย อยู่ที่ธาตุ หนัก-เบา ของแต่ละคน โดยทั่วไป จะรับประทานกัน 1-4 ใบ คนที่มีอาการหน้ามืดตาลายหลังรับประทานอาหาร 15 นาที จะหาย ให้ รับประทานติดต่อกัน 7 วัน วันละ 2 ครั้ง โดยกินก่อนอาหาร

ข้อมูลทางพฤกษเคมีของสมุนไพรมะขาม

Huynh Kim Dieu (2008) ได้ทำการทดลองสกัดสารประกอบทางเคมีจากใบมะขาม- ฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลายคืออีเทอร์และคลอโรฟอร์ม ซึ่งสกัดสารประกอบทางเคมีได้ หลายชนิด เช่น



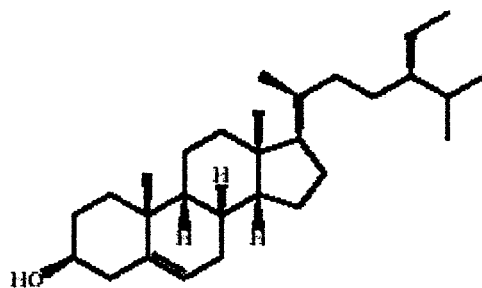
stigmasterol (2)

ภาพที่ 2 Stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$)

ที่มา : วิชาพรรณ (2547)

- Stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$) เป็นสารประกอบทางเคมีประเภท sterols มีลักษณะเป็น ของเหลวสีขาวที่อุณหภูมิห้อง มีจุดเดือด 160-164 องศาเซลเซียส ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำ ละลายอินทรีย์ มีองค์ประกอบคล้ายกับซีผึ้งและคอเรสเตอรอลที่ได้จากสิ่งมีชีวิตและพืช ซึ่งมี ความสำคัญโดยใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตและสังเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยมีสำคัญใน ลักษณะทางสรีระวิทยาของฮอร์โมนเพศหญิง และยังช่วยในการฟื้นฟูร่างกายซึ่งมีสาเหตุมาจากการเกิดระยะ Luteal Phase อันเนื่องมาจากฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในวัฏจักร Menstrual ให้คงอยู่ในสภาพเดิม (<http://www.chemicaland21.com/lifescience/phar/STIGMASTEROL.htm>)

- β - Sitosterol -3 -O-Glucoside ($C_{35}H_{60}O_6$) เป็นสารประกอบเคมีประเภท Triterpenoids (Shen Guanghi และคณะ, 2005)

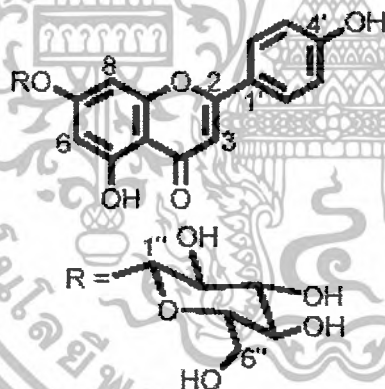


β sitosterol (1)

ภาพที่ 3 β – Sitosterol ($C_{29}H_{48}O$)

ที่มา : วิชาพรรณ (2547)

- β – Sitosterol ($C_{29}H_{48}O$) เป็นสารประกอบทางเคมีประเภท sterols มีลักษณะทางเคมีคล้ายกับ Stigmasterol ซึ่งมีความสำคัญในการช่วยลดอาการต่อมลูกหมากโต (BPH) ลดปริมาณการดูดซึมคอเรสเตอรอลและแก้อาการขัดเบาในการถ่ายปัสสาวะ เพิ่มภูมิคุ้มกันและระดับน้ำตาลในเลือด ลดอาการอักเสบ รักษาแผลเปื่อย แผลพุพอง มีหนอง กระชับมดลูก และบรรเทาอาการปวดท้องเนื่องจากการมีประจำเดือน



ภาพที่ 4 β – Apigenin-7-O-Glucoside ($C_{21}H_{20}O_{10}$)

ที่มา : <http://www.springerlink.com/content/fj08tg25128p7g7m2/fulltext.pdf?page=1>

- β – Apigenin-7-O-Glucoside ($C_{21}H_{20}O_{10}$) เป็นสารประกอบเคมีประเภท Flavonoid มีความสำคัญในการคลายอาการเครียดโดยไม่ต้องมีการคลายกล้ามเนื้อหรือระงับประสาท นอกจากนี้ยังแสดงผลการต้านทานการเสริมการเกิดเนื้องอก ต่อต้านการกลายพันธุ์ และลดการเกิดเนื้องอกบริเวณผิวหนังอันเนื่องมาจากการได้รับรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Sanja M. Ilic' และคณะ, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร

จากการทดลองของ Huynh Kim Dieu และคณะ (2005) ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางด้านเคมีของใบว่านพญาวานร พบว่ามีองค์ประกอบของโปรตีน แร่ธาตุ และกรดอะมิโนที่มีความสำคัญทางด้านโภชนศาสตร์ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 : องค์ประกอบทางเคมีของต้นว่านพญาวานร (*Pseuderanthemum palatiferum*)

Dry matter (%)	13.4
Crude protein (% dry matter)	30.8
Mineral (mg/100 g fresh leaves)	
Ca	875.5
Mg	873.6
Fe	38.8
Cu	0.43
Amino acid (mg/100 g fresh leaves)	
Lysine	30.6
Methionine	29.7
Threonine	61.0

ที่มา : Huynh Kim Dieu et al.(2005)

ผลของสารสกัดใบสดวิธีชนิดอื่นๆ

วรารภรณ์ (2551) ได้ทำการศึกษาผลของปริมาณสารสกัดของสมุนไพรพญาวานรต่อระดับโคเลสเตอรอลในเลือดของหนูเบาหวาน โดยการป้อนสารสกัดพญาวานรความเข้มข้น 20 , 60 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร/วัน ให้กับหนูเพศผู้ที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานด้วย Streptozotocin เป็นเวลา 30 วัน แล้วตรวจหาปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือด ซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าระดับโคเลสเตอรอลในเลือดจะลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดว่านพญาวานร โดยสารสกัดว่านพญาวานรที่ความเข้มข้น 60 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นั้นมีระดับโคเลสเตอรอลไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมปกติ และผลทางเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะ พบว่ากลุ่มหนูควบคุมเบาหวานและกลุ่มหนูที่ให้สารสกัดว่านพญาวานรความเข้มข้น 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มี germ cell ในท่อสร้างอสุจิบางส่วนถูกทำลายไป แต่ในทางตรงกันข้ามกลับพบว่ากลุ่มหนูที่ให้สารสกัดพญาวานรความเข้มข้น 20 และ 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีการเพิ่มปริมาณ germ cell และมีลักษณะของท่อสร้างอสุจิล้ำยากับกลุ่มหนูควบคุมปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้มีการศึกษาซึ่งใช้คาร์บอนเตตระคลอไรด์เหนียวทำให้เกิดความเป็นพิษในตับของหนู ประกอบกับให้สารสกัดจากสมุนไพรพญาวันรควบคู่ไปด้วย พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรพญาวันนั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดพิษและป้องกันเซลล์ของตับได้โดยการทดลองนั้นเซลล์ตับของหนูสามารถฟื้นฟูกลับสู่สภาพปกติได้

ผลของสารสกัดต่อการต้านทานเชื้อรา

สามารถต้านทานเชื้อ *Candida albicans* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคแผลพุพอง ในปาก, ลิ้น, ทางเดินหายใจ, ทางเดินอาหาร, ช่องคลอด, ช่องขับถ่าย และอาการคันตามนิ้วมือนิ้วเท้า

