ผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

Effect of *Asystasia gangetica* leaf meal on hematological and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

นางสาวเอมวิกา ภักดีประชุม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2564

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

Effect of *Asystasia gangetica* leaf meal on hematological and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

นางสาวเอมวิกา ภักดีประชุม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2564

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่...../.....
งานทะเบียนประมวลผล

โครงงานพิเศษปีการศึกษา 2564

เรื่อง

ผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

Effect of *Asystasia gangetica* leaf meal on hematological and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

ผู้จัดทำ

นางสาวเอมวิกา ภักดีประชุม

นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เห็นชอบ/รับรอง

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย
.....

(ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย)
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

โครงงานพิเศษนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ

เรื่อง

ผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

Effect of *Asystasia gangetica* Leaf meal on hematological and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

โดย

นางสาวเอมวิกา ภักดีประชุม

เสนอ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
(วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ)
ปีการศึกษา 2564

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	ผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล
โดย	นางสาวเอมวิกา ภักดีประชุม
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
คณะ	วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลานิล โดยปลาจะถูกเลี้ยงด้วยอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) , 5 , 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ นาน 8 สัปดาห์ จากนั้นทำการฉีดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ระดับความเข้มข้น 1.03 x 10^9 CFU/ml เข้าบริเวณช่องท้องปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรต่อตัว ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จึงทำการเก็บตัวอย่างเลือดไปศึกษาค่าโลหิตวิทยาและกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม ผลการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวทั้งหมดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง แต่มีค่าความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอม ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม และ จำนวนเม็ด latex bead ที่ถูกกินต่อหนึ่งเซลล์ดีที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 0% (ชุดควบคุม), 5 เปอร์เซ็นต์ และ 15 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ยังมีความต้านทานต่อเชื้อ *S. agalactiae* ดีที่สุด โดยมีอัตราการรอดตายสูงสุดคือ 95.00 ± 5.77 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : ใบบาหยา, ปลานิล, ค่าโลหิตวิทยา, กิจกรรมการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือด

เอมวิกา ภักดีประชุม
ลายมือชื่อนักศึกษา

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of *Asystasia gangetica* Leaf meal on hematological and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)
By	Miss. Amwika Pakdeeprachum
Disciplines	Fishery science and aquatic resources
Faculty	Prince of chumphom campus
Advisor	Asst.Prot.Dr. Daungjai Pisuttharachai

Abstract

Effect of *Asystasia gangetica* leaf meal on hematological and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were studied. Fish were fed diet mixed with *A. gangetica* at 0% (control), 5%, 10% and 15 % for 8 weeks. Then, Fish were intraperitoneal injection with 0.1 ml of *Streptococcus agalactiae* at 1.03 x 10^9 CFU/ml and left for 3 hours. Subsequently, blood was collected to determine hematological and phagocytic activity. The results found that fish fed diet mixed with *A. gangetica* at 5% shown non-significant of total red blood cells and total white blood cells among treatments, but shown the significantly highest of phagocytic activity, phagocytic index and average number of the bead ingested per cell compared with fish fed diet mixed with *A. gangetica* at 0% (control), 10% and 15%. Moreover, fish fed diet mixed with *A. gangetica* at 5% shown the best of disease resistance on *S. agalactiae*. The survival rate was 95.00 ± 5.77 %.

Key words: *Asystasia gangetica*, Nile tilapia, Hematological, Phagocytic activity

Amwika Pakdeeprachum
Student's signature

Daungjai Pisuttharachai
Advisor's signature

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำและแก้ไขโครงงานพิเศษตลอดจนชี้แนะข้อผิดพลาดบกพร่องในการวิเคราะห์ข้อมูลในการเขียนรายงานทุกขั้นตอน และช่วยเหลือเอื้อเฟื้อพันธุ์ปลานิลและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงปลา ทำให้การจัดทำโครงงานพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณนางสาวณฐพร สังขรเขตร นักวิทยาศาสตร์ประจำหลักสูตรวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการและให้คำแนะนำตลอดจนอบรมสั่งสอนข้าพเจ้ามาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสุมิตร ภักดีประชุม คุณแม่อัญชลี ภักดีประชุม และทุกคนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนทั้งกำลังกาย กำลังใจ กำลังทรัพย์ในการศึกษาและอบรมดูแลสั่งสอนให้เป็นคนดี อดทน ในหน้าที่ของตนเอง ขอขอบพระคุณและขอบคุณทุกๆคนที่เกี่ยวข้องตลอดระยะเวลาที่ข้าพเจ้าเริ่มการศึกษาจนสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

นางสาวเอมวิกา ภักดีประชุม

พฤษภาคม 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	-1-
สารบัญตาราง	-2-
สารบัญภาพ	-3-
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
ตรวจเอกสาร	3
ปลานิล (Nile tilapia)	3
องค์ประกอบของเลือดปลา	6
โรคของปลานิลและแนวทางการป้องกันรักษา	8
ใบบาหยา	11
อุปกรณ์และวิธีการ	14
อุปกรณ์	14
วิธีการการทดลอง	18
ผลการทดลอง	25
วิจารณ์ผลการทดลอง	31
สรุปผลการทดลอง	32
อ้างอิง	33
ภาคผนวก	35
ประวัติการศึกษา	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเจริญเติบโตของปลานิล	6
2	สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง	19
3	ค่าโลหิตวิทยาและขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมในเม็ดเลือดของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของใบบาหยาในระดับที่ต่างกัน	28
4	อัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของใบบาหยาที่ระดับแตกต่างกันหลังได้รับเชื้อ *Steptococcus agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น $1.82x10^9$ CFU/ml นาน 14 วัน	29
5	ค่าคุณภาพน้ำจากการเก็บผลการทดลองเลี้ยงปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาในระดับที่แตกต่างกัน	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะปลานิล	4
2	ลักษณะเม็ดเลือดแดง	7
3	ลักษณะใบบาหยา	12
4	ลักษณะการนับเม็ดเลือดแดง	21
5	ลักษณะเม็ดเลือดขาว	21

ภาพผนวกที่

1	การเตรียมการทดลอง	36
2	การตรวจคุณภาพน้ำ	37
3	ขั้นตอนการทำการทดลอง	37
4	ลักษณะเม็ดเลือด	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปลานิล *Oreochromis niloticus* เป็นปลาที่รู้จักเป็นอย่างมากในประเทศไทยมีถิ่นกำเนิดมาจากสายพันธุ์ปลา Nile tilapia จำนวน 50 ตัว สมเด็จจักรพรรดิอากิ ฮิโต สมัยครั้งยังทรง ดำรงตำแหน่งพระอิสริยยศมกุฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่น ทรงนำมาถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว (รัชกาลที่ 9) เมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ.2508 ในหลวงรัชกาลที่ 9 ทรงให้เลี้ยงไว้ในบ่อที่สวนจิตรลดา พระราชวังสวนดุสิต จนเกิดการแพร่ขยายพันธุ์จำนวนมาก

ปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เติบโตไว และมีรสชาติที่ดี เหมาะสำหรับที่จะเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญให้แก่ประชาชนทั่วไป จึงพระราชทานปลานิลที่เพาะเลี้ยงไว้จากสวนจิตรลดาจำนวน 10,000 ตัว แก่กรมประมงเพื่อขยายพันธุ์แจกจ่ายมอบให้แก่ประชาชนเพื่อนำไปเลี้ยงทุกภูมิภาคในประเทศ ปัจจุบันปลานิลเป็นที่รู้จักแพร่หลายและนิยมบริโภคโดยทั่วไปในประเทศและสามารถส่งออกนำรายได้เข้าประเทศได้ถึง 900 ล้านบาทต่อปี (กรมประมง,2565)

ใบบาหยา หรือ บาหยาและอ่อมแซ่บ ล้วนเป็นชนิดเดียวกัน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Asystasia gangetica* แต่แยกเป็นชนิดย่อย คือ บาหยา *Asystasia gangetica* subsp. micrantha (Nees) Ensermu และ อ่อมแซบ *Asystasia gangetica* subsp. gangetica ซึ่งอยู่ในวงศ์Acanthaceae เป็นพืชต่างถิ่น มีแหล่งกำเนิดเดิมมาจากทวีปแอฟริกาในเขตร้อน ใบบาหยาเป็นดอกไม้ที่มีหลายชื่อมาก เช่น เบญจรงค์ ๕ สี (เพราะมีทั้งสีขาว สีเหลือง สีม่วง สีชมพู) อ่อมแซบ, บาหยา, เพ็ญทิวา, ตำลึงหวาน, บุษบาริมทาง เป็นทั้งดอกไม้และผักสามารถนำมาทำอาหารได้หลากหลายอย่างทั้งผัดไฟแดง แกงจืด ลวกหรือกินสดจิ้มน้ำพริก กินได้ทั้งใบ ดอก ก้าน ยอดอ่อน มีสรรพคุณ บำรุงเลือด บำรุงกำลังและสายตา (ศิริพร,2559) เนื่องจากใบบาหยามีสรรพคุณและประโยชน์มากมายจึงเป็นที่น่าสนใจในการนำมาทำการทดลองเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล
2. เพื่อศึกษาผลของใบบาหยาต่อความต้านทานโรคของปลานิล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงระดับความเข้มข้นของใบบาหยาที่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล
2.ทราบระดับความเข้มข้นของใบบาหยาที่มีผลต่อความต้านทานโรคของปลานิล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

1.ปลานิล (Nile tilapia)

