สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ

Increasing immune in *Lates calcarifer* (Bloch) by *Bacopa monniera*

T104637

โดย

นางสาว แสงเดือน ไตรพรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 104637
วัน.เดือน.ปี - 5 พ.ย. 2552

b.....
i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ
Increasing immune in *Lates calcarifer* (Bloch) by *Bacopa monniera*

ชื่อนักศึกษา นางสาว แสงเดือน ไตรพรม

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. อัจฉรี เรืองเดช
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉรี เรืองเดช)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 25 เดือน ธ.ค. พ.ศ. 2552

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ

Increasing immune in *Lates calcarifer* (Bloch) by *Bacopa monniera*

การเลี้ยงปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ในปัจจุบันมักจะประสบปัญหาเรื่องโรค โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย เช่นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และโรคเกิดจากเชื้อคอลัมนาริส (Columnaris Disease) ซึ่งเป็นเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมาก ในการเลี้ยงปลากะพงขาว พรมมิหรือ *Bacopa monniera* เป็นพรรณไม้น้ำที่ทั่วโลกนำมาศึกษาในด้านเภสัชศาสตร์ ซึ่งสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิมีสรรพคุณในการทำเป็นยารักษาโรคต่างๆ รวมทั้งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักของพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิคือ ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ เป็นที่น่าสนใจว่ามีการใช้สารสกัดจากพรมมิในคนมาเป็นเวลานาน แต่สำหรับสัตว์น้ำยังไม่มีการนำมาใช้ การศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาว ซึ่งศึกษาโดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัดแอลกอฮอล์จากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิความเข้มข้น 500, 1000 และ2000 ppm ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับสารสกัดแอลกอฮอล์จากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิความเข้มข้น 2000 ppm มีจำนวนเม็ดเลือดขาวมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น และจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* พบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับสารสกัดแอลกอฮอล์จากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิความเข้มข้น 2000 ppm มีอัตราการรอดตายสูงสุด โดยมีอัตราการรอดตาย 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมงหลังจากการใส่เชื้อ) ส่วนการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวในแต่ละชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จากการศึกษานี้สามารถกล่าวได้ว่าสารสกัดแอลกอฮอล์จากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิสามารถเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จรุล่วงได้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. อัจฉรี เรืองเดช และ รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ เป็นอย่างสูง ที่ให้คำปรึกษาแนะนำในทุกเรื่องพร้อมทั้งการแก้ปัญหาข้อบกพร่องในการทดลองมาโดยตลอด ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่ให้ความรู้ในด้านต่างๆและให้คำอบรมสั่งสอน ขอขอบคุณ คุณแสง ฟักหอม, คุณบุปผา จงพัฒน์, คุณนภพล เผ่ามนัสและคุณชิดชนก สวสดิ์ศรี ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ในการทดลอง รวมทั้งคำแนะนำในการปฏิบัติงานและ ขอขอบคุณพี่ พชรพร อ่างทอง ที่คอยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือเป็นอย่างดี ขอบคุณเพื่อนๆ ที่เป็นกำลังใจมอบสิ่งที่ดีๆ ต่อกันมาโดยตลอดและคอยให้ความช่วยเหลือในทุกๆ เรื่อง

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้ความรัก เป็นกำลังใจ ให้ความห่วงใย คอยดูแลและให้คำปรึกษาเวลามีปัญหาจนทำให้มีกำลังใจสามารถที่ผ่านอุปสรรคต่างๆจนทำให้ประสบความสำเร็จและขอขอบคุณพี่สาวที่คอยให้กำลังใจตลอดมา

แสงเดือน ไตรพรม

มีนาคม 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	10
ผลการทดลองและวิจารณ์	15
สรุปและข้อเสนอแนะ	20
เอกสารอ้างอิง	21
ภาคผนวก	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดและเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง	15
2	น้ำหนักเฉลี่ยของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) (กรัม)/ตัว	20
3	ความยาวเฉลี่ยของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) (เซนติเมตร)/ตัว	20

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และจำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของพรรณไม้น้ำพรมมิที่ปลูกไว้สำหรับทดลอง	2
2	โครงสร้างเคมีของ saponin บางชนิดที่สามารถแยกได้จากพรมมิ	3
3	yellow flurescent lipofuscin ในเซลล์ hippocampus ของหนูภายใต้สภาวะต่างๆ	6
4	ลักษณะทั่วไปของปลากะพงขาว	7
5	ผลของ chitosan nanoparticles ที่ถูกกระตุ้นด้วย *Vibrio* (*Listonella*) *anguillarum* A คือเหงือก B คือตับ C คือม้าม Dคือลำไส้ ที่ส่องภายใต้กล้อง Lmmunofluorescence	9
6	แสดงเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริดในแต่ละกลุ่มการทดลอง	16
7	ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดของปลากะพงขาว	17
8	อัตรารอดหลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 12, 18, 24, 30, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง	18
9	ปลาในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำ 2000 ppm ที่ตายหลังจากที่ฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 32 ชั่วโมง	18
10	ปลาในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm ที่รอด หลังจากที่ฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 96 ชั่วโมง	19

ภาพผนวกที่		หน้า
1	กราฟมาตรฐานระหว่างค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Aeromonas hydrophila*	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

Bacopa monniera หรือ พรมมิ เป็นพรรณไม้น้ำที่อยู่ในครอบครัว Scrophulariaceae มีชื่อสามัญว่า Brahmi พบได้ทั่วไปในเขตอบอุ่น ในพื้นที่ที่มีน้ำขังหรือในพื้นที่ชื้นแฉะ ลักษณะของลำต้นอวบน้ำเลื้อยทอดไปตามพื้น ใบค่อนข้างยาว ขอบใบเรียบ ดอกสีม่วง นิยมนำมาประดับในตู้ปลาเพื่อความสวยงาม

พรมมิเป็นพรรณไม้น้ำที่ประเทศอินเดียและประเทศอื่นทั่วโลกนำมาศึกษาในด้านเภสัชศาสตร์ ซึ่งสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิมีสรรพคุณในการเป็นยารักษาโรคต่างๆ มากมายทั้งสารต่อต้านความเครียด สารต้านอนุมูลอิสระสารช่วยบำรุงประสาท และสารช่วยสร้างเสริมความจำ สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักของพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิมีหลายชนิดด้วยกันเช่น ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ ซึ่งเป็นสารเคมีที่นิยมนำมาใช้ในทางเภสัช และเป็นที่น่าสนใจว่ามีการใช้สารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในคนและสัตว์บกมาเป็นเวลา