สามารถต้านทานเชื้อ *Aspergillus niger* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคในอวัยวะภายใน

ผลของสารสกัดต่อการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย

สามารถต้านทานแบคทีเรียแกรมลบ เช่น

- *Escherichia coli* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคในทางเดินอาหาร เช่น แผลและอาการอักเสบในกระเพาะอาหาร, กระเพาะปัสสาวะ, ถ่ายเป็นมูกเลือด ซึ่งจะนำไปสู่การเป็นมะเร็งในลำไส้

- *Pseudomonas aeruginosa* ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง, เนื้อเยื่อ, เลือดหู, กระจกตา และอาการเยื่อหุ้มสมองและไขสันหลังอักเสบ

สามารถต้านทานแบคทีเรียแกรมบวก เช่น

- *Staphylococcus aureus* ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง, เป็นหนอง, สิว และติดเชื้อในกระแสเลือด

- *Streptococcus pyogenes* ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อบริเวณปอด, ผิวหนัง, เป็นหนอง, สิว, และปรสิตที่ทำให้ฟันผุ (<http://www.squidoo.com/hoanngoc>)

Ebtesam N. AL-Saltan (1996) ได้ทำการทดลองสกัดสารประกอบจากต้น *Maytenus arbatifolia* ในตัวทำละลายเอทานอล, บีโตรีเนียม อีเทอร์, และเอทิล อะซิเตท ซึ่งได้สารประกอบทางเคมีผสมระหว่าง β -Sitosterol และ β -Sitosterol-3-O-Glucoside โดยนำมาทดสอบกับแบคทีเรีย ซึ่งผลคือในทุกตัวทำละลายได้แสดงถึงการต้านทานเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยตัวอย่างแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่ทำให้เกิดโรคและสร้างความเสียหายในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ได้แก่

แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลานิล

1) *Aeromonas hydrophila*

ลักษณะทางกายภาพของแบคทีเรีย

เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ทำการย้อมสดจากอวัยวะป้ายบนสไลด์ (direct smear) พบเชื้อรูปร่างเป็นแท่งสั้น (rod) เคลื่อนที่ได้ ขนาดความยาวประมาณ 1-1.5 ไมครอน มีแฉัก (Flagella) 1 เส้นเพื่อการเคลื่อนที่ที่ไม่มีการสร้างสปอร์และสารมีดี ไม่มีแคปซูล เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะพบโคโลนีลักษณะกลม ผิวเรียบ ตรงกลางโค้งนูนสีชาวนวล มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นคู่ บางครั้งพบเป็นสายสั้นๆ เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค Motile Aeromonas Septicemia (MAS)



ภาพที่ 5 ลักษณะรูปร่างของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* เมื่อย้อมสีด้วย gram stain

ที่มา : <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9e/Aeromonas.gif>

ลักษณะของโรคที่เกิดขึ้นกับสัตว์น้ำ

ลักษณะของปลาที่เป็นโรค Motile Aeromonas Septicemia จะเสียการทรงตัว ถ่วงน้ำข้างลง อ้าปากหายใจบริเวณผิวหนัง ครีบเปื่อย มีการตกเลือดตามตัว เกิดตุ่มเลือด มีแผลหลุมตามตัว ท้องบวม มีน้ำคั่งในช่องท้อง ลำไส้อักเสบและบาง ตัวมีจุดเลือดออก (http://www.dld.go.th/region9/CSS_DL D9/DF ISH01A.html) โดยอาการของโรค Motile Aeromonas Septicemia มีความรุนแรงทั้งหมด 4 ระดับ ได้แก่

- Acute form ปลาจะตายอย่างรวดเร็วและเป็นจำนวนมาก ภายในระยะเวลา 1-2 วัน โดยไม่ปรากฏอาการภายนอกให้เห็น หากเปิดช่องท้องจะพบอวัยวะภายในตกเลือด
- Subacute form ปลาที่ตายจะมีอาการท้องบวมน้ำ (dropsy) แผลพอง (blisters) ฝี (abscesses) และเกิดตุ่มพอง (scale protrusion)
- Chronic form มีลักษณะปลาป่วยเป็นแผลลึกถึงชั้นกล้ามเนื้อ (Ulcrous) และ ฝี หากมีปลารอดตายจะเห็นแผลเป็นสีดำชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Latent form ปลาจะไม่แสดงอาการของโรคทั้งภายในและภายนอก แต่จะเป็นพาหะของโรค

การระบาดของโรคมีความเกี่ยวข้องกับการเครียดโดยเมื่อใดก็ตามที่มีสาเหตุทำให้สภาวะสมดุลนั้นเปลี่ยนแปลงไป เช่น คุณภาพเปลี่ยนแปลงในช่วงหลายๆ คุณภาพน้ำไม่เหมาะสม การขนส่งปลาทำให้เกิดความบอบช้ำ แผล ผิวน้ำหรือเหงือกที่ถูกทำลายเนื่องจากปรสิต ทำให้การสร้างภูมิคุ้มกันของปลาเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ แต่แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตและเกิดการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว ซึ่งไม่ได้สัดส่วนระหว่างการเพิ่มของแบคทีเรียและภูมิคุ้มกัน ซึ่งการติดเชื้อในตัวปลา ได้แก่ การที่แบคทีเรียเข้าทางปาก และบาดแผลที่เกิดขึ้นบริเวณลำตัวและเหงือก (ชลอ,2528)



ภาพที่ 6 แผลบริเวณลำตัวอันเนื่องจาก *Aeromonas hydrophila*

ที่มา : http://www.fisheries.org/units/education/fisheries_techniques/Chapter14/Koi%20ulcer%20from%20motile%20aeromonas.jpg

การป้องกันและรักษาโรค

การป้องกัน

- ควบคุมคุณภาพน้ำและความหนาแน่นในการเลี้ยงและให้มีการสูทอากาศที่ดี

การรักษา

- เทอร์ราซีน หรือออกซิเตตระไซคลิน ผสมอาหารขนาด 55 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 10 วัน หรือซิดขนาด 30 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม

- โรเมต – 30 ผสมในอาหารลอยน้ำขนาด 50 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน

- น้ำเกลือ 8 เปอร์เซ็นต์ใช้ในการรักษาแผล และสารละลายเบตาดีน 0.75 เปอร์เซ็นต์ใช้ใน

การล้างแผล (สมหมาย,2550)

2) *Streptococcus* sp.

ลักษณะทางกายภาพของแบคทีเรีย

สเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus*) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปไข่หรือเป็นทรงกลมเล็กๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 2 ไมโครเมตร เกิดเป็นเส้นสายหรือแตกกิ่งเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยง
เหลว ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้ ส่วนใหญ่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีแคปซูล และเป็นแบคทีเรีย
จำพวกที่เจริญได้ทั้งในที่ที่ไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนก็ได้ (Facultative bacteria)

เป็นแบคทีเรียก่อให้เกิดโรคสเตรปโตคอคโคซิส (Streptococcosis) โดยเชื้อสเตรปโตคอคคัสที่ก่อ
โรคในปลาเมื่ออยู่หลายชนิดโดยสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มด้วย ได้แก่

- cool-water streptococcosis คือเชื้อสเตรปโตคอคคัสที่ก่อโรคในภาวะน้ำที่มีอุณหภูมิ
ต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส ซึ่งประกอบไปด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Lactococcus piscium*, *Vagococcus*
salmoninarum และ *Carnobacterium piscicola*

- warm-water streptococcosis หรือเชื้อสเตรปโตคอคคัสที่ก่อโรคในภาวะน้ำที่มีอุณหภูมิ
สูงกว่า 15 องศาเซลเซียส ซึ่งประกอบไปด้วยเชื้อแบคทีเรีย *L. garvieae*, *Streptococcus*
parauberis, *S. iniae* และ *S. agalactiae* หรือชื่อที่อง *S. difficilis* (วิศิษฐ์ และคณะ, 2550) ซึ่ง
สาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิลได้แก่ *S. iniae* (Eldar et al., 1994) และ
เชื้อ *S. agalactiae* (นิลกุล, 2545)



ภาพที่ 7 ลักษณะของเชื้อ *Streptococcus* sp.

