

การใช้สารสกัดน้ำจากเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ และอนุบาลลูกปลากัด
สายพันธุ์หางมงกุฏ

USING OF AQUEOUS EXTRACT FROM *Acacia catechu* BARK IN
BREEDING AND NURSING OF CROWN-TAILED SIAMESE FIGHTING
FISH (*Betta splendens*) FRY



ปรีดา ไวยเจริญ
PREEDA WAICHAROEN

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการจัดการทรัพยากรทางน้ำ
คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2567

KMITL-2024-AG-M-081-438

USING OF AQUEOUS EXTRACT FROM *Acacia catechu* BARK IN
BREEDING AND NURSING OF CROWN-TAILED SIAMESE FIGHTING
FISH (*Betta splendens*) FRY



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN
AQUACULTURAL TECHNOLOGY AND AQUATIC RESOURCE MANAGEMENT
SCHOOL OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2024

KMITL-2024-AG-M-081-438



COPYRIGHT 2024

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ใบรับรองวิทยานิพนธ์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้สารสกัดน้ำจากเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ และอนุบาลลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ
USING OF AQUEOUS EXTRACT FROM *Acacia catechu* BARK IN BREEDING AND
NURSING OF CROWN-TAILED SIAMESE FIGHTING FISH (*Betta splendens*) FRY

ชื่อนักศึกษา นายปรีดา ไวยเจริญ
รหัสประจำตัว 65046023
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการจัดการทรัพยากรทางน้ำ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.นงนุช เล่าชะวิสุทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.ดร.สมเกียรติ สีสันอง

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.มณีนรัตน์ ทรงวิบูลย์กิจ	
ผศ.ดร.อังฉวี เรืองเดช	
ดร.สุวรีย์ กิติเชียว	
รศ.ดร.สมเกียรติ สีสันอง	
รศ.ดร.นงนุช เล่าชะวิสุทธิ์	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 12 พฤศจิกายน 2567
สถานที่สอบ A 208 ชั้น 2 อาคารเจ้าคุณทหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร


(ผศ.ดร.จางชัย พุฒทองศิริ)
คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร
วันที่ 21 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2567

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้สารสกัดน้ำจากเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์และอนุบาลลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ
นักศึกษา	นายปรีดา ไวยเจริญ
รหัสประจำตัว	65046023
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการจัดการทรัพยากรทางน้ำ
พ.ศ.	2567
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ.ดร.สมเกียรติ สีสนอง

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัดเปลือกสีเสียดได้แก่ ระยะเวลาการแช่ ปริมาณสารแทนนิน และ pH ในน้ำจากเปลือกสีเสียดที่สกัดด้วยน้ำ และประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลา และการเพาะพันธุ์ และอนุบาลปลากัดในน้ำแช่เปลือกสีเสียด จากการศึกษาระยะเวลาในการสกัดเปลือกสีเสียดที่ให้อากาศต่างกัน 4 ช่วง ต่อปริมาณสารแทนนิน ได้แก่ 30, 60, 90 และ 120 นาที พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ที่ให้อากาศ 30 นาทีพบว่า ปริมาณสารแทนนินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณสารแทนนินเพิ่มตามปริมาณเปลือกสีเสียด จากการศึกษาปริมาณเปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำพบว่า pH ของสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ปริมาณ 0 (ชุดควบคุม), 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยค่า pH ในน้ำของชุดการทดลองที่แช่เปลือกสีเสียดด้วยน้ำมีน้อยกว่าชุดการทดลองที่ไม่แช่เปลือกสีเสียด ($p \leq 0.05$) และจากการตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลา พบว่า ค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. มีค่าเท่ากับ 5,000 และ 2,500 ppm ตามลำดับ และค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. เท่ากับ 10,000 และ 40,000 ppm ตามลำดับ การทดลองใช้น้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่ออัตราการรอดและการเติบโตของลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏพบว่า การอนุบาลลูกปลากัดในความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ส่งผลให้ลูกปลากัดมีอัตราการรอดแตกต่างกัน โดยลูกปลากัดที่อนุบาลในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียดแห้ง 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีอัตราการรอดมากกว่าลูกปลากัดที่ไม่ได้อนุบาลด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด ($p \leq 0.05$) แต่ไม่ส่งผลต่อพารามิเตอร์การเจริญเติบโตของลูกปลากัดได้แก่ น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p > 0.05$) ค่า pH ของน้ำในชุดการทดลองที่แช่เปลือกสีเสียด 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตรมีค่าต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ($p \leq 0.05$) และค่าการนำไฟฟ้าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และการเพาะพันธุ์ปลากัดในน้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตรเปรียบเทียบกับชุดการทดลองไม่แช่เปลือกสีเสียด และชุดการทดลองที่แช่ใบหูกวาง 2.5 กรัมในน้ำ 1 ลิตรพบว่า อัตราการวางไข่ของชุดการทดลองในน้ำแช่เปลือกสีเสียด และใบหูกวาง มีอัตราการวางไข่ 100% แต่ชุดควบคุมไม่มีการวางไข่ ($p \leq 0.05$) อัตรารอดพ่อแม่พันธุ์ในทุกชุดการทดลอง มีอัตรารอด 100% ($p > 0.05$) อัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลาหลังจากอนุบาลเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชุดการทดลองที่แช่เปลือกสีเสียดด้วยน้ำ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีอัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลามากกว่าชุดการทดลองอื่น ($p \leq 0.05$) ส่วนอัตราการรอดของลูกปลาไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังนั้นขั้นตอนในการเพาะพันธุ์ และการอนุบาลปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ โดยการสกัดสารแทนนินจากเปลือกสีเสียดด้วยน้ำ 30 นาที นำมาเพาะพันธุ์ปลากัดในน้ำแช่เปลือกสีเสียด 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร หลังจากนั้นนำลูกปลาอนุบาลในน้ำแช่เปลือกสีเสียด 0.1 กรัมในน้ำ 1 ลิตร เพื่อเพิ่มอัตราการวางไข่ของปลากัด อัตราส่วนเพศผู้ และอัตรารอดของลูกปลากัด

Thesis	USING OF AQUEOUS EXTRACT FROM <i>Acacia catechu</i> BARK IN BREEDING AND NURSING OF CROWN-TAILED SIAMESE FIGHTING FISH (<i>Betta splendens</i>) FRY
Student	Mr. Preeda Waicharoen
Student ID.	65046023
Degree	Master of Science
Program	Aquacultural Technology and Aquatic Resource Management
Year	2024
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nongnuch Laohavisuti
Thesis Co-Advisor	Assoc. Prof. Dr. Somkiat Seesanong

Abstract

The study focused on the fundamental properties of *A. catechu* bark extract, including soaking time, tannin content, and pH of water extracted from *A. catechu* bark. It also examined the antibacterial efficacy against fish pathogenic bacteria, as well as the breeding and rearing of Siamese fighting fish in water infused with *A. catechu* bark extract. The investigation of soaking durations with aeration at four intervals 30, 60, 90, and 120 minutes revealed no statistically significant differences in tannin content ($p > 0.05$). Additionally, tannin content was evaluated in water containing 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, and 1 gram of *A. catechu* bark per liter after 30 minutes of aeration. The results showed significant differences in tannin content ($p \leq 0.05$), with tannin levels increasing in proportion to the amount of *A. catechu* bark used. The study on varying amounts of *A. catechu* bark and their effect on water pH revealed significant differences in the pH values of water containing *A. catechu* bark extracts at 0 (control), 2, 4, 6, 8, and 10 grams per liter ($p \leq 0.05$). The pH of water infused with *A. catechu* bark was significantly lower than that of the control group without *A. catechu* bark ($p \leq 0.05$). Additionally, an evaluation of antibacterial properties against fish pathogenic bacteria showed that the minimum inhibitory concentration (MIC) for *Aeromonas* sp. and *Streptococcus* sp. was 5,000 ppm and 2,500 ppm, respectively. The minimum bactericidal concentration (MBC) for *Aeromonas* sp. and

Streptococcus sp. was found to be 10,000 ppm and 40,000 ppm, respectively. The experiment evaluating the effect of *A. catechu* bark-infused water at different concentrations on the survival rate and growth of Crowntail Betta fish fry revealed varying survival rates. Fry reared in water containing 0.1, 0.3, 0.5, and 0.7 grams of *A. catechu* bark extract per liter showed significantly higher survival rates compared to those reared in the control group without *A. catechu* bark extract ($p \leq 0.05$). However, the extract had no effect on growth parameters, including final weight, weight gain, average daily weight gain, and specific growth rate, as no significant differences were observed ($p > 0.05$). The pH of water in the groups containing 0.5 and 0.7 grams of *A. catechu* bark per liter was the lowest compared to other groups ($p \leq 0.05$). Electrical conductivity values, however, did not differ significantly among the experimental groups ($p > 0.05$). Breeding of crown tail Betta fish in water infused with *A. catechu* bark at 0.3 and 0.7 grams per liter was compared to a control group (without *A. catechu* bark) and a group infused with Indian almond leaves (*Terminalia catappa* Linn.) at 2.5 grams per liter. The results showed a 100% spawning rate in both *A. catechu* bark and Indian almond leaf treatments, while the control group exhibited no spawning activity ($p \leq 0.05$). The survival rate of broodstock was 100% in all experimental groups ($p > 0.05$). After an 8-week rearing period, the male-to-female ratio of fry was highest in the group reared in water infused with 0.7 grams of *A. catechu* bark per liter ($p \leq 0.05$). However, there was no statistically significant difference in fry survival rates among the groups ($p > 0.05$). Based on these findings, an optimized protocol for breeding and rearing crown tail Betta fish involves extracting tannin from *A. catechu* bark by soaking in water for 30 minutes, using water infused with 0.7 grams of *A. catechu* bark per liter for breeding, and rearing fry in water infused with 0.1 grams of *A. catechu* bark per liter. This method effectively increases the spawning rate, male-to-female ratio, and survival rate of crown tail Betta fish fry.

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาจาก รศ.ดร.นงนุช เลหาะวิสุทธิ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร.สมเกียรติ สีสอนอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำที่ดี แนวทางการทดลอง และแนวทางแก้ไขปัญหาเมื่อเกิดข้อผิดพลาดในขณะการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้ความรู้ และอบรมสั่งสอนแก่ข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณ ดร.มณีรัตน์ หวังวิบูลย์กิจ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.อัฉริ เรืองเดช และดร.สุวรีย์ กิติเชียว กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำงานวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านคำแนะนำ การเตรียมสารเคมี และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบพระคุณ คุณแม่ คุณพ่อที่คอยสั่งสอนอบรม สนับสนุนกำลังทรัพย์ในการเรียนของข้าพเจ้าจนสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณกัญญารัตน์ พูลทะจิตรี คุณวรารัตน์ น้ำผึ้ง คุณเบญญากร หล้าบรรเทา และคุณชুমารินทร์ อินคง ที่ให้การช่วยเหลือในการเตรียมอุปกรณ์ในการทดลองต่างๆ และเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ปรีดา ไวยเจริญ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 สมมติฐานของการศึกษา.....	2
1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย.....	2
1.5 ขอบเขตการวิจัย.....	3
1.6 ขั้นตอนของการศึกษา.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ต้นสีเสียด.....	4
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นสีเสียด.....	4
2.1.2 สารพฤษเคมีและคุณสมบัติของต้นสีเสียด.....	5
2.1.2.1 สารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นสีเสียด.....	5
2.1.2.2 คุณสมบัติของต้นสีเสียด.....	8
2.1.2.3 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของต้นสีเสียด.....	9
2.2 กรดแทนนิก.....	11
2.2.1 สารที่พบมากสุดในสีเสียด.....	11
2.2.2 คุณสมบัติต้านการอักเสบ.....	11
2.2.3 คุณสมบัติต้านปรสิต.....	11
2.2.4 คุณสมบัติต้านแบคทีเรีย.....	12
2.2.5 คุณสมบัติต้านไวรัส.....	12
2.3 การใช้สารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม.....	14
2.4 ปลากัดไทย.....	16
2.4.1 ลักษณะทั่วไปของปลากัด.....	16
2.4.2 การเพาะเลี้ยงปลากัด.....	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.2.1 การเพาะพันธุ์ปลากัด.....	17
2.4.2.2 การอนุบาลปลากัด.....	18
2.5 โรคที่พบในปลาสวยงาม และการรักษา.....	19
2.6 การกำหนดเพศปลาด้วยปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม.....	20
2.6.1 การกำหนดเพศด้วย pH.....	21
2.6.2 การกำหนดเพศด้วยอุณหภูมิ.....	21
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	22
3.1 สัตว์ทดลอง.....	22
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี.....	22
3.3 แผนผังการทดลอง.....	23
3.4 วิธีการดำเนินการทดลอง.....	24
3.4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด.....	24
3.4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาปริมาณเปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ.....	25
3.4.3 การทดลองที่ 3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรียก่อโรคในปลา.....	25
3.4.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ต่างกัน.....	27
3.4.5 การทดลองที่ 5 ศึกษาการใช้น้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่ออัตราการและการเติบโตของลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ.....	30
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	31
3.6 สถานที่ทำการวิจัย.....	31
3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง.....	31
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	32
4.1 ศึกษาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด.....	32
4.1.1 ศึกษาระยะเวลาในการสกัดเปลือกสีเสียด.....	32
4.1.2 ศึกษาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด.....	32
4.2 ศึกษาปริมาณเปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ.....	32
4.3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรียก่อโรคในปลา.....	33

สารบัญ (ต่อ)

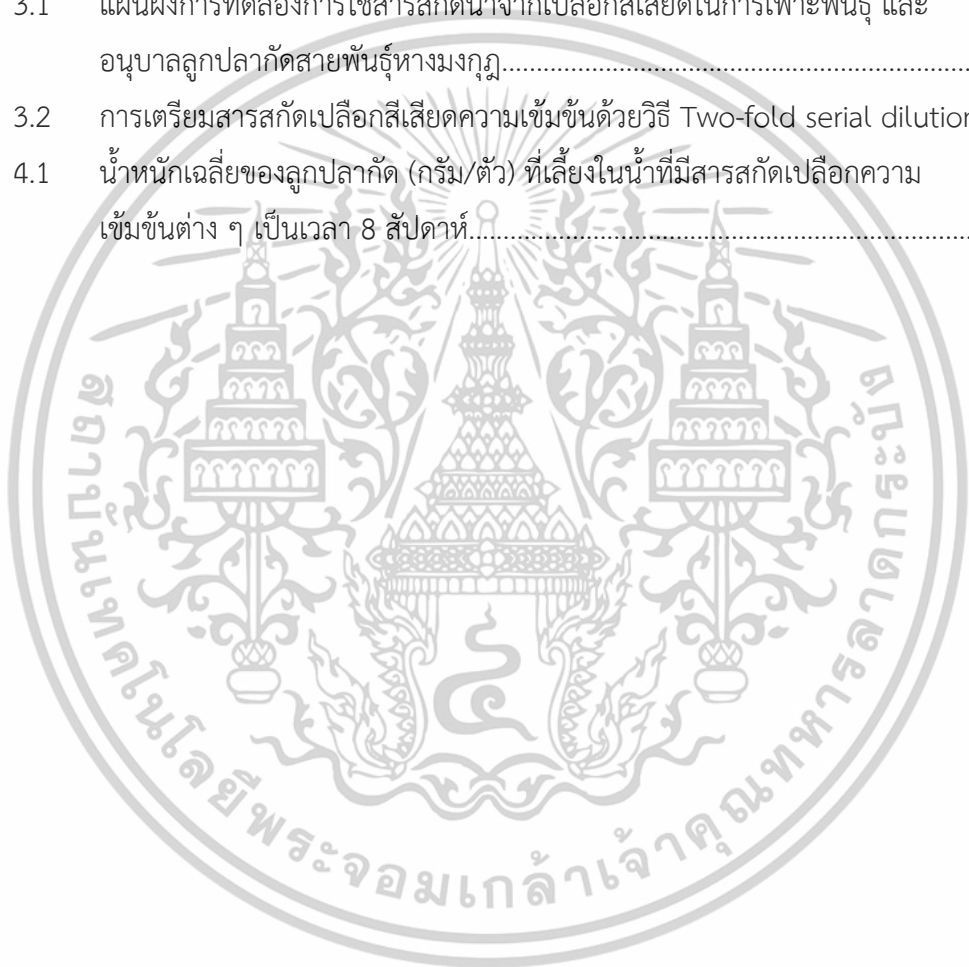
	หน้า
4.4 ศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ต่างกัน.....	35
4.4.1 ทดสอบความเข้มข้นเบื้องต้นของสารสกัดเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ ปลากัด.....	35
4.4.2 ศึกษาผลของสารสกัดเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ต่ออัตราการวางไข่ของ ปลาเทศเมีย อัตรารอด และอัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลากัด.....	35
4.5 ศึกษาการใช้น้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่ออัตราการรอด และการเติบโตของลูก ปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ.....	38
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	42
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	42
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	42
เอกสารอ้างอิง.....	43
ภาคผนวก.....	52
ประวัติผู้เขียน.....	55

