สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลาดุกลูกผสมด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ

Increasing immune response in white catfish (*Clarias gariepinus x C.macrocephalus*) by *Bacopa monniera*

T104636

โดย

นางสาว สุรีรัตน์ พิมวงษ์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....104636
วัน,เดือน,ปี.....5 พ.ย. 2552

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

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชา วิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลาดุกลูกผสมด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ

Increasing immune response in white catfis (*Clarias gariepinus x C.macrocephalus)* by *Bacopa monniera*

ชื่อนักศึกษา นางสาวสุรีรัตน์ พิมวงษ์

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรี เรืองเดช
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ปรึกษา .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัจฉรี เรืองเดช)

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

ภาควิชารับรองแล้ว
.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 15 เดือน พ.ค. พ.ศ. ๒๕๕๒

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้นกันในปลาดุกลูกผสมด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ

Increasing immune response in hybrid catfish (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus)* by *Bacopa monniera*

ในปัจจุบันปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus)* มักประสบปัญหาเรื่องโรค โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากในการเลี้ยงปลาดุก การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลาดุกเป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจในการป้องกันโรคในปลาดุกการศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลาดุก โดยนำสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิที่มีความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เคลือบอาหารและให้ปลากินเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปลาดุกลูกผสมที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นโดยมีจำนวน 14.62 ± 9.11 และ 14.55 ± 0.4 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด และจากจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดง กลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นโดยมีจำนวน 35.7 ± 0.05 และ 37.1 ± 1.25 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมดตามลำดับ และจำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตมากที่สุด 34.17 เปอร์เซ็นต์ และจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จะพบว่าที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง จะพบอัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อระยะเวลาที่ 5 วัน มีการปรับอุณหภูมิให้ลดต่ำลง กลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มี อัตราการรอดตายสูงที่สุด โดยพบอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (10 วันหลังจากฉีดเชื้อ) จากการศึกษานี้สามารถกล่าวได้ว่า สารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สามารถเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลาดุกลูกผสมได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ ต้องขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรี เรืองเดช และ รองศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ เป็นอย่างสูงที่ได้ให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือมาโดยตลอด ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่ให้ความรู้ในด้านต่างๆและให้คำอบรมสั่งสอน ขอขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ และ คุณนภพล เผ่ามนัส ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ในการทดลอง ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือเป็นอย่างดี ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือ และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ที่ให้ความรัก ให้กำลังใจ และอบรมสั่งสอน จนประสบความสำเร็จ

นางสาวสุรีรัตน์ พิมวงษ์

เมษายน 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	14
สรุปและข้อเสนอแนะ	19
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงกับเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น	14
2	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตรารอด	16

ตารางผนวกที่		หน้า
1	น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกลูกผสม เริ่มต้นถึงสิ้นสุดการทดลอง	22
2	ความยาวเฉลี่ยของปลาดุกลูกผสม เริ่มต้นถึงสิ้นสุดการทดลอง	23
3	อัตราการรอดชีวิตของปลาดุกลูกผสมหลังจากได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่เวลาต่างกัน	24
4	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตรารอดก่อนการทดลองการต่อต้านเชื้อ	25
5	ค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ จำนวน โคโลนีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของต้นพรมมิ	3
2	โครงสร้างเคมีของ saponin บางชนิดที่สามารถแยกได้จากพรมมิ	4
3	yellow flurescent lipofuscin ในเซลล์ hippocampus ของหนูภายใต้สภาวะต่างๆ	5
4	ลักษณะปลาดุกลูกผสม	6
5	จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลาดุกลูกผสม (Clarias gariepinus x C.macrocephalus)	15
6	ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาดุกลูกผสม , (a) เม็ดเลือดแดง, (b) เม็ดเลือดขาว	15
7	อัตรารอดหลังจากฉีดเชื้อ Aeromonas hydophila ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 วัน	17
8	ลักษณะที่ปลาได้รับเชื้อที่ฉีดเข้าไป (a) รับเชื้อ 2 วัน (b) รับเชื้อ 5 วัน	18

ภาพผนวกที่		หน้า
1	กราฟมาตรฐานระหว่างค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนโคโลนีของ เชื้อ *Aeromonas hydrophila*	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

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

พรมมิเป็นพรรณไม้น้ำที่ประเทศอินเดียและประเทศอื่นทั่วโลกนำมาศึกษาในด้านเภสัชศาสตร์ ซึ่งสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิมีสรรพคุณในการเป็นยารักษาโรคต่างๆ ทั้งสารต่อต้านความเครียด สารต้านอนุมูลอิสระ สารช่วยบำรุงประสาท และสารช่วยสร้างเสริมความจำ สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักของพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิมีหลายชนิดด้วยกันเช่น ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ ซึ่งเป็นสารเคมีที่นิยมนำมาใช้ในทางเภสัช และเป็นที่น่าสนใจว่ามีการใช้สารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในคนและสัตว์บกมาเป็นเวลา แต่สำหรับในสัตว์น้ำยังไม่มีการนำมาใช้

การเลี้ยงปลาดุกในปัจจุบันมักประสบปัญหาเรื่องโรค โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จะมีการตกเลือด มีแผลตามลำตัวและครีบ ครีบกร่อน ตาขุ่น หนวดหงิก กกหูบวม ท้องบวมมีน้ำในช่องท้อง กินอาหารน้อยหรือไม่กินอาหาร ลอยตัว และตายในที่สุด ซึ่งเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากในการเลี้ยงปลาดุกการเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลาดุกเป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจในการป้องกันโรคในปลาดุก การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดพรมมิจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลาดุก โดยเฉพาะสารในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่น่าจะช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลาดุกได้ โดยตรวจสอบจากการนับจำนวนเม็ดเลือด และทดสอบความสามารถในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย ของปลาดุกหลังจากที่ได้กินสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน

วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาปริมาณเม็ดเลือดชนิดต่างๆของปลาดุก หลังจากกุ้งได้รับสารสกัดแอลกอฮอล์จากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน

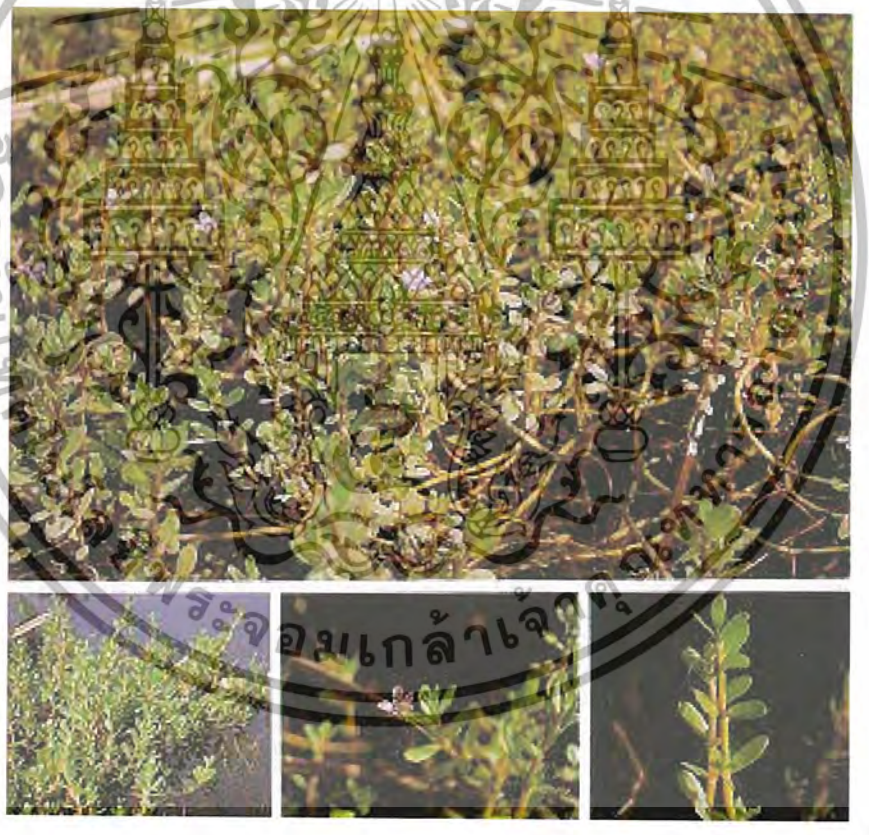
2.เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย หลังจากปลาดุกได้รับสารสกัดแอลกอฮอล์จากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิในระดับความเข้มข้นต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ลักษณะของพรมมิ (*Bacopa monniera*)

Bacopa monniera หรือ พรมมิมีชื่อสามัญว่า Brahmi เป็นพรรณไม้น้ำที่อยู่ในครอบครัว Scrophulariaceae เป็นพืชสมุนไพรที่พบในเขตอบอุ่น เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ลุ่มชื้นแฉะและพื้นที่ที่มีน้ำลักษณะลำต้นใหญ่ อวบน้ำ ไม่มีขน เลื้อยทอดไปตามพื้นและชูยอดขึ้น ใบเป็นใบเดี่ยวรูปไข่ค่อนข้างยาว โคนใบแคบ ปลายใบกว้างกลมมน ขอบในเรียบ แตกจากลำต้นตรงข้าม ดอกเป็นดอกเดี่ยวออกตามซอกใบ มีสีม่วง โคนดอกติดกัน ส่วนตอนปลายของกลีบดอกแยกออกเป็น 5 กลีบ มีเกสรตัวผู้ 4 อันซึ่งติดกับกลีบดอก (Russo and Borrelli, 2005)