ที่มา : <http://img.photobucket.com/albums/v164/roland98/f7def7782f1050bc4765b86126d21355.jpg>

ลักษณะของโรคที่เกิดขึ้นกับสัตว์น้ำ

ลักษณะอาการปลาที่เป็นโรคสเตรปโตคอคโคซิสจะมีลักษณะว่ายน้ำผิดปกติ ไม่มีทิศทาง
สูญเสียการทรงตัว ว่ายควงคว้าง ท้องขยายใหญ่ ตาโปน กระจกตาขุ่น หรืออาจมีเลือดออกภายใน
ช่องตา จุดเลือดออกบริเวณโคนครีป แผ่นปิดเหงือก ผิวน้ำ และรอบรูทวาร อีกทั้งอาจพบตุ่ม
หนองบริเวณลำตัว มีของเหลวลักษณะใส หนืดหรือปนเลือด คั่งภายในช่องท้อง ตับขยายใหญ่ มีสี
ซีด ม้ามขยายใหญ่ มีสีดำเข้ม และผนังลำไส้ด้านนอกมีเลือดคั่ง ลักษณะเหล่านี้จะเห็นได้ชัดใน
ปลานิลขนาดใหญ่ แต่จะไม่พบในลูกปลานิล (http://www.trf.or.th/News/Content.asp?Art_ID=1224)

ซึ่งส่วนมากแล้วโรคสเตรปโตคอคโคซิสจะมีผลที่ลูกตา อาการเบื้องต้นจะจำกัดที่อาการตาโปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีผลเนื่อง จากเลือดที่คั่งบริเวณหลังลูกตาและการบวมน้ำ อาจมีการอักเสบแผลงและมีอาการตาย ของกลุ่มเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับประสาทตาและเยื่อโครอยด์ถึงเบ้าตาและตา ในลูกตาจะเกิดอาการ ตกเลือดที่ชั้นเรตินาจนมีของเหลวบริเวณลูกตา โดยดูจากอาการเนื้อเยื่อเลนส์ลูกตาตาย ในท่อของ ซี่เหงือก เกิดการสะสมของแมโครฟาจ นำไปสู่อาการตกเลือดอย่างหนักและตาย ในทางเดิน อาหารจะเกิดหนองบริเวณเยื่อเมือก อวัยวะภายในหลักๆ ที่มีผลคือม้ามและตับ มีขอบเขตจำกัด ถึงหัวใจและไต ที่ตับเกิดอาการชืดซึ่งเป็นจุดที่เกิดอาการเนื้อเยื่อตาย เมื่อม้ามมีการขยายขนาด ใหญ่ขึ้นและมีสีแดงสดหรือแดงอมม่วง ส่วนหัวใจบริเวณเพอริคาร์เดียมและช่องเพอริโตเนียมเกิด การโป่งพองเนื่อง จากของเหลวที่ขับออกมา (Robinson & Meyer 1966, Plumb *et al.* 1974, Kusuda *et al.* 1976, 1978, Kitao *et al.* 1981, Jo 1982, Miyazaki 1982, Baya *et al.* 1990)

เชื้อสเตรปโตคอคคัสมีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้โดยแบ่งเป็นแบบ α -, β - และ γ - haemolysis ส่วนใหญ่พบว่ากลุ่มที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกแบบ β - และ γ - haemolysis เป็น สาเหตุสำคัญที่ทำให้ปลาตาย (Eldar *et al.*, 1997; Kitao *et al.*, 1981; Cook and Lofton, 1975) ในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของโรคสเตรปโตคอคคัสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อสเตรปโตคอคคัสกลุ่ม β - haemolysis ของการเลี้ยงปลานิลในกระชังในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และส่วนใหญ่ตายด้วยเชื้อ *S.agalactiae* โดยโรคนี้จะเป็นลักษณะของโรคที่เรื้อรังคือ ปลาจะ แสดงอาการของโรคช้าและเป็นระยะเวลาานกว่าปลาจะตาย([http://www.rakbankerd.com/agriculture /open.php?id=618&s=tblanimal](http://www.rakbankerd.com/agriculture/open.php?id=618&s=tblanimal)) ซึ่งร้อยละ 75 ของปลานิลที่ติดเชื้อจะตาย ในช่วง 3-7 วัน แต่ในส่วนของปลาที่หายป่วยจะมีอัตราการเติบโตน้อยลงกว่าเดิม และจะต้องใช้เวลาเลี้ยงนานขึ้นจาก 7-8 เดือน เป็น 10-12 เดือน ซึ่งในส่วนของปลาที่หายป่วยจะมีอัตราการเติบโตน้อยลงกว่าเดิม และจะต้องใช้เวลาเลี้ยงนานขึ้นจาก 7-8 เดือน เป็น 10-12 เดือน



ภาพที่ 8 แผลบริเวณคอดหาง (Caudal peduncle) อันเนื่องจากเชื้อ *Streptococcus sp.*

ที่มา : http://aqua.intervet.com/binaries/127_115124.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การป้องกันและรักษาโรค

การป้องกัน

- ลดปริมาณปลาที่เลี้ยงไม่ให้หนาแน่นจนเกินไป ,อย่าให้อาหารมากเกินไป, ไม่จำเป็นต้องใช้มือจับหรือขนส่ง และนำปลาที่ใกล้ตายออกจากบ่อหรือกระชังโดยเร็วที่สุด

การรักษา

- Erythromycin ให้ที่ปริมาณ 25-50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา ต่อวัน เป็นเวลา 4-7 วัน (Shiomitsu *et al.* 1980, Katae *et al.* 1980) และยังมีรายงานว่ายา Doxycyclin (Kitao หรือ และ Aoki 1979) ,Kitasamycin, Alkyl-trimethyl-ammonium-calcium-oxytetracycline, Josamycin, Oleandomycin, และ Lincomycin สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคสเตรปโตคอกโคซิสที่เกิดในการเพาะเลี้ยงปลา yellowtail ในประเทศญี่ปุ่นได้

- การใช้วัคซีน โดยการใช้วัคซีนทางการค้ายังคงพัฒนาอยู่ (Iida *et al.* 1982, Sakai *et al.* 1987)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. บ่อซีเมนต์ทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 95x95 เซนติเมตร จำนวน 12 บ่อ
2. บ่อซีเมนต์ทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 175x270 เซนติเมตร จำนวน 2 บ่อ
3. อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมีในการวัดค่าความสามารถของเม็ดเลือดขาวในการกำจัด

สิ่งแปลกปลอมและแบคทีเรีย (Phagocytic activity)