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สารประกอบที่ระบุได้จากเปลือก <i>A. catechu</i> พร้อมชื่อ, Base peak, ค่าสมมูลพันธะคู่ (Double bond equivalence; DBE), ค่า Retention time (Rt) และค่า m/z.....	6
2.2	พารามิเตอร์ทางเคมีกายภาพของสีเสียด.....	8
2.3	ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของต้นสีเสียด.....	13
4.1	ปริมาณสารแทนนินจากน้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ปริมาณต่าง ๆ.....	32
4.2	ค่า pH จากเปลือกสีเสียดที่ปริมาณต่าง ๆ.....	33
4.3	ค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ <i>Aeromonas sp.</i> และ <i>Streptococcus sp.</i>	34
4.4	ค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ <i>Aeromonas sp.</i> และ <i>Streptococcus sp.</i>	35
4.5	พารามิเตอร์คุณภาพน้ำของการเพาะพันธุ์ปลากัดเริ่มต้นการทดลอง.....	37
4.6	ผลของสารสกัดเปลือกสีเสียดต่ออัตราการวางไข่ และอัตราการรอดของพ่อแม่พันธุ์ปลา อัตราส่วนเพศผู้ และอัตราการลูกปลากัด.....	38
4.7	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของลูกปลากัดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 - 8 ในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด.....	40
4.8	พารามิเตอร์การเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลากัดที่เลี้ยงด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด.....	41
4.9	พารามิเตอร์คุณภาพน้ำของลูกปลากัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	41

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ต้นสี่เสียด.....	4
2.2	เปลือกสี่เสียดฝอย.....	4
2.3	โครงสร้างทางเคมีของกรดแทนนิก.....	11
2.4	ปลากัดเพศผู้สายพันธุ์หางมงกุฏ.....	16
2.5	ปลากัดเพศเมียสายพันธุ์หางมงกุฏ.....	16
3.1	แผนผังการทดลองการใช้สารสกัดน้ำจากเปลือกสี่เสียดในการเพาะพันธุ์ และ อนุบาลลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ.....	23
3.2	การเตรียมสารสกัดเปลือกสี่เสียดความเข้มข้นด้วยวิธี Two-fold serial dilution.	26
4.1	น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลากัด (กรัม/ตัว) ที่เลี้ยงในน้ำที่มีสารสกัดเปลือกความ เข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	41



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปลากัด (*Betta splendens*) เป็นปลาประจำชาติไทยขนาดโตเต็มที่ประมาณ 5 - 7 เซนติเมตร มีชื่อสามัญว่า Siamese fighting fish จัดเป็นสัตว์น้ำที่ท้องถิ่นพบบริเวณลุ่มแม่น้ำแม่กลอง และแม่น้ำเจ้าพระยามีลักษณะลำตัวเรียวยาวแบนด้านข้าง ครีบกันยาวจรดครีบหาง ครีบอกยาว ริมนิปากหนา รูปร่าง และสีสันทของปลาเพศผู้สวยงามกว่าเพศเมีย (การุณ ทองประจุแก้ว, 2556) มีการส่งออกไปยังทวีปอเมริกา แคนาดา ยุโรป เอเชีย ลาตินอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ และแอฟริกา มีมูลค่าการส่งออก 213,198,882 บาท ในปีพุทธศักราช 2565 โดยปลากัดมีการส่งออกมากที่สุดเป็นอันดับ 1 ในกลุ่มสัตว์น้ำสวยงามน้ำจืด มีปลากัดที่ถูกส่งออกเป็นจำนวน 20,171,038 ตัว (ด้านตรวจสัตว์น้ำท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ, 2565) โดยเกษตรกรมักประสบปัญหาในช่วงการอนุบาลปลากัดมีอัตราการรอดต่ำเนื่องจากอาหารที่ให้เป็นอาหารมีชีวิตคือไรแดง ซึ่งไรแดงได้มาจากธรรมชาติที่อาจมีการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรค และปรสิตต่าง ๆ ซึ่งทำให้เกิดโรคทั่วไปที่พบในปลากัด เช่น โรคจุดขาว โรคสนิม โรคที่เกิดจากปลิงใส โรคที่เกิดจากเชื้อรา โรคเห็บประซัง โรคหนอนสมอ โรคครีบและหางเปื่อย และโรคติดเชื้อแบคทีเรีย (อรุณี รอดลอย, 2566) ทำให้มีอัตราการรอดต่ำส่งผลให้ปลากัดไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด และยังส่งผลกระทบต่อรายได้ของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยง เนื่องจากสารเคมี และยาที่ใช้ในการป้องกัน และรักษามีราคาแพง จึงทำให้ผู้เพาะเลี้ยงปลากัดหันมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติ ได้แก่ ใบหูกวาง (วัชรียา ภูริวิโรจน์กุล และนนทวิทย์ อารีย์ชน, 2549 ; ศิวพงษ์ โกสิงห์ และคณะ, 2561 ; สุกสกา รอดปิ่น และคณะ, 2563 ; Nugroho *et al.* 2016) เปลือกมังคุด (อุไรวรรณ ไพชำนาญ และวัฒนา วัฒนกุล, 2544) เมล็ดตะเคียนทอง (สถิตย์ จันทรมณี, 2563) และเปลือกสีเสียด (*Acacia catechu*) (วิจิตรตา อรรถสาร และคณะ, 2567) ซึ่งมีสารสำคัญคือสารแทนนิน ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อก่อโรค เช่น แบคทีเรีย (Dong *et al.*, 2018 ; Wu *et al.*, 2010) ไวรัส (Shirasago *et al.*, 2019) และปรสิต (Alavinia *et al.*, 2018) ทำให้มีการใช้ใบหูกวางกับปลากัด (ณัฐพงษ์ ปานขาว, 2549 ; สุกสกา รอดปิ่น และคณะ, 2563) ในการเพาะพันธุ์ปลากัดมีอัตราส่วนลูกปลาเพศผู้น้อยกว่าเพศเมีย ทำให้มีงานทดลองใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ Fluoxymesterone แปลงเพศปลาเพศเมียให้เป็นเพศผู้ แต่ปลากัดเพศผู้ที่ได้จากการแปลงไม่สามารถสืบพันธุ์ได้ (มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ และคณะ, 2531) ดังนั้นวิธีการควบคุมสภาพแวดล้อมในการเพาะพันธุ์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่เหนี่ยวนำให้ได้ปลาเพศผู้เพิ่มขึ้น ได้แก่ อุณหภูมิ (Shen *et al.*, 2016) และ pH (Reddon and Peter, 2013) ค่า pH ของน้ำสามารถเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจากสารแทนนินในเปลือกสีเสียดที่มีคุณสมบัติเป็นกรด และมีในปริมาณมากทำให้ต้องใช้ในความเข้มข้นที่เหมาะสม การศึกษานี้จึงศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัดเปลือกสีเสียดได้แก่

ระยะเวลาการแช่เปลือกสีเขียว ปริมาณสารแทนนินในเปลือกสีเขียว ปริมาณเปลือกสีเขียวที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ และประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกสีเขียว และศึกษาการเพาะพันธุ์ และอนุบาลปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเขียว

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษาระยะเวลาการแช่เปลือกสีเขียว
- 1.2.2 เพื่อศึกษาปริมาณของสารแทนนินในสารสกัดเปลือกสีเขียว
- 1.2.3 เพื่อศึกษาปริมาณเปลือกสีเขียวที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ
- 1.2.4 เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาของสารสกัดเปลือกสีเขียว
- 1.2.5 เพื่อศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเขียวที่ต่างกัน
- 1.2.6 เพื่อศึกษาการใช้น้ำแช่เปลือกสีเขียวที่ต่างกันต่ออัตราการรอด และการเติบโตของลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

- 1.3.1 ทราบถึงระยะเวลาเหมาะสมที่ใช้ในการแช่เปลือกสีเขียวด้วยน้ำ
- 1.3.2 ทราบถึงปริมาณของสารแทนนินจากสารสกัดเปลือกสีเขียวที่มีความเข้มข้นต่างกัน
- 1.3.3 ทราบถึงปริมาณเปลือกสีเขียวที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ
- 1.3.4 ทราบถึงประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกสีเขียว
- 1.3.5 ทราบถึงการใช้น้ำแช่เปลือกสีเขียวในปริมาณที่เหมาะสมต่ออัตราการวางไข่ อัตรารอด และอัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลากัด
- 1.3.6 ทราบถึงปริมาณเปลือกสีเขียวที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกปลากัด

1.4 ทฤษฎีหรือแนวความคิดที่ใช้ในการวิจัย

การเลี้ยงปลากัดนิยมให้อาหารมีชีวิตคือ ไรแดงที่มาจากธรรมชาติอาจจะมีการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรค และปรสิตต่าง ๆ ทำให้เกิดการตายในช่วงการอนุบาลลูกปลากัดซึ่งเป็นช่วงที่อ่อนแอที่สุดเกษตรกรมักจะใช้เปลือกสีเขียวในขั้นตอนการอนุบาลเพราะเชื่อว่าสามารถเพิ่มอัตราการรอดของลูกปลากัดได้ เนื่องจากสารฟลิกซ์เคมีที่มีอยู่ในเปลือกสีเขียวคือสารแทนนิน ทำให้สามารถป้องกันโรคได้ และยังมีการใช้ในการเพาะพันธุ์ปลากัดเนื่องจากมีความเชื่อว่าการใช้เปลือกสีเขียวสามารถเพิ่มอัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลากัดได้ เนื่องจากเปลือกสีเขียวมีสารแทนนินที่มีคุณสมบัติเป็นกรด ส่งผลต่อความเป็นกรด-ด่างของน้ำ ประกอบกับความเป็นกรดของน้ำเป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมปัจจัยหนึ่งที่สามารถส่งผลต่อการเพาะพันธุ์ปลาให้ได้ลูกปลาเพศผู้เพิ่มขึ้น

1.5 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัดเปลือกสีเสียดประกอบด้วย ระยะเวลาในการแช่เปลือกสีเสียด ปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด ปริมาณเปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ และประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกสีเสียด จากนั้นนำข้อมูลระยะเวลาการแช่เปลือกสีเสียด และปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด ไปใช้ในการศึกษาการเพาะพันธุ์ และอนุบาลปลากัด

1.6 ขั้นตอนของการศึกษา

- 1.6.1 ศึกษาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด
- 1.6.2 ศึกษาปริมาณเปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ
- 1.6.3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลา
- 1.6.4 ศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ต่างกัน
- 1.6.5 ศึกษาการใช้น้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่ออัตราการรอด และการเติบโตของลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ



บทที่ 2

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นสีเสียด

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นสีเสียด



ภาพที่ 2.1 ต้นสีเสียด
ที่มา: KnowYourWeeds



ภาพที่ 2.2 เปลือกสีเสียดฝอย

ต้นสีเสียด (*Acacia catechu*) ชื่อสามัญ Khair อยู่ในวงศ์ Fabaceae เป็นต้นไม้ขนาดเล็กถึงขนาดกลาง สูงสุด 15 เมตร เปลือกมีสีเทาเข้มหรือน้ำตาลเข้ม มีความหนาประมาณ 12 - 15 มิลลิเมตร และมีลักษณะหยาบแห้งผิวขรุขระ และเปลือกได้เป็นแผ่นยาว ลำต้นโดยทั่วไปจะโค้งงอและแตกเป็นกิ่ง ใบเป็นแบบขนนกสองชั้น มี 9 - 30 คู่ และมีใบย่อย 16 - 50 คู่ รูปร่างเป็นรูปรียาว ความยาวของใบย่อยเริ่มต้นตั้งแต่ 2 - 6 มิลลิเมตร บริเวณฐานของแต่ละก้านใบย่อยมีหนามลักษณะโค้งงออยู่ติด

กันเป็นคู่ ดอกจะเกิดตามซอกใบยาว 5 - 10 เซนติเมตร มีสีขาวถึงเหลืองอ่อน และมีกลีบเลี้ยงรูประฆัง กลีบเลี้ยง และกลีบดอกมีขนาดประมาณ 1.5 และ 2.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยมีเกสรตัวผู้จำนวนมากมีเส้นใยสีขาวถึงเหลืองอมขาว ผลมีลักษณะเป็นฝักแบนเรียวยาวทั้งสองด้าน สีแดงอมเขียวช่วงยังอ่อน และมีสีน้ำตาลเมื่อฝักแก่ ภายในฝักแก่มีเมล็ดรูปไข่ 3 - 10 เมล็ดอยู่ข้างใน เมล็ดที่ถูกเก็บในอุณหภูมิห้องจะมีอายุ 9 เดือน สามารถยืดอายุการเก็บรักษาด้วยวิธี Orthodox เป็นการเก็บในสภาพแวดล้อมที่มีการควบคุม (Bhattarai *et al.*, 2020) (ภาพที่ 2.1 และ 2.2)

การเจริญเติบโตของต้นสีเสียดสามารถเติบโตได้ในระดับความสูงถึง 1,500 เมตรจากระดับน้ำทะเลในป่าเบญจพรรณ (Sharma *et al.*, 2019) เติบโตได้ในดินหลากหลายประเภท โดยชอบดินที่มีความพรุนมีความชื้น และการระบายน้ำในดินดี ยังพบเติบโตในดินแห้ง รวมถึงบริเวณดินทราย (McNeill, 2016 ; Singh and Raizada, 2010) เป็นพืชที่ต้องการปริมาณแสงมาก ทำให้ต้องการพื้นที่เปิดโล่ง และการปลูกควรระวังเนื่องจากต้นกล้าไม่ทนต่อวัชพืช และพืชกาฝาก เช่น *Cuscuta*, *Loranthus* สามารถทนไฟ และน้ำค้างแข็งได้ปานกลาง เติบโตได้ในสภาวะ Xerophytic คือสภาพแวดล้อมที่มีน้ำน้อย และสามารถอยู่รอดได้ในพื้นที่ที่มีฝนตกชุกสูงถึง 3,800 มิลลิเมตรได้ นอกจากนี้ยังสามารถพบเห็นได้ในสภาพอากาศเขตร้อนชื้น สภาพอากาศแห้งในเขตร้อน และสภาพอากาศกึ่งเขตร้อน อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 2.5°C ในฤดูหนาว ถึง 40°C ในฤดูร้อน (McNeil, 2016)

2.1.2 สารพฤกษเคมีและคุณสมบัติของต้นสีเสียด

2.1.2.1 สารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นสีเสียด

สีเสียดประกอบด้วย แทนนิน 50% เป็นส่วนใหญ่ และสารอื่นเช่น Catechutannic acid 20 - 35%, Acacatechin 2 - 10%, Catechins 13 - 33%, Epicatechin 2.5%, Isorhamnetin, Quercetin, Phlobatannins 25 - 33%, Tannic acid 22 - 50%, Catechu-red และ Gum 20 - 35% (Yadav and Yadav., 2022) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น สภาพภูมิอากาศ การเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษา Aryal *et al.* (2021) ศึกษาสารสกัดเปลือกสีเสียดที่สกัดด้วย Ethyl acetate และน้ำ ด้วยวิธี Liquid Chromatography Equipped With High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS) ที่ใช้ในการระบุสารพฤกษเคมีประเภท Secondary metabolites พบสารพฤกษเคมีทั้งหมด 28 ชนิด ได้แก่ Catechin, Epicatechin, Gallocatechin, Epigallocatechin, Procyanidin B1, Procyanidin B3, Emodin, Afzelechin, Epiafzelechin, Maclurin, Irisflorentin, Naringenin, Isoquercetin, Diosmetin, Chrysin, Myricetin, Kaempferol, Avicularin, Prodelphinidin B3, Prodelphinidin B, Quercetin, Taxifolin, Acacetin, Aciculatinone, Gossypin, Pterocarpin, Isorhamnetin และ Trihydroxy dimethoxyflavone (ตารางที่ 2.1) การศึกษาพารามิเตอร์ทางเคมีและกายภาพของสีเสียดของ Lakshmi *et al.* (2011) พบว่า สารสกัดของสีเสียดที่ละลายน้ำได้มีปริมาณมากถึง 23 - 25% ซึ่งมากกว่าสารสกัดสีเสียดที่ละลายได้ในแอลกอฮอล์ 19 - 21% (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.1 สารประกอบที่ระบุได้จากเปลือก *A. catechu* พร้อมชื่อ, Base peak, ค่าสมมูลพันธะคู่ (Double bond equivalence; DBE), ค่า Retention time (Rt) และค่า m/z