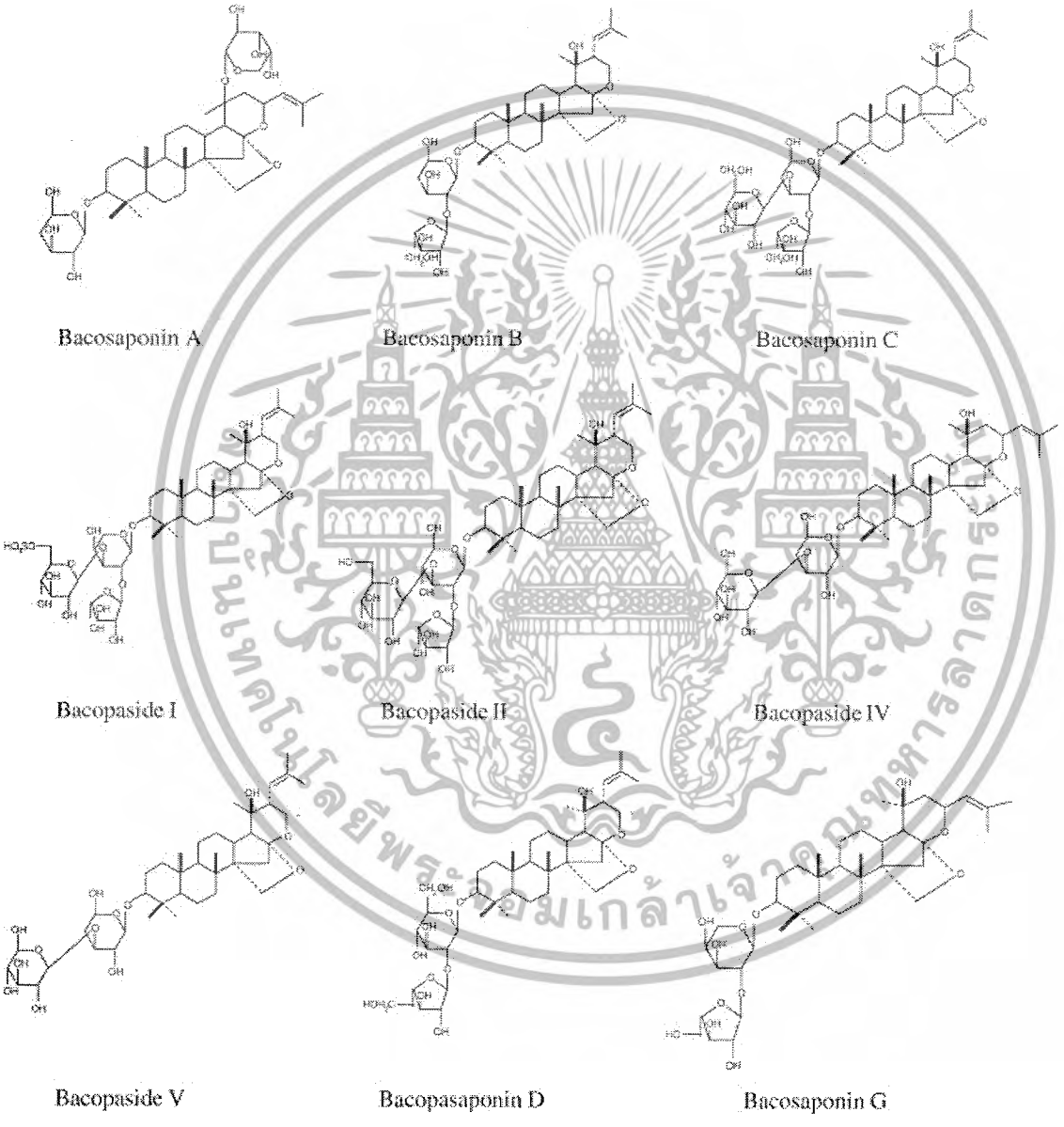
ภาพที่ 1 ลักษณะของต้นพรมมิ

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

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 สารที่แยกได้จากพรมมิดังแสดงไว้ในภาพที่2



ภาพที่ 2 โครงสร้างเคมีของ saponin บางชนิดที่สามารถแยกได้จากพรมมิ

ที่มา : Russo and Borrelli (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของสารสกัดจากพรมมิ (*Bacopa monniera*)

1.ต่อต้านการเกิดแผลและการอักเสบ

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 แบ่งหนูออกเป็นกลุ่มเพื่อฉีดแอสไพรินและสารสกัดจากพรมมิปริมาณ 50 – 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าที่บริเวณช่องท้อง หลังจากนั้นเมื่อครบ 1 ชั่วโมงทำการวัดขนาดของอุ้งเท้า และทำการฉีกวัดอีกโดยเว้นระยะ 1 ชั่วโมงจนครบ 4 ชั่วโมง แล้วนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกัน พบว่าสารสกัดจากพรมมิ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้การบวมของอุ้งเท้าลดลง 33 -95 เปอร์เซ็นต์

2. ต่อต้านการเกิดความเครียด

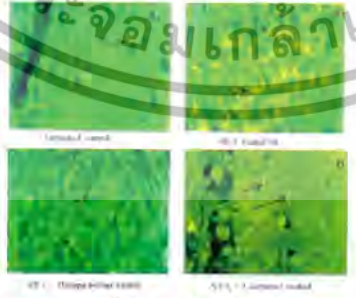
ความเครียดเกิดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมหรือเกิดจากเชื้อโรคที่มีอยู่ในธรรมชาติ ความเครียดมีผลกระทบต่อภาวะสมดุลในร่างกายและระบบภูมิคุ้มกัน เป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดโรคเป็นจำนวนมาก Rai et al., (2003) ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากพรมมิ มาใช้ในการต่อต้านการเกิดความเครียดที่เกิดแบบเฉียบพลัน (AS) 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 ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อได้รับความเครียดอย่างต่อเนื่องร่างกายจำเป็นต้องใช้พลังงานจากกลูโคสมาใช้ในการปรับภาวะสมดุลของร่างกายแต่ถ้าไม่พอจะไปดึงพลังงานจากไขมันมาใช้จากผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพรมมิสามารถช่วยรักษาระดับกลูโคสในเลือดไว้เป็นพลังงานในการรักษาภาวะสมดุลของร่างกายให้อยู่ในภาวะที่เหมาะสม

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 and Sharma (2006) รายงานว่าอลูมิเนียมในธรรมชาติเป็นสาเหตุในการเกิด oxidative stress จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการต่อต้านการชักนำของอลูมิเนียมในการเกิด oxidative stress ในสมอง ส่วน hippocampus ของหนูโดยใช้สารสกัดจากพรมมิ และใช้ L-deprenyl มาเปรียบเทียบ ผลที่ได้ในการศึกษาจะใช้หนูน้ำหนัก 350 – 400 กรัม มาแบ่งเป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมให้กินแต่น้ำเท่านั้น กลุ่มที่ 2 ให้กินอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) 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 ซึ่งจากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าการชักนำของอลูมิเนียมทำให้เกิด oxidative stress



ภาพที่ 3 yellow flurescent lipofuscin ในเซลล์ hippocampus ของหนูภายใต้สภาวะต่างๆ

ที่มา : Jyoti and Sharma (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะปลาดุกลูกผสม

ชื่อวิทยาศาสตร์ (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus)*

ถิ่นอาศัย พบตามแม่น้ำ คลอง หนอง บึง

อาหาร ลูกปลา ลูกกุ้ง แมลงน้ำ

ขนาด 15 – 35 ซม.

ลักษณะทั่วไป เป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ด รูปร่างยาวเรียว ครีบหลังยาวไม่มีกระโดง ครีบก้นยาวเกือบถึงโคนหาง มีหนวด 4 คู่ มีอวัยวะพิเศษช่วยในการหายใจแตกต่างจากปลาดุกด้านตรงกระดูกบริเวณท้ายทอยมีลักษณะมนโค้ง ส่วนของปลาดุกด้านจะเป็นมุมแหลม

ภาพที่4 ลักษณะปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus)*

ที่มา : http://www.fisheries.go.th/if-phattalung/FisheriesCulture.htm (Decmber,2008)

โรคของปลาดุก

มักเกิดจากปัญหาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงไม่ดี ซึ่งอาจเกิดจากการให้อาหารมากเกินไปจนอาหารเหลือเน่าเสีย เพราะปลาดุกมีนิสัยกินอาหารที่ให้ใหม่แล้วสำรอกอาหารเก่าทิ้ง ควรมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำจากระดับก้นบ่ออย่างสม่ำเสมอในปริมาณ 20- 30% ของน้ำในบ่อแล้วนำน้ำที่พักไว้เติมลงไปให้ได้ระดับเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อปลาเป็นโรคแล้วจะรักษาให้หายได้ยากและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ดังนั้นวิธีที่ดีที่สุดจึงควรป้องกันไม่ให้เกิดโรค โดยวิธีต่างๆดังนี้