- หลอด Tube
 - สาร RPMI
 - สาร Histopaque (Percoll)
 - สาร Phosphate buffer saline (PBS)
 - ไมโครปิเปต (Micropipette)
 - สไลด์นับเม็ดเลือด (Haematocytometer)
 - เครื่องนับจำนวนเม็ดเลือด
 - หลอด Eppendrop
 - Cover slide
 - แผ่นสไลด์
 - กล้องจุลทรรศน์ (Compound microscope)
 - Latex bead solution
 - ชุดน้ำยา Dip quick
 - น้ำยา Permouath
 - ไชลีน (Xylene)
4. อุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมีในการวัดค่าการทำลายแบคทีเรียภายในเซลล์เม็ด

เลือดขาว (Respiratory burst of haemocyte)

- หลอด Eppendrop
- สาร NBT
- สาร DMF
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centifuge)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

5. เข็มฉีดยา

6. ไม้บรรทัด

8. เครื่องปั่นผลไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10.อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

11.เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*

12.เครื่องชั่งน้ำหนัก

วิธีการ

-แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete randomized design : CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ใช้ปลานิลทดลองบ่อละ 25 ตัวดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม ปลานิลกินอาหารที่ไม่ผสมใบว่านพญาวานร

ชุดการทดลองที่ 2 กลุ่มทดลอง 1 ปลานิลกินอาหารผสมใบว่านพญาวานร 1 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 กลุ่มทดลอง 2 ปลานิลกินอาหารผสมใบว่านพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 4 กลุ่มทดลอง 3 ปลานิลกินอาหารผสมใบว่านพญาวานร 5 เปอร์เซ็นต์

วิธีการทดลอง

- การเตรียมสัตว์ทดลอง

เตรียมบ่อเพื่อนำปลาไปพักไว้ก่อนทำการทดลอง โดยใช้บ่อซีเมนต์ทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 175x270 เซนติเมตร จำนวน 2 บ่อ ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นล้างทำความสะอาดและเติมน้ำสูงประมาณ 55 เซนติเมตร พักไว้ประมาณ 7 วัน โดยให้ออกซิเจนตลอด 24 ชั่วโมงผ่านหัวทราย จากนั้นนำปลาที่ใช้ในการทดลองจำนวน 350 ตัว ปล่อยลงในบ่อซีเมนต์ที่เตรียมไว้จำนวนบ่อละ 200 ตัว โดยให้อาหาร 3 เวลา (09.00, 13.00, และ 17.00 นาฬิกา ตามลำดับ) ทำการถ่ายน้ำทุกๆ 3 วัน จากนั้นเตรียมบ่อเพื่อทำการทดลอง โดยใช้บ่อซีเมนต์ทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 95x95 เซนติเมตร จำนวน 12 บ่อ ความสะอาดและฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นล้างทำความสะอาดและเติมน้ำสูงประมาณ 30 เซนติเมตร พักไว้ประมาณ 7 วัน โดยให้ออกซิเจนตลอด 24 ชั่วโมงผ่านหัวทราย

- การเตรียมพืชและอาหารที่ใช้ในการทดลอง

เตรียมพืชและอาหารที่ใช้ในการทดลอง โดยนำส่วนยอดของต้นว่านพญาวานร หรือ ส่วน รังอก (*Pseuderatherum platiferum*) ปักชำลงในกระบะคอนกรีตใส่ทราย ทำการรดน้ำ 2 เวลา (11.30 และ 15.45 นาฬิกา ตามลำดับ) เป็นเวลา 30-45 วัน เมื่อต้นเจริญเติบโตจึงทำการตัดบริเวณส่วนยอดของต้นเพื่อนำไปใช้ในการทดลอง โดยนำไปล้างและบั่นที่ก้นน้ำหนักไปสด จากนั้นอบในตู้อบด้วยความร้อน 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน บั่นที่ก้นน้ำหนักแห้งและบั่นให้ละเอียด โดยใช้เครื่องบั่นผลไม้ ในส่วนของอาหารที่ใช้ในการทดลองจะเตรียมอาหารใหม่ทุกสัปดาห์ นำอาหารปลาสำเร็จรูปอัดเม็ดมาบั่นโดยใช้เครื่องบั่นผลไม้ให้ละเอียด ซึ่งอาหารปลาสำเร็จรูปมีคุณค่าทางโภชนาการ ดังตารางที่ 2 จากนั้นผสมกับใบว่านพญาวานรในสัดส่วนที่กำหนด ผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการอัดเม็ดโดยใช้เครื่องอัดเม็ดอาหารสัตว์ นำไปตากลมเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นตัดท่อนให้เหมาะสมต่อขนาดของปลา และเก็บรักษาอาหารทุกสูตรที่อุณหภูมิ 2-3 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 2 : คุณค่าทางโภชนาการของอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

โปรตีน	ไม่น้อยกว่า	15.5 %
ไขมัน	ไม่น้อยกว่า	3 %
กาก	ไม่มากกว่า	10 %
ความชื้น	ไม่มากกว่า	3 %

- การดำเนินการทดลอง

1. การหาค่าการเจริญเติบโต

นำปลาลงในบ่อคอนกรีตที่ใช้ทดลองทั้ง 12 บ่อ จำนวนบ่อละ 25 ตัว โดยวัดความยาวและชั่งน้ำหนักปลาทุกตัวทั้ง 12 บ่อ โดยในการทดลองใช้ปริมาณของใบว่านพญาวานรบดละเอียดผสมในอัตราส่วนทั้งหมด 4 ระดับได้แก่ 0 (สูตรควบคุม), 1, 3, และ 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณอาหาร ให้อาหารผสมใบว่านพญาวานรบดละเอียดเป็นเวลา 45 วันบันทึกการเจริญเติบโตโดยสุ่มวัดความยาวและชั่งน้ำหนักปลาในวันที่ 30 และ 45 วัน ทำการคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, SGR) (Iwama และ Tautz, 1981) ในแต่ละช่วงที่สุ่มวัดความยาวและน้ำหนัก ด้วยสูตร

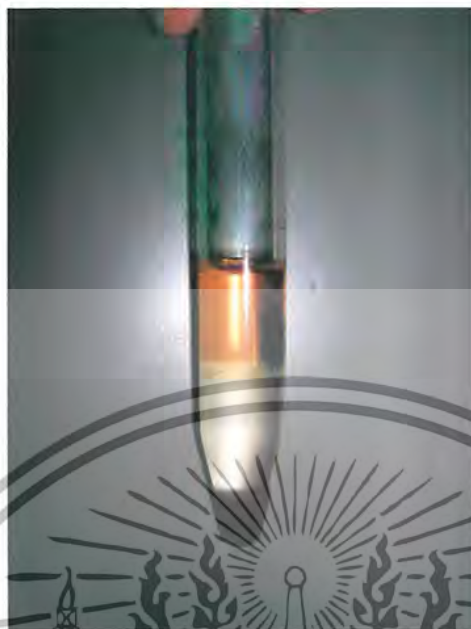
$$\text{อัตราแลกเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่ให้}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$$

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR)} = \frac{(\ln \text{ น้ำหนักสิ้นสุด} - \ln \text{ น้ำหนักเริ่มต้น}) \times 100}{\text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง}}$$

2. การทดสอบทางด้านภูมิคุ้มกัน

2.1 การหาค่าความสามารถของเม็ดเลือดขาวในการกำจัดสิ่งแปลกปลอม (Phagocytic activity) โดยเจาะเลือดปลาปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมในหลอดที่บรรจุ RPMI 2 มิลลิลิตร ดูดสารละลายเลือดที่ผสมกับ RPMI ใส่ลงในหลอดที่บรรจุ Percoll 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 400g นาน 30 นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อเรียบร้อยแล้วจะเห็นการแบ่งชั้นของสารละลายดังภาพที่ 8 ดูดสารละลายสีเทาที่แยกชั้นใสในหลอดเปล่า จากนั้นล้างด้วยสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 การแยกชั้นของสารละลายเลือดหลังจากปั่นเหวี่ยงที่ 400g นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