Annotated compounds	Systematic name	Formula	DBE	Absolute error (ppm)	Rt (minute)
Catechin (1)	[(2R,3S)-2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,4 dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol]	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	9	0.16	10.4
Epicatechin (2)	[(2R,3R)-2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,4 dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol]	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	9	0.16	10.4
Gallocatechin (3)	[(2R,3S)-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4 dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol]	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	9	2.26	7.15
Epigallocatechin (4)	[(2R,3R)-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4 dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol]	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	9	2.26	7.15
Procyanidin B1 (5)	(2R,2' R,3R,3' S,4R)-2,2'-Bis(3,4 dihydroxyphenyl)-3,3',4,4'-tetrahydro 2H,2'H-4,8'-bichromene-3,3',5,5',7,7'-hexol	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	18	2.21	9.87
Procyanidin B3 (6)	(2R,2' R,3S,3' S,4S)-2,2'-Bis(3,4 dihydroxyphenyl)-3,3',4,4'-tetrahydro-2H,2'H-4,8'-bichromene-3,3',5,5',7,7'-hexol	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	18	2.21	9.87
Emodin (7)	1,3,8-Trihydroxy-6-methyl-9,10 anthraquinone	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	11	4.18	18.60
Afzelechin (8)	(2R,3S)-2-(4-Hydroxyphenyl)-3,4-dihydro 2H-chromene-3,5,7-triol	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	9	3.51	12.77
Epiafzelechin (9)	(2R,3R)-2-(4-Hydroxyphenyl)-3,4-dihydro 2H-chromene-3,5,7-triol	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	9	3.51	12.77
Maclurin (10)	(3,4-Dihydroxyphenyl)-(2,4,6-trihydroxyphenyl)methanone	C ₁₃ H ₁₀ O ₆	9	4.24	2.96
Irisfloreantin (11)	9-Methoxy-7-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-[1,3]dioxolo[4,5-g]chromen-8-one	C ₂₀ H ₁₈ O ₈	12	2.45	5.07
Naringenin (12)	5,7-Dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman 4-one	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	10	2.07	12.56
Isoquercetin (13)	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	12	3.02	12.95
Diosmetin (14)	5,7-Dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	11	4.94	13.72
Chrysin (15)	5,7-Dihydroxy-2-phenylchromen-4-one	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	11	2.26	16.18
Myricetin (16)	3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chromen-4-one	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	11	3.54	12.64
Kaempferol (17)	3,5,7-Trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	11	1.16	17.17

ที่มา: ดัดแปลงจาก Aryal et al. (2021)

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) สารประกอบที่ระบุได้จากเปลือก *A. catechu* พร้อมชื่อ, Base peak, ค่าสมมูลพันธะคู่ (Double bond equivalence; DBE), ค่า Retention time (Rt) และค่า m/z

Annotated compounds	Systematic name	Formula	DBE	Absolute error (ppm)	Rt (minute)
Avicularin (18)	(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychromen-4 one	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	12	3.39	13.38
Prodelphinidin B3 (19)	(2R,2' R,3S,3' S,4S)-2,2' -Bis(3,4,5-trihydroxyphenyl)-3,3',4,4'-tetrahydro-2H,2' H-4,8'-bichromene-3,3',5,5',7,7' -hexol	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	18	3.03	5.78
Prodelphinidin B (20)	2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-8-[3,5,7 trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-3,4 dihydro-2H-chromen-4-yl]-3,4-dihydro-2H chromene-3,5,7-triol	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₄	18	2.52	8.05
Quercetin (21)	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	11	1.6	13.96
Taxifolin (22)	(2R,3R)-2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	10	1.78	13.51
Acacetin (23)	5,7-Dihydroxy-2-(4-methoxyphenyl)chromen-4-one	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	11	2.64	16.38
Aciculatinone (24)	5-Hydroxy-8-[(2R,5R,6R)-5-hydroxy-6- methyl-4-oxooxan-2-yl]-2-(4 hydroxyphenyl)-7-methoxychromen-4-one	C ₂₂ H ₂₀ O ₈	13	3.80	8.18
Gossypin (25)	2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-8-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	12	2.32	11.79
Pterocarpin (26)	(1R,12R)-16-Methoxy-5,7,11,19-tetraoxapentacyclo[10.8.0.0 ^{2,10} .0 ^{4,8} .0 ^{13,18}]icosa-2,4(8),9,13(18),14,16-hexaene	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	11	3.59	14.59
Isorhamnetin (27)	3,5,7-Trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	11	1.03	17.70
Trihydroxy dimethoxyflavone (28)	5,6-Dihydroxy-2-(4-hydroxy-3- methoxyphenyl)-7-methoxychromen-4-one	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	11	2.36	14.25

ที่มา: ดัดแปลงจาก Aryal *et al.* (2021)

ตารางที่ 2.2 พารามิเตอร์ทางเคมีกายภาพของสีเสียด

No	Tests	Results % (range)
1.	Loss on drying at 105°C	9.00 - 11.00 %
2.	Total ash	1.16 - 2.00 %
3.	Acid insoluble ash	0.20 - 0.4.00 %
4.	Water soluble ash	0.09 - 0.25 %
5.	Water soluble extractives	23.00 - 25.00 %
6.	Alcohol soluble extractives	19.00 - 21.00%
7.	pH of water extract	6.02 - 6.04
8.	Volatile oil	Nil
9.	Fibre content	49.00 - 53.00 %
10.	Swelling index	4.00 - 5.00 ml/gm
11.	Foaming index	>100%
12.	Total sugar	1.20 - 1.90%
13.	Reducing sugar	0.70 - 1.50%

ที่มา: ดัดแปลงจาก Lakshmi *et al.* (2011)

2.1.2.2 คุณสมบัติของต้นสีเสียด

มีการใช้ส่วนต่าง ๆ ของต้นสีเสียดเป็นยาแผนโบราณ และอายุรเวทเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติในการรักษา และทางโภชนาการ (Saini *et al.*, 2008) โดยสามารถใช้รักษาโรคหอบหืด หลอดลมอักเสบ มะเร็ง อากาการเจ็บหน้าอก ท้องร่วง แผลในปาก อากาการเจ็บคอ โรคต่าง ๆ รักษาบาดแผล และมีคุณสมบัติต้านเชื้อรา ไวรัส กล้ามเนื้อเกร็ง และลดระดับน้ำตาลในเลือด (Alambayan *et al.*, 2015) ในการรักษาแบบอายุรเวท มีการอ้างอิงจำนวนมากที่พิสูจน์แล้วว่าสีเสียดเป็นพืชที่มีประโยชน์ และมีคุณสมบัติในการรักษาโรคอย่างมาก (Kumar *et al.*, 2014) มีการรักษาโรคผิวหนังด้วยยาอายุรเวท Khadirarishtha ที่มีส่วนประกอบของเปลือก และแก่นของต้นสีเสียด (Sunil *et al.*, 2019) ในการรักษาแผนโบราณของจีนมีตำรับยาชื่อว่า Ercha เป็นยาที่ใช้รักษาอาการไอ ท้องร่วง แผลที่ผิวหนัง และรอยแผลเป็น (Shen *et al.*, 2006) แพทย์พื้นบ้านในประเทศบังกลาเทศระบุประโยชน์ของ Khoyer สารสกัดจากต้นสีเสียดที่สามารถใช้บรรเทาอาการปวด และควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Rahmatullah *et al.*, 2013) ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดสีเสียดที่มีการศึกษาในหลอดทดลองพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารปรับภูมิคุ้มกัน (Sunil *et al.*, 2019) ลดน้ำตาลในเลือด (Jayabharathi and Ramesh, 2018) ป้องกันตับ

(Hiraganahalli *et al.*, 2012) ต้านอาการท้องร่วง (Ray *et al.*, 2006) แก้ปวด (Rahmatullah *et al.*, 2013) ลดไขมันในเลือดสูง (Jayabharathi and Ramesh, 2018) ต้านอนุมูลอิสระ (Kumar *et al.*, 2019) รักษาโรคเบาหวาน (Aryal *et al.*, 2021) ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Isemura, 2019)

2.1.2.3 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของต้นสีเสียด

(1) ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของต้นสีเสียด

มีการใช้เปลือก ใบ และแก่นไม้ของต้นสีเสียด อย่างแพร่หลายทั่วโลก เนื่องจากมีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดี (Adhikari *et al.*, 2021) ในประเทศไทยมีตำรับยาสามัญประจำบ้านแผนโบราณชื่อตำรับยาเหลืองปิดสมุทร เป็นยาแก้อาการท้องเสียที่มีส่วนประกอบของเปลือกสีเสียด (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2561) Aryal *et al.* (2021) ศึกษาสารสกัดเปลือกสีเสียดที่สกัดด้วย Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate และน้ำ ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่ามีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Shigella sonnei* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ตารางที่ 2.3) Koregol *et al.* (2016) ศึกษาสารสกัดเปลือกสีเสียดที่สกัดด้วย Ethanol ในการต้านเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* และ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion และ Minimum inhibitory concentration (MIC) พบว่า วิธี Agar well diffusion ที่ความเข้มข้น 75 µg/ml มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* มากกว่า *P. gingivalis* และวิธี MIC พบว่า *P. gingivalis* ถูกยับยั้งที่ 12.5 µg/ml และ *A. actinomycetemcomitans* ถูกยับยั้งที่ 0.2 µg/ml (ตารางที่ 2.3) Shruthi and Geetha (2018) ศึกษาสารสกัดเปลือกสีเสียด ที่สกัดด้วยน้ำทดสอบโดยวิธี Agar well diffusion กับเชื้อ *Streptococcus sanguis* และ *S. mutans* พบว่า ความเข้มข้น 1000 µg/ml มีโซนยับยั้ง *S. sanguis* มากกว่า *S. mutans* ประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกสีเสียดในการยับยั้ง *S. sanguis* และ *S. mutans* มีมากกว่ากลุ่มควบคุม Chlorhexidine (ตารางที่ 2.3) Kusugal *et al.* (2020) ทดสอบสารสกัดเปลือกสีเสียดที่สกัดด้วยน้ำกับเชื้อ *P. gingivalis* และ *A. actinomycetemcomitans* โดยวิธี MIC ที่ความเข้มข้น 0.2 - 100 µg/ml พบว่า ค่า MIC ของ *P. gingivalis* เท่ากับ 0.4 µg/ml และ *A. actinomycetemcomitans* เท่ากับ 0.2 µg/ml (ตารางที่ 2.3) Saini *et al.* (2008) ศึกษาสารสกัดเปลือกต้นสีเสียดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดได้แก่ตัวทำละลาย Hexane และ Methanol พบว่าตัวทำละลาย Hexane ความเข้มข้น 5 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas aeruginosa* และตัวทำละลาย methanol สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella Typhi*, *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* และ *Streptococcus aureus* ได้ที่ความเข้มข้น 5 mg/ml (ตารางที่ 2.3) Lakshmi and Kumar (2011) ศึกษาสารสกัดเปลือกสีเสียดที่สกัดด้วย Ethanol โดยวิธี MIC และ Minimum bactericidal concentration (MBC) ต่อเชื้อ *Streptococcus mitis*, *S. sanguis* และ *Lactobacillus acidophilus* พบว่า เชื้อ *S. mitis* มีค่า MIC 62 µg/ml และ MBC 500 µg/ml,

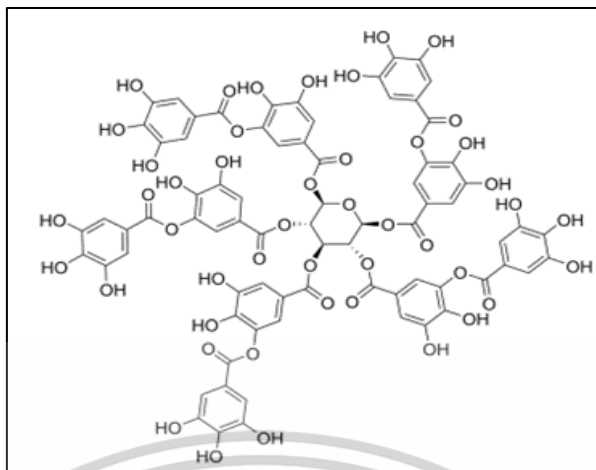
S. sanguis MIC 62 µg/ml MBC 1 mg/ml และ *L. acidophilus* MIC 62 µg/ml MBC 5 mg/ml (ตารางที่ 2.3) Negi and Dave (2010) ทดสอบสารสกัดจากใบสีเขียวในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรค และไมก์โรคจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas-aeruginosa* และ *Candida albicans* โดยใช้ตัวทำละลาย Methanol พบว่า ค่า MIC ของ *P. aeruginosa* (2,000 µg/ml) *E. coli* และ *C. Albicans* (1,500 µg/ml) *S. aureus* และ *B. subtilis* (1,000 µg/ml) และ *S. typhi* (700 µg/ml) แต่สารสกัดใบสีเขียวมีประสิทธิภาพน้อยกว่ายาปฏิชีวนะ Tetracycline และ Joshi *et al.* (2011) ศึกษาสารสกัดแก่นไม้ต้นสีเขียว สกัดด้วย Diethyl ether โดยวิธี Agar well diffusion พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas sp.* ได้ที่ความเข้มข้น 5 mg/ml (ตารางที่ 2.3)

(2)ฤทธิ์ต้านเชื้อราของต้นสีเขียว

Joshi *et al.* (2011) ศึกษาสารสกัดแก่นไม้ต้นสีเขียวที่สกัดด้วย Ethyl acetate โดยวิธี Agar well diffusion ความเข้มข้น 5 mg/ml พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporium*, *F. moniliformi*, *F. proliferatum* และ *Exherlium turticum* และสารสกัดแก่นไม้ต้นสีเขียวที่สกัดด้วย Ethanol มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum* และ *Microsporium gypseum* (Geetha *et al.*, 2011) และ Saini *et al.* (2008) ศึกษาสารสกัดเปลือกต้นสีเขียวที่สกัดด้วย Hexane และ Methanol พบว่าความเข้มข้น 5 mg/ml มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* และ *Aspergillus niger*

(3)ฤทธิ์ต้านการอักเสบของต้นสีเขียว

Burnett *et al.* (2007) ทดสอบสารสกัดแก่นสีเขียวที่สกัดด้วยน้ำในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Cyclooxygenase และ 5-Lipoxygenase ในระดับ In vitro, Cellular และ In vivo models คือการทดสอบที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ และสัตว์ พบว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และลดการอักเสบที่เกิดจาก Arachidonic acid ในแบบจำลองการบวมของหูหนู และการศึกษาของ Tseug-Crank *et al.* (2010) ศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบของสารสกัดเปลือก และแก่นไม้สีเขียวโดยใช้ Lipopolysaccharide เป็นตัวต้านการอักเสบในเซลล์ของสัตว์ และมนุษย์ ไม่ส่งผลเสียต่อยีนส์ที่ทำให้เกิดการอักเสบสำหรับ Cyclooxygenase, Tumor necrosis factor, IL-1 β และ IL-6 ในเซลล์ทั้งหมด นอกจากนี้ปัจจัยควบคุมส่วนกลางของยีนส์ และ Nuclear factor - kappa B (NF- κ B) ยังถูกลดการควบคุมลงด้วย ผลลัพธ์เหล่านี้เป็นกลไก ความเข้าใจถึงผลต้านการอักเสบของผลผลิตที่รวมกันได้อย่างชัดเจน



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของกรดแทนนิก

ที่มา: Jing *et al.* (2022)

2.2 กรดแทนนิก

2.2.1 สารที่พบมากที่สุดในสีเขียว

คือสารแทนนินหรือกรดแทนนิก (Tannin or Tannic acid) มีปริมาณมากถึง 50% มีสูตรโมเลกุล ($C_{75}H_{52}O_{46}$) เป็นกรดอ่อน ประกอบด้วย Gallic acid 9 โมเลกุล และ น้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล มีโครงสร้างโมเลกุลตามภาพ (ภาพที่ 2.3) เป็นกลุ่มของสารประกอบโพลีฟีนอลที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ มีอยู่ในต้นไม้หลายประเภท และพืชที่ราบสูง เช่น ชาเขียว กาแฟ และผลไม้สด ในเอเชีย โดยเฉพาะจีน ถูกนำมาใช้เป็นยาสมานแผล ยาแก้ท้องเสีย ยาลดอาการตกเลือด มะเร็ง และยาต้านจุลชีพ (Jing *et al.*, 2022)