1.1 ประวัติความเป็นมา

ปลานิล Oreochromis niloticus เป็นปลาที่รู้จักเป็นอย่างมากในประเทศไทยมีถิ่นกำเนิดมาจากสายพันธุ์ปลา Nile tilapia จำนวน 50 ตัว สมเด็จจักรพรรดิอากิ ฮิโต สมัยครั้งยังทรง ดำรงตำแหน่งพระอิสริยยศมกุฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่น ทรงนำมาถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว (รัชกาลที่ 9) เมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ.2508 ในหลวงรัชกาลที่ 9 ทรงให้เลี้ยงไว้ในบ่อที่สวนจิตรลดา พระราชวังสวนดุสิต จนเกิดการแพร่ขยายพันธุ์จำนวนมาก

ปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เติบโตไว และมีรสชาติดี เหมาะสำหรับที่จะเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญให้แก่ประชาชนทั่วไป จึงพระราชทานปลานิลที่เพาะเลี้ยงไว้จากสวนจิตรลดาจำนวน 10,000 ตัว แก่กรมประมงเพื่อขยายพันธุ์และมอบให้แก่ประชาชนเพื่อนำไปเลี้ยงทุกภูมิภาคในประเทศ ปัจจุบันปลานิลเป็นที่รู้จักแพร่หลายและมีความนิยมบริโภคโดยทั่วไปในประเทศและสามารถส่งออกทำรายได้ให้ประเทศเราได้ถึง 900 ล้านบาทต่อปี (กรมประมง,2565)

1.2 ลำดับอนุกรมวิธานของปลานิลถูกจัดอันดับทางอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Knindom: Animalia

Phylum: Vertebrata

Class: Actinopterygii

Order: Perciformes

Family: Cichlidae

Genus: *Oreochromis*

Species: *niloticus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ชีววิทยาของปลานิล

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่ง มีถิ่นกำเนิดเดิมที่ทวีปแอฟริกา พบทั่วไปตามในหนอง บึงและทะเลสาบ ในประเทศแทนแกนยิกา ซูดาน เนื่องจากปลาชนิดนี้เติบโตไว และเลี้ยงง่าย จึงมีผู้คนสนใจเลี้ยงกันอย่างมากมาย ปลานิลมีรูปร่างลักษณะคล้ายปลาหมอเทศ ลักษณะพิเศษของปลานิลนั้น มีมีเกล็ด 4 แถวตรงบริเวณแก้ม ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน และจะมีลายพาดขวางลำตัวประมาณ 9-10 แถบ มีลักษณะนิสัยชอบอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูงตามลำคลอง หนอง แม่น้ำ และบึง เป็นปลาที่อาศัยได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย เป็นปลาที่สามารถปรับตัวให้เข้ากับธรรมชาติได้ง่าย เหมาะสมที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในบ่อได้เป็นอย่างดี (กรมประมง,2565)(ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 ลักษณะปลานิล

แหล่งที่มา:https://www4.fisheries.go.th/local/index.php/main/view_blog2/1220/64289/2315

1.4 อุปนิสัยและคุณสมบัติ

อุปนิสัยตามปกติแล้วของปลานิลเป็นชอบอยู่รวมกันเป็นฝูง (เว้นเฉพาะตอนสืบพันธุ์) อยู่ได้ทั้งในแหล่งน้ำจืด น้ำกร่อยหรือ แม้แต่บริเวณชายทะเลที่มีความเค็ม 20 ส่วนในพันส่วน ยกเว้นเวลาสืบพันธุ์ ปลานิลสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี ทนอยู่ในสภาพน้ำที่มีออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำได้ดี และสามารถอยู่ในช่วงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิกว้างมาก ระหว่าง 11-42 องศาเซลเซียส เจริญเติบโตดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 19-30 องศาเซลเซียส แต่ถ้ามีอุณหภูมิ ต่ำกว่า 16 องศาเซลเซียส จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่กินอาหาร และจะตายที่อุณหภูมิของน้ำต่ำกว่า 4.5 องศาเซลเซียส ส่วนความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 6.5-8.3 ซึ่งปลานิลจะเริ่มตายในน้ำที่มีความเป็นกรด-ด่าง 5.5-6.5 และตายหมดที่ 3.5-4.5 (ทัศนีย์,2524;มานพและคณะ,2536)

1.5 การสืบพันธุ์ของปลานิล

การผสมพันธุ์และวางไข่ปลานิลสามารถผสมพันธุ์ได้ตลอดปีโดยใช้เวลา 2-3 เดือนต่อครั้งแต่ถ้าอาหารเพียงพอและเหมาะสมในระยะเวลา 1 ปี จะผสมพันธุ์ได้ 5-6 ครั้ง ขนาดอายุและช่วงการสืบพันธุ์ของปลาแต่ละตัวจะแตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อมและสภาพทางสรีรวิทยาของปลาวิวัฒนาการของรังไข่และถุงน้ำเชื้อของปลานิลพบว่าปลานิลจะมีไข่และน้ำเชื้อเมื่อมีความยาว 6.5 เซนติเมตร (กรมประมง,2553)

1.6 การเพาะพันธุ์ปลานิล

การเพาะพันธุ์ปลานิล สามารถเพาะได้ทั้งในบ่อดิน บ่อซีเมนต์ และกระชังไนล่อนตาถี่ บ่อดินที่ใช้ในการเพาะพันธุ์และผสมพันธุ์ควรเป็นบ่อสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีขนาดตั้งแต่ 50 – 1,600 ตารางเมตร สามารถเก็บน้ำสูงได้ถึง 1 เมตร สำหรับบ่อซีเมนต์ที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ควรเป็นบ่อรูปทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือทรงกลมมีพื้นที่น้ำตั้งแต่ 10 ตารางเมตรขึ้นไปและมีความลึกของน้ำประมาณ 1 เมตร ส่วนกระชังในล่อนตาถี่ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะพันธุ์ควรมีขนาดประมาณ 5 x 8 x 2 เมตร การแขวนลอยกระชังในบ่อดิน ควรแขวนให้พื้นที่กระชังอยู่ต่ำกว่าระดับน้ำประมาณ 1 เมตร โดยไม่แตะกับพื้นก้นบ่อ พ่อแม่พันธุ์ในการเพาะพันธุ์ควรเป็นปลาที่สมบูรณ์ ไม่มีบาดแผล ปลอดจากโรคและมีขนาดที่ไล่ๆกันคือมีความยาวตั้งแต่ 15 – 25 เซนติเมตร มีน้ำหนักตั้งแต่ 150 -200 กรัม จำนวนพ่อแม่พันธุ์ที่ปล่อยลงในบ่ออยู่ที่ประมาณ 1-5 ตัวต่อตารางเมตร และควรปล่อยในอัตราส่วนพ่อพันธุ์ 1 ตัวต่อแม่พันธุ์ 2-5 ตัว ในการเพาะพันธุ์ควรให้อาหารพ่อแม้พันธุ์ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เพื่อให้ใช้เป็นพลังงานในการผสมพันธุ์เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณอาหารในบ่อควรใส่ปุ๋ยสำหรับเป็นอาหารลูกปลานิลวัยอ่อน (กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ)

1.7 การให้อาหารปลานิล

ปลานิลเป็นปลาที่สามารถกินอาหารได้เกือบทุกชนิด โดยเฉพาะพวกอาหารที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติที่มีอยู่ในบ่อ เช่น ไรน้ำ ตะไคร่น้ำ ตัวอ่อนของแมลงและสัตว์เล็กๆ ที่อยู่ในบ่อ ตลอดจนสาหร่ายและแหน ถ้าต้องการให้ปลาโตเร็วควรให้อาหารสมทบ เช่น รำ ปลายข้าว กากถั่วเหลือง กากถั่ว เป็นต้น การให้อาหารในแต่ละครั้งไม่ควรให้ในปริมาณมากจนเกินไปควรให้ในปริมาณที่เพียงพอต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความต้องการของปลา ส่วนมากควรเป็นน้ำหนักที่ 5% ของน้ำหนักปลาที่เลี้ยงถ้าให้อาหารเยอะเกินไป ปลาจะกินไม่หมดทำให้เกิดผลเสียในหลายๆอย่าง

1.8 การเจริญเติบโตและผลผลิต

ปลานิลเป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตเร็ว เมื่อได้รับการเลี้ยงดูอย่างถูกต้องและสมบูรณ์จะมีขนาดเฉลี่ย 500 กรัม/ตัว ในระยะเวลา 1 ปี และได้ผลผลิตไม่น้อยกว่า 500 กิโลกรัม/ไร่/ปี ในกรณีที่เลี้ยงในกระชังที่มีคุณภาพน้ำที่ดี มีอาหารที่อุดมสมบูรณ์สามารถให้ผลผลิตไม่น้อยกว่า 5 กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตรการเจริญเติบโตของปลานิลแสดงตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของปลานิล

อายุปลา(เดือน)	ความยาว(ซม.)	น้ำหนัก(กรัม)
3	10	30
6	20	200
9	25	350
12	30	500

แหล่งที่มา : https://www4.fisheries.go.th/file.pdf

2.องค์ประกอบของเลือดปลา

เลือดเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของระบบไหลเวียนเลือดในมนุษย์และสัตว์ ซึ่งทำงานร่วมกันอย่างเป็นระบบทำให้เซลล์สามารถดำรงชีพ และทำหน้าที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นผล ทำให้ร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้นสามารถดำรงชีพอยู่ได้อย่างปกติ เลือดจัดเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) อีกอย่างหนึ่งที่ไหลเวียนอยู่ในหลอดเลือด ดังนั้นคำว่าเลือด หมายถึงของเหลวที่มีส่วนประกอบต่างๆ ที่สำคัญต่อเซลล์ทั่วไปในร่างกายได้แก่ น้ำ , แร่ธาตุ , ไวตามิน , ฮอร์โมนและสารประกอบทางชีวเคมีอื่นๆ (ไชยณรงค์, 2545) เหมือนกับเลือดของปลาที่ประกอบด้วยส่วนที่เป็นของเหลวที่เรียกว่าน้ำเลือดและส่วนที่เป็นของแข็งเรียกว่าเม็ดเลือด(อมพร,2545) รายงานว่าส่วนประกอบของเลือดปลามีดังนี้