1. ควรเตรียมบ่อและน้ำตามวิธีที่เหมาะสมก่อนการปล่อยลูกปลา

2. ซื้อพันธุ์ปลาจากแหล่งที่เชื่อถือได้ ลูกปลาแข็งแรงปราศจากโรค

3. ไม่ควรปล่อยลูกปลาลงเลี้ยงหนาแน่นเกินไป

4. ควรหมั่นตรวจอาการของปลาอย่างสม่ำเสมอ ถ้าเห็นผิดปกติต้องรีบหาสาเหตุและแก้ไขโดยเร็ว

5. เปลี่ยนถ่ายน้ำจากระดับก้นบ่ออย่างสม่ำเสมอ โดยเปลี่ยนถ่ายน้ำเก่าออกปริมาณ 20– 30 % ของน้ำในบ่อ และนำน้ำที่พักไว้เติมลงไปให้ได้ระดับเดิม

6. อย่าให้อาหารจนเหลือ ให้ปริมาณพอดีในแต่ละมื้อ และระวังอย่าให้อาหารตกค้างในบ่อ

โรคของปลาดุกที่เลี้ยง

ในกรณีที่มีการป้องกันอย่างดีแล้ว แต่ปลาก็ยังป่วยเป็นโรค ซึ่งมักจะแสดงออกให้เห็น โดยแบ่งอาการของโรคเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

1การติดเชื้อจากแบค .ทีเรีย จะมีการตกเลือด มีแผลตามลำตัวและครีบ ครีบกร่อน ตาขุ่น หนวดหงิก กกหูบวม ท้องบวมมีน้ำในช่องท้อง กินอาหารน้อยหรือไม่กินอาหาร ลอยตัว

2อาการจากปรสิตเข้าเกาะตัวปลา จะมีเมือกมาก มีแผลตามลำตัว ตกเลือด ครีบเปื่อย มีจุด . สีขาวตามลำตัว สีตามลำตัวซีดหรือเข้มผิดปกติ เหงือกซีด ว่ายน้ำทุรนทุราย ควงสว่านหรือไม่ตรงทิศทาง

3ารจากอาหารมีคุณภาพไม่เหมาะสม ที่พบบ่อยมักจะขาดวิตามินบี จะทำให้กะโหลกอาก . ร้าว บริเวณใต้คางจะมีการตกเลือด ตัวคด กินอาหารน้อยลง ถ้าขาดวิตามินบี ปลาจะว่ายน้ำตัวเกร็งและชักกระตุก

4 .อาการจากคุณภาพน้ำในบ่อไม่ดี ปลาจะว่ายน้ำขึ้นลงเร็วกว่าปกติ ลอย หัว ครีบกร่อน เปื่อย หนวดหงิก เหงือกซีดและบวม ลำตัวซีด ไม่กินอาหาร ท้องบวมมีแผลตามตัว

ภูมิคุ้มกันของปลาดุกในธรรมชาติมีปัจจัยที่ถูกกระตุ้นในการเลี้ยง คือ อุณหภูมิ และ ฤดูกาล ภูมิต้านทานประกอบด้วย serum, myeloperoxidase, lysozyme, hemagglutinin และ ประกอบด้วยเซลล์อื่นที่ทำงานภายในตัวปลาด้วย (Kumari et al., 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยาฆ่าแมลง ชนิด Diazion ที่เกษตรกรนำมาใช้ในการฆ่าศัตรูพืชซึ่งมีผลกระทบต่อระบบนิเวศทางน้ำ ซึ่งมีผลต่อ พฤติกรรมของปลา โดยเฉพาะปลาดุก และเป็นปัจจัยที่เข้าไปมีผลกระทบกับระบบเลือดในปลาดุก ซึ่งปลาได้รับยาฆ่าแมลงในจำนวนที่เพิ่มมากขึ้น ก็จะมีผลกระทบทำให้ปลาตายได้ในที่สุด ซึ่งยาฆ่าแมลง Diazinon จะเข้าไปทำให้ระดับของ erythrocyte, leukocyte, hemoglobin ลดต่ำลง (Koprucu et al., 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1.การนับเซลล์เม็ดเลือดปลา

1.1 ปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus)*

1.2 เข็ม non-heparinized syringes ขนาด 23 x 1.25G

1.3 สไลด์

1.4 cover slip 22 x 22 cm.

1.5 ยาสลบ

1.6 ผ้าขนหนู

1.7 กล้องจุลทรรศน์

2. การสกัดสาร

2.1 พรรณไม้น้ำพรมมิ

2.2 เครื่องปั่นน้ำผลไม้

2.3 เครื่องชั่งน้ำหนัก

2.4 ขวดสีชา 500 มิลลิลิตร

2.5 มีด เขียง กรรไกร

2.6 ผ้าขาวบาง

2.7 บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร

2.8 ถาดผสมอาหาร

2.9 เอทานอล 80 %

2.10 กระดาษฟลอยด์อะลูมิเนียม

2.11 rotary evaporator รุ่น Heildolph

2.12 กระดาษกรอง เบอร์ 2

2.13 น้ำกลั่น

2.14 กรวยกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

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

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้ปลากินอาหารที่ไม่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิ

ชุดการทดลองที่ 2 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิความเข้มข้น 0.25 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

ชุดการทดลองที่ 3 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

ชุดการทดลองที่ 4 ให้ปลากินอาหารที่เคลือบสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร

วิธีการทดลอง

1.การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus)* มาเลี้ยงปรับสภาพเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ระหว่างการปรับสภาพให้ปลากินอาหารสำเร็จรูป ไฮเกรด เป็นเวลา 2 ครั้งต่อวัน โดยให้เวลา 9:00 และ 16:00 น. เมื่อครบเวลานำปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันมาทดลอง โดยใส่ปลาลงในถังขนาด 100 ลิตร ถังละ 20 ตัว