2.2.2 คุณสมบัติต้านการอักเสบ

Soyocak *et al.* (2019) ศึกษาการต้านการอักเสบของกรดแทนนิกในการจำลองอาการบวมน้ำที่อุ้งเท้าที่เกิดจากฟอร์มาลินในหนูแรท กรดแทนนิกมีส่วนช่วยในการลดบวมน้ำที่อุ้งเท้าได้

2.2.3 คุณสมบัติต้านปรสิต

Alavinia *et al.* (2018) ศึกษาประสิทธิภาพการต้านปรสิต *Ichthyophthirius multifiliis* ในระยะ Theronts และ Tomonts ของกรดแทนนิกในหลอดทดลอง พบว่า กรดแทนนิก สร้างความเสียหายต่อ Plasma membrane ของปรสิตอาจจะมีประสิทธิภาพถึง 100% ต่อ *I. multifiliis* ระยะ Theronts ที่ความเข้มข้น 8 และ 11 ppm ช่วงเวลา 45 - 270 นาที การแพร่กระจายของปรสิตในระยะ Tomonts ถูกยับยั้งในความเข้มข้นอย่างน้อย 15 ppm ใน 22 ชั่วโมง

2.2.4 คุณสมบัติต้านแบคทีเรีย

Dong *et al.* (2018) รายงานว่าการต้านจุลินทรีย์ และกลไกการทำงานของกรดแทนนิกต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่พบในคน ส่งผลกระทบต่อการสร้าง Biofilm จากการทดสอบ Time-kill assay, Binding ability assay, Lysozyme susceptibility assay และ Transmission electron microscope ทำให้ทราบว่าเมื่อกรดแทนนิกไปจับกับ Peptidoglycan ในผนังเซลล์ของแบคทีเรียจะไปขัดขวางการก่อตัวของ Biofilm ของแบคทีเรียทำให้สารแทนนินส่งผลทางอ้อม โดยสามารถลดการติดต่อกันจากยาปฏิชีวนะ สารสกัดจากพืช และระบบภูมิคุ้มกัน ส่งผลให้แบคทีเรียอ่อนแอและถูกกำจัดได้ง่าย และค่า MIC แสดงให้เห็นว่ากรดแทนนิกมีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อยา Methicillin ได้ Wu *et al.* (2010) รายงานว่าสารแทนนินสามารถลดการสังเคราะห์กรดไขมันจากแบคทีเรียโดยการยับยั้ง β -ketoacyl-ACP reductase ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ได้ตามปกติ ส่งผลให้แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโต และตายลง Zhu *et al.* (2019) รายงานว่า แบคทีเรีย และราปล่อยสาร Siderophore ออกมาเพื่อไปจับ Free ferric iron จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ และเปลี่ยนเป็น Ferrous iron เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต แต่สารแทนนินมีความสามารถในการจับกับเหล็กที่ดี ซึ่งไปขัดขวาง Siderophore ในการจับเหล็กเพื่อดึงเหล็กเข้าสู่เซลล์ทำให้ แบคทีเรีย และราหยุดการเจริญเติบโต

2.2.5 คุณสมบัติต้านไวรัส

Shirasago *et al.* (2019) พบว่า กรดแทนนิกสามารถยับยั้งกระบวนการ Replication RNA ของไวรัสตับอักเสบบี และการ Chromophanil ของไวรัสตับอักเสบบี และยังยับยั้งกระบวนการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านของไวรัส Konishi and Hotta (1980) รายงานว่าสารแทนนินสามารถยับยั้งการติดเชื้อ และกระบวนการ Hemagglutination activity ของไวรัส Chikungunya ซึ่งเกิดจากสารแทนนินไปจับกับ Membrane proteins ที่ทำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคไวรัส และยังมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพในการยับยั้งของสารแทนนินจากการรวบรวมข้อมูลของ Jing *et al.* (2022) ในปรสิตเช่น *Acanthamoeba spp.* trophozoites P13 strain, *Eimeria sp.*, *Haemonchus contortus* larvae, *Ichthyophthirius multifiliis* ระยะ Theronts และ *Babesia microti* ในแบคทีเรียเช่น *Bacteroides fragilis*, *Clostridium clostridiiforme*, *C. paraputrificum*, *C. perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *S. typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio spp.*, *S. epidermidis*, *Shigella flexnei* และ *S. dysenteriae* และในไวรัส เช่น Hepatitis C virus, Chikungunya Virus, Norovirus และ Human immunodeficiency virus (HIV)

ตารางที่ 2.3 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของต้นสีเสียด

ตัวทำละลาย	ส่วนที่ใช้	ชื่อวิทยาศาสตร์	ความเข้มข้น
(1) Hexane, น้ำ		<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar well diffusion
Dichloromethane, เปลือก และ Ethyl acetate		และ <i>Shigella sonnei</i>	50 mg/ml
(2) Ethanol	เปลือก	<i>Porphyromonas gingivalis</i> (Pg) และ <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (Aa)	Agar well diffusion Pg และ Aa 75 µg/ml MIC Pg 12.5 µg/ml Aa 0.2 µg/ml
(3) น้ำ	เปลือก	<i>Streptococcus sanguis</i> และ <i>S. mutans</i>	Agar well diffusion 1000, 500, 250 µg/ml
(4) น้ำ	เปลือก	<i>P. gingivalis</i> และ <i>A. actinomycetemcomitans</i>	MIC Pg 0.4 µg/ml Aa 0.2 µg/ml
(5) Hexane และ methanol	เปลือก	<i>Salmonella Typhi</i> (ST), <i>Escherichia coli</i> (EC), <i>Bacillus cereus</i> (BC), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PAE) และ <i>Streptococcus aureus</i> (SA)	Disc diffusion Hexane 5 mg/ml EC, BC และ PAE methanol 5 mg/ml ST, EC, BC, PAE และ SA

หมายเหตุ: (1) Aryal *et al.* (2021) (2) Koregol *et al.* (2016) (3) Shruthi and Geetha (2018)
(4) Kusugal *et al.* (2020) และ (5) Saini *et al.* (2008)

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของต้นสีเสียด

ตัวทำละลาย	ส่วนที่ใช้	ชื่อวิทยาศาสตร์	ความเข้มข้น
(6) Ethanol	เปลือก	<i>Streptococcus mitis</i> (SC), <i>S. sanguis</i> (SS) และ <i>Lactobacillus acidophilus</i> (LL)	(SC) MIC 62 µg/ml MBC 500 µg/ml (SS) MIC 62 µg/ml MBC 1 mg/ml (LL) MIC 62 µg/ml MBC 5 mg/ml
(7) Methanol	ใบ	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> และ <i>Candida albicans</i>	MIC <i>P. aeruginosa</i> 2,000 µg/ml <i>E. coli</i> และ <i>C. Albicans</i> 1,500 µg/ml <i>S. aureus</i> และ <i>B.subtilis</i> 1,000 µg/ml <i>S. typhi</i> 700 µg/ml
(8) Diethyl ether	แก่นไม้	<i>Pseudomonas sp.</i>	Agar well diffusion 5 mg/ml

หมายเหตุ: (6) Lakshmi and Kumar (2011) (7) Negi and Dave (2010) และ

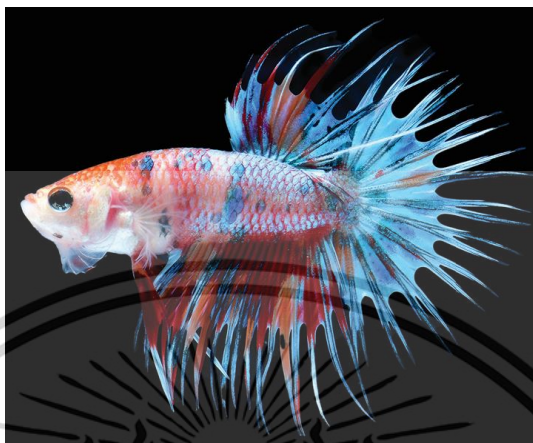
(8) Joshi *et al.* (2011)

2.3 การใช้สารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม

การใช้สารสกัดจากพืชในการเลี้ยงปลาสวยงามมีความนิยมเนื่องจากมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน มีราคาถูกกว่ายา และสารเคมี แต่ปริมาณการใช้สารสกัดจากพืชแต่ละชนิดนั้นต้องมีการศึกษาในการเลี้ยงปลาแต่ละชนิด เนื่องจากสารสกัดจากพืชประเภท Secondary metabolites บางตัวนั้นมีความเป็นพิษเช่น สารแทนนินที่มีในสารสกัดใบหูกวางเมื่อนำไปใช้เลี้ยงปลากัดในความเข้มข้นที่สูงทำให้อัตราการรอดของปลากัดลดลงเนื่องจากสารแทนนินไปจับกับเหงือกของปลาทำให้ไม่สามารถแลกเปลี่ยนออกซิเจนได้ ส่งผลให้ปลากัดตาย (Zukflee *et al.*, 2024) และสารสกัดจากพืชมีสาร Alkaloids Phenolics, Steroids, Tannins, Terpenoids, Saponins, Glycosides และ Flavonoid

มีคุณสมบัติในการลดความเครียด กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และเพิ่มการเจริญเติบโต (Reverter *et al.*, 2014 ; Harikrishnan *et al.*, 2011) Ramos *et al.* (2020) ศึกษาการใช้สารสกัดใบหูกวางเลี้ยงปลา ไบโม่เอมซอน (*Monocirrhus polyacanthus*) ความเข้มข้น 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 กรัม/ลิตร พบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเติบโตเฉพาะ ความยาว และอัตราการรอดมีค่ามากที่สุดในการเลี้ยงปลาไบโม่เอมซอนที่เลี้ยงในความเข้มข้น 0.75 กรัม/ลิตร Nugroho *et al.* (2016) ทดลองการใช้สารสกัดใบหูกวางในการเลี้ยงปลากัดความเข้มข้น 0, 125, 250, 375, 500 และ 625 ppm พบว่าความเข้มข้นสูงกว่า 375 ppm ช่วยเพิ่มอัตราการรอด, Red Blood Cells, White Blood Cells และ Haemoglobin Nurhidayat *et al.* (2016) ศึกษาการเลี้ยงปลาการ์ตูนสี่เหลี่ยม (*Paracheirodon axelrodi*) ด้วยสารสกัดใบหูกวางความเข้มข้น 0, 0.5, 1.5 และ 2.5 กรัม/ลิตร พบว่าสารสกัดใบหูกวางที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 กรัม/ลิตร สามารถเพิ่มอัตราการรอด ความยาวลำตัว และน้ำหนักได้ ศิวพงษ์ โกสิงห์ และคณะ (2561) ศึกษาสารสกัดใบหูกวางในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (*Aeromonas hydrophila*) ที่ก่อโรคในปลากัดด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อลิตรมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* และค่าระดับความเป็นพิษ (LC50) ของสารสกัดใบหูกวางที่ทำให้ปลากัดตาย 50% อยู่ที่ 96 ชั่วโมงที่ความเข้มข้น 1,789 มิลลิกรัม/ลิตร วชิรยา ภูริวิโรจน์กุล และนนทวิทย์ อารีย์ชน (2549) ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบหูกวางสกัดด้วยน้ำ Ethyl alcohol 70 และ 95% ที่ทำให้ลูกปลากัดตายครึ่งหนึ่ง (LC50) ที่ 24 ชั่วโมง พบว่า การสกัดด้วยน้ำมีค่าความเป็นพิษต่อลูกปลากัดต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับ Ethyl alcohol 70 และ 95% ทำให้สามารถใช้ในความเข้มข้นที่สูงถึง 2,200 ppm ธวัชณชัย งามศิริ และอภิวัฒน์ เหลื่อมสมบุญ (2564) ศึกษาการใช้สารสกัดใบหูกวางต่อการงอกทดแทนของครีบบลาทอง (*Carassius auratus*) ความเข้มข้น 0, 3, 6 และ 9 กรัม/ลิตร พบว่าครีบบลาทองสามารถงอกทดแทนได้สมบูรณ์เมื่อผ่านไป 6 สัปดาห์ในความเข้มข้น 6 กรัม/ลิตร สลิตย์ จันทรมณี (2563) ศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากเมล็ดต้นตะเคียนทอง (*Hopea odorata*) ต่อการรักษาบาดแผลของปลากัด กลุ่มควบคุม Oxytetracyclin 5 ppm พบว่า Oxytetracycline สามารถรักษาแผลให้หายได้ภายใน 15 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับสารสกัดจากเมล็ดต้นตะเคียนทอง 30 และ 40 ppm ที่สามารถรักษาบาดแผลปลากัดให้หายสนิทได้ภายในเวลา 15 และ 13 วันตามลำดับ สุขสกว รอดปิ่น และคณะ (2563) ศึกษาสารสกัดใบหูกวางต่อการผสมพันธุ์วางไข่ อัตราการรอดของพ่อแม่ปลากัด และอัตราส่วนเพศผู้ที่มีความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 กรัม/ลิตร พบว่า ปลากัดมีการผสมพันธุ์วางไข่ในสารสกัดใบหูกวาง 2.5 - 7.5 กรัม/ลิตร pH 6.33 - 6.67 สารสกัดใบหูกวาง 10 กรัม/ลิตร pH 5.91 ทำให้พ่อแม่ปลากัดตายทั้งหมด และสารสกัดใบหูกวาง 5 กรัม/ลิตร pH 6.71 สามารถเพิ่มลูกปลากัดเพศผู้ได้ 35.27% เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (pH 7.50) อุไรวรรณ ไพชำนาญ และวัฒนา วัฒนกุล (2544) ศึกษาการอนุบาลลูกปลากัดในน้ำสกัดจากใบมังคุดสด และแห้ง ความเข้มข้น 0, 25, 50, 70 และ 100 กรัมต่อน้ำ 5 ลิตร พบว่า ปลากัดที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักใบมังคุดแห้งไม่มีผลต่ออัตราส่วนเพศผู้ และเพศเมีย แต่ปลากัดที่เลี้ยงด้วยน้ำ

หมักใบมังคุดสดความเข้มข้น 25 กรัม มีอัตราส่วนเพศเป็นเพศผู้มากกว่าเพศเมีย และความเข้มข้น 70 กรัม อัตราส่วนเพศเมียมากกว่าเพศผู้



ภาพที่ 2.4 ปลากัดเพศผู้สายพันธุ์หางมงกุฏ
ที่มา: อรุณี รอดลอย (2566)



ภาพที่ 2.5 ปลากัดเพศเมียสายพันธุ์หางมงกุฏ
ที่มา: อรุณี รอดลอย (2566)

2.4 ปลากัดไทย

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของปลากัด

ปลากัด (*Betta splendens*) มีชื่อสามัญว่า Siamese fighting fish อยู่ในครอบครัว Osphronemidae ปลากัดเป็นสัตว์น้ำที่ได้รับความนิยมให้เป็นสัตว์น้ำประจำชาติไทย มีถิ่นกำเนิดอยู่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และพบกระจายในทุกภาคของประเทศไทย (Monvises *et al.*, 2009) แหล่งน้ำที่ปลากัดในธรรมชาติอาศัยส่วนใหญ่เป็นระบบนิเวศแบบน้ำนิ่งหรือน้ำไหลช้า และมีพืชน้ำ เช่น นาข้าว บ่อน้ำ บึง และหนอง (Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001 ;

Monvises *et al.*, 2009) ปลากัดหลีกเลี่ยงผู้ล่าที่มีขนาดใหญ่ด้วยการอาศัยในบริเวณน้ำตื้นหรือริมฝั่งของแหล่งน้ำ (Winemiller and Leslie, 1992) อีกทั้งเพื่อลดการแข่งขันจากปลาชนิดอื่นที่มีขนาดใหญ่ใกล้เคียงกัน เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวมีปริมาณออกซิเจนต่ำ และมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในรอบวันอย่างรวดเร็ว แหล่งน้ำธรรมชาติที่ปลากัดอาศัยมี pH ในช่วง 5.3 - 5.8 อุณหภูมิ 27.0 - 31.5 °C และมีความลึก 2.0 - 9.4 เซนติเมตร (Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001) โดยลักษณะของปลากัดตัวเต็มวัยตัวผู้จะมีขนาดใหญ่ สีสนสวยงาม และครีบที่ยาวกว่าเพศเมีย โดยทั่วไปเพศเมียมีลักษณะ สีที่ค่อนข้างจาง ครีบสั้น และขนาดเล็ก เมื่อปลาเพศเมียพร้อมผสมพันธุ์จะมีการเปลี่ยนแปลงของขอบเหงือกมีสีแดงเข้ม มีลายคล้ายปลาชะโดเกิดขึ้นในแนวขวางข้างลำตัว มีอวัยวะช่วยวางไข่ (Ovipositor) มีสีขาวขุ่นเห็นได้อย่างชัดเจน และส่วนท้องมีลักษณะบวมใหญ่กว่าปกติ (ภาพที่ 2.4 และ 2.5) ปลากัดมีอวัยวะช่วยหายใจอยู่ในโพรงอากาศหลังช่องเหงือก (Labyrinth organ) ซึ่งช่วยให้ปลากัดสามารถอาศัยได้ในน้ำที่มีออกซิเจนต่ำ มีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อที่มีรอยหยัก และมีเส้นเลือดฝอยมาเลี้ยงจำนวนมาก ในปลาวัยอ่อนจะไม่พบอวัยวะดังกล่าว และจะพบเมื่อปลาอายุได้ 10 วัน (อรุณี รอดลอย, 2566)