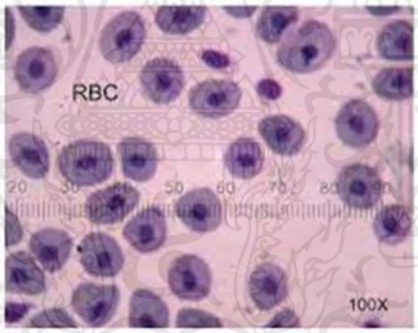
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 น้ำเลือด (Plasma)

เป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อน มีเกลือแร่ และสารอาหารที่ย่อยแล้ว ของเสียเอนไซม์แอนติบอดี แก๊ส น้ำเหลืองและฮอร์โมนละลายอยู่ หน้าที่ของน้ำเลือด คือ ช่วยละลายเกลือแร่และดูดซึมอาหารที่ย่อยแล้วรับของเสียจากเนื้อเยื่อและขับถ่ายอื่นๆรวมทั้งเอนไซม์ (Enzyme) แอนติ้บอดี้ (Antibody) และก๊าซที่ละลายอยู่

2.2 เม็ดเลือดแดง (Red blood cell)

ในเม็ดเลือดแดงมีสารที่เรียกว่า haemoglobin จะบรรจุอยู่ซึ่งเป็นตัวทำให้เม็ดเลือดแดงดูดซึมเอาแก๊สออกซิเจนได้มากกว่าน้ำ เม็ดเลือดแดงจะมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปตามชนิดของปลา ปกติจะมีรูปไข่มีความยาว 7-36 ไมครอน จำนวนของเม็ดเลือดแดงจะขึ้นอยู่กับชนิดของปลาคือ ปลาที่ว่ายน้ำเร็วก็จะมีเม็ดเลือดแดงมากกว่าปลาที่ว่ายช้า อย่างเช่น ปลาอินทรีมีเม็ดเลือดแดง 3 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตรในขณะที่ปลาทองมี 1.4 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร (ขวัญตา, 2551) ลักษณะเม็ดเลือดแดงของปลาดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ลักษณะเซลล์เม็ดเลือดแดง

แหล่งที่มา: https://www.vet.cmu.ac.th/cmvj/document/journal/4_2551.pdf

2.3 เม็ดเลือดขาว (White blood cell) (ศุภณัฐ,2559)

เม็ดเลือดขาวถือว่าเป็นเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันซึ่งคอยป้องกันร่างกายจากทั้งเชื้อก่อโรคและสารแปลกปลอมต่างๆ แบ่งออกได้เป็นชนิดต่าง ๆ

2.3.1 Granulocyte จัดเป็นสารที่เซลล์สร้างขึ้นแล้วรวมกันอยู่เป็นก้อนเล็กๆอยู่ในไซโทรพลาสซึมมีประมาณ 4-40 เปอร์เซ็นต์ ของเม็ดเลือดขาวจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 ไมครอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 Lymphocyte ทำหน้าที่สร้างแอนติบอดี(antibody) หรือ อิมมูนิติ (Immunity) และภูมิคุ้มกัน

2.3.3 Monocyte จะมีขนาดใหญ่ที่สุด ทำหน้าที่เป็นฟาโกไซต์โดยการกินแบคทีเรียบางชนิดได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถกินเชื้อโรคทุกชนิดที่มีขนาดโตซึ่งเม็ดเลือดขาวชนิดอื่นกินไม่ได้ถ้ามันกินไม่ไหวมันจะแบ่งตัวเองเพื่อให้กินสิ่งแปลกปลอม เมื่อโมโนไซต์มีขนาดใหญ่ขึ้นกลายเป็นแมโครเฟจ (Macrophage)

2.3.4 Thromboplastin จะไปทำปฏิกิริยากับสารในพลาสมาและจะจับกันเป็นร่างแห จากนั้นเม็ดเลือดจะมาติดกับร่างแหเกิดเป็นก้อนแข็งอุดรูบาดแผลเป็นการห้ามเลือดแล้วรัดตัวแน่นทำให้บาดแผลเชื่อมติดกัน

3. โรคของปลานิลและแนวทางการป้องกันรักษา

3.1 โรคปลานิล

ปลานิลมีแหล่งกำเนิดในทวีปแอฟริกา เป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตเร็ว ในปัจจุบันปลานิลเป็นปลาที่มีค่าทางเศรษฐกิจสูง ทำให้มีการเลี้ยงกันเป็นอย่างมาก ทั้งในกระชัง ในบ่อ รวมทั้งการเลี้ยงกันทั้งในน้ำจืดและน้ำกร่อย โดยพบว่าเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลส่วนใหญ่ มักเจอปัญหาการตายของปลาที่รุนแรงในปลาขนาดใหญ่อายุตั้งแต่ 3 - 4 เดือน จนถึงขนาดตั้งแต่ 200 - 800 กรัม ซึ่งสาเหตุการตายของปลามักจะเกิดในช่วงฤดูร้อนไปจนถึงต้นฤดูฝน ปลาที่เริ่มแสดงความผิดปกติจะมีอาการดังนี้ กินอาหารน้อยลง เมื่อเวลาผ่านไป 3 - 4 วัน ปลาบางส่วนจะเริ่มว่ายน้ำช้าที่ผิวน้ำ ลำตัวจะมีบาดแผลตามผิวหนัง ครีบและเกล็ด ครีบหู ครีบอกและครีบหางกร่อน ตกเลือดบริเวณโคลนครีบ ท้องจะบวมน้ำเล็กน้อย และอาจจะแสดงอาการตาโปนหรือตาขุ่นออกมาบางครั้งจะพบร่วมกับการว่ายน้ำที่ไร้ทิศทางบริเวณผิวน้ำ ในปลาที่เลี้ยงในบ่อดิน ปลาที่ป่วยส่วนใหญ่จะลอยและเริ่มทยอยแสดงอาการความผิดปกติดังกล่าวและตายโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณท้ายบ่อ อัตราการตายอาจสูงถึง 60-70% หรือปลาที่เลี้ยงในกระชังอัตราการตายอาจสูงถึง 85 – 90 % ภายใน 5–7 วันนับตั้งแต่ปลาแสดงอาการ

3.2 โรคที่สามารถเกิดขึ้นได้กับปลานิล

3.2.1 โรคจุดขาว

โรคจุดขาวเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อโรคที่มีชื่อว่า *Ichthyophthirius multifiliis* ซึ่งอาการของโรคนี้จะสังเกตุง่ายๆ โดยปลาที่เป็นโรคนี้จะมีจุดสีขาว จะมีขนาดประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร ขึ้นอยู่ตามครีบและลำตัว โดยจุดบางจุดอาจจะขึ้นติดๆกันจนมีลักษณะเป็นแถบสีขาวปลาที่เป็นโรคนี้ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะแรกจะสามารถสังเกตุได้จากการที่ปลาซึม และมีอาการครีบและหางหุบอยู่ตลอดเวลาในกรณีที่เป็นหนักปลาจะมีอาการหายใจแรงและหยุดกินอาหาร เชื้อโรคชนิดนี้จะมีวงจรชีวิตแบ่งเป็น 4 ขั้นตอนด้วยกัน โดยเริ่มแรกนั้นเชื้อโรคจุดขาวอาจจะติดเข้ามากับน้ำ หรือปลาที่เอามาเลี้ยงใหม่ ตัวโตเต็มวัยของเชื้อโรคจะแทรกซึมอยู่ในผิวหนังของปลาและไปรบกวนระบบต่างๆในร่างกาย (นณณ์,2545)

3.2.2 ปลิงใส (monogenes)

ส่วนใหญ่จะพบเกาะอยู่ตามซี่เหงือกหรือบริเวณผิวหนังที่พบอยู่ในปลาน้ำจืดคือ *Gyrodactylus* sp. และ *Dactyrogyrus* sp. ส่วนปลิงใสที่มักพบในปลานิล ชื่อว่า *Cichlidogyrus* sp. ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะอยู่อาจจะมีสีตามลำตัวเข้มกว่าปกติกินอาหารน้อยลง หากมีเกาะบริเวณซี่เหงือกในปริมาณมากอาจจะทำให้เหงือกอักเสบและทำให้การแลกเปลี่ยนอากาศของปลาลดลงส่งผลทำให้ปลาตายได้เช่นกันพบปรสิตกลุ่มนี้ได้ในปลาเกือบทุกชนิดวิธีการรักษาเช่นเดียวกับเห็บระฆังคือใช้ฟอร์มาลิน 25 – 50 ซีซีต่อน้ำ 1,000 ลิตร (ชนกันต์,2556)

3.2.3 *Saprolegnia sp.*

โรคปลาที่เกิดจากเชื้อรา เชื้อราที่พบเป็นกลุ่ม *Achly* sp. หรือ *Saprolegnia sp.* โดยพบสปอร์ของเชื้อราอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำส่วนใหญ่จะติดเชื้อในไข่ที่มีการฟักที่ไม่ดี มักเป็นการติดเชื้อแทรกซ้อน (secondary infection) (ชนกันต์,2556)

3.2.4 เห็บปลา (Fish Louse)