การเลี้ยงปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ในปัจจุบันมักจะประสบปัญหาเรื่องโรค เช่นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และโรคเกิดจากเชื้อคอลัมนาริส (Columnaris Disease) ซึ่งเป็นเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากในการเลี้ยงปลากะพงขาว การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวเป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจในการป้องกันโรคในปลากะพงขาว การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาว โดยตรวจสอบจากการตรวจนับเม็ดเลือดขาว และทดสอบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของปลากะพงขาวหลังจากที่ได้กินสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน

วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาปริมาณเม็ดเลือดขาว ของปลากะพงขาวหลังจากปลาได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน

2.เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของปลากะพงขาวหลังจากปลาได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.หลังจากที่ปลากะพงขาวได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ คาดว่าปลากะพงขาวจะมีระดับภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้น และทำให้ปลากะพงขาวมีอัตรารอดสูงขึ้น

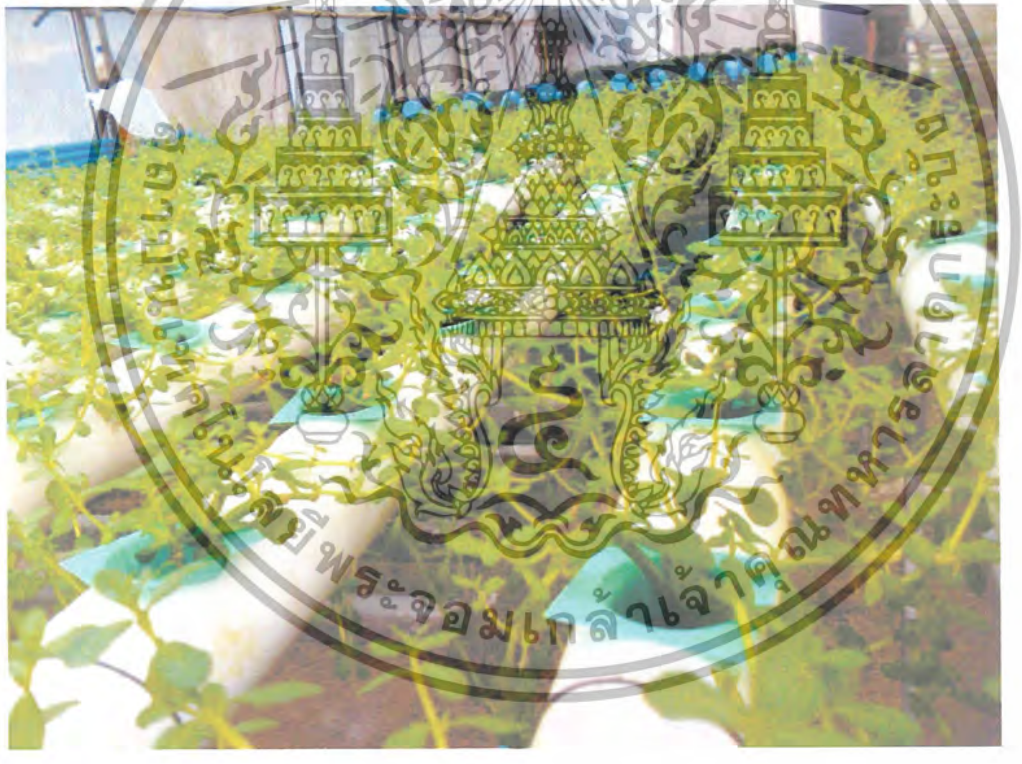
2.เป็นการประหยัดต้นทุนในการเพิ่มคุณค่าในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลา เนื่องจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิสามารถหาได้ง่าย และเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ลักษณะของพรมมิ (*Bacopa monniera*)

พรมมิ หรือต้นหยดน้ำตา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bacopa monniera* มีชื่อสามัญว่า Brahmi เป็นพรรณไม้น้ำที่อยู่ในครอบครัว Scrophulariaceae จัดเป็นพืชสมุนไพรที่พบในเขตอบอุ่น เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ลุ่มชื้นแฉะและพื้นที่ที่มีน้ำลักษณะลำต้นใหญ่ อวบน้ำ ไม่มีขน เลื้อยทอดไปตามพื้นและชูยอดขึ้น ใบเป็นใบเดี่ยวรูปไข่ ค่อนข้างยาว โคนใบแคบ ปลายใบกว้างกลมมน ขอบใบเรียบ แตกจากลำต้นตรงข้าม เส้นใบเรียงตัวคล้ายพัด มีดอกเดี่ยวขนาดเล็กอยู่ที่โคนก้านใบ กลีบดอกสีน้ำเงิน ม่วงหรือขาว โคนดอกติดกัน ส่วยตอนปลายของกลีบดอกแยกออกเป็น 5 กลีบ มีเกสรตัวผู้ 4 อันซึ่งติดกับกลีบดอก (Russo and Borrelli, 2005)