ปลากัดโดยส่วนใหญ่มีพฤติกรรมเป็นสัตว์สังคมเนื่องจากสามารถอยู่รวมเป็นกลุ่มตามลำดับชั้น หรืออาจแยกตัวจากกลุ่มเพื่ออยู่แบบเดี่ยวได้เช่นกัน (Snekser *et al.*, 2006) ในธรรมชาติอาณาเขตปลากัดสามารถอยู่ร่วมกันได้ไม่เกิน 5 ตัวต่อตารางเมตร (Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001) มีพฤติกรรมก้าวร้าวในช่วงอายุ 1.5 - 2 เดือน (วันเพ็ญ มินกาญจนและคณะ, 2531) ซึ่งพฤติกรรมก้าวร้าวแสดงออกโดยการเพิ่มความเข้มของสี แผ่ครีบ เปิดกระพุ้งแก้ม (Operculum) และกัดหางปลากัดตัวอื่นที่อยู่ในอาณาเขต (Monvises *et al.*, 2009) การแสดงพฤติกรรมพร้อมผสมพันธุ์ของปลากัดเพศผู้คือการสร้างหอด (Bubble nest) เพื่อใช้เป็นที่ฟักไข่ และเลี้ยงดูลูกปลากัดวัยอ่อน โดยมีการพ่นฟองอากาศที่มีของเหลวจากปากผสมกันให้เกาะเป็นกลุ่มโดยแต่ละกลุ่มมีขนาดเฉลี่ย $4.68 \times 7.13 \times 0.47$ ลูกบาศก์เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน, กว้าง \times ยาว \times สูง) (ธวัช ดอนสกุล, 2530) และปลาเพศเมียมีการแสดงพฤติกรรมพร้อมผสมพันธุ์คล้ายกัน แต่ขนาดของหอดจะเล็กกว่าเพศผู้ (ชัย เกียรติ์นรินาท และ บุญชัย อัครวิจวานิช, 2548) การผสมพันธุ์ของปลากัดสามารถผสมพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี โดยปลาเพศเมียสามารถผสมพันธุ์และวางไข่ได้เฉลี่ย 7 - 8 ครั้งต่อปี (ธวัช ดอนสกุล, 2530) ครั้งละ 500 - 100 ฟอง (อรุณี รอดลอย, 2566)

2.4.2 การเพาะเลี้ยงปลากัด

2.4.2.1 การเพาะพันธุ์ปลากัด

คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีอายุ 3 เดือนขึ้นไป โดยคัดเลือกจากความสมบูรณ์ของปลาที่มีลักษณะ ลำตัว และครีบสมบูรณ์ ขนาดของครีบ และขนาดลำตัวมีความสมดุลกัน ไม่มีบาดแผลหรืออาการที่แสดงออกถึงโรค ปลาเพศผู้มีลักษณะภายนอกที่แตกต่างจากปลาเพศเมีย โดยลำตัวเรียวยาว ครีบสั้น ครีบหาง ครีบท้อง ครีบหลังยาวกว่าปลาเพศเมีย สีสนของปลาเพศผู้มีความ

สดใสและสวยงามกว่าปลาเพศเมีย ปลาเพศเมียมีลักษณะภายนอกที่ต่างจากเพศผู้ชัดเจนคือท้องมีลักษณะกลมมนออกด้านข้างของลำตัวเนื่องจากมีไข่ที่พร้อมผสมพันธุ์อยู่ภายใน มีหน่อไข่ที่มีเฉพาะเพศเมียอยู่บริเวณใต้ท้องปลา (ธวัช ดอนสกุล, 2530) การผสมพันธุ์ของปลากัด ปลากัดเพศผู้จะสร้างหูดหรือก้อหูด เป็นลักษณะของฟองอากาศลอยอยู่บนผิวน้ำที่อยู่เป็นกลุ่มหนาแน่นมีหน้าที่สำหรับเก็บรักษาไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิจนถึงการฟักของลูกปลา ขณะที่ปลาเพศผู้กำลังสร้างหูดจะมีการปล่อยสาร Steroid glucuronide เพื่อดึงดูดปลาเพศเมีย และกระตุ้นให้ปลาเพศเมียพร้อมผสมพันธุ์ เมื่อปลาเพศเมียพร้อมผสมพันธุ์จะปล่อยสาร Odoriferous pheromone เพื่อส่งสัญญาณให้ปลาเพศผู้รู้ถึงการพร้อมผสมพันธุ์ (การุณ ทองประจุแก้ว, 2556) ภาชนะเพาะพันธุ์ในปัจจุบันเกษตรกรนิยมใช้ขันพลาสติกที่ใช้ในการตักน้ำ เนื่องจากสะดวกในการทำงาน ไม่ใช่พื้นผิวที่มาก และหาง่าย แต่อาจจะมี การใช้อ่างดินเผา กระละมั่ง และถังอยู่ ในภาชนะเพาะพันธุ์มีการใส่พรรณไม้น้ำ ใบไม้ หรือถุงพลาสติก ขนาด 2 x 3 นิ้วลงไปให้ลอยบนผิวน้ำเพื่อเป็นวัสดุยึดเกาะในการสร้างหูดได้ง่าย (อรุณี รอดลอย, 2566) นำปลาเพศผู้ปล่อยลงในภาชนะเพาะพันธุ์ก่อนปล่อยปลาเพศเมีย 4 - 5 ชั่วโมง เมื่อปล่อยปลาเพศผู้แล้วทำการปิดภาชนะให้มีมืดสนิทเพื่อให้สร้างหูด นิยมปล่อยปลาเพศเมียลงในภาชนะเพาะพันธุ์ ในช่วง 17.00 - 18.00 น. เพื่อลดเวลาในการที่ปลาเพศผู้กัดปลาเพศเมียบาดเจ็บจากการผสมพันธุ์ หลังจากปล่อยปลาเพศเมียปิดภาชนะเพาะพันธุ์ให้มีมืดสนิทเป็นเวลา 3 วันเพื่อให้ปลาผสมพันธุ์ และวางไข่ หลังจากครบ 3 วัน นำปลาเพศเมียออกจากภาชนะเพาะพันธุ์เพื่อให้ปลาเพศผู้อนุบาลลูกปลากัดในภาชนะเพาะพันธุ์เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำปลาเพศผู้ออกจากภาชนะเพาะพันธุ์ นำลูกปลากัดไปอนุบาลต่อในบ่อปูนซีเมนต์ขนาด 100 ลิตร (ประภาส โฉลกพันธ์รัตน์, 2553) ปลากัดเพศเมียจะสามารถผสมพันธุ์ และวางไข่ได้ทุก 2 สัปดาห์ (การุณ ทองประจุแก้ว, 2556)

2.4.2.2 การอนุบาลปลากัด

การอนุบาลลูกปลากัดแรกเกิดถึง 2 สัปดาห์ อาหารที่เหมาะสมคือ ไรแดง พารามีเซียม อาร์ทีเมียแรกฟัก และไข่แดงของไข่ไก่หรือไข่เป็ดต้มสุก นำมาขยี้ผ่านผ้าขาวบางลงในน้ำ เพื่อให้ไข่แดงละลายเป็นเม็ดเล็ก ๆ ผ่านผ้าออกไป จึงนำไปให้ลูกปลากัดกินให้ทั่วบ่อ เปลี่ยนถ่ายน้ำ บ่ออนุบาลทุก 3 - 5 วัน เปลี่ยนครั้งละ 30 - 50% และระมัดระวังไม่ให้ลูกปลากัดบอบซ้ำ เมื่อลูกปลากัดอายุ 3 สัปดาห์ - 1 เดือน เริ่มให้อาหารลูกปลากัดด้วยไข่ตุ๋นกับไรแดง โดยนำไข่ตุ๋นที่ได้ไปบดเป็นเม็ดเล็ก ล้างน้ำจนสะอาดจึงนำไปให้ลูกปลากัด เมื่อลูกปลากัดอายุ 1.5 เดือน ทำการคัดแยกเพศปลาเพศผู้โดยดูจากลักษณะภายนอกที่มีครีบทุกครีบยาวกว่าเพศเมีย สีสันชัดเจน สมบูรณ์แข็งแรง และไม่พิการ ลงในขวดแก้วแบนหรือขวดพลาสติกเพื่อเลี้ยงต่อโดยใส่ปลากัดเพศผู้ 1 ตัวต่อ 1 ขวด เพื่อไม่ให้ปลาเพศผู้กัดกันเนื่องจากหิวอาณาเขตจนทำให้เครียด และเสียราคาในการจำหน่าย ปลาเพศเมียที่ถูกคัดออกมา และนำไปเลี้ยงรวมกันในบ่อ การให้อาหารนิยมให้ ไรแดง อาร์ทีเมีย และไข่ตุ๋น จำนวน 1 - 2 ครั้งต่อวัน แต่การให้อาหารมีชีวิตควรฆ่าเชื้อด้วยการแช่ต่างทับทิมความเข้มข้น 100 - 150 ppm นาน 3 - 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดก่อนนำไปให้ปลากัด การเปลี่ยนถ่ายน้ำสำหรับการให้อาหารมี

ชีวิตควรเปลี่ยนถ่ายน้ำ 3 วันครั้ง และการเปลี่ยนถ่ายสำหรับการให้อาหารไม่มีชีวิตควรเปลี่ยนถ่ายน้ำ 1 - 2 วันครั้ง ทำการเลี้ยงจนปลากัดมีอายุ 2.5 - 3 เดือน ก็สามารถจับจำหน่ายได้ (อรุณี รอดลอย, 2566)

2.5 โรคที่พบในปลาสวยงาม และการรักษา

โรคจุดขาว (White spot disease) เกิดจากสัตว์เซลล์เดียวคือ *Ichthyophthirius multifiliis* เรียกทั่วไปว่า อีค โดยตัวอ่อนของอีคจะฝังตัวเข้าไปอยู่ใต้เยื่อบุผิวบริเวณลำตัว และเหงือก ทำให้เห็นบริเวณนั้นเป็นจุดขาว ๆ ขนาด 0.5 - 1.0 มม. อีคเมื่อเจริญเต็มที่ จะหลุดออกจากตัวปลา ว่ายน้ำเป็นอิสระ และสร้างเกราะหุ้มตัวได้ มีการแบ่งเซลล์ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว มักจะพบโรคจุดขาวระบาดในช่วงอุณหภูมิของน้ำมีการเปลี่ยนแปลงจากสูงไปต่ำ หรือต่ำไปสูงในรอบวันที่สูงทำให้ปลาอ่อนแอ โดยจะมีอาการหายใจไม่สะดวก เหงือกเปิดอ้าตลอด และบ่อยครั้งกว่าปกติ และจะใช้ลำตัวถูกับพื้นบ่อ เพาะเลี้ยงเนื่องจากการระคายเคืองของอีคที่ฝังตัวอยู่ใต้เยื่อบุผิวหนัง ครีบเริ่มห่อไม่กางผิดปกติ เมื่อมีอาการประมาณ 2 - 3 วัน จะเริ่มมีจุดสีขาวขึ้นตามลำตัว โรคนี้หากเป็นแล้วโอกาสที่ปลารอดมีโอกาสน้อย การรักษาใช้ Formalin ความเข้มข้น 25 - 30 ppm แช่ตลอด หรือ 100 - 200 ppm แช่นาน 30 นาที - 1 ชั่วโมงแล้วทำการเปลี่ยนน้ำ ควรเปลี่ยนถ่ายน้ำให้สะอาดอยู่เสมอ และเพิ่มอุณหภูมิในน้ำให้สูงขึ้นจะทำให้ตัวเต็มวัยของอีคหลุดออก และใช้ Malachite green ในปริมาณ 0.2 - 0.3 ppm ใส่ลงไปเป็นน้ำเป็นเวลา 12 - 24 ชั่วโมงแล้วเปลี่ยนถ่ายน้ำ (นันทริกา ชันซื่อ, 2553)

โรคสนิม (Velvet disease) เกิดจากสัตว์เซลล์เดียวมีรูปร่างคล้ายแส้ (Flagellum) ชื่อว่า *Oodinium* sp. อาการของโรคจะแสดงตามผิวหนังปลาโดยมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่สีเหลืองปนน้ำตาล กระจายเป็นหย่อม ๆ บริเวณที่พบส่วนใหญ่อยู่บริเวณลำตัว และเหงือก การป้องกัน และการรักษา ใช้เกลือแกงความเข้มข้น 1% (เกลือ 1 กิโลกรัม ในน้ำ 100 ลิตร) แช่ปลาไว้นาน 24 ชั่วโมง และควรทำซ้ำทุก 2 วัน หลังจากเปลี่ยนน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาออกหมดแล้ว (วันเพ็ญ มินกาญจน และคณะ, 2543)

โรคที่เกิดจากปลิงใสที่พบทั่วไปมีอยู่ 2 ชนิด คือ *Gyrodactylus* sp. และ *Dactylogyrus* sp. อาการของโรคที่พบในปลากัด คือ ส่วนหัวของปลาจะมีสีซีด ส่วนลำตัวของปลาสีเข้ม และมีอาการของครีบกร่อนร่วมด้วย พบปรสิตบริเวณลำตัวและเหงือก การป้องกัน และการรักษา ควรใช้ Formalin ความเข้มข้น 30 - 50 ppm หรือ Trichlorfon ความเข้มข้น 0.25 - 0.5 ppm ทิ้งไว้ 3 - 4 วัน ถ่ายน้ำ แล้วใส่ยาปริมาณเท่าเดิมทำซ้ำเช่นนี้อย่างน้อย 2 - 3 ครั้ง (นฤชยา ไกรเนตร, 2553)

โรคเห็บกระซังส่วนใหญ่เกิดขึ้นในช่วงฤดูหนาวหรือน้ำที่ใช้เลี้ยงเน่าเสีย เป็นโรคที่มาจากเชื้อโปรโตซัวมีลักษณะกลมแบน มีขนเต็มตัว เคลื่อนไหวเร็ว ปากมีขอ ปลาที่เป็นโรคจะมีสีเข้มขึ้น ว่ายน้ำตามผิวน้ำผิดจากปกติมีอาการรวมคือครีบเปื่อย เกล็ดหลุด การรักษา ใส่เกลือแกง 1 - 1.59% แช่ปลา

ทิ้งไว้ 20 - 30 นาที หรือใช้ Formalin 25 ppm แช่ปลาไว้นานประมาณ 12 - 24 ชั่วโมง แล้วทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำ (อรุณี รอดลอย, 2566)

โรคหนองสมอเกิดจากพยาธิชนิด *Lernaea* sp. พบช่วงฤดูฝน และฤดูหนาวที่มีอากาศเปลี่ยนแปลงในรอบวันสูง ลักษณะอาการปลาจะมีเมือกขับออกมามากกว่าปกติ และมีตุ่มแดง ๆ บริเวณที่ถูกพยาธิเจาะ การรักษา ใส่เกลือแกง และนำพยาธิที่พบเห็นออกจากตัวปลา (ปภาศิริ ศรีโสภารณ์, 2537)

โรคที่เกิดจากเชื้อรา มักจะพบหลังจากปลาบอบช้ำเนื่องจากการจับหรือเคลื่อนย้าย เชื้อราที่พบส่วนใหญ่ คือ *Saprolegnia* sp. อาการของโรคจากเชื้อรามีลักษณะเป็นปุยขาวคล้ายสำลีฟู ๆ บริเวณที่เกิดโรค การรักษา ใช้ Trifluralin 8 - 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำ 100 ลูกบาศก์เมตร แช่ตลอด เปลี่ยนน้ำ ทุก 2 วัน แล้วใส่ยาปริมาณเท่าเดิม ทำซ้ำอย่างน้อย 2 - 3 ครั้ง หรือใส่ Malachite Green ปริมาณ 0.1 ppm และทิ้งไว้ 1 วัน โดยถ่ายน้ำออก และทำทุก ๆ วันจนกว่าปลาจะดีขึ้น (นฤชยา ไกรเนตร, 2553)