ปลาที่มีเห็บปลาเกาะจะสังเกตได้คือเห็นพยาธิรูปร่างกลมสีเขียวปนน้ำตาลที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5–7 มิลลิเมตร พบตามลำตัวและครีบในปลามีเกล็ด เช่น ปลานิล ปลาตะเพียนปลาช่อนเป็นต้น ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะเยอะจนเกินไปอาจจะทำให้เกิดแผลตกเลือดปลาว่ายน้ำทุรนทุรายและพยายามถูตัวเองกับข้างบ่อหรือตู้เพื่อให้ปรสิตหลุดออกรักษาโดยการแช่ปลาในสารละลายยาฆ่าแมลงกลุ่มไตรคลอฟอน 0.5 – 0.75 กรัมต่อน้ำ1,000 ลิตร หรือ ดิพเทอร์เรกซ์ (dipterex) 0.25 – 0.5กรัมต่อน้ำ 1,000 ลิตร(ชนกันต์,2556)

3.2.5 หนอนสมอ

หนอนสมอมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lernaea sp.* จัดอยู่ในกลุ่มไฟลัมเป็นพวกเดียวกันกับแมลง และ กุ้ง ปู หรือกลุ่มโคพีพอดต่าง ๆ ซึ่งเป็นครอบครัวของหนอนสมอชนิดต่าง ๆ หนอนสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นพยาธิที่พบในปลาน้ำจืดการแพร่ระบาดของโรคนี้มักจะพบในช่วงฤดูร้อนมากกว่าฤดูอื่นและสามารถแพร่กระจายเชื้อไปอย่างรวดเร็ว

3.2.6 โรคจากแบคทีเรีย

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียลักษณะการติดเชื้อทางแบคทีเรียจะมีลักษณะคล้ายๆกันจะมีการตกเลือด มีแผลตามลำตัว ครีบกร่อน มีน้ำในช่องท้อง ไม่กินอาหาร ที่พบบ่อยมี 2 ชนิด คือ

3.2.6.1.โรคที่เกิดจากเชื้อแอโรโมแนส (*Aeromonas hydrophila*)เป็นโรคที่มีก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจและมักพบบ่อยในบ่อที่เลี้ยงโดยให้อาหารสดหรือการเลี้ยงแบบผสมผสาน จะพบเชื้อแบคทีเรียนี้ในแหล่งน้ำที่มีสารอินทรีย์ปริมาณสูง สาเหตุเหนี่ยวนำให้ปลาติดเชื้อ ได้แก่ ความเครียดหรือการบาดเจ็บจากการขนส่งการเคลื่อนย้าย ปริมาณออกซิเจนที่ต่ำ การให้อาหารทีมีคุณภาพไม่เหมาะสมรวมทั้งบาดแผลที่เกิดจากปรสิตปลาติดเชื้อจะว่ายน้ำเฉื่อยชา ไม่กินอาหาร ครีบกร่อน มีการตกเลือด เกิดบาดแผล ท้องบวม ตับเหลือง มีการตกเลือดบริเวณลำไส้

3.2.6.2.โรคคอลัมนาริสเกิดจากเชื้อฟลาโวแบคทีเรียม(Flavobacterium columnarae)ชื่อเดิมคือ แฟลกซิแบคเตอร์ (Flexibacter columnaris) โรคนี้มักเกิดจากปัจจัยต่างๆเหนี่ยวนำ เช่น ความเครียดจากการขนส่ง โดยเฉพาะในช่วงหน้าร้อน และการเปลี่ยนแปลงอากาศกะทันหัน อาการทางคลินิก ลำตัวปลามีสีด่างซีดเป็นแถบ ๆ มีเมือกมาก ครีบและเหงือกกร่อน อาจมีสีเหลืองเกิดขึ้นบริเวณบาดแผลการป้องกันการระบาดของโรค ทำได้โดยการลดความบอบช้ำจากการจับและคัดขนาดปลาไม่เลี้ยงปลาหนาแน่นเฝ้าระวังอย่าให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำ(ชนกันต์,2556)

3.2.6.3. โรคติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus spp.*) อาการของปลาที่เป็นโรคมีตาขุ่นขาวและโปนไม่ค่อยว่ายน้ำ ลอยนิ่ง บางตัวว่ายน้ำควงสว่าน ช่องขับถ่าย บวมแดง พบระบาดรุนแรงในหน้าร้อน สามารถทำให้ปลาตายจำนวนมากในเวลาอันสั้นหากมีการติดเชื้อรุนแรง Mian et al. (2000) รายงานว่าอัตราการตายจากโรคนี้พบสูงเมื่ออุณหภูมิน้ำสูงกว่า 26 °C โรคติดเชื้อนี้สามารถติดต่อจากปลาที่เป็นโรคที่อาศัยอยู่ในบ่อหรือกระชังเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 แนวทางการป้องกันการเกิดโรค

เพื่อให้การป้องกันโรคอย่างมีประสิทธิภาพเกษตรกรควรมีหลักการในการปฏิบัติดังต่อไปนี้

3.3.1 เน้นการจัดการในช่วงวิกฤติ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ช่วงที่มีอากาศร้อนมากๆ หรือฝนตกติดต่อกันหลายวัน อุณหภูมิเปลี่ยนฉับพลัน โดยเฉพาะช่วงฤดูร้อนต่อฤดูฝนและช่วงปลายฝนต้นหนาวเกษตรกรป้องกันการการระบาดของโรคโดยการเสริมวิตามินที่จำเป็น อย่างเช่น วิตามินซี (3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) กับการให้ยาปฏิชีวนะ (3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) ติดต่อกันเป็นเวลา 5-7 วันจนกว่าเข้าสู่สภาวะอากาศจะกลับเข้าสู่ภาวะปกติ

3.3.2 ไม่ควรเลี้ยงปลาในอัตราที่หนาแน่นสูง หรือควรหลีกเลี่ยงการเลี้ยงปลาในบางช่วงเวลา โดยเฉพาะการเลี้ยงในช่วงเวลาวิกฤติ เนื่องจากปลาจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค นอกจากนี้การปล่อยปลาในอัตราที่หนาแน่นต่ำจะช่วยให้การปรับสภาพการเลี้ยงทำได้ง่ายขึ้น

3.3.3 ระวังการเปลี่ยนของคุณภาพน้ำ หากเป็นไปได้ควรติดตั้งเครื่องให้อากาศเพื่อเติมอากาศในน้ำอยู่ตลอดให้พอต่อความต้องการของปลาโดยเฉพาะในช่วงเวลากลางคืนจนถึงช่วงเช้าตรู่และช่วงฟ้าปิดติดต่อกันหลายวัน

3.3.4 การเพิ่มแหล่งของเกลือแร่ให้แก่ปลาโดยการเติมเกลือแกง ในช่วงระยะเวลาวิกฤติปลาส่วนใหญ่จะทำเกิดความเครียดได้ง่ายและอาจจะส่งผลทำให้ปลาสูญเสียระบบควบคุมสมดุลของน้ำและเกลือแร่การให้เกลือแกงจะช่วยชดเชยเกลือที่สูญเสียไประหว่างเกิดความเครียด ทำให้ระบบต่างๆของร่างกายปลาสามารถทำงานต่อไปได้อย่างต่อเนื่อง

3.3.5 ไม่ควรใช้ยาและสารเคมีอย่างพร่ำเพรื่อ เพราะอาจจะทำให้เป็นการสูญเสียค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงโดยไร้สาเหตุแล้วการใช้ยาและสารเคมียังมีผลทำให้เชื้อโรคเกิดการดื้อยา ทำให้เมื่อเกิดโรคแล้ว อาจส่งผลให้การใช้ยาและสารเคมีดังกล่าวไม่สามารถใช้ในการควบคุมโรคได้

4.ใบบาหยา

4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นต้นไม้ล้มลุกที่มีอายุหลายปี พุ่มมีขนาดเล็ก สูงประมาณ 30-60 เซนติเมตร กิ่งจะเป็นเหลี่ยม สีเขียว แตกแขนง เลื้อยไปตามผิวดิน ปลายกิ่งชูตั้งขึ้นใบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามเป็นคู่ รูปหัวใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลายแหลม โคนเว้า สีเขียวเข้มปะปนเขียวอ่อนอมเหลือง ผิวด้านบนเรียบมัน ผิวด้านล่างมีขนสั้นนุ่ม ดอก ช่อดอกแบบช่อกระจะ ออกที่ปลายกิ่ง ดอกสีม่วง โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอดหรือรูปถ้วย ปลายแยกเป็น 5 แฉก กลีบค่อนข้างกลม ก้านชูอับเรณูแนบติดไปกับหลอด ข้อมูลทั่วไปเป็นพันธุ์ไม้ต่างประเทศ มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย และศรีลังกา

ภาพที่ 3 ลักษณะใบบาหยา

แหล่งที่มา: https://www.siamplants.com/2020/04/Asystasia-gangetica-subsp-micrantha.html

4.2 ลำดับอนุกรมวิธานของใบบาหยา

ใบบาหยา หรือ ต้นอ่อมแซบและบุษบาริมทาง ล้วนเป็นชนิดเดียวกัน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Asystasia gangetica* แต่แยกเป็นชนิดย่อย คือ บาหยา *Asystasia gangetica* subsp. micrantha (Nees) Ensermu และ อ่อมแซบ *Asystasia gangetica* subsp. gangetica ซึ่งอยู่ในวงศ์ Acanthaceaeมีการจัดลำดับอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

ลำดับอนุกรมวิธานของใบบาหยา

Kingdom: Plantae

Rating: Lamias

family: Acanthaceae

Surname: Asystasia

Species: *A. gangetica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ข้อมูลทั่วไป ถิ่นอาศัย, แหล่งที่พบ