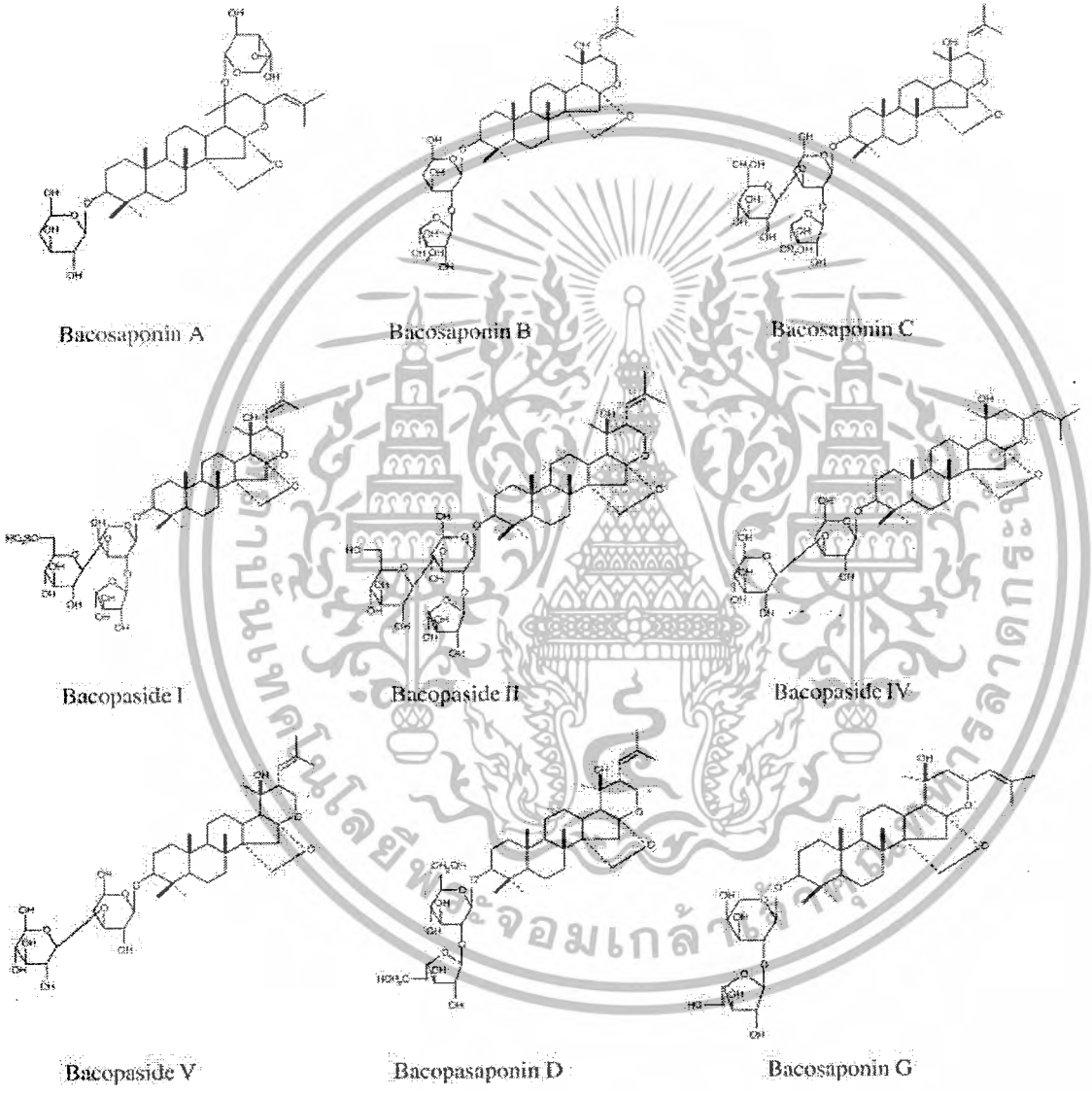


ภาพที่ 1 ลักษณะของพรรณไม้น้ำพรมมิที่ปลูกไว้สำหรับการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารที่พบเป็นองค์ประกอบในพรมมิ (*Bacopa monniera)*

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



ภาพที่ 2 โครงสร้างเคมีของ saponin บางชนิดที่สามารถแยกได้จากพรมมิ

ที่มา : Russo and Borrelli (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการต่อต้านการอักเสบโดยใช้สารสกัดจากพรมมิ โดยนำหนูน้ำหนัก 120 – 180 กรัม มาฉีดคาราจีแนนเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบปริมาณ 50 ไมโครลิตร ที่อุ้งเท้าขวา เมื่อครบ 30 นาที แบ่งหนูออกเป็นกลุ่มเพื่อฉีดแอสไพริน และสารสกัดจากพรมมิปริมาณ 50 – 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าที่บริเวณช่องท้อง หลังจากนั้นเมื่อครบ 1 ชั่วโมงทำการวัดขนาดของอุ้งเท้า และทำการฉีกวัดอีกโดยเว้นระยะ 1 ชั่วโมงจนครบ 4 ชั่วโมง แล้วนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกัน พบว่าสารสกัดจากพรมมิ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้การบวมของอุ้งเท้าลดลง 33 -95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลดีกว่าแอสไพริน ที่ทำให้การบวมของอุ้งเท้าลดลงเพียง 28 – 60 เปอร์เซ็นต์

2. ต่อต้านการเกิดการเครียด

ความเครียดเกิดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม หรือเกิดจากเชื้อโรคที่มีอยู่ในธรรมชาติ ความเครียดมีผลกระทบต่อภาวะสมดุลในร่างกายและระบบภูมิคุ้มกัน เป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดโรคเป็นจำนวนมาก (Rai *et al.*, 2003) Rai *et al.*, 2003 ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากพรมมิ มาใช้ในการต่อต้านการเกิดความเครียดที่เกิดแบบเฉียบพลัน (AS) และความเครียดที่เกิดแบบเรื้อรัง (CS) โดยแบ่งหนูออกเป็นกลุ่มที่ได้รับความเครียดแบบ AS และ CS ซึ่งหนูกลุ่ม AS ให้เกิดสารสกัดจากพรมมิปริมาณ 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และนำโสมมาใช้ในการเปรียบเทียบผลโดยให้กินโสมปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 3 วันส่วนหนูกลุ่ม CS ให้กินสารสกัดจากพรมมิและโสมปริมาณเท่ากับของหนูกลุ่ม AS แต่ให้กิน 45 นาทีก่อนหนูได้รับความเครียดต่อเนื่อง 7 วัน ทำให้เกิดความเครียดโดยขังหนูไว้ในกระบอกพลาสติกครึ่งทรงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร ยาว 12 เซนติเมตร เพียงลำพัง เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำการฆ่าหนูทันที และเจาะเลือดมาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกพลาสมาไปวัดปริมาณกลูโคสในเลือด พบว่าหนูกลุ่ม CS มีระดับกลูโคสในเลือดสูงขึ้นเมื่อได้รับความเครียดแต่เมื่อได้รับสารสกัดจากพรมมิและโสม ทำให้ระดับกลูโคสในเลือดลดลง ซึ่งระดับกลูโคสในเลือดที่ลดลง แสดงว่าหนูมีความเครียดน้อยลง แต่ในหนูกลุ่ม CS พบว่าระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อได้รับความเครียดอย่างต่อเนื่องร่างกายจำเป็นต้องใช้พลังงานจากกลูโคสมาใช้ในการปรับภาวะสมดุลของร่างกาย แต่ถ้าไม่พอจะไปดึงพลังงานจากไขมันมาใช้ จากผลการทดลองแสดง

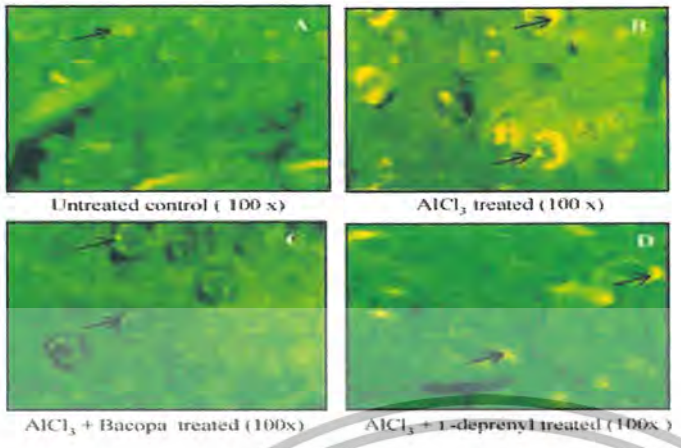
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้เห็นว่าสารสกัดจากพรมมิสามารถช่วยรักษาระดับกลูโคสในเลือดไว้เป็นพลังงานในการรักษาภาวะสมดุลของร่างกายให้อยู่ในภาวะที่เหมาะสม

3. การออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท

พรมมิถูกนำมาใช้ในการรักษาระบบประสาทเป็นพิษ ช่วยพัฒนาสติปัญญาและความทรงจำ นำมารักษาโรคลมชัก โรคนอนไม่หลับและโรคหอบ (Vohora *et al.*, 2000) พรมมิยังแสดงการสร้างเสริมของกิจกรรม protein kinase ในสมองส่วน hippocampus ซึ่งสามารถช่วยให้เกิดกิจกรรมการกระตุ้นความทรงจำ (Russo and Borrelli., 2005) สารสำคัญในพรมมิที่แสดงผลในการสร้างเสริมความทรงจำคือซาโปนินบาโคไซด์เอและบี (Vohora *et al.*, 2000) Jyoti *et al.*, 2007 รายงานว่าอลูมิเนียมในธรรมชาติเป็นสาเหตุในการเกิด oxidative stress จำได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการต่อต้านการชักนำของอลูมิเนียมในการเกิด oxidative stress ในสมอง ส่วน hippocampus ของหนูโดยใช้สารสกัดจากพรมมิ และใช้ L-deprenyl มาเปรียบเทียบ ผลที่ได้ในการศึกษาจะใช้หนูน้ำหนัก 350 – 400 กรัม มาแบ่งเป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมให้กินแต่น้ำเท่านั้น กลุ่มที่ 2 ให้กินอลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl3) 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน กลุ่มที่ 3 ให้กินอลูมิเนียมคลอไรด์ 50 มิลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน ร่วมกับสารสกัดจากพรมมิ 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ 4 ฉีดอลูมิเนียมคลอไรด์ร่วมกับ L-deprenyl ที่บริเวณช่องท้องทำการศึกษาเป็นเวลา 5 สัปดาห์หลังจากนั้นทำการตรวจสอบสะสมของ lipofuscin ด้วย fluorescent microscope พบว่ามีการสะสมเพิ่มขึ้นของ pigment ซึ่งส่วนที่มีการสะสมจะเกิดการเรืองแสง เมื่อให้อลูมิเนียมคลอไรด์ (ภาพที่ 3 A และ B) สะสมของ lipofuscin ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากพรมมิและ L-deprenyl (ภาพที่ 3 C และ D) ซึ่งการชักนำของอลูมิเนียมจะทำให้เกิดการรวมตัวกันของโครมาติน และมีการสะสม pigment ซึ่งจากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าการชักนำของอลูมิเนียมาทำให้เกิด oxidative stress

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 yellow flurescent lipofuscin ในเซลล์ hippocampus ของหนูภายใต้สภาวะต่างๆ
ที่มา : Jyoti *et al.* (2007)

ปลากะพงขาว ***Lates calcarifer*** **(Bloch)**

ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) มีชื่อสามัญว่า Giant Perch หรือ Sea Bass สามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ปลาชนิดนี้เลี้ยงแพร่หลายในเขตจังหวัดชายทะเลของประเทศไทย เนื่องจากเลี้ยงง่าย โตเร็ว เนื้อมีรสชาติดีและมีราคาดีอีกด้วย ปัจจุบันประเทศไทยสามารถเพาะพันธุ์ปลากะพงขาวได้เป็นจำนวนมาก เพื่อเลี้ยงในประเทศไทยและยังส่งขายต่างประเทศ ปลากะพงขาว มีลักษณะตัวยาวและแบนข้าง ปากกว้างมีฟันเล็กละเอียด ริมฝีปากล่างยื่นยาวกว่าริมฝีปากบนเล็กน้อย กระดูกแก้มที่ขอบเป็นหยักละเอียดและที่มุมแก้มเป็นหนามแหลม ลำตัวตอนบนเป็นสีฟ้าอมเขียว ด้านข้างและส่วนท้องสีขาวเงิน ครีบหางสีเหลืองดำ ลักษณะของลูกปลากะพงขาวขนาดเล็กจะมีแถบสีน้ำตาลอ่อนหนึ่งแถบ คาดตามแนวสันหลังจากปลายปากบนถึงตอนต้นของครีบหลังอันแรก ลูกปลาขนาดเล็กความยาวไม่เกิน 3 เซนติเมตร ที่ด้านข้างลำตัวสีน้ำตาลอ่อน จะมีลายสีดำคาดขวาง (สโมสรนิสิตคณะประมง , 2531)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 ลักษณะทั่วไปของปลากะพงขาว

ที่มา : http://www.sema.go.th/files/Content/Non_formal/0062/the_mighty/factor/animal

การแพร่กระจาย

ปลากะพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่ที่สุด เจริญเติบโตได้ดีในน้ำกร่อยและน้ำจืด จัดได้ว่าเป็นปลาประเภท 2 น้ำ คือในช่วงชีวิตของปลากะพงขาวจะมีการเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างแหล่งน้ำจืดและน้ำเค็ม ปลากะพงขาวขนาดใหญ่จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างไกลออกไปจากฝั่งมากนัก พบมากบริเวณปากแม่น้ำลำคลอง ปากทะเลสาบและปากอ่าวบริเวณที่เป็นป่าชายเลน ที่มีน้ำเค็มท่วมถึง โดยจะพบอยู่ทั่วๆไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นับตั้งแต่พม่า ไทย มาเลเซีย เวียดนาม และแถบฝั่งทะเลของจีน ก็พบปลาชนิดนี้เช่นเดียวกัน สำหรับประเทศไทยเรานั้นสามารถพบปลากะพงขาวตามชายฝั่งทะเลโดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำใหญ่ๆ ที่มีทางออกติดต่อกับทะเลที่มีป่าชายเลนขึ้นปกคลุมทางจังหวัดตราด จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ สมุทรสงคราม เป็นต้น

ปลากะพงขาวจะผสมพันธุ์และวางไข่ในน้ำทะเลที่มีความเค็มประมาณ 28 – 32 ppt ในทะเลที่มีความลึก หลังจากนั้นไข่จะถูกพัดพาเข้าสู่บริเวณชายฝั่ง และฟักออกเป็นตัว จะดำรงชีวิตในน้ำกร่อยและในน้ำจืด จนมีอายุได้ประมาณ 2 – 3 ปี มีขนาด 3 – 5 กิโลกรัม จะเคลื่อนตัวออกสู่ทะเล เพื่อทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป

โรคที่เกิดในปลากะพงขาว

โรคจุดขาว เกิดจากซิลิเอตโปรโตซัว (Ciliate protozoa) ในสกุลคริปโตแคริออน (*Cryptocaryon* sp.) เข้ามาเกาะตามภาชนะที่ใช้อนุบาลหรือเลี้ยงตามวัตถุในแหล่งน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคปลิงใส เกิดจากปรสิตพวกตัวแบนหรือที่เรียกว่าปลิงใส จัดอยู่ในกลุ่ม monogenetic trematode เข้าไปเกาะตามตัวและเหงือก

โรคเห็บระฆัง เกิดจากซิลิเอตโปรโตซัว ในสกุลทริคอดิน่า (*Trichodina* sp.) ซึ่งเรียกกันทั่วไปว่าเห็บระฆัง โปรโตซัวนี้เพิ่มจำนวนได้ดีในแหล่งน้ำที่ถ่ายเทน้ำไม่ดี หรือแหล่งน้ำที่สกปรกจากการให้อาหารมากเกินไป

โรคหูดปลา เกิดเฉพาะปลากะพงขาว เกิดจากไวรัสพวกลิมโฟซิสทิส (lymphocystis) เข้าไปทำให้เซลล์ผิวหนังขยายตัวอย่างผิดปกติ เป็นต้น

โรคเกิดจากเชื้อคอลัมนาริส (Columnaris Disease) โรคคอลัมนาริส มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า Cotton-wool Disease เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Flexibacter columnaris* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบทั่วไปในน้ำจืด มีปะปนอยู่กับเมือกของปลาปกติ หรือปลาป่วยเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ มีลักษณะเป็นแท่งยาว หรือเป็นสายต่อกัน (Filamentous Rods) มีความกว้างประมาณ 0.5-0.7 ไมครอน ความยาวประมาณ 10-12 ไมครอน เคลื่อนที่โดยวิธี Gliding ไม่สร้างสปอร์ เพาะเลี้ยงได้ยาก เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone Agar หรือ Cytophage Agar โคโลนีลักษณะแบนราบ บาง ขอบไม่เรียบ ในสภาพปกติปลาจะไม่เกิดเป็นโรคคอลัมนาริสขึ้นเอง โรคคอลัมนาริส มักจะเกิดกับปลา เมื่อปลามีสภาพร่างกายอ่อนแอและเครียด เนื่องจากได้รับบาดเจ็บหรือบอบช้ำจากการขนส่งหรือการจับ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคคอลัมนาริส อยู่ในช่วงประมาณ 28° - 30° ซ. อาการเริ่มแรกของโรคนี้ จะเกิดบริเวณที่ปลาได้รับบาดเจ็บหรือบาดแผล ได้แก่ ลำตัว ครีบ เหงือก หรือ บริเวณส่วนตัว บริเวณดังกล่าวที่เกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย *F. columnaris* จะมีเมือกหนามากต่อมามีลักษณะสีเทา ซึ่งทำให้สีของตัวปลาแตกต่างไปจากบริเวณปกติ บางครั้งพบจุดเลือดตรงบริเวณที่เกิดโรคด้วย (สโมสรนิสิตคณะประมง , 2531)

ระบบภูมิคุ้มกัน

หน้าที่สำคัญของเม็ดเลือดขาวคือ ต่อต้านการติดเชื้อและกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย มี 5 ชนิดคือ neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils และ basophils (เรียงลำดับที่พบจากมากไปน้อย) มีแหล่งกำเนิดที่ pluripotent stem cell ในไขกระดูกเช่นเดียวกับเม็ดเลือดแดง

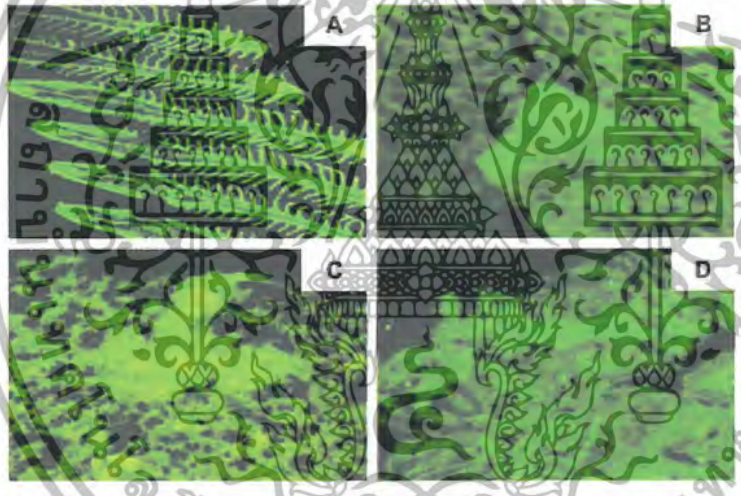
Polymorphonuclear (PMN) neutrophils ใช้เวลาในการสร้าง 7 – 14 วัน มีอายุ 6 ชั่วโมง หน้าที่หลักคือการทำลายและจับกินแบคทีเรีย (phagocyte) ถ้ามีการติดเชื้อแบคทีเรียและบาดเจ็บจะทำให้ neutrophils สูงขึ้น ซึ่งเป็นผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น บ่อยครั้งเมื่อมีการกระตุ้นการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้าง neutrophils จะมี immature neutrophils เข้าสู่กระแสการไหลเวียน ซึ่งจะพบมากในภาวการณ์ติดเชื้อแบคทีเรีย

Lymphocytes แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ T-cell และ B-cell T-cell ทำหน้าที่เกี่ยวกับ cellular – type immune reaction B-cell ทำหน้าที่เกี่ยวกับ humoral immunity(สร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย) หน้าที่อันดับแรกของ Lymphocytes คือ ต่อสู้การติดเชื้อแบคทีเรียที่เรื้อรัง และการติดเชื้อไวรัสอย่างเฉียบพลัน Monocytes เป็น phagocytic cell ต่อสู้กับแบคทีเรียคล้ายกับ neutrophils แต่ร่างกายสร้างได้เร็วกว่าและอายุยาวนานกว่า neutrophils (สโมสรนิสิตคณะประมง, 2531)