PBS 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 250g นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการล้าง 3 ครั้ง เมื่อเสร็จแล้วจะเห็นการตกตะกอนของเม็ดเลือดขาว จากนั้นทำการคำนวณเม็ดเลือดโดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด เตรียมให้ได้ความหนาแน่น 5×10^6 เซลล์/ 1 มิลลิลิตร นำสารละลายที่คำนวณได้ผสมลงในหลอด Eppendrop จากนั้นดูดสารละลายปริมาณ 200 ไมโครลิตร ปล่อยลงบน Cover slide ให้พอท่วม ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงเพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเกาะบนแผ่นสไลด์ เติมน Latex bead solution ปริมาณ 200 ไมโครลิตร ลงบนสารละลายเม็ดเลือดขาว แล้วทิ้งไว้ 1.5 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วล้างขึ้น-ลง ด้วย PBS หรือ RPMI 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการ Fix เซลล์โดยหยดเมทานอลเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นย้อมสีเซลล์ด้วย Dip quick แล้วล้างด้วย PBS จนสะอาด จากนั้นนำสไลด์ไป permount แล้วส่องเซลล์ Monocyte ที่กิน bead ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X เพื่อนำไปคำนวณค่า PI (Phagocytic index) และ PA (Phagocytic activity) โดยสูตร

$$PI = \frac{\text{จำนวนเซลล์เม็ดขาวที่กิน Bead}}{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่นับ}}$$

$$PA = \frac{\text{จำนวน bead ที่ถูกเม็ดเลือดขาวกิน}}{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่กิน bead}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การหาค่าการทำลายแบคทีเรียภายในเซลล์เม็ดเลือดขาว (Respiratory burst of haemocyte) โดยการคำนวณปริมาณเม็ดเลือดขาวเจือจาง 2×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร ผสมปริมาณเม็ดเลือดขาวกับ NBT ที่เตรียมในอัตราส่วน 1:1 ในหลอด Eppendrop โดยในหลอดควบคุมจะเติม NBT กับ RPMI บ่มในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติมนสาร DMF และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000g นาน 10 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นดูดเอาส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

3.การทดสอบทางด้านความต้านทานโรคสเตรปโตคอกโคซิส

นำปลานิลที่ได้รับการให้อาหารผสมใบว่านพญาวานรบนละเอียดเป็นเวลา 45 วันทั้ง 4 ชุดกาทดลองโดยสุ่มจากแต่ละชุดการทดลองจำนวนหน่วยทดลองละ 10 ตัว มาฉีดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ระดับความเข้มข้น 3.16×10^8 cfu/ml เข้าช่องท้องตัวละ 0.1 มิลลิลิตร สังเกตอาการปลาและบันทึกการตายของปลาทุกวันเป็นเวลา 10 วัน นำผลการทดลองที่ได้ในแต่ละชุดการทดลอง คำนวณหาความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์การตาย (Relative Percent Mortality, RPM) ด้วยสูตร

$$RPM = \frac{\text{จำนวนการตายทั้งหมดของปลาในกลุ่มทดลอง}}{\text{จำนวนการรอดทั้งหมดของปลาในกลุ่มทดลอง}} \times 100$$

จำนวนการรอดทั้งหมดของปลาในกลุ่มทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูล

ค่าการทดสอบทางด้านภูมิคุ้มกัน (การทำลายแบคทีเรียภายในเซลล์เม็ดเลือดขาวและความสามารถของเม็ดเลือดขาวในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและแบคทีเรีย) ความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์การรอดตาย และค่าการเจริญเติบโต (อัตราแลกเนื้อและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) แต่ละชุดการทดลอง นำมาเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนจากโปรแกรมสำเร็จรูป ทดลองแบบ One-Way ANOVA ตามแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง อาคารเจ้าคุณทหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

ธันวาคม 2551-พฤษภาคม 2552

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การหาค่าการเจริญเติบโต

ในการทดลองได้นำอาหารที่ใช้ในการทดลองไปทำการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนและ
 เก่า (AOAC, 1995) ซึ่งได้ค่าตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 : เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนและเก่าของอาหารที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดตัวอย่างอาหารปลา	โปรตีน (%)	เก่า (%)
ตัวอย่างที่ 1 (คอนโทรล)	15.8	9.57
ตัวอย่างที่ 2 (1% วานพญาวานร)	15.62	10.86
ตัวอย่างที่ 3 (3% วานพญาวานร)	15.54	9.72
ตัวอย่างที่ 4 (5% วานพญาวานร)	15.47	10.62

เมื่อได้ทำการทดลองให้อาหารปลาและทำการชั่งวัดปลาเพื่อหาค่าการเจริญเติบโตและค่า
 การเจริญเติบโตจำเพาะในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 6 พบว่าในสัปดาห์ที่ 3 การเจริญเติบโตมี
 ค่ามากที่สุดในกลุ่มที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 2.75 ± 0.48 และ
 0.50 ± 0.07 กรัม ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 6 การเจริญเติบโตมีค่ามากที่สุดในกลุ่มควบคุม แต่จาก
 การเปรียบเทียบข้อมูลในกลุ่มทดลองที่ 3 พบว่ามีค่ามากที่สุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสมุนไพร
 พญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 5.41 ± 0.58 และ 0.66 ± 0.05 ตามลำดับ และจากการ
 เปรียบเทียบค่าการเจริญเติบโตทางสถิติ พบว่าค่าการเจริญเติบโตในสัปดาห์ที่ 3 นั้นไม่แตกต่าง
 กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และในสัปดาห์ที่ 6 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมี
 นัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4) ส่วนค่าอัตราแลกเปลี่ยนในช่วงของสัปดาห์ที่ 3 และ
 สัปดาห์ที่ 6 พบว่ามีค่าอัตราแลกเปลี่ยนน้อยที่สุดในกลุ่มควบคุม เท่ากับ 7.0 ± 0.07 และ 3.35 ± 0.13
 ตามลำดับ แต่จากการเปรียบเทียบข้อมูลในทั้ง 3 กลุ่ม พบว่ามีค่าน้อยที่สุดในกลุ่มที่ได้รับอาหาร
 ผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่า 7.27 ± 0.01 และ 4.33 ± 0.02 และจากการเปรียบ
 เทียบค่าการเจริญเติบโตทางสถิติ พบว่าค่าอัตราแลกเปลี่ยนและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะใน
 สัปดาห์ที่ 3 นั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนในสัปดาห์ที่ 6 นั้นพบว่ามี
 ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 5-6) ซึ่งในช่วงระหว่างการทดลอง
 พบว่าปลาที่ทดลองมีพฤติกรรมการกินอาหารที่กินแล้วมีการคายออกมา ซึ่งพฤติกรรมที่สังเกตได้
 น่าจะเป็นตัวที่จำกัดการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นเหตุทำให้การเจริญเติบโต, อัตราการเจริญเติบโต
 จำเพาะรวมลดลง และมีอัตราแลกเปลี่ยนสูง

ตารางที่ 4 : ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 6 (หน่วยเป็นกรัม)

กลุ่มการทดลอง	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 6	รวม
ควบคุม	2.10±1.01 ^a	8.48±0.22 ^a	10.58±0.78 ^a
พญาวานร 1 %	1.24±0.41 ^a	3.45±0.48 ^b	4.68±0.40 ^a
พญาวานร 3 %	2.75±0.48 ^a	5.41±0.58 ^b	8.15±1.06 ^a
พญาวานร 5 %	2.41±2.21 ^a	3.20±1.70 ^b	5.60±5.53 ^a

อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.05$

ตารางที่ 5 : ค่าอัตราแลกเปลี่ยนในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 6

กลุ่มการทดลอง	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 6	รวม
ควบคุม	7.0±0.07 ^a	3.35±0.13 ^a	4.61±0.90 ^a
พญาวานร 1 %	7.41±0.31 ^a	4.72±0.09 ^b	6.05±0.02 ^b
พญาวานร 3 %	7.27±0.01 ^a	4.33±0.02 ^b	5.79±0.005 ^b
พญาวานร 5 %	7.61±0.15 ^a	5.83±0.12 ^c	6.81±0.11 ^c

อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.05$.