โรคติดเชื้อแบคทีเรียเกิดจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* เกิดจากคุณภาพน้ำไม่ดี น้ำเน่าเสีย ปลาจะมีลักษณะอาการเบื่ออาหาร ซึม กินอาหารน้อยลง ตัวพอม บวมแดงตามตัว รักษาด้วยการใส่ยาปฏิชีวนะลงไปในน้ำ แช่ปลาหรืออาจจะใช้ยาผสมอาหาร เช่น Oxytetracycline ในปริมาณ 10 ppm แล้วแช่ปลาไว้ 12 - 24 ชั่วโมง ติดต่อกันประมาณ 1 สัปดาห์ จนกว่าปลาจะดีขึ้น (อรุณี รอดลอย, 2566)

โรคตัวเปื่อย ปากเปื่อยหรือที่ชาวบ้านนิยมเรียกว่าโรคไฟลามทุ่ง เป็นโรคเกิดจากพยาธิเข้าไปเจาะทำลายตามปาก และลำตัวปลา ทำให้เกิดแผล และติดเชื้อ ปลาจะมีลักษณะอาการเบื่ออาหาร ตัวลีบงอ ลอยอยู่เหนือน้ำ ลำตัวมีแผลเน่าเปื่อย และจะลามไปอย่างรวดเร็ว การรักษา ควรเปลี่ยนน้ำให้สะอาดอยู่เสมอ ประมาณ 1 สัปดาห์ ปลาจะมีอาการดีขึ้น และควรลดปริมาณอาหารสดให้น้อยลง เนื่องจากถ้าปลากินเหลือจะทำให้เกิดแบคทีเรีย ทำให้เกิดแผลเน่าเปื่อยได้มากขึ้น (อรุณี รอดลอย, 2566)

ซึ่งการเกิดโรคที่กล่าวมาทั้ง 8 ชนิดนั้นทำให้ปลาสวยงามมีอัตราลดต่ำลงทำให้ปลาสวยงามไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด และยังส่งผลกระทบต่อรายได้ของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยง เนื่องจากยาและสารเคมีในการป้องกัน และการรักษามีราคาแพง

2.6 การกำหนดเพศปลาด้วยปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม

การกำหนดเพศปลาด้วยปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมสามารถกำหนดเพศได้ทั้งเพศผู้ และเพศเมีย การกำหนดเพศสามารถเกิดขึ้นได้โดย Genotype ในปลาหลายชนิด และยังมีกำหนดเพศปลาโดยสิ่งแวดล้อมเกิดขึ้นได้ในปลาบางชนิดซึ่งปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลมากที่สุดคือ pH และ อุณหภูมิ (Romer and Beisenherz, 1996)

2.6.1 การกำหนดเพศด้วย pH

สุกสกา รอดปิ่น และคณะ (2563) พบว่าการใช้น้ำแช่ใบหูกวางมีส่วนช่วยเพิ่มอัตราส่วนลูกปลากัดเพศผู้พบอัตราส่วนเพศผู้ 74.13% pH 6.71 ในน้ำแช่ใบหูกวาง 5 กรัม/ลิตร เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมไม่ใช้น้ำแช่ใบหูกวางซึ่งอัตราส่วนเพศผู้เท่ากับ 41.13% pH 7.50 วิจิตรตา อรรถสาร และคณะ (2567) ศึกษาการผสมพันธุ์ปลากัดในน้ำหมักเปลือกสีเสียดพบว่าความเข้มข้น 0.25 กรัม/ลิตร มีอัตราส่วนลูกปลาเพศผู้มากที่สุดที่ 68.95% pH 7.05 Reddon and Peter (2013) ศึกษาค่า pH 5.5 และ 6.5 ต่ออัตราส่วนเพศของปลาหมอสี (*Pelvicachromis pulcher*) พบว่า pH 5.5 มีอัตราส่วนเพศผู้มากกว่าเพศเมียจากจำนวนทั้งหมด 13 ตัวจาก 18 ตัว โดย pH ที่ลดลงทำให้การแสดงออกของ Gonadal aromatase promoter gene ลดลงส่งผลให้มีอัตราส่วนเพศผู้มากขึ้น

2.6.2 การกำหนดเพศด้วยอุณหภูมิ

Shen *et al.* (2016) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่ออัตราส่วนเพศปลา Bluegill Sunfish (*Lepomis macrochirus*) จาก 4 แหล่งได้แก่ Hebron, Jones, Hocking และ Missouri พบว่าจากแหล่ง Hebron อุณหภูมิสูงที่ 24 และ 32 °C มีปลาเพศผู้มากกว่าอุณหภูมิ 17 °C และปลาจากแหล่ง Jones ที่ใช้อุณหภูมิต่ำกลับผลิตปลาเพศผู้มากกว่ากลุ่มที่ใช้อุณหภูมิสูงกว่า Wang *et al.* (2014) ศึกษาอุณหภูมิต่ออัตราส่วนเพศปลา Bluegill sunfish พบว่า อุณหภูมิ 29 และ 34 °C มีสัดส่วนปลาเพศผู้สูงกว่า (70.64 และ 66.67%) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 17 และ 23 °C Koyakomanda *et al.* (2019) ศึกษาผลของอุณหภูมิน้ำต่ออัตราส่วนเพศของปลานิลโมซัมบิก (*Oreochromis mossambicus*) ในอุณหภูมิ 5 ระดับ 28, 30, 32, 34 และ 36°C พบว่าอุณหภูมิที่ 36°C มีอัตราส่วนเพศผู้สูงสุด 86.67% Azaza *et al.* (2008) ศึกษาอัตราส่วนเพศปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่เลี้ยงในอุณหภูมิน้ำ 22, 26, 30, และ 34 °C พบว่า การเลี้ยงปลานิลที่อุณหภูมิสูงกว่า 36.9 °C ทำให้อัตราเพศผู้สูงถึง 64.20 - 80% แต่มีอัตราการรอดชีวิตลดลง 60 - 81%

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 สัตว์ทดลอง

ปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ ได้แก่ ลูกปลา อายุ 1 เดือน จำนวน 300 ตัว และพ่อแม่พันธุ์ อายุ 3 เดือนขึ้นไป จำนวน 48 ตัว จากแชมป์ฟาร์ม จังหวัดนครปฐม

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์ และสารเคมีการวิเคราะห์ปริมาณแทนนินในสารสกัดเปลือกสีเสียด ได้แก่ ปีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ แท่งแก้วคนสาร บิวเรตต์ อ่างควบคุมอุณหภูมิ ไมโครปิเปตต์ เครื่องชั่ง โถดูดความชื้น ตู้อบ กระดาษฟอยล์ ขวดปรับปริมาตร หัวทราย สายออกซิเจน บั้มลม ซ้อนตักสาร กรวยกรอง ผ้าขาวบาง กระจกตวง ต่างทับทิม (KMnO_4) Indigo trisulfonate และผงถ่าน (Activated charcoal)

3.2.2 อุปกรณ์ศึกษา pH ของสารสกัดเปลือกสีเสียด ได้แก่ ปีกเกอร์ หัวทราย สายออกซิเจน บั้มลม แท่งแก้วคนสาร เครื่องชั่ง กระจกตวง ผ้าขาวบาง และ pH meter (Hanna รุ่น HI98128)

3.2.3 อุปกรณ์ และอาหารเลี้ยงที่ใช้ในการทดสอบ MIC และ MBC ของสารสกัดเปลือกสีเสียด ได้แก่ หลอดทดลอง ไมโครปิเปตต์ เครื่องชั่ง ปีกเกอร์ แท่งแก้วคนสาร กระจกตวง ผ้าขาวบาง ตู้บ่มเชื้อ Spectrophotometer (Thermo รุ่น genesys 10S Vis) อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller Hinton และจานเพาะเชื้อ

3.2.3.1 เชื้อที่ใช้ในการทดสอบ MIC และ MBC เชื้อ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ สาขาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการจัดการทรัพยากรทางน้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

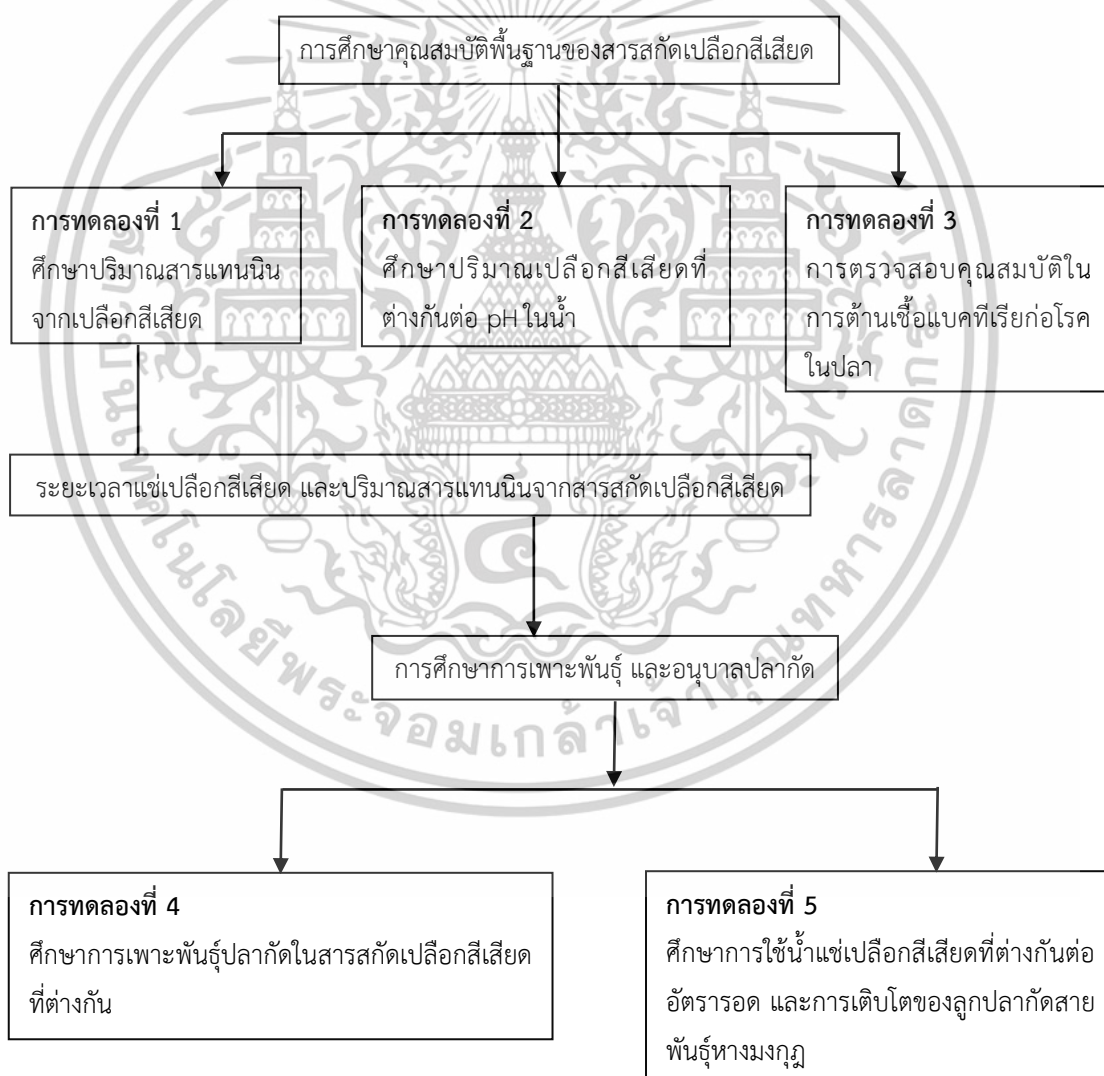
3.2.4 อุปกรณ์ ในการอนุบาลลูกปลากัด ได้แก่ ตู้ปลาขนาด 35x35x45 เซนติเมตรถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร Electrical conductivity meter (EC) (Hanna รุ่น HI98311) pH meter กระจกตวง สายยาง เครื่องชั่ง หัวทราย สายออกซิเจน และบั้มลม

3.2.6 อุปกรณ์ และสารเคมีในการเพาะพันธุ์ปลากัด ได้แก่ แก้วน้ำพลาสติกเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.8 เซนติเมตร สูง 15.2 เซนติเมตร ตาข่ายไนลอน หนึ่งยาง ภาชนะพลาสติกทรงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร สูง 7.7 เซนติเมตร แผ่นฟิวเจอร์บอร์ดสีดำ Dissolved oxygen meter (DO) (YSI Pro20) Electrical conductivity meter pH meter เครื่องชั่ง ถังพลาสติกทรงกระบอกขนาด 20 ลิตร ถังพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมขนาด 30 ลิตร กระจกตวง สายยาง เครื่องชั่ง

หัวทราย สายออกซิเจน บีมลุม Methyl orange กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 0.02 N Buffer solution hardness Indicator hardness และDisodium ethylenediamine tetraacetic (EDTA)

3.3 แผนผังการทดลอง

การศึกษานี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วนได้แก่ การศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของสารสกัดเปลือกสีเสียด ได้แก่ ปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด ปริมาณเปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ คุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาของสารสกัดเปลือกสีเสียด และการศึกษาการอนุบาล และเพาะพันธุ์ปลากัด ได้แก่ การใช้น้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่ออัตราการรอด การเติบโตของลูกปลากัด และการเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ต่างกัน ดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 แผนผังการทดลองการใช้สารสกัดน้ำจากเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ และอนุบาล ลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ

3.4 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด

3.4.1.1 การหาความชื้นของเปลือกสีเสียด

นำเปลือกสีเสียด (ภาพผนวกที่ 1) จากตำบล ด่านแม่คำมัน อำเภอ ลับแล จังหวัด อุตรดิตถ์ ชั่งน้ำหนักเปลือกสีเสียดก่อนอบ หลังจากนั้นนำเปลือกสีเสียดไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักหลังการอบ เพื่อหาความชื้นของเปลือกสีเสียด พบว่าความชื้นของเปลือกสีเสียดเท่ากับ 11%

3.4.1.2 การศึกษาระยะเวลาในการสกัดเปลือกสีเสียดเบื้องต้น ชั่งน้ำหนักเปลือกสีเสียด 1 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ที่มีน้ำปริมาตร 1 ลิตร ให้อากาศด้วยหัวทรายเป็นระยะเวลาที่ต่างกันได้แก่ 30, 60, 90 และ 120 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด และนำระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดเปลือกสีเสียดด้วยน้ำมาใช้ในข้อ 3.4.1.3

3.4.1.3 วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคือ ปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด ประกอบด้วย 6 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 เปลือกสีเสียดปริมาณ 0 กรัมสกัดด้วยน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 เปลือกสีเสียดปริมาณ 0.1 กรัมสกัดด้วยน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 เปลือกสีเสียดปริมาณ 0.3 กรัมสกัดด้วยน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 เปลือกสีเสียดปริมาณ 0.5 กรัมสกัดด้วยน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 5 เปลือกสีเสียดปริมาณ 0.7 กรัมสกัดด้วยน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 6 เปลือกสีเสียดปริมาณ 1 กรัมสกัดด้วยน้ำ 1 ลิตร

3.4.1.4 การเตรียมสารสกัดเปลือกสีเสียด

โดยนำเปลือกสีเสียด 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1 กรัม แช่ลงในน้ำ 1 ลิตร และให้อากาศเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำเปลือกสีเสียดออก

3.4.1.5 วิเคราะห์ปริมาณสารแทนนิน

นำตัวอย่างสารสกัดเปลือกสีเสียด 5 มิลลิลิตร ปิเปตในขวดรูปชมพู่และเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ลดปริมาณด้วย Water bath ที่อุณหภูมิ 75 °C จนปริมาตรของสารสกัดเปลือกสีเสียดและน้ำลดลงเหลือ 5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และ Indigo trisulfonate 0.5% 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ และไทเทรตด้วยสารละลาย 0.004 M KMnO_4 การเปลี่ยนแปลงของสี สีเหลืองทองเป็นจุดสิ้นสุดปริมาณ KMnO_4 ที่ใช้ไปถูกบันทึกเป็นการอ่านค่าการไทเทรต (A) และไทเทรตแปลงค่าด้วยการนำสารสกัดเปลือกสีเสียด 25 มิลลิลิตร ผสมกับ Activated Charcoal 1 กรัม คนให้ทั่ว และพักไว้จนตกตะกอน หลังจากนั้นนำตัวอย่างสารสกัดเปลือกสีเสียด 5 มิลลิลิตร ปิเปตลงขวดรูปชมพู่ และเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร นำไปลดปริมาณด้วย Water bath จนปริมาตรของสาร