Rajesh Kumar. *et al* (2008) รายงานว่ามีความเป็นไปได้ในการใช้ chitosan nanoparticles ในการนำเข้าทางช่องปากของ DNA vaccine ในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) จากนั้นกระตุ้นด้วย *Vibrio* (*Listonella*) *anguillarum* จะพบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับวัคซีนจะสามารถป้องกันเชื้อได้ปานกลาง



ภาพที่ 5 ผลของ chitosan nanoparticles ที่ถูกกระตุ้นด้วย *Vibrio* (*Listonella*) *anguillarum* A คือเหงือก B คือตับ C คือม้าม Dคือลำไส้ ที่ส่องภายใต้กล้อง Lmmunofluorescence

ที่มา : Rajesh Kumar. *et al* (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. **การนับเซลล์เม็ดเลือดปลา**
   - 1.1 ปลากะพงขาว
   - 1.2 เข็มฉีดยา
   - 1.3 สไลด์
   - 1.4 หลอด hematocrit
   - 1.5 Cover glass
   - 1.6 ผ้าขนหนู
   - 1.7 ยาสลบ
   - 1.8 ถาดพาราฟิน
2. **การเปรียบเทียบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ**
   - 2.1 เชื้อ *Aeromonas hydrophila*
   - 2.2 เครื่องแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อ
3. **ชุดอาหาร**
   - 3.1 อาหารปลากะพง
   - 3.2 สารสกัดพรมมิ
   - 3.3 amino tonic
4. **อุปกรณ์อื่น ๆในการทดลอง**
   - 4.1 ถังขนาด 100 ลิตร จำนวน 16 ใบ
   - 4.2 หัวทรายและสายลม
   - 4.3 สายยาง
   - 4.4 ปั๊มน้ำ
   - 4.5 อาหารปลากะพง
   - 4.6 เครื่องวัดความเค็ม (Salinometer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design: CRD) โดยแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ ใช้ปลาดุกถังละ 20 ตัว ดังนี้

ขั้นตอนการทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ปลากะพงขาวจำนวน 320 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 1.56 กรัมต่อตัวเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป โดยให้อาหาร 3% ของน้ำหนักตัว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เช้า – เย็น ระดับความเค็ม 10 ppt

การเตรียมสารสกัดจากพรมมิ

1. ล้างทำความสะอาดพรรณไม้น้ำพรมมิ หลังจากนั้นหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ
2. อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน
3. นำพรรณไม้น้ำพรมมิมาบดให้ละเอียด
4. สกัดสารจากพรรณไม้น้ำพรมมิโดยใช้พรรณไม้น้ำพรมมิ 5 กิโลกรัมน้ำหนักแห้งต่อเอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์ 30 ลิตร แช่ไว้เป็นเวลา 3 วัน โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง
5. กรองสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิด้วยกระดาษกรอง แล้วนำสารสกัดที่กรองได้ ไประเหยเอทานอลจนเหลือแต่สารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิด้วยเครื่อง Evaporator ยี่ห้อ Heilolph ที่ความดัน 190 – 175 Temp cool 12 -15 องศาเซลเซียส Temp bath 45 องศาเซลเซียส
6. ชั่งน้ำหนักสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิที่ได้ แล้วนำไปทำ stock solution ด้วยเอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 1:10 เก็บรักษา stock ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

การเตรียมอาหาร

1. เตรียมสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิจาก stock solution ให้มีความเข้มข้น 0, 500 ppm, 1000 ppm และ 2000 ppm
2. ฉีดพ่นสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิลงบนอาหารสำเร็จรูปที่เตรียมไว้ โดยใช้อาหาร 100 กรัม ต่อพรมมิ 50 mlแล้วรอให้แห้ง
3. ฉีดพ่นกลิ่นเพื่อดึงดูดให้ปลากะพงขาวกิน (amino tonic) ในอัตราอาหาร 100 กรัมต่อ amino tonic 10 ml เคลือบลงบนอาหารที่เตรียมไว้แล้วรอให้แห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ให้อาหารปลากะพงขาวกินวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 3 เดือน

การทดลองเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลอง

แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้ปลากินอาหารที่ไม่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิ

ชุดการทดลองที่ 2 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมอาหาร

ชุดการทดลองที่ 3 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมอาหาร

ชุดการทดลองที่ 4 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมอาหาร

การศึกษาผลของสารสกัดพรมมิที่มีผลต่อองค์ประกอบเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดปลากะพงขาวจำนวน 12 ตัวต่อ 1 ชุดการทดลอง ซ้ำละ 3 ตัวทำการสลบปลา เจาะเลือดบริเวณส่วนหาง ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 25G ใช้หลอดฉีดยาที่เคลือบด้วยสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเพื่อวิเคราะห์หาจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวและปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

1 ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น นำเลือดใส่ในหลอดคาปิลาลี่สำหรับหาค่าฮีมาโตคริต ปิดปลายด้วยดินน้ำมัน นำหลอดคาปิลาลี่เข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 นาที วัดปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

2 การนับเม็ดเลือดแดงเม็ดเลือดขาวทำการเก็บเลือดปลา นำปลาหยดลงบนสไลด์แล้ว ใช้สไลด์อีกแผ่น smear เลือดให้เป็นแผ่นบางๆโดยลากผ่านหยดเลือด ทิ้งสไลด์ให้แห้งแล้วนำมาย้อมด้วยน้ำยา Wrigh และ Giemsa

3 การเปรียบเทียบความสามารถการต่อต้านเชื้อ *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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นเติม 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตรเท่ากับปริมาตรของ 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 ใบใส่น้ำเค็มที่มีความเค็ม 10 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 60 ลิตร โดยใส่ปลากะพง ที่ได้รับอาหารที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm 1000 ppm และ 2000 ppm และปลาในกลุ่มควบคุม ถังละ 20 ตัว ให้อากาศตลอดเวลา

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

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลากะพงขาว
2. บันทึกอัตราการรอดชีวิตของปลากะพงขาวหลังจากได้รับเชื้อ12, 18, 24, 30, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง
3. บันทึกอัตราการอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feeding Conversion Ratio : FCR)
4. บันทึกอัตราการเจริญเติบโต ชั่งน้ำหนัก วัดความยาว ทุกๆ 2 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for window version 16.0

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

ระยะเวลาทำการทดลอง

เดือนธันวาคม 2551 ถึงเดือนมีนาคม 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจนับเซลล์เม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในทุกกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)โดยพบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีจำนวนเม็ดเลือดขาวมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ โดยมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 8.88±0.23 % รองลงมาคือ กลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 1000 ppm กลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm และกลุ่มควบคุมตามลำดับ โดยมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 4.53±0.20 , 2.76±0.31 และ 1.11±0.09 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