ตารางที่ 6 : ค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 6 (หน่วยเป็นกรัม)

กลุ่มทดลอง	3 สัปดาห์	6 สัปดาห์	รวม
ควบคุม	0.41±0.001 ^a	0.86±0.04 ^a	0.73±0.17 ^b
พญาวานร 1 %	0.43±0.0035 ^a	0.59±0.02 ^b	0.57±0.08 ^{ab}
พญาวานร 3 %	0.50±0.07 ^a	0.66±0.05 ^b	0.55±0.06 ^{ab}
พญาวานร 5 %	0.46±0.17 ^a	0.48±0.06 ^b	0.41±0.04 ^a

อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.05$.

2. การหาค่าทางด้านภูมิคุ้มกัน

เมื่อทำการทดลองจนครบ 45 วันจะนำปลาที่กินอาหารทั้ง 4 สูตร มาทำการหาค่าทางด้านภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ค่าความสามารถของเม็ดเลือดขาวในการกำจัดสิ่งแปลกปลอม พบว่าในกลุ่มทดลองที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์มีค่าดัชนีที่วัดการกำจัดสิ่งแปลกปลอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(PI) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.07 ± 0.007 เปอร์เซ็นต์ และจากการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิตินั้นพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ค่าการทำลายแบคทีเรียภายในเซลล์เม็ดเลือดขาว (PA) พบว่ามีค่ามากที่สุดในกลุ่มที่รับประทานอาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 1.19 ± 0.06 และจากการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าการดูดกลืนแสงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Superoxide เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ค่าการดูดกลืนแสงในกลุ่มที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์มีค่ามากที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.15 ± 0.001 และจากการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิตินั้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 7 : ค่าความสามารถของเม็ดเลือดขาวในการกำจัดสิ่งแปลกปลอม

กลุ่มทดลอง	PI (%)	PA
ควบคุม	0.03 ± 0.008^a	1.08 ± 0.08^a
พญาวานร 1%	0.05 ± 0.004^{ab}	1.12 ± 0.03^a
พญาวานร 3%	0.07 ± 0.007^b	1.19 ± 0.06^a
พญาวานร 5%	0.05 ± 0.006^{ab}	1.19 ± 0.01^a

อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$.

ตารางที่ 8 : ค่าการดูดกลืนแสงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Superoxide ที่สิ้นสุดการทดลอง

กลุ่มทดลอง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร (นาโนเมตร)
ควบคุม	0.12 ± 0.01^a
พญาวานร 1%	0.14 ± 0.002^{ab}
พญาวานร 3%	0.15 ± 0.001^{ab}
พญาวานร 5%	0.12 ± 0.001^a

อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$.

3. การทดสอบทางด้านความต้านทานเชื้อ *Streptococcus agalactiae*

เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 45 วัน นำปลาที่ทดลองกินอาหารทั้ง 4 สูตรมาทำการหาค่าการต้านทานโรคสเตรปโตคอกโคชีซิส โดยสุ่มจากแต่ละชุดการทดลองจำนวนหน่วยทดลองละ 10 ตัว มาฉีดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ระดับความเข้มข้น 3.16×10^8 cfu/ml เข้าช่องท้องตัวละ 0.1 มิลลิลิตร สังเกตอาการปลาและบันทึกการตายของปลาทุกวันเป็นเวลา 10 วันเพื่อหาค่าเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์การตาย พบเปอร์เซ็นต์การตายมากที่สุดในกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 26.67 เปอร์เซ็นต์ และพบเปอร์เซ็นต์การตายน้อยที่สุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมใบว่านพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.67 เปอร์เซ็นต์ และพบเปอร์เซ็นต์การแสดงอาการมากที่สุดในกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 43.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเปอร์เซ็นต์การแสดงอาการน้อยที่สุดพบในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมใบว่านพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 13.3 เปอร์เซ็นต์ และจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าข้อมูลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9)

จากที่ได้ทำการสังเกตอาการของปลาหลังจากได้รับการฉีดเชื้อแบคทีเรียเข้าช่องท้อง พบว่าปลาจะเกิดอาการหลังจากผ่านการฉีดเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลาประมาณ 20-24 ชั่วโมง โดยพบว่าบริเวณดวงตามีลักษณะเป็นสีแดง อาการเหียงซึม เกิดแผลบริเวณก้านครีบหลัง จากนั้นที่เวลาประมาณ 36 ชั่วโมงจะมีอาการตัวลอก ครีบกร่อนลึก บริเวณแผ่นปิดเหงือกจนถึงคางและส่วนต้นของก้านครีบอกจะเกิดอาการตกเลือด รวมถึงอาการตาขุ่น ตาโปนข้างเดียวหรือสองข้าง ผิวตัวลอกมากขึ้น มีลักษณะอาการว่ายน้ำอยู่บริเวณผิวน้ำพร้อมทั้งสูบอากาศและแผ่นปิดเหงือกมีการเปิดปิดอย่างช้าๆ แต่สม่ำเสมอ อาจพบปลานอนอยู่ที่พื้นก้นบ่อ การกระตุ้นต่อการตอบสนองเกิดขึ้นน้อยมาก มีอาการว่ายน้ำไร้ทิศทาง และเริ่มพบปลตายในวันที่ 4 ภายหลังจากได้รับเชื้อ และจากการนำปลที่ใกล้ตายมาตรวจลักษณะอาการโรค พบว่าอวัยวะภายในถูกทำลาย โดยลำไส้มีลักษณะนิ่มและร่วมกับพบน้ำและเลือดที่คั่งในช่องท้อง ตับมีอาการตกเลือด ไตมีสีแดงสด

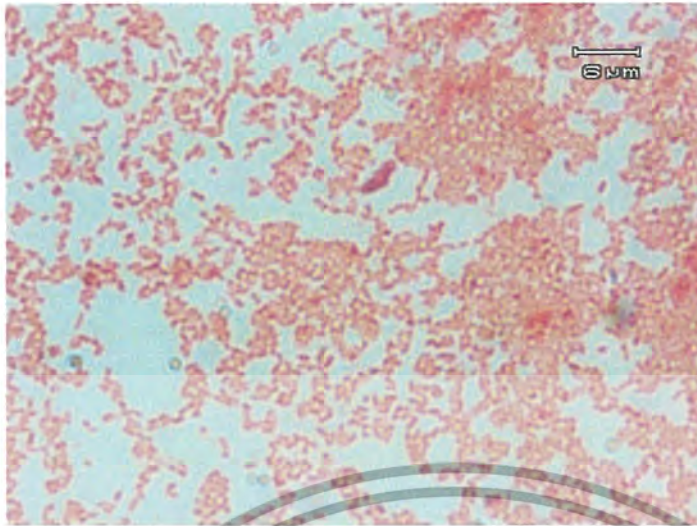
จากการที่นำปลาที่ใกล้ตายในระหว่างทดลองไปเพาะเพื่อหาการติดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* โดยเพาะเชื้อแบคทีเรียจากอวัยวะเป้าหมาย และทำการย้อมแกรมแบคทีเรีย พบว่ามีปริมาณของเชื้อ *Streptococcus agalactiae* โดยมีรูปร่างกลมต่อเป็นสายและติดสีม่วงจากการย้อมแกรมแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 11)