2.การสกัดสารจากพรรณไม้น้ำพรมมิ

2.1 นำพรมมิจากฟาร์มล้างทำความสะอาดพรรณไม้น้ำพรมมิ หลังจากนั้นมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ

2.2 อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

2.3 นำพรรณไม้น้ำพรมมิมาบดให้ละเอียด

2.4 สารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิโดยใช้พรรณไม้น้ำพรมมิที่อบแห้ง 100 mg. ต่อ เอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์ 1 ลิตร แช่ไว้เป็นเวลา 5 วัน โดยเก็บที่อุณหภูมิห้อง

2.5 กรองสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิด้วยกระดาษกรอง แล้วนำของเหลวที่กรองได้ไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระเหยเอทานอลจนเหลือแต่สารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิ ด้วย rotary evaporator รุ่น Heildolph

2.6 นำสารสกัดที่ได้มาชั่งน้ำหนัก แล้วละลายด้วยเอทานอล AR-Grade 99% ให้ได้สารสกัดความเข้มข้น 10,000 ppm. สำหรับนำไปใช้เคลือบอาหารตามความเข้มข้นที่กำหนด

3. การเตรียมอาหารและการให้อาหาร

3.1 เตรียมสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิจาก stock solution ให้มีความเข้มข้น 0 , 0.25 , 0.5 ,และ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร โดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย

3.2 ฉีดพ่นสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิ ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ลงบนอาหารสำเร็จรูป 100 กรัมที่เตรียมไว้ แล้วรอให้แห้ง

3.3 ฉีดพ่นกลิ่นเพื่อดึงดูดให้ปลากินอาหาร (amino tonic) เคลือบลงบนอาหารที่เตรียมไว้ หลังจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.4 ให้อาหารปลากิน วันละ 2 เวลา ประมาณ 09.00 และ 16.00 น. ของชุดการทดลอง โดยให้ 3% ของน้ำหนักตัว

4. การตรวจสอบการต้านเชื้อ

เพิ่มจำนวนเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ใน Nutrient broth (NB) ที่มีโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ผสมอยู่ 0.85 % โดยบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ล้างเซลล์ของเชื้อด้วย 0.85 % NaCl จำนวน 2 ครั้ง โดยเหวี่ยงที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm แล้วหาจำนวนเซลล์โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสง และจำนวนเซลล์ก่อนการฉีดจะทำให้ปลาเครียดโดยปล่อยปลาให้อยู่ในอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ซึ่งจะทำการทดลองโดยกลุ่มควบคุมจะฉีด Nacl 0.85 % ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร และกลุ่มทดลองจะใช้ เชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ฉีดเข้ากล้ามเนื้อปลาความเข้มข้น 10^9 CFUs/ml ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร บันทึก อัตราการรอดชีวิต ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 วัน หลังจากฉีดเชื้อ หลังจาก 4 วัน ผ่านไปจะทดสอบภูมิคุ้มกันโดยการปรับอุณหภูมิให้ลดต่ำลง สังเกตอัตราการรอด หลังจากปรับอุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบันทึกข้อมูล

ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาวทุก 2 สัปดาห์ และทำการเจาะเลือดปลาเพื่อเก็บตัวอย่างเม็ดเลือดและเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตที่ระยะเวลาสิ้นสุดการทดลองที่ 12 สัปดาห์ เพื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ที่พบในแต่ละกลุ่ม หลังจากนั้นทำการทดสอบโดยการสุ่มปลาแต่ละกลุ่มการทดลองกลุ่มละ 8 ตัว มาทดสอบภูมิคุ้มกันโดยฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ซึ่งทำการบันทึกอัตราการรอดชีวิตที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 วัน หลังจากฉีดเชื้อและหลังปรับอุณหภูมิ

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตรารอด น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว มาวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for Window version 16.0 เพื่อหาความสัมพันธ์ และค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจนับจำนวนเปอร์เซ็นต์ของเซลล์เม็ดเลือดปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus*) พบว่าจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 12 สัปดาห์ ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมมิที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่นโดยมีจำนวน 14.62±9.11 และ 14.55±0.4 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด ซึ่งมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมมิความเข้มข้น 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร คือปริมาณ 9.6±1.08 และ 11.75±4.1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และจากจำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 12 สัปดาห์ ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมมิที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่นโดยมีจำนวน 35.7±0.05 และ 37.1±1.25 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด ซึ่งปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมมิความเข้มข้น 0.25 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร คือปริมาณ 18.8±1.12 และ 29.2±0.82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ
(ตารางที่ 1)

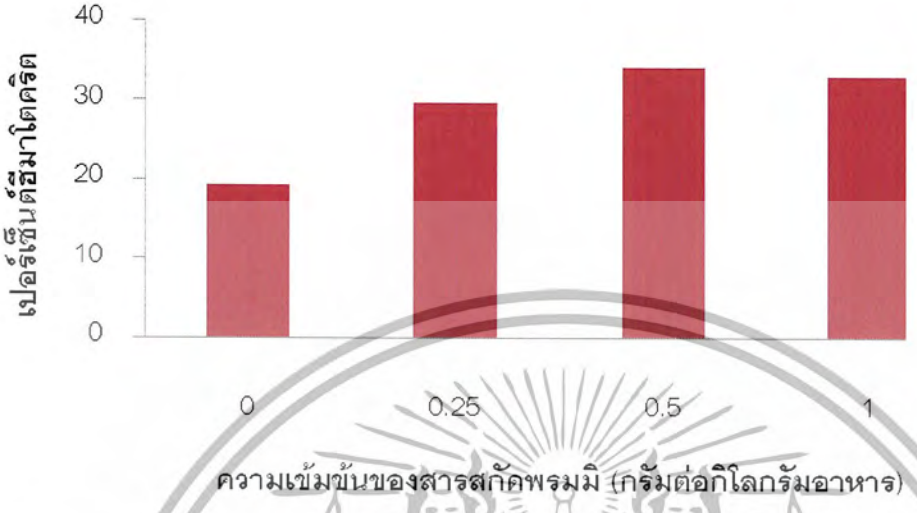
จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตที่สิ้นสุดการทดลองพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมมิความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีจำนวนการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตมากที่สุดถึง 34.17 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 6)