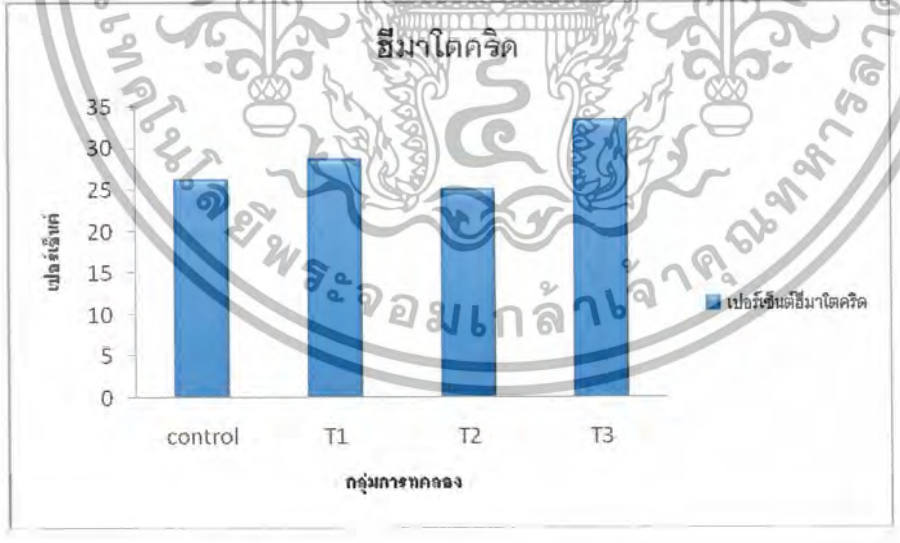
จำนวนเม็ดเลือดแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่น โดยมีจำนวน 6.06±0.26 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับอาหารที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm และ 1000 ppm คือมีจำนวน 4.08±0.46' 3.42±0.19 และ 2.58±0.18 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริดเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppmมีเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริดสูงที่สุดคือ 33.33 % ซึ่งในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm และ 1000 ppm มีจำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริดคือ 26.04%, 28.57% และ 25% ตามลำดับ(ตารางที่ 1) ซึ่งจำนวนเม็ดเลือดแดงจะมีความสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดและเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริดของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

กลุ่ม	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือด	
	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดง
ควบคุม	1.11±0.09[a]	4.08±0.46[b]
500 ppm	2.76±0.31[b]	3.42±0.19[ab]
1000 ppm	4.53±0.20[c]	2.58±0.18[a]
2000 ppm	8.88±0.23[d]	6.06±0.26[c]

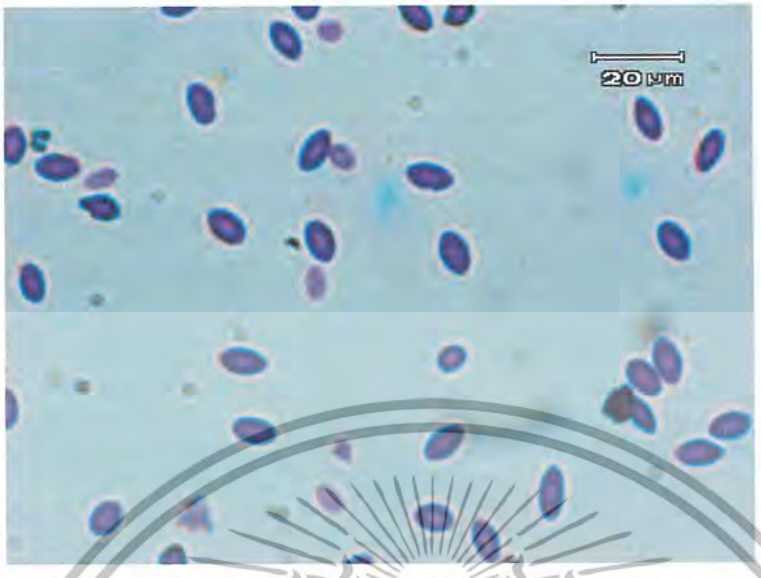
ตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่6 แสดงเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตในแต่ละกลุ่มการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

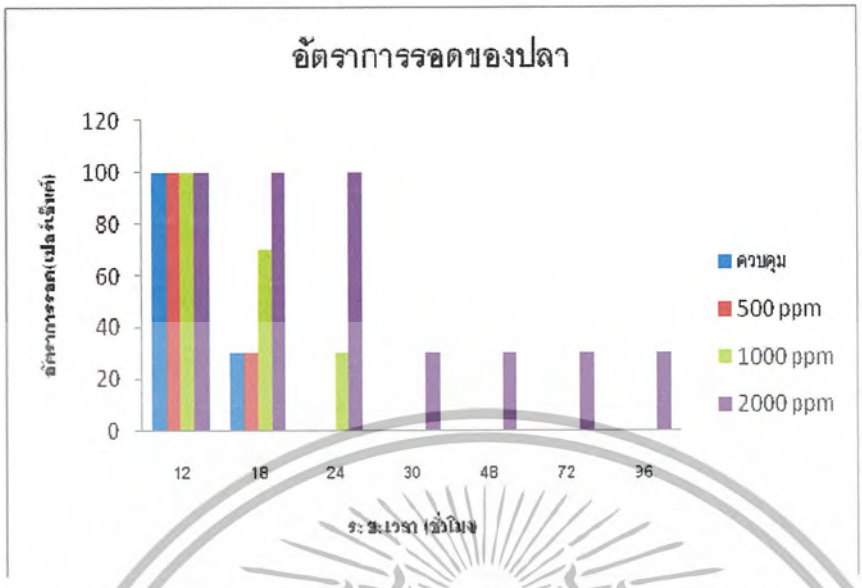


ภาพที่ 7 ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดของปลากะพงขาว

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ฉีดเข้าตัวปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) บริเวณกล้ามเนื้อข้างลำตัว ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมงหลังฉีดเชื้อ ปลาในทุกกลุ่มการทดลองมีอัตรารอดชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่เมื่อผ่านไป 18 ชั่วโมง ปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm มีอัตรารอดที่ 30% กลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 1000 ppm มีอัตรารอดที่ 70% และกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีอัตรารอดที่ 100% หลังจากใส่เชื้อ 24 ชั่วโมง ปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm มีอัตรารอดที่ 0% กลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 1000 ppm มีอัตรารอดที่ 30% และกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีอัตรารอดที่ 100% หลังจากใส่เชื้อ 30 ชั่วโมง ปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm และ 2000 ppm มีอัตรารอดที่ 0% และกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีอัตรารอดที่ 30% หลังจากใส่เชื้อ 48, 72 และ 96 ชั่วโมงปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm และ 1000 ppm มีอัตรารอดที่ 0% และกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีอัตรารอดที่ 30% (ภาพที่ 8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