เป็นพืชต่างถิ่น มีแหล่งกำเนิดเดิมมาจากทวีปแอฟริกาในเขตร้อน บาหยาสายพันธุ์นี้ถูกปรับปรุงพันธุ์เป็นไม้ประดับ มีทั้งที่ปลูกและขึ้นได้เองตามธรรมชาติทั่วประเทศ ชอบที่กลางแจ้ง ที่ความสูงไม่เกิน 1,500 ม. จากระดับทะเลปานกลาง

4.4 สรรพคุณ (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

4.4.1 ตำรายาไทย ใบ แก้ปวดบวม แก้ปวดตามข้อ ถ่ายพยาธิ

4.4.2 ชนเผ่าทมิฬนาฑู ประเทศอินเดีย ทั้งต้น ใช้รักษาโรคข้อรูมาติซึม ราก ใช้ภายนอกแก้ผื่นแพ้ที่ผิวหนัง ใบรักษาเบาหวาน

4.4.3 ประเทศแอฟริกาใต้ใช้ ทั้งต้น กินเป็นผัก น้ำสกัดจากต้นใช้ขับพยาธิ แก้อาการบวม รักษาโรคข้อรูมาติซึม โรคโกโนเรีย รักษาโรคหู

4.4.4 ประเทศไนจีเรียใช้ ใบ เป็นยาเฉพาะที่ รักษาหอบหืด

4.5 องค์ประกอบทางเคมี(คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

ดอกพบไบฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่ apigenin 7-O-glucosyl (3'⟶6"), luteolin 7"-O-glucoside ส่วนเหนือดินพบ asysgangoside, 5,11-epoxymegastigmane glucoside, salidroside, benzyl beta-D-glucopyranoside, (6S,9R)-roseoside, ajugol, apigenin 7-O-neohesperidoside

4.6 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)

4.6.1 สารสกัด เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลจากทั้งต้น มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมลบ และแกรมบวก และเชื้อราหลายชนิด

4.6.2 สารสกัดน้ำและเมทานอลจากลำต้นและใบ มีฤทธิ์ลดปวด และต้านการอักเสบในหนูทดลอง

4.6.3 สารสกัดเอทานอลจากใบ มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล และไขมันในเลือด ในหนูทดลองสารสกัดเมทานอลจากใบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง

4.6.4 สารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลจากใบ มีฤทธิ์ลดสารฮีสตามีนจากโรคหอบหืดจากการทดสอบด้วยชุดทดสอบแบบ in vitro

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

วัสดุและสัตว์ทดลอง

1. สัตว์ทดลอง : ปลานิลจำนวน 400 ตัว
2. ใบบาหยา
3. อาหารทดลอง

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.สำหรับใช้เลี้ยงปลานิล

- 1.1 ถังพลาสติก 500 ลิตร จำนวน 16 ถัง
- 1.2 สายออกซิเจน
- 1.3 หัวทราย
- 1.4 เครื่องให้อากาศ

2. สำหรับตรวจค่าโลหิตวิทยา

- 2.1 เข็มเจาะเลือด
- 2.2 หลอดสำหรับใส่ตัวอย่างเลือด
- 2.3 หลอดแคปิลลารี
- 2.4 แผ่นอ่านค่าฮีมาโตคริต
- 2.5 เครื่องปั่นฮีมาโตคริต
- 2.6 Hemocytometer
- 2.7 กล้องจุลทรรศน์

3.สำหรับการเตรียมใบบาหยา

- 3.1 เครื่องปั่น
- 3.2 ตู้อบลมร้อน
- 3.3 ตาชั่งดิจิตอล

4. อุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหาร

- 4.1 ตาชั่งดิจิตอล
- 4.2 ช้อนตักวัตถุดิบ
- 4.3 ถาด
- 4.4 กะละมัง
- 4.5 ถุงใส่อาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 เครื่องอัดเม็ดอาหารสำเร็จรูป

5.สำหรับการทดลองความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

5.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)

5.2 เครื่องเขย่าสาร (Shaker)

5.3 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

5.4 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

5.5 ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)

5.6 Flask ขนาด 250 ml

5.7 Corning tube ขนาด 50 ml

5.8 Micro centrifuge tube ขนาด 1.5 ml

5.9 Micropipette tip

5.10 Micropipette

5.11 96 well plate

5.12 plate

5.13 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

5.14 แท่งแก้วสามเหลี่ยม (Spreader)

5.15 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

5.16 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

5.17 ตะเกียงแอลกอฮอล์

6.เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

- Steptococcus agalectiae

7.อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Streptococcus agalectiae
- Tryptic soy agar

8.สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

8.1 ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolve oxygen)

8.1.1 ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ

8.1.2 ขวด BOD 300 ml

8.1.3 กระบอกตวง

8.1.4 บีกเกอร์

8.1.5 ขวดรูปชมพู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.1.6 ปิเปต

8.1.7 บิเรท ขาตั้ง ชุดจับบิวเรท

8.1.8 หลอดหยด

8.1.9 ลูกยางปิเปต 3 ทาง

8.1.10 สารเคมี

- Manganese Sulphate (MnSo4)
- สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ (AIA)
- sulphuric acid (H2SO4)
- น้ำแป้ง (Solution)

8.2 ไนไตรท์

8.2.1 ลูกยางปิเปต 3 ทาง

8.2.2 ปิเปต

8.2.3 ขวดปรับปริมาตร

8.2.4 หลอดแก้วทดลอง

8.2.5 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

8.2.6 สารเคมี

- Dilute NaNo2
- NED (N-1-(NAPHTHYL)-ETHYLENEDIAMINE-DI HYDROCHLORIDE)
- Sulphanilamide

8.3 แอมโมเนีย

8.3.1 ลูกยางปิเปต 3 ทาง

8.3.2 ปิเปต

8.3.3 ขวดปรับปริมาตร

8.3.4 หลอดแก้วทดลอง

8.3.5 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

8.3.6 สารเคมี

- Dilute (NH4)2SO4
- Phenol
- Sodiumnitro
- Oxidizing

8.4 อุณหภูมิและค่า PH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.4.1 เครื่องวัดค่ากรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิแบบตั้งโต๊ะ

9.วัตถุดิบสำหรับการทำอาหาร

9.1 ปลาป่น

9.2 รำละเอียด

9.3 ปลายข้าว

9.4 ข้าวโพด

9.5 แกลบ

9.6 กากถั่วเหลือง

9.7 น้ำมันรำข้าว

9.8 น้ำมันทูน่า

9.9 วิตามินและแร่ธาตุรวม

9.10 บีเอชที กันหืน

9.11 แคลเซียมโปรปิดอเนต 80 เปอร์เซ็นต์

9.12 น้ำร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและกิจกรรมของเม็ดเลือดในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม

1.วางแผนการทดลอง

การศึกษาผลของใบบาหยาต่อค่าโลหิตวิทยาและกิจกรรมของเม็ดเลือดในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของปลานิลวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด(completely Randomized Desing ;CRD) แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง (Treatment) ในแต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ (Replication) รวมเป็น 16 หน่วยการทดลอง (Experimental)

ชุดการทดลองที่ 1 (T1) : อาหารปลานิลไม่ผสมใบบาหยา (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 (T2) : อาหารปลานิลผสมใบบาหยา 5 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 (T3) : อาหารปลานิลผสมใบบาหยา 10 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 4 (T4) : อาหารปลานิลผสมใบบาหยา 15 เปอร์เซ็นต์

2. การเตรียมการทดลอง

2.1 คัดเลือกปลานิลที่มีขนาดความยาว 2 เซนติเมตร จำนวน 400 ตัว ที่ได้จากพ่อแม่ชุดเดียวกัน นำปลาทั้งหมดมาปรับให้เข้ากับสภาพดการทดลองในถังทดลองก่อนการทดลอง ความหนาแน่น 25 ตัวต่อถัง จำนวน 16 ถังมีการให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 07.00 น. กับ 16.00 น. ในอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปลา

2.2 ทำการเก็บใบบาหยามาทำความสะอาด จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักใบสดแล้วจดบันทึกเพื่อดูน้ำหนักระหว่างการอบว่าลดลงเท่าไหร่ และนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และหมั่นมาพลิกกับด้านเพื่อให้ใบบาหยาโดนความร้อนเท่ากันและคอยชั่งน้ำหนักจนคงที่โดยใบบาหยามีเปอร์เซ็นต์ Yeild เท่ากับ 6.419±0.450 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำใบบาหยาที่อบแห้งแล้วนำไปบด เพื่อเตรียมไปผสมกับอาหารต่อไป

2.3 การเตรียมอาหารทดลอง

ชั่งวัตถุดิบตามตารางที่ 2 นำวัตถุดิบแต่ละชนิดมาผสมให้เข้ากันโดยมีลำดับขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. นำปลาป่น รำข้าว ข้าวโพด ใบบาหยา แกลบ มาผสมให้เข้ากัน
2. ใส่ บีเอชที วิตามินและแร่ธาตุรวม แคลเซียมโปรปิโอเนต 80% ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วใส่น้ำมันทูน่า น้ำมันรำข้าว จากนั้นใช้เครื่องคนให้เข้ากัน
3. นำปลายข้าวและกากถั่วเหลืองผสมคลุกเคล้ากับน้ำร้อน จากนั้นนำไปผสมกับส่วนผสมที่เตรียมไว้แล้วคลุกเคล้าให้เข้ากัน
4. นำไปเข้าเครื่องอัดอาหารจะได้อาหารเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร เสร็จแล้วนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนจนกว่าอาหารจะแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ(กรัม)	สูตรอาหาร			
	0%	**5%**	**10%**	**15%**
ปลาป่น	200	200	200	200
กากถั่วเหลือง	360	360	360	360
รำข้าว	150	100	50	0
ข้าวโพด	90	90	90	90
ปลายข้าว	156.9	155.4	153.9	152.6
ใบบาหยา	0	50	100	150
น้ำมันรำข้าว	0	4.9	9.9	14.9
น้ำมันทูน่า	20	20	20	20
วิตามินและแร่ธาตุรวม	10	10	10	10
วิตามินซี 30%	0.3	0.3	0.3	0.3
บีเอชที กันหืน	0.2	0.2	0.2	0.2
แคลเซียมโปรปิโอเนต 80%	2	2	2	2
แกลบ	10.6	7.2	3.7	0
รวม	1000	1000	1000	1000
น้ำ (มิลลิลิตร)	400	400	400	400