ตารางที่ 1 จำนวนเปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดแดงกับเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น

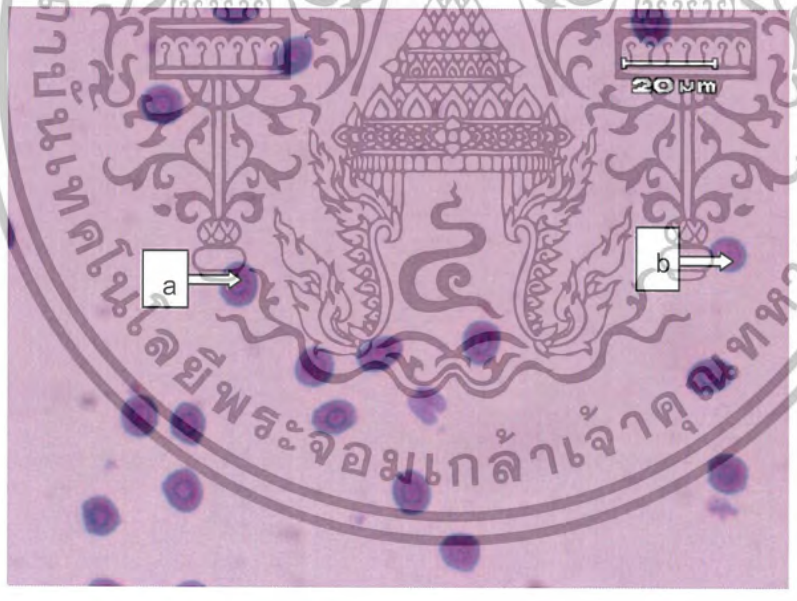
สารสกัดพรมมิ (กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร)	เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือด	
	เม็ดเลือดขาว	เม็ดเลือดแดง
ไม่ใส่สารสกัด	9.6±1.08^{c}	18.8±1.12^{c}
0.25	14.62±9.1^{a}	29.2±0.82^{b}
0.5	14.55±0.4^{a}	35.7±0.05^{a}
1.0	11.75±4.1^{b}	37.1±1.25^{a}

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 จำนวนเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus x C. macrocephalus*)



ภาพที่ 6 ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดของปลาดุกลูกผสมที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ (a) เม็ดเลือดแดง, (b) เม็ดเลือดขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตรารอดของปลาดุกลูกผสม ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรมมิที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 0.1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 2)

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

ค่าฉลี่ย ± ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ โสมลดา และคณะ (2550) ที่ต้องการศึกษาผลของสารสกัดพรมมิ)*Bacopa monnieri*) ต่อการต้านเชื้อ *Vibrio harveyi* และปริมาณเม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลในกุ้งขาวแวนนาไม)*Penaeus vannamei*(ระยะโพสลาวา เดือน 2 กินนาน 15 อเมื่อทำการทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้ *Vibrio harveyi* ด้วยการแช่เป็นเวลา ชั่วโมง 96 35 พบว่ากุ้งขาวที่ไม่ได้กินอาหารผสมสารสกัดจากพรมมิมีอัตรารอด.เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กุ้งขาวแวน 00 1 และ 500 100 นาไมชุดที่ได้กินอาหารผสมสารสกัดจากพรมมิความเข้มข้น, 000ppm พบว่ามีอัตรารอดสูงกว่าชุดควบคุมคือ 60.62 00.92 และ 50.เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัดจากพรมมิที่ 50 1 ความเข้มข้น,000 ppm สามารถช่วยให้กุ้งขาวแวนนาไมต่อต้านเชื้อ *Vibrio harveyi* ได้ดีที่สุด ผลการตรวจนับจำนวนเม็ดเลือด)total haemocyte countของกุ้งขาวแวนาไ (มขนาด กรัม ที่เลี้ยงด้วย 8 1 และ 500 100 รรณไม้น้ำพรมมิความเข้มข้นอาหารผสมสารสกัดจากพ, 000ppm นาน เดือน 2 1 พบว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมในชุดความเข้มข้น, 000ppm เพิ่มขึ้นมากกว่าทุกชุดการทดลอง

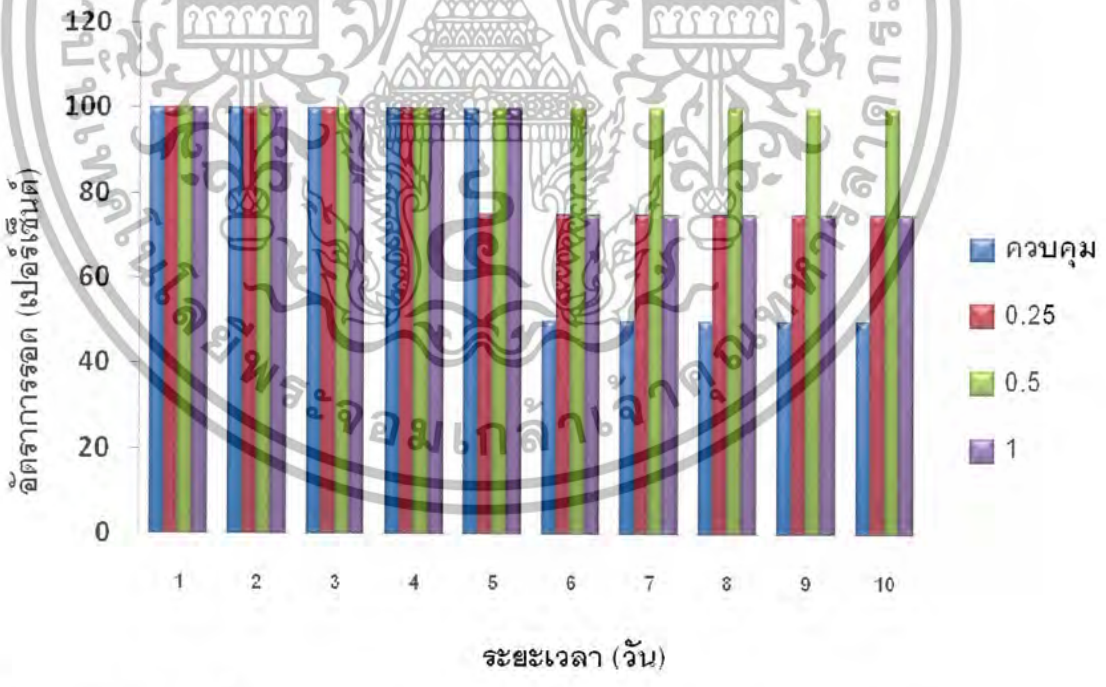
จากการรายงานของ Miller and Leavell (1972) กล่าวว่าเม็ดเลือดขาวมีหน้าที่สำคัญคือ ทำลายเชื้อโรคและสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย สร้างเอนไซม์ขึ้นภายในไซโทพลาสซึม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