ตารางที่ 9 : ค่าเปอร์เซ็นต์การตายและเปอร์เซ็นต์การแสดงอาการของเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ฉีดเชื้อแบคทีเรียเข้าช่องท้องเป็นเวลา 10 วัน

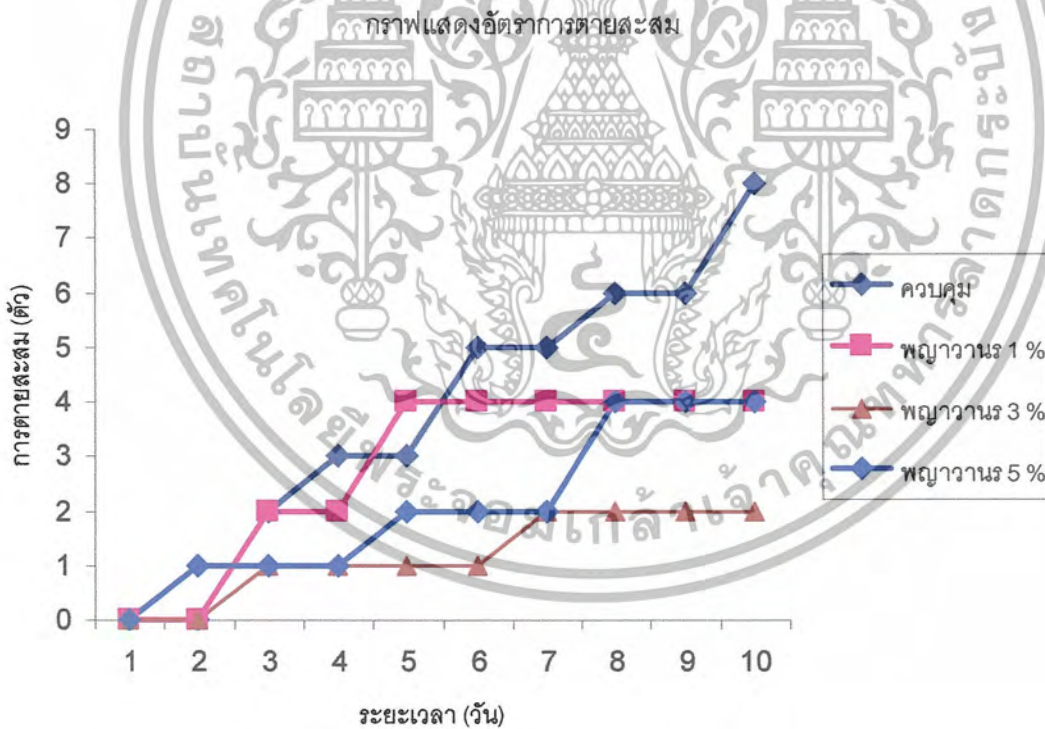
กลุ่มทดลอง	เปอร์เซ็นต์การตาย (%)	เปอร์เซ็นต์การแสดงอาการ (%)
ควบคุม	26.67 ^b	43.33 ^b
พญาวานร 1 %	13.33 ^{ab}	30 ^{ab}
พญาวานร 3 %	6.67 ^a	13.33 ^a
พญาวานร 5 %	13.33 ^{ab}	20 ^{ab}

อักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

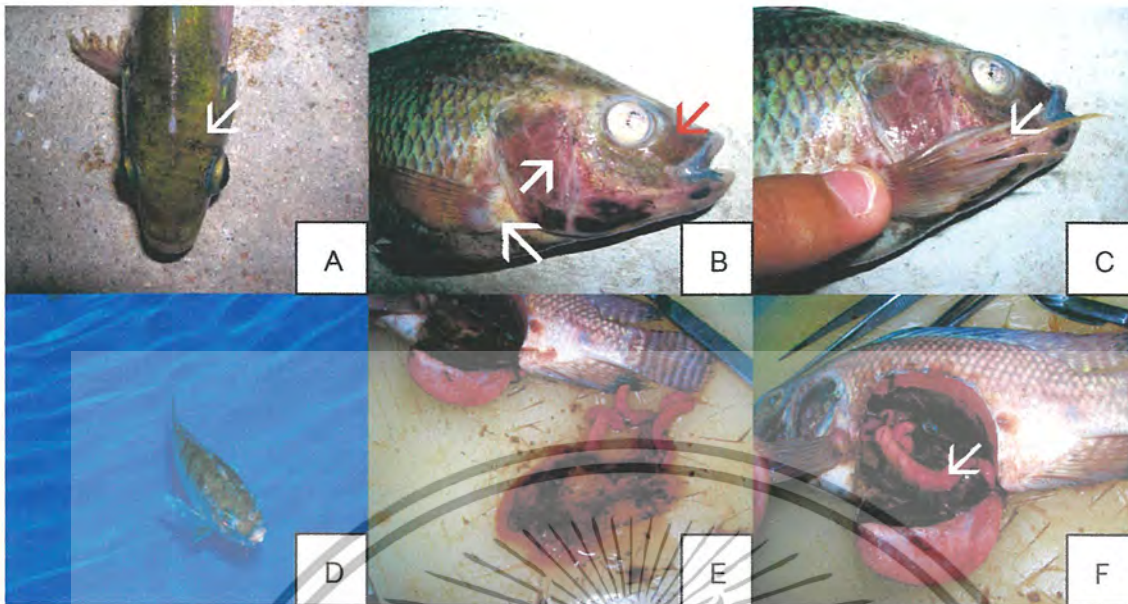


ภาพที่ 11 แบคทีเรียที่ได้จากการนำปลาใกล้ตายในระหว่างทดลองไปเพาะเพื่อตรวจหาการติดเชื้อ *Streptococcus agalactiae*



ภาพที่ 11 กราฟแสดงอัตราการตายสะสมในปลานิลทั้ง 4 กลุ่มทดลองที่ฉีดเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 ลักษณะอาการของปลาที่เป็นโรค Streptococcosis, (A) ลักษณะแผลที่เกิดบริเวณ ส่วนต้นของก้านครีบหลัง, (B) อาการตาขุ่น ตกเลือดบริเวณครีบออกและแผ่นปิด เหงือก, (C) อาการครีบกร่อนเล็ก, (D) ลักษณะการลอยหัวหายใจบริเวณผิวน้ำ, (E) อวัยวะภายในที่ถูกทำลายเป็นเนื้อเดียวกับน้ำและเลือดในช่องท้อง, (F) อาการตกเลือด ของอวัยวะภายใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