การทดลอง

การเลี้ยงสัตว์ทดลอง

เลี้ยงปลานิลโดยการให้อาหารตามชุดการทดลองทั้งหมด 4 สูตร โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ช่วงเช้าเวลา 07.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 น. ในอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวปลาเป็นเวลา 8 สัปดาห์โดยทำการปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก 2 สัปดาห์

การตรวจวัดคุณภาพน้ำ

คุณสมบัติของน้ำที่ตรวจสอบระหว่างการทดลองได้แก่

- ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO)
- ค่าไนไตร์
- ค่าแอมโมเนียร์
- อุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ความเป็นกรด-ด่าง(pH)

3.การรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

ทำการสุ่มปลาถังละ 1 ตัวจากแต่ละชุดการทดลองมาฉีดเชื้อ *Steptococcus agalectiae* ที่ความเข้มข้นเชื้อเท่ากับ 1.03 x 10^9 CFU/ml ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรต่อตัวทิ้งไว้นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นปลาจะถูกเจาะเลือดเพื่อมาทดสอบค่าโลหิตวิทยาและขบวนการจับสิ่งแปลกปลอม

3.1 ทำการเจาะเลือดปลาด้วยเข็มฉีดยาเบอร์ 22 G และกระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร ซึ่งกลั้วด้วย EDTA ปริมาณ 0.5 mol เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด เจาะเลือดปลาปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำเลือดที่ได้มาศึกษาค่าโลหิตวิทยาและกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม

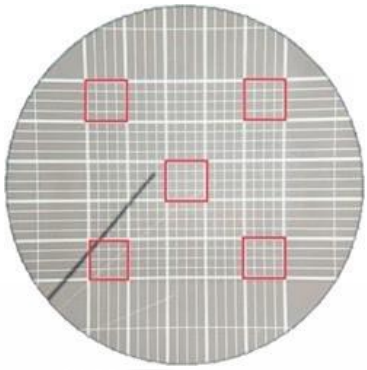
3.2 การหาค่า Haematocrit index (Hl)

การวัดปริมาณของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Pack red blood cell volume) หรือฮีมาโตคริตในปลาทั่วไปจะใช้วิธี microhaematocrit method เป็นการบรรจุเลือดปลาลงใน Capillary tube แล้วปิดด้านหนึ่งของหลอดด้วยดินน้ำมันนำหลอดไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Haematocrit 24 (Hettich centifugen,Thailand)ด้วยความเร็ว 10,000 ต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาทีบันทึกค่า Haematocrit index

3.3 การหาค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวทั้งหมด
(Total erythrocyte/leucocyte count)

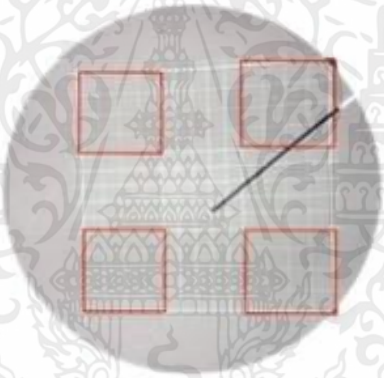
การนับปริมาณเม็ดเลือดแดงโดยการเจือจางเลือดปลาในสาร Dacie's fluid ในอัตราส่วน 1:250 (ใช้เลือดปลา 20 ไมโครลิตรผสมกับ Dacie's fluid ปริมาตร 4,980 ไมโครลิตร)และการนับเม็ดเลือดขาวจะเจือจางเลือดปลาในสารละลายของสีย้อม Turk's solution ในอัตราส่วน1:100(ใช้เลือดปลา 20 ไมโครลิตรผสมกับ Turk's solution ปริมาตร 1,980 ไมโครลิตร)แล้วนับจำนวนด้วยสไลด์นับเม็ดเลือด (Cell Counting Chamber หรือ Hemocytometer) ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดจะได้จากการนับปริมาณเม็ดเลือดแดงที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมเล็กทั้ง4มุมรวมกันกับช่องตรงกลาง(R)(ภาพที่4) ของช่องสี่เหลี่ยมใหญ่กลางสไลด์นับเม็ดเลือดส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาวที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมใหญ่ (W)ทั้ง4มุม(ภาพที่5)แล้วคำนวณเทียบกับปริมาตรของเม็ดเลือดทั้งหมดในสไลด์นับเม็ดเลือดและสัดส่วนการเจือจางจาก(dilution factor)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 ลักษณะการนับเม็ดเลือดแดง

แหล่งที่มา : https://www.mitthai.com/topic/viewtopic.php?t=7419



ภาพที่ 5 ลักษณะการนับเม็ดเลือดขาว

แหล่งที่มา : https://www.amphur.in.th/cells-calculator-medical-application-for-%20android?amp

3.4 การทดสอบกระบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis activity)

3.4.1 การแยกเซลล์เม็ดเลือดขาว : ดูดเลือดปลาปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองแล้วเติมสาร RPMI medium 1 มิลลิลิตร พลิกหลอดไปมาเพื่อให้สารละลายผสมกันจากนั้นนำ Dilution Blood ที่ได้เติมในหลอดทดลองที่มี Lymphoprep ในปริมาตร 1 มิลลิลิตรนำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 400 g รอบ/นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาทีจากนั้นดูดชั้น Buftycoat ใส่หลอดใหม่แล้วนำไปปั่นให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 100 g นาน 10 นาทีจากนั้นดูดส่วนที่ใสทิ้งล้างเซลล์ด้วยด้วย RPMI medium ปริมาตร 1 มิลลิลิตรนำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยความเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100 g รอบ/นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที(ขั้นตอนการล้างทำซ้ำประมาณ 2-3 ครั้ง) ปรับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวให้ได้ $2x10^7$เซลล์ต่อมิลลิลิตร

3.4.2 การศึกษา Phagocytosis activity : นำเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ปรับความเข้มข้นแล้วปริมาตร 200 ไมโครลิตรหยดลงบน cover slip ทิ้งไว้ให้เซลล์ยึดเกาะ 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องล้างเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ไม่ยึดติดด้วย RPMI medium ประมาณ 3 ครั้งเติม Latex bead (ความเข้มข้น $2x10^7$เซลล์ต่อมิลลิลิตร)ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงบนแผ่น cover slip บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วล้างด้วย RPMI medium ประมาร 3 ครั้ง ย้อม cover slip ด้วยสีย้อม diff-quick staining แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ทิ้งให้แห้งแล้วทำการนับเม็ดเลือดขาวที่กินเซลล์และจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดด้วยกล้องจุลทรรศน์จำนวน 200 เซลล์ต่อ 1 cover slip เพื่อคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ Phagocytosis activity (PA) จากสูตร

- **Phagocytosis activity (%) =** (จำนวนเซลล์เม็ดเลือดที่มีการกินเม็ด **Latex bead** / เซลล์เม็ดเลือดทั้งหมดที่สังเกต) x 100
- **Phagocytosis index =** (จำนวนเซลล์เม็ดเลือดที่มีการกินเม็ด **Latex bead** / จำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมดที่สังเกต) x (จำนวนเม็ด x จำนวนเม็ด **Latex bead** ที่ถูกกิน / จำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมดที่สังเกต) x 100
- **Average number of the bead ingested per cell (ABPC) =** (จำนวนเม็ด Latex bead ที่ถูกกิน / จำนวนเซลล์เม็ดเลือดที่มีการกินเม็ด Latex bead)

5.การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ความแปรปรวน(Analysis of variance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอดที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการของ Duncan’s new multiple range test

6.ระยะเวลาทำการ

ใช้เวลาในการศึกษาการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

7.สถานที่ทำการทดลอง

หมวดงานน้ำจืดและอาคารปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ ห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 การทดสอบความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Steptococcus agalectiae*

1.การวางแผนการทดลอง

การศึกษาใบบาหยาต่อความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Steptococcus agalectiae* ในปลานิล โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely Randomized Desing ; CRD) มี 4 ชุดการทดลอง (Treatment) ในแต่ละชุดการทดลองมี 4 ซ้ำ (Replication) รวมเป็น 16 หน่วยการทดลอง (Experimental) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 (T1) : อาหารปลานิลไม่ผสมใบบาหยา (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 (T2) : อาหารปลานิลผสมใบบาหยา 5 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 (T3) : อาหาปลานิลรผสมใบบาหยา 10 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 4 (T4) : อาหารปลานิลผสมใบบาหยา 15 เปอร์เซ็นต์

2. การเตรียมการทดลอง

2.1 การเตรียมการทดลอง

ใช้ปลาทดลองชุดเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2 การเตรียมอาหารทดลอง

ใช้อาหารทดลองเดียวกับการทดลองที่ 1

3.การเลี้ยงสัตว์ทดลอง

เลี้ยงปลานิลโดยการให้อาหารตามชุดการทดลองทั้งหมด 4 สูตร โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ช่วงเช้าเวลา 07.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 น. ให้อาหาร 5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวปลาเป็นเวลา 8 สัปดาห์โดยทำการปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก 2 สัปดาห์