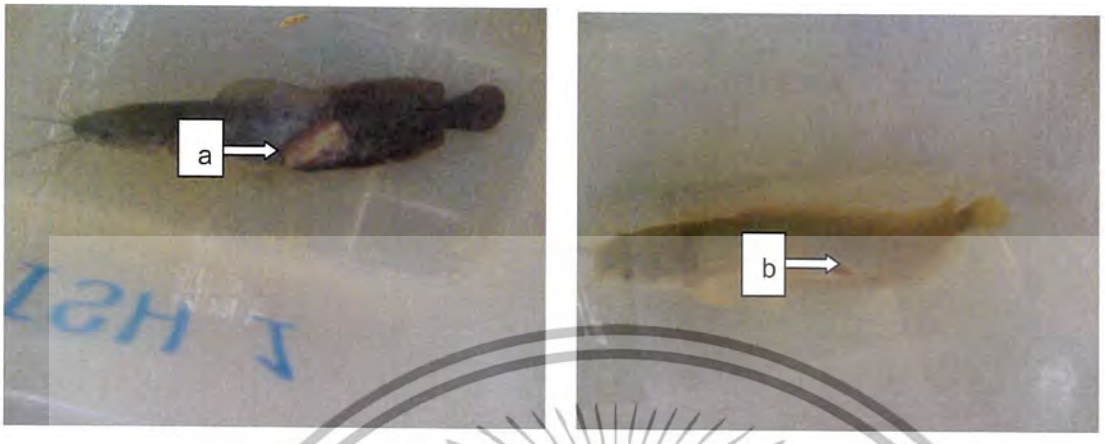
นอกจากนี้ยังช่วยสร้างแอนติบอดี ให้ร่างกายอีกด้วย ดังนั้นเมื่อสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในปลาดุกลูกผสมได้จึงน่าจะส่งผลต่อระบบคุ้มกันของปลาให้ดีขึ้นด้วย

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดเชื้อ *Aeromonas hydophila* ฉีดเข้าไปในปลาดุกลูกผสมบริเวณกล้ามเนื้อ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมงหลังฉีดเชื้อ ปลาทุกกลุ่มการทดลองมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่เมื่อผ่านไป 120 ชั่วโมง ทำการปรับอุณหภูมิให้ลดต่ำลง จะพบว่า ภายใน 120 ชั่วโมงหลังจากการปรับอุณหภูมิพบอัตราการรอดตาย 75 เปอร์เซ็นต์ ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ 0.25 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และที่เวลา 144 ชั่วโมงหลังจากปรับอุณหภูมิ พบว่า กลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิมีอัตราการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดตาย 75 เปอร์เซ็นต์ จะพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดพรรณไม้น้ำพรมมิ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตรารอดตายของปลาดุกลูกผสม 100 เปอร์เซ็นต์ตลอดการทดลอง ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 อัตรารอดหลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydophila* ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
104636



ภาพที่ 8 ลักษณะที่ปลาที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร หลังจาก การได้รับเชื่อ *Aeromonas hydophila* (a) ได้รับเชื้อ 2 วัน (b) รับเชื้อ 5 วัน

ปลาที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เมื่อได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค โดยเชื้อ *Aeromonas hydophila* สังเกตได้ว่า หลังจากได้รับเชื้อ 2 วันพบว่าเกิดแผลบริเวณที่ฉีด แผลมีขนาดกว้างและอักเสบ และหลังจากได้รับเชื้อ 5 วัน พบว่าแผลมีลักษณะแคบลงอาการอักเสบลดลง (ภาพที่ 8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการตรวจนับเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต พบว่าปลากลุ่มที่ให้อาหารด้วยสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารให้ผลในการพบเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตได้มากที่สุด และจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยเชื้อ *Aeromonas hydophila* และเมื่อมีการกระตุ้นให้ปลาเกิดความเครียดพบว่ากลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากพรรณไม้น้ำพรมมิ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีความต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydophila* ได้ดีที่สุด

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาต่อไปว่าถ้าทำการเก็บเม็ดเลือด และทดสอบเชื้อในช่วงระยะเวลา 1 เดือน และ 2 เดือนตามลำดับ เพื่อจะได้ทดสอบภูมิคุ้มกัน ที่ระดับความเหมาะสมของสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลพรมมิ ในช่วงระยะเวลาที่ให้ปลากินอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

โสมลดา ประเสริฐสม, นงนุช เลาหะวิสุทธิ์, อัจฉรี เรืองเดช.ผลของสารสกัดพรมมิ [*Bacopa monnieri*] ต่อการต้านเชื้อ Vibrio harveyi และปริมาณเม็ดเลือดชนิดที่มีแกรนูลในกุ้งขาวแวนนาไม. เมษายน.2550.http://www.riclib.nrct.go.th/new/book/2551/jun2.pdf.

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 activity of *Bacopa monniera* in rodents. Journal of Ethnopharmacology 104: 286 – 289.

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.

Klinger, R.C., V.S. Blazer, and C. Fchevarria. 1996. Effects of dietary lipid on the hematology of channel cafish *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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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.

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.

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

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.