104637



ภาพที่ 8 อัตรารอดหลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 12, 18, 24, 30, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

ภาพที่ 9 ปลาในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำ 2000 ppm ที่ตายหลังจากที่ฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 32 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 10 ปลาในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm ที่รอดหลังจากที่ฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลา 96 ชั่วโมง

การเจริญเติบโตของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 500 ppm, 1000 ppm และ 2000 ppm เมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวหลังสิ้นสุดการทดลองเป็น 12.25±1.28, 10.88±0.41, 11.56±0.31 และ 11.40±0.15 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) และมีความยาวเฉลี่ยต่อตัวหลังสิ้นสุดการทดลองเป็น 9.80±0.34, 9.29±0.08, 9.53±0.12 และ 9.62±0.04 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feeding Conversion Ratio)ของแต่ละกลุ่มการทดลองแสดงในตารางที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ยของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) (กรัม) ต่อตัว

กลุ่มการทดลอง	น้ำหนักปลากะพงขาว (กรัม) /ตัว		
	เริ่มต้นการทดลอง	สิ้นสุดการทดลอง	FCR
ควบคุม	1.56±0.00[a]	13.54±1.40[a]	2.51±0.05[a]
500 ppm	1.56±0.00[a]	11.92±0.46[a]	2.57±0.04[a]
1000 ppm	1.56±0.00[a]	11.55±0.24[a]	2.55±0.03[a]
2000 ppm	1.56±0.00[a]	12.38±0.64[a]	2.63±0.13[a]

ตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 3 ความยาวเฉลี่ยของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) (เซนติเมตร) ต่อตัว

กลุ่มการทดลอง	ความยาวปลากะพงขาว (เซนติเมตร) /ตัว	
	เริ่มต้นการทดลอง	สิ้นสุดการทดลอง
ควบคุม	4.9±0.00[a]	11.25±0.28[a]
500 ppm	4.9±0.00[a]	10.69±0.24[a]
1000 ppm	4.9±0.00[a]	10.77±0.12[a]
2000 ppm	4.9±0.00[a]	10.58±0.11[a]

ตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการตรวจนับเซลล์เม็ดเลือดของปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) พบว่าปลากะพงขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ฉีดเข้าตัวปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) บริเวณกล้ามเนื้อข้างลำตัว ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร พบว่าปลากะพงขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่ผสมสารสกัดจากพรมมิที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีอัตราการรอดตายสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และมีการตายช้ากว่าในกลุ่มทดลองอื่นๆโดยเริ่มมีการตายที่เวลา 30 ชั่วโมงหลังจากการใส่เชื้อ ส่วนการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวในแต่ละชุดการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน

จากการทดลองนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่าสารสกัดพรมมิความเข้มข้น 2000 ppm สามารถทำให้ปลากะพงขาวมีภูมิคุ้มกันสูงขึ้นมากที่สุด โดยทำให้ปลากะพงขาวมีความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ดีที่สุด และสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

สโมสรนิสิตคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2531. การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว (หลักการและแนวทางปฏิบัติ). กรุงเทพฯ ช่อนนทรี : 60.

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)

Channa, s., A. Dar, S. Anjum, M. Yaqoob, and A. Rahman. 2006. Anti-inflammatory activity of *Bacopa monniera* in rodents. Ethnopharmacology 104:286-289.

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 neurotoxiciy in the cerebral cortex of rat brain. Journal of Ethnopharmacology 111:56-62.

Rai, D., G. Bhatia, G. Palit, R. Pal, S. Singh, H.K. Singh. 2003. Adaptogenic effect of *Bacopa monniera*(Brahmi). Pharmacology, Biochemistry and Behavior 75:823-830

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.

Russo, A. and F. Borrelli. 2005. *Bacopa monniera*, a reputed nootropic plant: an overview. Phytomedicine 12:305-317.

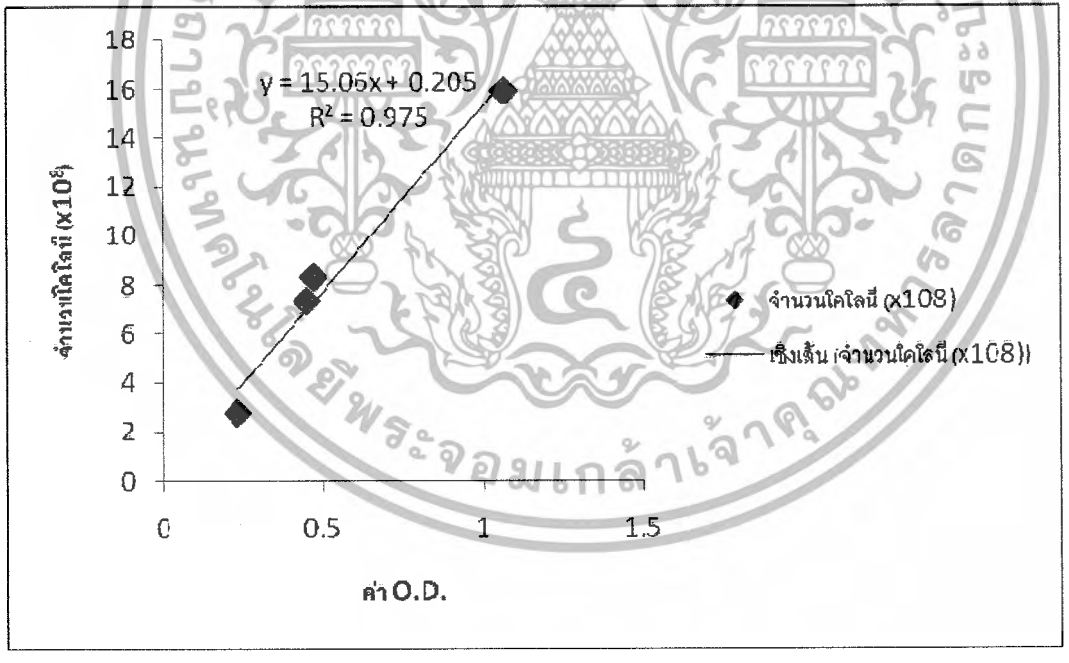
Vohora, D., S. N. Pal, and K. K. Pillai. 2000. Protection from phenytoin-induced cognitive deficit by *Bacopa monniera*, a reputed Indian nootropic plant. Ethnopharmacology 71 : 383-390.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และจำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นต่างๆ 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 และจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้