การศึกษาผลของสมุนไพรว่านพญาวานร ต่อการเจริญเติบโต, ภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรคในปลานิล พบว่า ค่าการเจริญเติบโต และค่าการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่ามากที่สุดในกลุ่มควบคุมรองลงมาเป็นกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่า 2.75 ± 0.48 และ 5.41 ± 0.58 , 0.50 ± 0.07 และ 0.66 ± 0.05 กรัม ตามลำดับ ค่าอัตราแลกเนื้อมีค่าน้อยที่สุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 7.27 ± 0.01 และ 4.33 ± 0.02 การศึกษาทางด้านภูมิคุ้มกันพบว่า มีระดับการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและค่า Superoxide สูงสุดในกลุ่มทดลองที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.07 ± 0.007 เปอร์เซ็นต์, 1.19 ± 0.06 และ 0.15 ± 0.001 นาโมเมตร ตามลำดับ และการทดสอบทางด้านความต้านทานโรคคสเตรปโตคอกโคซิส พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การตายและเปอร์เซ็นต์การออกอาการมีค่าน้อยที่สุดในกลุ่มทดลองที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13.3 เปอร์เซ็นต์ และ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งการเจริญเติบโตโดยการสังเกตพบว่าอาหารที่มีปริมาณสมุนไพรผสมมากอาจไม่กระตุ้นให้ปลาเกิดความอยากกินอาหาร แต่อย่างไรก็ตามผลทางด้านภูมิคุ้มกันก็มีค่ามากกว่า จึงขอสรุปว่า กลุ่มที่ให้อาหารผสมสมุนไพรพญาวานร 3 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดโรคในปลานิล

ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองพบว่าปลาไม่กินอาหารที่ใช้ในการทดลอง ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปควรมีการปรับปรุงอาหารให้สามารถกระตุ้นหรือเพิ่มความอยากกินอาหารในปลาเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต เช่น การใช้สารสกัดชนิดอื่น ฯลฯ

เอกสารอ้างอิง

จุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ และสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์. 2551. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือด และความต้านทานโรคในปลากะพงขาว ต่อ *Streptococcus* sp. เชื้อตาย. เอกสารวิชาการ 26.

ชลช ลิ้มสุวรรณ. 2528. เอกสารประกอบการสอนวิชาชีววิทยาประมง 444:โรคปลา (Fish disease). กรุงเทพฯ:คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมหมาย ยิวพานิชสัมพันธ์. 2550. โรคติดเชื้อแอโรโมนาส (*Aeromonas* infection) ในปลา. จดหมายข่าว สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ 6.

Abutbul,S., A. Golan-Goldhirsh, O. Barazani, and D. Zilberg. 2004. Use of *Rosmarinus officinaris* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). *Aquaculture*. 9 : 97-105.

Asaduzzaman,M., M.A. Wahab, M.C.J. Verdegem, S. Benerjee, T. Akter, M.M. Hasan. and M.E. Azim. 2008. Effects of addition of tilapia *Oreochromis niloticus* and substrates for periphyton developments on pond ecology and production in C/N-controlled freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming systems. *Aquaculture*

Christybapita D., M. Divyagnaneswari, and R. D. Michael. 2007. Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish & Shellfish Immunology* 10 : 249-259.

Dieu H.K., C.B. Loc, S. Yamasaki, and Y. Hirata. 2005. The ethnobotanical and botanical study on *Pseuderanthemum palatiferum* as a new medicinal plant in the Mekong Delta of Vietnam. *JARQ* 39 : 191-196

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Divyagnaneswari,M., D. Christyapita ,and R. D. Michael. 2006. Enhancement of nonspecific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* left fraction. Fish & Shellfish Immunology 12 : 840-852

Masahiro. 1999. Current reseach status of fish immunostimulants. Aquaculture (30):63-92.

Wang,Y., T. Zi-Qiang, Y. Jiang-Tao, and L. Wei- fen. 2008. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 277 : 203-207.

Zhou,Q., Z. Jian-Bin, C. Shu-Yan, Y. Qi-Hui, and L. Chu-Wu. 2007. Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and digestive enzyme of juvenile ivory shell, *Babylonia areolate*. Aquaculture 272 : 535–540.

<http://www.chemicaland21.com/lifescience/phar/STIGMASTEROL.htm>

http://www.dld.go.th/region9/CSS_DLD9/DFISH01A.html

<http://www.rakbankerd.com/agriculture/open.php?id=618&s=tblanimal>

<http://www.squidoo.com/hoanngoc>

http://www.trf.or.th/News/Content.asp?Art_ID=1224

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ค่าดัชนีชี้วัดการกำจัดสิ่งแปลกปลอม (Phagocytic index) ค่าการทำลายเซลล์
แบคทีเรียในเม็ดเลือดขาว (Phagocytic activity) และค่าการดูดกลืนแสงในการ
หาค่า Superoxide (NBT)

Phagocytic									
activity	PI	เฉลี่ย เฉลี่ย	เฉลี่ย Treatment	PA	เฉลี่ย เฉลี่ย	เฉลี่ย Treatment	NBT (OD)	เฉลี่ย เฉลี่ย	เฉลี่ย Treatment
Control 1-1	0.04	0.053		1.5			0.009		
Control 1-2	0.06			1	1.276		0.034	0.099	
Control 1-3	0.06			1.33			0.046		
Control 2-1	0.05			1			0.116		
Control 2-2	0.01	0.02	0.033	1	1	1.092	0.123	0.125	0.120
Control 2-3	-			-			0.135		
Control 3-1	0.03			1			0.139		
Control 3-2	0.01	0.027		1	1		0.138	0.137	
Control 3-3	0.04			1			0.135		
T1R1-1	0.04			1			0.039		
T1R1-2	0.09	0.046		1.44	1.14667		0.044	0.141	
T1R1-3	0.01			1			0.059		
T1R2-1	0.07			1			0.147		
T1R2-2	0.08	0.057	0.055	1	1.16667	1.126	0.134	0.137	0.141
T1R2-3	0.02			1.5			0.131		
T1R3-1	0.09			1			0.142		
T1R3-2	0.05	0.063		1	1.06667		0.149	0.145	
T1R3-3	0.05			1.2			0.145		
T2R1-1	0.08			1			0.158		
T2R1-2	0.07	0.08		1	1.26		0.147	0.153	
T2R1-3	0.09			1.78			0.011		
T2R2-1	0.02			1			0.012		
T2R2-2	0.15	0.09	0.075	1.53	1.27667	1.201	0.018	-	0.154
T2R2-3	0.1			1.3			0.027		
T2R3-1	0.05			1.2			0.046		
T2R3-2	0.08	0.057		1	1.06667		0.059	0.156	
T2R3-3	0.04			1			-		
T3R1-1	0.04			1.25			0.003		
T3R1-2	0.05	0.063		1	1.18333		0.018	0.129	
T3R1-3	0.1			-			0.068		
T3R2-1	-			-			0.035		
T3R2-2	-	-	0.056	-	-	1.191	0.031	0.126	0.128
T3R2-3	-			-			0.061		
T3R3-1	0.05			1.2			0.099		
T3R3-2	-	0.05		-	1.2		0.136	0.131	
T3R3-3	-			-			0.125		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ตารางแสดงอัตราการตายสะสม อัตราการออกอาการ เปอร์เซ็นต์การตายและ
เปอร์เซ็นต์การออกอาการในปลาชนิดทั้ง 4 กลุ่มทดลองที่ฉีดเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา
10 วัน

วันที่	ควบคุม	พญาวานร 1 %	พญาวานร 3 %	พญาวานร 5 %
1	0	0	0	0
2	0	0	0	1
3	2	2	1	1
4	3	2	1	1
5	3	4	1	2
6	5	4	1	2
7	5	4	2	2
8	6	4	2	4
9	6	4	2	4
10	8	4	2	4
การตาย (%)	26.67	13.33	6.67	13.33
การออกอาการ (%)	43.33	30	13.33	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้