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ตารางผนวกที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกลูกผสม เริ่มต้นถึงสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)

กลุ่ม	สัปดาห์						
	เริ่มต้น	2	4	6	8	10	12
ควบคุม	4.95	9.34	12.2	18.48	18.97	25.11	26.72
ควบคุม	4.95	11.84	13.2	22.16	31.04	31.22	48.26
ควบคุม	4.95	8.97	13.2	18.72	21.49	23.44	43.86
ควบคุม	4.95	11.41	14.6	24.27	29.67	36.20	62.29
0.25	4.95	13.32	14.4	19.03	21.06	21.02	35.08
0.25	4.95	14.15	13	23.94	31.35	29.84	49.26
0.25	4.95	13.23	12.2	15.64	22.99	24.49	42.57
0.25	4.95	12.64	12.6	19.87	26.16	30.63	50.15
0.5	4.95	12.49	15.2	13.74	22.17	29.72	25.55
0.5	4.95	12.97	10.8	15.85	21.66	25.20	31.37
0.5	4.95	14.67	12.8	17.44	19.89	29.88	47.09
0.5	4.95	16.67	14.6	14.81	26.88	21.69	27.64
1.0	4.95	13.60	13.2	14.74	25.00	28.37	39.86
1.0	4.95	13.02	9.4	17.36	41.81	24.68	41.81
1.0	4.95	13.42	12.6	19.64	22.54	28.39	35.41
1.0	4.95	13.92	10.8	17.87	23.56	30.56	39.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 ความยาวเฉลี่ยของปลาดุกลูกผสม เริ่มต้นถึงสิ้นสุดการทดลอง (เซนติเมตร)

กลุ่ม	สัปดาห์						
	เริ่มต้น	2	4	6	8	10	12
ควบคุม	8.41	10.58	11.48	12.6	13.54	14.12	14.44
ควบคุม	8.41	10.66	11.44	12.7	13.48	15.28	15.06
ควบคุม	8.41	10.26	12.32	12.46	13.68	14.5	17.76
ควบคุม	8.41	11.08	12.46	13.44	14.74	16.28	18.44
0.25	8.41	10.54	11.98	12.92	13.7	14.3	16.7
0.25	8.41	10.34	11.86	14.16	15.8	15.74	18.12
0.25	8.41	10.34	11.54	12.08	13.98	14.8	17.14
0.25	8.41	10.34	11.58	13.1	14.5	15.74	18
0.5	8.41	9.88	11.58	13.1	14.5	15.74	18
0.5	8.41	10.28	11.5	12.16	13.68	14.44	15.88
0.5	8.41	10.76	11.68	12.56	13.52	15.8	18.08
0.5	8.41	11.56	11.74	11.5	14.54	15.68	17.16
1.0	8.41	10.56	11.52	12.68	14.14	15.24	16.78
1.0	8.41	10.4	10.92	12.4	14	14.78	16.06
1.0	8.41	10.44	11.72	12.72	14.3	14.96	15.22
1.0	8.41	10.4	11.34	12.44	13.88	14.22	14.86

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 อัตราการรอดชีวิตของปลาดุกลูกผสมหลังจากได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophilla* ที่เวลาต่างกัน

กลุ่ม	อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์) ที่เวลา (ชั่วโมง)									
	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240
ควบคุม	100	100	100	100	100	50	50	50	50	50
ควบคุม	100	100	100	100	100	50	50	50	50	50
ควบคุม	100	100	100	100	100	50	50	50	50	50
ควบคุม	100	100	100	100	100	50	50	50	50	50
0.25	100	100	100	100	75	75	75	75	75	75
0.25	100	100	100	100	75	75	75	75	75	75
0.25	100	100	100	100	75	75	75	75	75	75
0.25	100	100	100	100	75	75	75	75	75	75
0.5	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.5	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.5	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0.5	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1.0	100	100	100	100	100	75	75	75	75	75
1.0	100	100	100	100	100	75	75	75	75	75
1.0	100	100	100	100	100	75	75	75	75	75
1.0	100	100	100	100	100	75	75	75	75	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

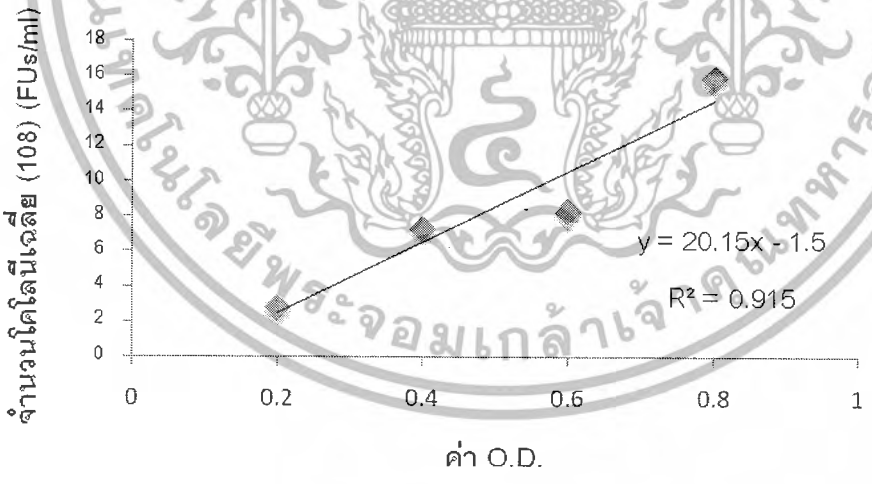
ตารางผนวกที่ 4 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) และอัตรารอดก่อนการทดลองการต่อต้านเชื้อ

กลุ่ม	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	อัตรารอด
ควบคุม	24.43	90
ควบคุม	48.60	90
ควบคุม	41.37	95
ควบคุม	68.14	85
0.25	32.04	100
0.25	44.75	80
0.25	44.70	85
0.25	53.71	85
0.5	24.48	75
0.5	35.59	95
0.5	44.80	90
0.5	25.46	95
1.0	41.48	85
1.0	46.54	80
1.0	34.18	90
1.0	38.33	90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 ค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ จำนวน โคโลนีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นต่างๆกัน

ค่า O.D.	จำนวนโคโลนีเฉลี่ย ($X10^8$)
0.236	2.8
0.45	7.3
0.47	8.3
1.066	15.9



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนโคโลนีของ เชื้อ *Aeromonas hydrophila*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้