4.การทดลอง

หลังจากเลี้ยงปลานิลครบ 8 สัปดาห์ นำปลานิลทั้ง 4 ชุดการทดลองมาทดสอบความต้านทานเชื้อ*Steptococcus agalectiae* โดยคัดปลามาถังละ 10 ตัว จำนวน 16 ถัง โดยนำมาฉีดเชื้อ *Steptococcus agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น 1.82×10^9 CFU/ml ฉีดเข้าบริเวณช่องท้องตัวละ 0.2 มิลลิลิตร บันทึกการตายของปลาเป็นเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ความแปรปรวน(Analysis of variance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอดที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการของ Duncan’s new multiple range test

6.ระยะเวลาทำการ

ใช้เวลาในการศึกษาการทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

7.สถานที่ทำการทดลอง

หมวดงานน้ำจืดและอาคารปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ ห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล

1.ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Haematocrit index)

จากการศึกษาค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาระดับ0(ชุดควบคุม), 5, 10, 15 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดเชื้อ *S. agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้นที่ $1.03x10^9$ CFU/ml นาน 3 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 27.50±3.10 , 20.25±5.90 , 22.25±3.30 และ 21.75±2.06 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมหลังฉีด Nacl 0.85 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 24.00±1.15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบที่ว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ทุกระดับความเข้มข้นมีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) (ตารางที่ 3)

2.จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (Total red blood cells, RBC)

จากการศึกษาค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมดของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาระดับ 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดเชื้อ *S. agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น $1.03x10^9$ CFU/ml นาน 3 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ $(1.35±0.20)x10^9$, $(1.70±0.21)x10^9$, $(2.49±0.65)x10^9$ และ $(1.56±0.18)x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับและปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมหลังฉีด0.85 % Nacl มีค่าเท่ากับ $(1.32±0.18)x10^9$เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบที่ว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ*S. agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl ($P>0.05$) สำหรับปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ*S. agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl ($P>0.05$)(ตารางที่ 3)

3.จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (Total white blood cell, WBC)

จากการศึกษาค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาระดับ 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดเชื้อ *S.agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น $1.03x10^9$ CFU/ml นาน 3 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ $(2.95±0.36)x10^9$, $(2.64±0.38)x10^9$, $(2.43±0.58)x10^9$ และ $(2.34±0.27)x10^9$เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับและปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมหลังฉีด 0.85 % Nacl มีค่าเท่ากับ $(1.57±0.16)\ x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบที่ว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ *S.agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(P>0.05)สำหรับปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์มีค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ *S. agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl (P>0.05) (ตารางที่ 3)

4.ขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอม (Phagocytic activity)

4.1 Phagocytic activity ความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอม

จากการศึกษาทดสอบกิจกรรมของเม็ดเลือดขาวในการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาระดับ 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดเชื้อ *S.agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น $1.03x10^9$ CFU/ml นาน 3 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 44.38±5.34, 61.88±6.57, 50.38±4.96 และ 39.50±10.49 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมหลังฉีด 0.85 % Nacl มีค่าเท่ากับ 35.50±0.58 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบที่ว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ *S.agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl สำหรับปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ*S.agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl (P>0.05)(ตารางที่ 3)

4.2 Phagocytic index ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม

จากการศึกษาค่าดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอมของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาระดับ 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดเชื้อ *S.agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น $1.03x10^9$ CFU/ml นาน 3 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 28.21±5.13, 89.42±28.21, 36.85±6.40 และ 23.17±10.60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมหลังฉีด 0.85 % Nacl มีค่าเท่ากับ 13.77±0.73 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบที่ว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ*S.agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl (P>0.05) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอมไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ*S.agalectiaec* และฉีด0.85 % Nacl (P>0.05)(ตารางที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 Average number of the bead ingested per cell (ABPC) ค่าจำนวนเม็ด Latex bead ที่ถูกกินต่อหนึ่งเซลล์

จากการศึกษาค่าจำนวนเม็ด Latex bead ที่ถูกกินต่อหนึ่งเซลล์ของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาระดับ 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดเชื้อ *S.agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น $1.03x10^9$ CFU/ml นาน 3 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1.43±0.12 , 2.30±0.39, 1.45±0.05 และ 1.47±0.21 เม็ดต่อหนึ่งเซลล์ตามลำดับและปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมหลังฉีด 0.85 % Nacl มีค่าเท่ากับ 1.09±0.02 เม็ดต่อหนึ่งเซลล์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบที่ว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจำนวนเม็ด Latex bead ที่ถูกกินต่อหนึ่งเซลล์สูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ*S.agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl (P>0.05) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจำนวนเม็ดเลือด Latex bead ที่ถูกกินต่อหนึ่งเซลล์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อ *S.agalectiaec* และฉีด 0.85 % Nacl (P>0.05)(ตารางที่ 3)

การทดลองที่ 2 การทดสอบความต้านทานต่อเชื้อ *Steptococcus agalectiae*

จากการศึกษาความต้านทานต่อเชื้อโรคโดยการฉีดเชื้อ *Steptococcus agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น $1.82x10^9$ CFU/ml นาน 14 วันพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของใบบาหยาที่ระดับ 0(ชุดควบคุม) , 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 77.50 ± 9.57, 95.00±5.77 , 87.50±12.58 และ 85.00±12.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบที่ว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ทุกระดับความเข้มข้น มีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดควบคุมแต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)(ตารางที่ 4)

คุณภาพน้ำ

ค่าคุณภาพน้ำจากการเก็บผลการทดลองเลี้ยงปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาในระดับ 0 (ชุดควบคุม) , 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.57±0.14 – 6.69±0.01 อุณหภูมิอยู่ในช่วง 29.42±0.91 – 29.45±0.91 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำอยู่ในช่วง 4.22±0.67 – 4.55±0.42 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.24±0.19 – 0.33±0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.27±0.92 – 0.38±0.09 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมไม่เป็นอันตรายต่อการเลี้ยงปลานิลดังรายงานกรมประมง (2554) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) มีค่าอยู่ระหว่าง 6.5-8.0 อุณหภูมิอยู่ 25-32 องศาเซลเซียส ค่าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (D.O.) ไม่ต่ำกว่า 4 มิลิลกรัมต่อลิตร ปริมาณไนไตรท์ไม่ควรเกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณแอมโมเนียไม่ควรเกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ค่าโลหิตวิทยาและขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมในเม็ดเลือดของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของใบบาหยาในระดับที่ต่างกัน

ลักษณะการศึกษา	ระดับความเข้มข้นของใบบาหยา(เปอร์เซ็นต์)					
	0.85% Nacl	0%	5%	10%	15%	P-Values
ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น(%) ns	24.00±1.15	27.50±3.10	20.25±5.90	22.25±3.30	21.75±2.06	0.085
จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง ($x10^9$cell/ml)	1.32±0.18^{b}	1.35±0.20^{b}	1.70±0.21^{b}	2.49±0.65^{a}	1.56±0.18^{b}	0.001
จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว ($x10^9$cell/ml)	1.57±0.16^{c}	2.95±0.36^{a}	2.64±0.38^{ab}	2.43±0.58^{ab}	2.34±0.27^{b}	0.002
Phagocytic activity (%)	35.50±0.58^{c}	44.38±5.34^{bc}	61.88±6.57^{a}	50.38±4.96^{b}	39.50±10.49^{c}	0.000
Phagocytic index	13.77±0.73^{c}	28.21±5.13^{bc}	89.42±28.21^{a}	36.85±6.40^{b}	23.17±10.60^{bc}	0.000
ABPC	1.09±0.02^{c}	1.43±0.12^{b}	2.30±0.39^{a}	1.45±0.05^{b}	1.47±0.21^{b}	0.000

หมายเหตุ ns = non–significant หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

a,b,bc,c ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4 อัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของใบบาหยาที่ระดับแตกต่างกันหลังได้รับเชื้อ *Steptococcus agalectiae* ที่ระดับความเข้มข้น $1.82x10^9$ CFU/ml นาน 14 วัน

ระดับความเข้มข้นของใบบาหยา (%) [ns]	อัตราการรอดตาย(%)
0	77.50 ± 9.57
5	95.00±5.77
10	87.50±12.58
15	85.00±12.91
P-Values	0.192

หมายเหตุ ns = non–significant หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 5 ค่าคุณภาพน้ำจากการเก็บผลการทดลองเลี้ยงปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาในระดับที่แตกต่างกัน

ระดับความเข้มข้นของใบบาหยา	คุณภาพน้ำ				
	ความเป็นกรด-ด่าง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ(มิลลิกรัม/ลิตร)	ไนไตรท์ (มิลลิกรัม/ลิตร)	แอมโมเนีย (มิลลิกรัม/ลิตร)
0	6.57±0.14	29.43±0.93	4.55±0.42	0.26±0.20	0.37±0.00
5	6.61±0.09	29.42±0.91	4.30±0.88	0.24±0.19	0.27±0.92
10	6.87±0.40	29.45±0.91	4.45±0.63	0.28±0.25	0.41±0.02
15	6.69±0.01	29.43±0.93	4.22±0.67	0.33±0.25	0.38±0.09

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาทุกระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) , 5 ,10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างจากชุดควบคุม สำหรับค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงพบว่าปลานิลที่ได้อาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงสูงสุดและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์มีค่ามากกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 10 และ15 เปอร์เซ็นต์แต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม สำหรับขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอม,ค่าดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอมและค่าจำนวนเม็ด Latex bead ที่ถูกกินต่อหนึ่งเซลล์ดีที่สุด ส่วนของความต้านทานเชื้อโรคต่อเชื้อ *Steptococcus agalectiae* พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมใบบาหยาที่ทุกระดับความเข้มข้น มีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดควบคุมแต่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าใบบาหยาสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลานิลได้และมีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อาจเนื่องจากใบบาหยามีฤทธิ์ช่วยส่งเสริมสุขภาพของปลานิลให้ดีขึ้นตามรายงานของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของใบบาหยา โดยการแยกสารสกัดด้วยเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลจากทั้งต้นพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมลบ และแกรมบวก และเชื้อรา หลายชนิด สารสกัดด้วยเอทานอลจากใบ มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล และไขมันในเลือด สารสกัดเมทานอลจากใบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสกัดน้ำ และเมทานอลจากลำต้นและใบ มีฤทธิ์ลดปวด และต้านการอักเสบ(คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี,2559) นอกจากนี้การวิจัยในประเทศอินเดียได้มีการนำแยกสารสกัดของใบบาหยา สารสกัดเอทานอลแสดงให้เห็นว่ามีสารประกอบออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและบ่งชี้ว่าพืชชนิดนี้เป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์สามารถนำมาพัฒนาเป็นยาเพื่อรักษาโรคต่างๆได้ (Rajeshwari Sivaraj et al IRJP,2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าใบบาหยาสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโรคในปลานิลได้โดยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะได้รับค่าประสิทธิภาพการจับกินสิ่งแปลกปลอมที่ดีที่สุดและมีอัตรารอดต่อความต้านทานเชื้อ *S.agalectiae* สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2565**. กองวิจัยและพัฒนาพันธุ์สัตว์น้ำ**. สืบค้นเมื่อ 23 มีนาคม 2565 แหล่งที่มา https://www4.fisheries.go.th.

กรมประมง.2554. **คู่มือการปฏิบัติทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ดีสำหรับการผลิตสัตว์น้ำ (จี เอ พี)** สืบค้นเมื่อ 7 กรกฎาคม 2565 แหล่งที่มา https://www4.fisheries.go.th.

กรมประมง. 2543. **กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.การสืบพันธุ์ของปลานิล.** สืบค้นเมื่อ 23 มีนาคม 2565 แหล่งที่มา https://www.baanjomyut.com.

กรมประมง. 2543**. กองวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ.หนังสือปลานิลจิตรลดาสายสัมพันธ์พระราชวงศ์ไทย-ญี่ปุ่น.** แหล่งที่มา https://www4.fisheries.go.th.

กรมประมง.**สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด,สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ.เอกสารคำแนะนำการเพาะเลี้ยงปลานิล.**แหล่งที่มา https://www4.fisheries.go.th.

ขวัญตา พูลสำราญ, ทิพสุคนธ พิมพ พิมล, เกรียงศักดิ์ เมงอำพัน, ชนกันต จิตมนัส. 2551**.ค่าโลหิตวิทยาของลูกปลาบึก.**เชียงใหม่สัตวแพทย์สาร. 2551; 6(2) : 153-163

ใบบาหยา.**ข้อมูลพันธุ์ไม้(ระบบฐานข้อมูลเกษตรดิจิทัล).**สืบค้นออนไลน์เมื่อวันที่ 4 เมษายน 2565 จาก.https://data.addrun.org/plant/archives/265-asystasia-gangetica-l-t-anderson , http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=233

ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์ (2545). **โลหิตวิทยาของสัตว์เลี้ยงและวิธีการวิเคราะห์.**ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.105 หน้า

ทัศนีย์ ภูมิพิพัศน์. 2524. **ชีวประวัติของปลานิล.** เอกสารวิชาการ. ฉบับที่ 7/2524.กองประมงน้ำจืด, กรมประมง.กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคปลานิล.กองตรวจคุณภาพสินค้าประมง.กรมประมง.สืบค้นวันที่ 5 เมษายน 2565 (สืบค้นออนไลน์).จาก.https://www.fisheries.go.th/quality.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยวุฒิ, วีระ วัชรกรโยธิน และ วิมล จันทรโรทัย. 2536. **การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล.** เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 23/2536. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด, กรมประมง.37

สำนักงานหอพรรณไม้ /ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ ม.อุบลราชธานีสืบค้นวันที่ 30 มิถุนายน 2565.แหล่งที่มา http://www.dokmy.com/2015/05/Baya.html

ศุภณัฐ ริมจันทร์.2559.**สมดุลร่างกายที่สมดุล,เม็ดเลือดขาว.** สืบค้นวันที่29 มีนาคม 2565.แหล่งที่มา https://sites.google.com/site/bodybalanceu/ph,2559.

อมพร ภิญโญวิทย์. 2545. **มีนวิทยา.** โรงพิมพ์ต้นฉบับ. กรุงเทพฯ : 347 หน้า.

Rajeshwari Sivaraj et al IRJP,2013.Kavitha Sama, Rajeshwari Sivaraj,Hasna Abdul Salam and Rajiv,P Department of Biotechnology,School of Lif Sciences,Kanrpagam University,Coimbatore-641021,Tamil Nadu,India

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

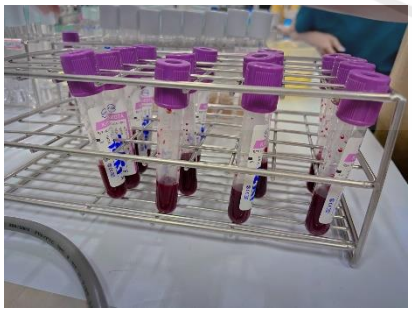
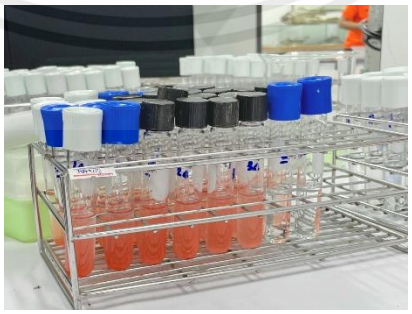
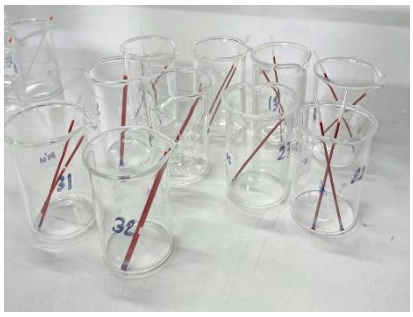
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

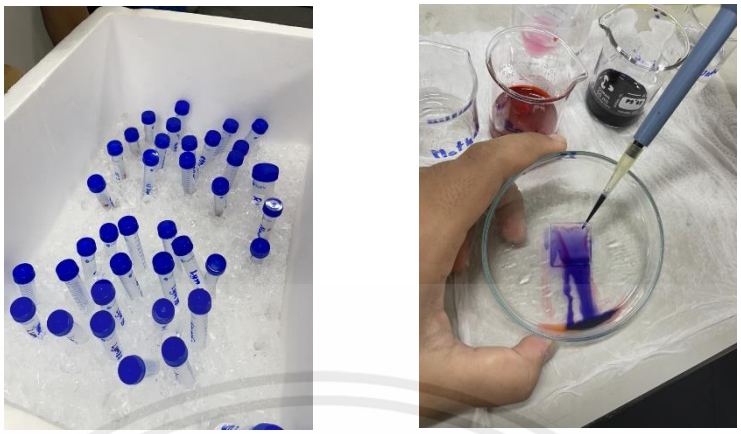
ภาคผนวกที่ 1 การเตรียมอาหารทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

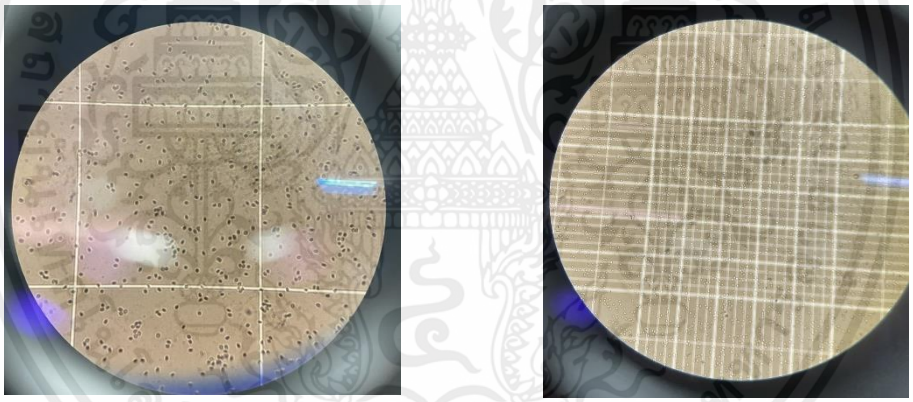
ภาคผนวกที่ 2 การตรวจคุณภาพน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ 3 ขั้นตอนการทำการทดลอง



ลักษณะเม็ดเลือดขาว ลักษณะเม็ดเลือดแดง

ภาคผนวกที่ 4 ลักษณะเม็ดเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติการศึกษา

ชื่อ นางสาวเอมวิกา ภักดีประชุม

เกิดวันที่ 6 พฤษภาคม 2542

ที่อยู่ 9/4 ม.7 ต.เขาค่าย อ.สวี จ.ชุมพร 86130

ประวัติการศึกษา ประกาศนียบัตรมัธยมศึกษาตอนปลาย คณิต-อังกฤษ โรงเรียนนิรมลชุมพร

วท.บ (วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังวิทยาเขตชุมพร

เขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้