สกัดเปลือกสีเสียด ลดลงเหลือ 5 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และ Indigo trisulfonate 0.5% 2 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ และไทเทรตด้วยสารละลาย 0.004 M KMnO_4 การเปลี่ยนแปลงของสีสีเหลืองทองเป็นจุดสิ้นสุด ปริมาณ KMnO_4 ที่ใช้ไปถูกบันทึกเป็นการอ่านค่าการไทเทรต (B) (Mulani *et al.*, 2016)

3.4.1.6 การคำนวณปริมาณสารแทนนิน

คำนวณปริมาณ Potassium permanganate ที่ใช้ในการออกซิเดชันของสารแทนนินสามารถคำนวณได้จาก นำปริมาณการไทเทรต A - ปริมาณการไทเทรต B = C (มิลลิลิตร) จากนั้นนำค่าที่ได้ คำนวณเปอร์เซ็นต์ของแทนนินในเปลือกสีเสียด = $0.01664 \times C$ นำเปอร์เซ็นต์ของแทนนินเปลี่ยนหน่วยเป็น ppm โดยคำนวณจาก เปอร์เซ็นต์ของแทนนิน $\times 10,000 = \text{ppm}$ (Mulani *et al.*, 2016)

3.4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาปริมาณเปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ

3.4.2.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษาคือค่า pH ของน้ำสกัดจากเปลือกสีเสียด ประกอบด้วย 6 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่ใส่เปลือกสีเสียด (0 กรัม)

ชุดการทดลองที่ 2 เปลือกสีเสียด 2 กรัม แสงในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 เปลือกสีเสียด 4 กรัม แสงในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 เปลือกสีเสียด 6 กรัม แสงในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 5 เปลือกสีเสียด 8 กรัม แสงในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 6 เปลือกสีเสียด 10 กรัม แสงในน้ำ 1 ลิตร

3.4.2.2 วิธีการเตรียมสารสกัดเปลือกสีเสียด

โดยนำเปลือกสีเสียด 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัม แสงในน้ำ 1 ลิตร และให้อากาศเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำเปลือกสีเสียดออก

3.4.2.3 บันทึกค่า pH ของน้ำสกัดจากเปลือกสีเสียด

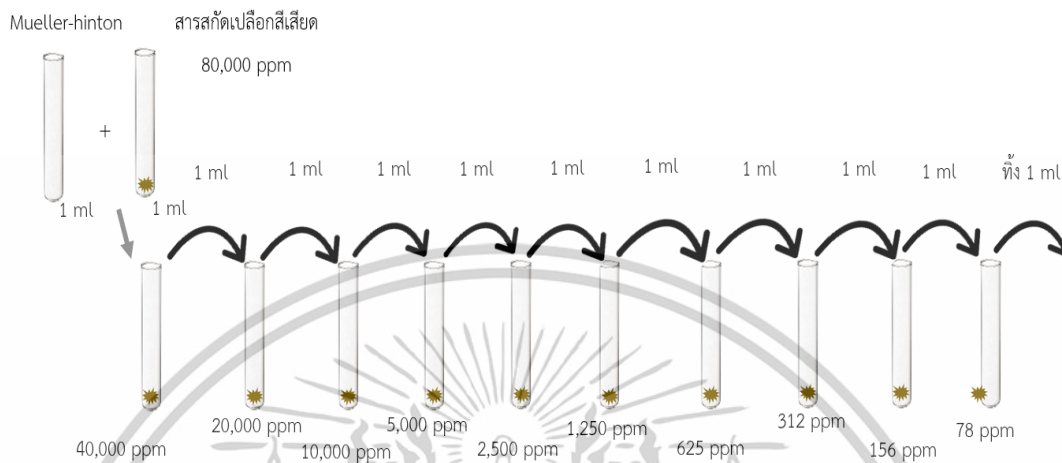
วัดค่า pH ของน้ำสกัดจากเปลือกสีเสียดทุกวันเป็นเวลา 7 วัน

3.4.3 การทดลองที่ 3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลา

3.4.3.1 การทดสอบ MIC และ MBC ด้วยวิธี Micro dilution test ของน้ำแช่เปลือกสีเสียดต่อเชื้อก่อโรค

(1) การเตรียมสารสกัดเปลือกสีเสียดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 80,000 ppm (80 กรัม/ลิตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารสกัดเปลือกสีเสียดด้วยวิธี

Two-fold serial dilution (1:2) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller-Hinton ให้สารสกัดเปลือก สีสียดมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 78 - 40,000 ppm (ภาพที่ 3.2)



ภาพที่ 3.2 การเตรียมสารสกัดเปลือกสีเสียดความเข้มข้นด้วยวิธี Two-fold serial dilution

(2) การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลา 2 ชนิดได้แก่ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. ที่เจริญบนอาหารแข็งไม่เกิน 24 ชั่วโมง นำมาละลายใน Normal saline 0.85% ปลอดเชื้อ ให้ได้ความขุ่นของเชื้อเท่ากับ 0.5 McFarland (วัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร อยู่ที่ 0.08 - 0.1 ความเข้มข้นของเชื้อ ประมาณ $1 - 2 \times 10^8$ CFU/ml) หลังจากนั้นปรับสารละลายเชื้อแบคทีเรียให้ได้ความเข้มข้นที่ 10^5 CFU/ml โดยนำสารละลายเชื้อแบคทีเรีย 0.5 McFarland 10 ไมโครลิตรเจือจางด้วย Mueller Hinton broth 9 มิลลิตร (เจือจาง 1,000 เท่า) จะได้ความเข้มข้นเชื้อ 10^5 CFU/ml

(3) ชุดควบคุมประกอบด้วยชุดควบคุมที่เติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller-Hinton และสารละลายเชื้ออย่างละ 1 มิลลิตรผสมให้เข้ากัน และชุดควบคุมที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mueller-Hinton เพียงอย่างเดียว (ดัดแปลงจาก Wattanuruk and Detraksa, 2023)

(4) นำสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้ เติมลงในหลอดทดลองที่เตรียมสารสกัดเปลือก สีสียดความเข้มข้น 78 - 40,000 ppm หลอดละ 1 มิลลิตร และเขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมง บันทึกผลหลอดทดลองที่ไม่พบความขุ่นเพื่อหาค่าในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) หลังจากนั้นนำหลอดทดลองที่ไม่พบความขุ่นทำการตรวจสอบการเจริญของเชื้อด้วยวิธีการ Drop plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Mueller Hinton ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมง บันทึกผลความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ไม่พบการเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเป็นค่า MBC

3.4.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ต่างกัน

3.4.5.1 ทดสอบความเข้มข้นเบื้องต้นของสารสกัดเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ปลากัด

ทำการเพาะพันธุ์ปลากัดในน้ำที่มีสารสกัดเปลือกสีเสียดความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ น้ำไม่ใส่สารสกัดเปลือกสีเสียด (ชุดควบคุม), น้ำที่มีสารสกัดจากเปลือกสีเสียด 0.3, 0.5, 0.7 และ 1 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ที่มีผลต่ออัตราการวางไข่ของปลาเพศเมีย และอัตราการรอดของพ่อแม่พันธุ์ เพื่อนำข้อมูลความเข้มข้นของน้ำที่มีสารสกัดเปลือกสีเสียดที่เหมาะสมไปใช้ในการกำหนดชุดการทดลองการเพาะพันธุ์ปลากัด

3.4.5.2 นำผลที่ได้จาก 3.4.5.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษาคือ ปริมาณเปลือกสีเสียด แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ แต่ละซ้ำ ใช้ปลากัดจำนวน 1 คู่ (เพศผู้ 1 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 1.24 กรัม และเพศเมีย 1 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 1.02 กรัม) ระยะเวลาในการทดลอง 8 สัปดาห์ ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 เพาะพันธุ์ปลากัดในน้ำไม่ใส่สารสกัด (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 เพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดใบหูกวาง 2.5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร (ชุดควบคุม) (สุกสกา รอดปั่น และคณะ, 2563)

ชุดการทดลองที่ 3 เพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 เพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

3.4.5.3 การเตรียมปลากัดเพศผู้ และเพศเมีย

แยกปลากัดเพศผู้ และเพศเมียเลี้ยงในแก้วนํ้าพลาสติกเส้นผ่านศูนย์กลาง 9.8 เซนติเมตร สูง 15.2 เซนติเมตร บรรจุนํ้าปริมาตร 0.60 ลิตร ให้อาหารปลาทุกวันเวลา 12:00 น. ด้วยไรแดงหรืออาร์ทีเมียจุนอิม และเปลี่ยนนํ้าทุก 5 วันด้วยนํ้าไม่ใส่สารสกัด

3.4.5.4 การเตรียมสารสกัดเปลือกสีเสียด

นำเปลือกสีเสียดไปอบด้วยเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเก็บในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นเตรียมสารสกัดเปลือกสีเสียด 2 ระดับ ได้แก่ 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร โดยใช้เปลือกสีเสียด 1.8 และ 4.2 กรัม แช่ลงในน้ำ 6 ลิตร และให้อากาศเป็นเวลา 30 นาที

3.4.5.5 การเตรียมสารสกัดใบหูกวาง

ตัดใบหูกวางขนาดประมาณ 3x4 เซนติเมตร (ภาพผนวกที่ 2) (สุกสกา รอดปั่น, 2563) นำใบหูกวางไปอบด้วยเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเก็บในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นเตรียมสารสกัดใบหูกวาง โดยนำใบหูกวางน้ำหนัก 2.5 กรัม ใส่ในตาข่ายไนลอนให้มีลักษณะคล้ายลูกประคบโดยใช้หนังยางรัดปิด แชนน้ำเป็นเวลา 15 ชั่วโมง ตามวิธีของ สุก

สภาวะ รอดปั่น (2563) ในภาชนะเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร สูง 7.7 เซนติเมตร บรรจุน้ำ 1 ลิตร เมื่อถึงระยะเวลาที่กำหนดนำไปหุ่กวางออก

3.4.5.6 บันทึกพารามิเตอร์คุณภาพน้ำในน้ำไม่ใสสารสกัด น้ำที่มีสารสกัดเปลือกสีเสียด และน้ำที่มีสารสกัดใบหุ่กวางเริ่มต้นการทดลอง โดยวัดค่า pH, DO, EC และวิเคราะห์ความกระด้าง และความเป็นต่างของน้ำตามวิธีของ APHA (1985)

3.4.5.7 ขั้นตอนการทดลอง

(1) นำสารสกัดเปลือกสีเสียด และสารสกัดใบหุ่กวางที่เตรียมไว้ใส่ในภาชนะ เพาะพันธุ์ เส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร สูง 7.7 เซนติเมตร (ภาพผนวกที่ 3) บรรจุน้ำ 1 ลิตร จำนวน 6 ใบ หลังจากนั้นนำปลาเพศผู้ใส่ในภาชนะเพาะพันธุ์โดยแบ่งตามชุดการทดลอง

ชุดการทดลองที่ 1 ใส่ในน้ำไม่ใสสารสกัด

ชุดการทดลองที่ 2 ใส่ในสารสกัดใบหุ่กวาง 2.5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 ใส่ในสารสกัดเปลือกสีเสียดความเข้มข้น 0.3 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 ใส่ในสารสกัดเปลือกสีเสียดความเข้มข้น 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

(2) หลังจากนั้นใส่แผ่นพลาสติกขนาด 2x3 นิ้ว ทุกชุดการทดลองเพื่อไม่ให้หวอด ปลากัดกระจายตัว และแตกได้ง่าย นำแผ่นฟิวเจอร์บอร์ดสีดำปิดด้านบนของภาชนะเพาะพันธุ์ให้มีดสนิทเพื่อให้ปลากัดเพศผู้สร้างหวอดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำปลาเพศเมียใส่ในภาชนะ เพาะพันธุ์ที่มีปลากัดเพศผู้ก่อหวอดอยู่ก่อนแล้ว หลังจากนั้นปิดด้านบนของภาชนะเพาะพันธุ์ให้มีดสนิท ต่อไปอีก 3 วันเพื่อให้ปลากัดเพศผู้ และเพศเมียผสมพันธุ์ (สุกสภาวะ รอดปั่น, 2563)

(3) เมื่อครบ 3 วัน นับจำนวนปลาเพศเมียที่วางไข่โดยสังเกตจากหวอดที่สร้างโดย ปลาเพศผู้จะมีไข่ของปลาเพศเมียที่มีลักษณะกลมสีขาวขุ่นในหวอดที่ปลาเพศผู้สร้างเพื่อนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตราการวางไข่ และนำปลาเพศเมียออกนับจำนวนเพื่อคำนวณอัตราการรอด หลังจากนั้น ปิดด้านบนของภาชนะเพาะพันธุ์ให้มีดสนิทเพื่อให้ปลากัดผู้นุ่บาลลูกปลาจนกว่าลูกปลาอายุครบ 5 วัน (สุกสภาวะ รอดปั่น, 2563) จึงนำปลากัดออกจากภาชนะเพาะพันธุ์แล้วนับจำนวนปลากัดที่ เพาะพันธุ์ในสารสกัดเปลือกสีเสียดเพื่อคำนวณอัตราการรอด คำนวณอัตราการวางไข่ อัตราการรอดพ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์ปลากัด ดังนี้

$$\text{อัตราการวางไข่} = \frac{\text{จำนวนปลาเพศเมียที่วางไข่}}{\text{จำนวนปลาเพศเมียเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

$$\text{อัตราการรอดฟอแพนธุ์ปลากัด} = \frac{\text{จำนวนปลาเพศผู้ที่เพาะพันธุ์ในสารสกัดเปลือกสีเสียด} \times 100}{\text{จำนวนปลาเพศผู้ที่เพาะพันธุ์ในสารสกัดเปลือกสีเสียดเริ่มต้นการทดลอง}}$$

$$\text{อัตราการรอดแม่พันธุ์ปลากัด} = \frac{\text{จำนวนปลาเพศเมียที่เพาะพันธุ์ในสารสกัดเปลือกสีเสียดสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาเพศเมียที่เพาะพันธุ์ในสารสกัดเปลือกสีเสียดเริ่มต้นการทดลอง}}$$

(4) นับจำนวนลูกปลากัดก่อนปล่อยลงถังอนุบาลขนาด 30 ลิตร เพื่อคำนวณอัตราการรอด ย้ายลูกปลาลงในถังอนุบาลเพื่ออนุบาลลูกปลาในน้ำไม่ใสสารสกัด มีการปรับอุณหภูมิโดยการแช่ภาชนะใส่ลูกปลาลงในถัง เป็นเวลา 30 นาที ก่อนปล่อยลูกปลาลงถังโดยภาชนะที่เลี้ยงลูกปลาและภาชนะเพาะพันธุ์อยู่ในพื้นที่เดียวกัน ให้อาหารลูกปลาด้วยพารามีเซียมวันละ 1 ครั้ง ในเวลา 12:00 น. เป็นเวลา 5 วัน หลังจากวันที่ 5 ให้ไรแดงวันละ 1 ครั้ง ในเวลา 12:00 น. ถ่ายน้ำโดยใช้วิธีดูดตะกอนกันถึงทุกสัปดาห์ และเติมน้ำลงไปให้เท่าเดิมที่ปริมาตร 10 ลิตร

(5) เมื่อครบ 8 สัปดาห์ ทำการบันทึกนับจำนวนลูกปลากัด และคัดแยกเพศลูกปลากัดโดยการดูลักษณะภายนอกของลูกปลาโดยลูกปลาเพศผู้มีสีของลำตัว และครีบเข้มกว่าเพศเมีย และความยาวของครีบหาง ครีบอก ครีบหลังของปลาเพศผู้มีความยาวมากกว่าปลาเพศเมีย (ภาพผนวกที่ 4) เพื่อคำนวณหาอัตราการรอด และอัตราส่วนเพศผู้ดังนี้

$$\text{อัตราการรอดลูกปลากัด} = \frac{\text{จำนวนลูกปลาสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนลูกปลาเริ่มต้นการทดลอง}}$$

$$\text{อัตราส่วนลูกปลากัดเพศผู้} = \frac{\text{จำนวนลูกปลาเพศผู้} \times 100}{\text{จำนวนลูกปลาทั้งหมด}}$$

3.4.5.8 บันทึกพารามิเตอร์คุณภาพน้ำในน้ำไม่ใสสารสกัด น้ำที่มีสารสกัดเปลือกสีเสียด และน้ำที่มีสารสกัดใบหูกวางสิ้นสุดการทดลอง หลังจากปลาเพศผู้อนุบาลลูกปลาครบ 5 วัน วัดค่า pH, DO, EC และวิเคราะห์ความกระด้าง และความเป็นต่างของน้ำตามวิธีของ APHA (1985)

3.4.5 การทดลองที่ 5 ศึกษาการใช้น้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่ออัตราการ และการเติบโตของลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ

3.4.4.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่ศึกษาคือ ปริมาณเปลือกสีเสียด แบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ลูกปลากัดจำนวน 20 ตัว ระยะเวลาในการทดลอง 8 สัปดาห์ ได้แก่

ชุดการทดลองที่ 1 อนุบาลลูกปลากัดด้วยปริมาณเปลือกสีเสียด 0 กรัมในน้ำ 1 ลิตร (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อนุบาลลูกปลากัดด้วยปริมาณเปลือกสีเสียด 0.1 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 3 อนุบาลลูกปลากัดด้วยปริมาณเปลือกสีเสียด 0.3 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 4 อนุบาลลูกปลากัดด้วยปริมาณเปลือกสีเสียด 0.5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

ชุดการทดลองที่ 5 อนุบาลลูกปลากัดด้วยปริมาณเปลือกสีเสียด 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

3.4.4.2 การเตรียมน้ำแช่เปลือกสีเสียด

นำเปลือกสีเสียดไปอบด้วยเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเก็บในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นเตรียมสารสกัดเปลือกสีเสียด 5 ระดับ ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตรโดยใช้เปลือกสีเสียด 0, 2, 6, 10 และ 14 กรัม แชลงในน้ำ 20 ลิตร และให้อากาศเป็นระยะเวลา 30 นาที

3.4.4.3 ขั้นตอนการทดลอง

นำลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ จากแคมป์ฟาร์ม จังหวัดนครปฐม อายุ 1 เดือน จำนวน 300 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 0.32 กรัม/ตัว สุ่มลูกปลากัดลงตู้ปลาสี่เหลี่ยมขนาด 35x35x45 เซนติเมตร ตู้ละ 20 ตัว บรรจุน้ำ 20 ลิตร เพื่อปรับสภาพลูกปลาเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำเปลือกสีเสียดที่มีปริมาณต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ที่เตรียมไว้ เติมใส่ลงในตู้ปลา ตามปริมาณเปลือกสีเสียดที่กำหนดไว้

3.4.4.4 การให้อาหาร และการเปลี่ยนถ่ายน้ำลูกปลากัด

ให้อาหารลูกปลาวินละ 1 ครั้ง ในเวลา 11:00 - 12:00 น. ด้วยไรแดง 20% ของน้ำหนักตัว และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 70 - 80% ทุกสัปดาห์ด้วยน้ำที่มีสารสกัดเปลือกสีเสียดความเข้มข้นที่กำหนดไว้

3.4.4.5 บันทึกผลการทดลอง

บันทึกน้ำหนักลูกปลา และนับจำนวนลูกปลาทุก 2 สัปดาห์ ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นคำนวณน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดดังนี้

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น} = \text{น้ำหนักลูกปลาสิ้นสุดทดลอง} - \text{น้ำหนักลูกปลาเริ่มต้นทดลอง}$$

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน} = \frac{\text{น้ำหนักลูกปลาสิ้นสุดทดลอง} - \text{น้ำหนักลูกปลาเริ่มต้นทดลอง}}{\text{ระยะเวลาทดลอง}}$$

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ} = \frac{\ln(\text{น้ำหนักสิ้นสุดทดลอง}) - \ln(\text{น้ำหนักเริ่มต้นทดลอง})}{\text{ระยะเวลาทดลอง}} \times 100$$

$$\text{อัตราการรอด} = \frac{\text{จำนวนลูกปลาสิ้นสุดทดลอง}}{\text{จำนวนลูกปลาเริ่มต้นทดลอง}} \times 100$$

3.4.4.6 บันทึกพารามิเตอร์คุณภาพน้ำ

บันทึกค่า pH และค่า EC ของน้ำ โดยวัดค่าดังกล่าวตั้งแต่เริ่มต้นทำการทดลอง และวัดทุก 2 สัปดาห์จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลการทดลองที่มีการวางแผนการทดลองแบบ CRD มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลอง ตามวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 16.0

3.6 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนเลี้ยงปลาสวยงาม สาขาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และการจัดการทรัพยากรทางน้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง

กุมภาพันธ์ 2566 - พฤษภาคม 2567

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ศึกษาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเขียว

4.1.1 ศึกษาระยะเวลาในการสกัดเปลือกสีเขียวเบื้องต้น

การศึกษาระยะเวลาในการสกัดเปลือกสีเขียวเบื้องต้นที่ต่างกัน 4 ช่วงเวลา ได้แก่ 30, 60, 90 และ 120 นาที พบว่า ความเข้มข้นสารแทนนินในเปลือกสีเขียวแห้งน้ำหนัก 1 กรัม แชน้ำ 1 ลิตร ที่ให้อากาศแตกต่างกันมีค่าอยู่ที่ 227.40, 227.65, 227.69 และ 227.74 ppm ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 1) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

4.1.2 ศึกษาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเขียว

การศึกษาปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเขียวที่ปริมาณต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1 กรัมในน้ำ 1 ลิตร พบว่าความเข้มข้นสารแทนนินในสารสกัดเปลือกสีเขียวมีค่าเท่ากับ 0, 27.73, 61.01, 155.30, 194.13 และ 227.41 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารแทนนินผันแปรตามการเพิ่มความเข้มข้นของความเข้มข้นสารสกัดเปลือกสีเขียว

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารแทนนินจากน้ำแชเปลือกสีเขียวที่ปริมาณต่าง ๆ

ปริมาณเปลือกสีเขียว (กรัมในน้ำ 1 ลิตร)	ความเข้มข้นแทนนิน (ppm)
0	0.00±0.00 ^f
0.1	27.73±9.60 ^e
0.3	61.01±9.60 ^d
0.5	155.30±25.41 ^c
0.7	194.13±9.60 ^b
1	227.41±9.60 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2 ศึกษาปริมาณเปลือกสีเขียวที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำ

จากการศึกษาปริมาณเปลือกสีเขียวที่ต่างกันต่อ pH ในน้ำที่ปริมาณต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ 0 (ไม่ใส่เปลือกสีเขียว), 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัมในน้ำ 1 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ค่า pH ในสาร

สกัดเปลือกสีเสียด 0 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.42 มีค่ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำที่มีสารสกัดเปลือกสีเสียด ($p \leq 0.05$) และสารสกัดเปลือกสีเสียด 2 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ค่าเฉลี่ย 5.75 มีค่ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใส่เปลือกสีเสียด 4, 6, 8 และ 10 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีค่า pH เฉลี่ยเท่ากับ 4.97, 4.57, 4.38 และ 4.43 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.2) การเพิ่มปริมาณเปลือกสีเสียดมากกว่า 4 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ไม่ส่งผลให้ค่า pH ลดลงมากกว่าเดิม และการลดลงของค่า pH ในน้ำที่มีสารสกัดเปลือกสีเสียดเกิดขึ้นมากจากสารแทนนินที่เป็นสารสำคัญในเปลือกสีเสียด

ตารางที่ 4.2 ค่า pH จากเปลือกสีเสียดที่ปริมาณต่าง ๆ

ปริมาณเปลือกสีเสียด (กรัมในน้ำ 1 ลิตร)	pH	
	ช่วง	ค่าเฉลี่ย \pm SE
0	7.27-5.23	6.42 \pm 0.27 ^a
2	6.62-5.23	5.75 \pm 0.19 ^b
4	5.99-4.55	4.97 \pm 0.18 ^c
6	5.37-4.07	4.57 \pm 0.18 ^c
8	5.23-3.87	4.38 \pm 0.17 ^c
10	5.23-4.08	4.43 \pm 0.14 ^c

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.3 การตรวจสอบคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลา

จากการทดสอบ MIC และ MBC ของสารสกัดเปลือกสีเสียดต่อเชื้อ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. ที่ความเข้มข้น 78 - 40,000 ppm พบว่าสารสกัดเปลือกสีเสียดมีค่า MIC ของเชื้อ *Aeromonas* sp. เท่ากับ 5,000 ppm และเชื้อ *Streptococcus* sp. มีค่าอยู่ที่ 2,500 ppm (ตารางที่ 4.3) และสารสกัดเปลือกสีเสียดมีค่า MBC ของเชื้อ *Aeromonas* sp. เท่ากับ 10,000 ppm และเชื้อ *Streptococcus* sp. เท่ากับ 40,000 ppm (ตารางที่ 4.4) ในเปลือกสีเสียดมีสารฟลาโวนอยด์ที่สำคัญคือ สารแทนนินเป็นองค์ประกอบ เช่นเดียวกับเปลือกมังคุด และใบหูกวาง จากงานทดลองของ อรัญญา พลพรพิสิฐ และคณะ (2549) ศึกษาการใช้สารสกัดใบหูกวางในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas* spp. และ *Streptococcus* spp. ด้วยวิธี MIC พบว่า สารสกัดใบหูกวางมีค่า MIC เท่ากับ 1,000 และ 4,000 ppm ตามลำดับ Fakoya et al. (2019) ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus iniae* ของสารสกัดใบหูกวางที่สกัดด้วยตัวทำละลาย Methanol และ Ethanol ด้วยวิธี MIC พบว่า สารสกัดใบหูกวางที่สกัดด้วยตัวทำละลาย Methanol มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ 2,000 μ g/ml และตัวทำละลาย

Ethanol มีค่าเท่ากับ 250 µg/ml และเชื้อ *Streptococcus iniae* ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดใบหูกวางที่สกัดด้วยตัวทำละลาย Methanol และ Ethanol ที่ 2,000 µg/ml ซึ่งสารสกัดจากใบหูกวางมีค่า MIC ของเชื้อ *Aeromonas* spp. และ *Streptococcus* spp. น้อยกว่า ค่า MIC ของสารสกัดเปลือกสีเสียดในเชื้อชนิดเดียวกัน ค่า MIC ของสารสกัดใบหูกวาง กับเชื้อ *Aeromonas* spp. และ *Streptococcus* spp. เท่ากับ 1,000 และ 4,000 ppm ตามลำดับ และในสารสกัดจากใบหูกวางที่สกัดด้วยตัวทำละลาย Methanol และ Ethanol มีค่า MIC ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus iniae* น้อยกว่าค่า MIC ของสารสกัดจากใบหูกวางที่สกัดด้วยน้ำ โดยการยับยั้งแบคทีเรียของสารแทนนินจากรายงานมี 3 รูปแบบ แบบแรกสารแทนนินสามารถลดการสังเคราะห์กรดไขมันจากแบคทีเรียโดยการยับยั้ง β -ketoacyl-ACP reductase ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ได้ตามปกติ ทำให้แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโต และตายลง (Wu *et al.*, 2010) แบบที่สองสารแทนนินเมื่อจับกับ Peptidoglycan ในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย จะไปขัดขวางการก่อตัวของ Biofilm ของแบคทีเรียทำให้สารแทนนินส่งผลทางอ้อมโดยสามารถลดการติดต่อกายาจากยาปฏิชีวนะ สารสกัดจากพืช และระบบภูมิคุ้มกัน ส่งผลให้แบคทีเรียอ่อนแอ และถูกกำจัดได้ง่าย (Dong *et al.*, 2018) แบบที่สามแบคทีเรียปล่อย Siderophore ออกมาเพื่อไปจับ Free ferric iron จากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ และเปลี่ยนเป็น Ferrous iron เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต แต่สารแทนนินมีความสามารถในการจับกับเหล็กที่ดี ซึ่งไปขัดขวาง Siderophore ในการจับเหล็กเพื่อดึงเหล็กเข้าสู่เซลล์ทำให้ แบคทีเรีย หยุดการเจริญเติบโต (Zhu *et al.*, 2019)

ตารางที่ 4.3 ค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp.

ความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกสีเสียด (ppm)	MIC (ppm)	
	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Streptococcus</i> sp.
40,000	-	-
20,000	-	-
10,000	-	-
5,000	-	-
2,500	+	-
1,250	+	+
652	+	+
312	+	+
156	+	+
78	+	+

หมายเหตุ: ผลบวก (+) = แสดงการเจริญของเชื้อ; ผลลบ (-) แสดงการไม่เจริญของเชื้อ

ตารางที่ 4.4 ค่า Minimum bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp.

ความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกสีเสียด (ppm)	MBC (ppm)	
	<i>Aeromonas</i> sp.	<i>Streptococcus</i> sp.
40,000	-	-
20,000	-	+
10,000	-	+
5,000	+	+
2,500	+	+
1,250	+	+
652	+	+
312	+	+
156	+	+
78	+	+

หมายเหตุ: ผลบวก (+) = แสดงการเจริญของเชื้อ; ผลลบ (-) = แสดงการไม่เจริญของเชื้อ

4.4 ศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ต่างกัน

4.4.1 ทดสอบความเข้มข้นเบื้องต้นของสารสกัดเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ปลากัด

การทดสอบความเข้มข้นเบื้องต้นของสารสกัดเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ปลากัดพบว่า ปลากัดผสมพันธุ์ และวางไข่ในสารสกัดเปลือกสีเสียดความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร

4.4.2 ศึกษาผลของสารสกัดเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ต่ออัตราการวางไข่ของปลาเทศเมีย อัตรารอด และอัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลากัด

ผลของสารสกัดเปลือกสีเสียดในการเพาะพันธุ์ต่ออัตราการวางไข่ของปลาเทศเมีย อัตรารอด และอัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลากัดที่ต่างกัน 2 ระดับ ได้แก่ 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร โดยมี ชุดควบคุมคือ น้ำไม่ใส่สารสกัด และน้ำแช่ใบหูกวาง 2.5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร พบว่า พารามิเตอร์คุณภาพน้ำของการเพาะพันธุ์ปลากัดเริ่มต้นค่า pH ของน้ำไม่ใส่สารสกัด เท่ากับ 7.81 มีค่ามากกว่าสารสกัดใบหูกวาง 2.5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร และสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ที่ 6.78, 7.18 และ 6.97 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.5) การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ที่ลดลงของสารสกัดใบหูกวาง และสารสกัดเปลือกสีเสียดเกิดจากสารแทนนินที่พบได้ในเปลือกสีเสียด และใบหูกวางมีคุณสมบัติเป็นกรดจึงทำให้ค่า pH ต่ำกว่าชุดควบคุม

ค่า EC ของน้ำที่ใช้เพาะพันธุ์ปลากัดเริ่มต้นการทดลองพบว่า สารสกัดใบหูกวางมีค่า 466.66 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ซึ่งมีความมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ น้ำไม่ใส่สารสกัด สารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ที่ 429.66, 412.50 และ 432.00 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.5)

ค่า DO ของน้ำที่ใช้ในการเพาะพันธุ์ปลากัดพบว่า น้ำไม่ใส่สารสกัดมีค่าเท่ากับ 5.57 ppm มีความสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ที่ 4.40 และ 3.99 ppm ตามลำดับ และในสารสกัดใบหูกวางมีค่าน้อยที่สุดในชุดการทดลองที่ 3.25 ppm ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.5) การเปลี่ยนของค่า DO ของน้ำเริ่มต้นการทดลองอาจเกิดจากขั้นตอนการเตรียมน้ำ และสารสกัดที่มีความแตกต่างกันจึงทำให้ค่า DO ของน้ำเริ่มต้นการทดลองเกิดความแตกต่างกัน

ค่าความกระด้างของน้ำไม่ใส่สารสกัด และสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร เท่ากับ 153.33, 153.00 และ 161.66 ppm ตามลำดับ มีค่ามากกว่าสารสกัดใบหูกวางที่ 136.66 ppm ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.5) สอดคล้องกับการศึกษาของ สุขสกา รอดปั้น (2563) ทดสอบการแช่ใบหูกวางในน้ำเป็นเวลา 15 ชั่วโมง พบว่า ค่าความกระด้างของสารสกัดใบหูกวาง 2.5 - 10 กรัม/ลิตร มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับน้ำไม่ใส่สารสกัดใบหูกวาง และการศึกษาของ วิจิตรตา อรรถสาร และคณะ (2567) ทดสอบสกัดเปลือกของสีเสียดด้วยน้ำความเข้มข้น 0 - 2 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ค่าความกระด้างของสารสกัดเปลือกสีเสียดไม่มีความแตกต่างกับน้ำที่ไม่ได้ใส่สารสกัดเปลือกสีเสียด

ค่าความเป็นต่างของสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีค่าน้อยที่สุดอยู่ที่ 65.33 ppm ตามด้วย สารสกัดใบหูกวาง สารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 กรัมในน้ำ 1 ลิตร และน้ำไม่ใส่สารสกัดมีความเป็นต่างเฉลี่ย 67.83, 77.33 และ 86.66 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) เกิดจากค่า pH ที่ต่ำส่งผลให้ไบคาร์บอเนตในน้ำที่เป็นส่วนหนึ่งของค่าความเป็นต่างในน้ำเปลี่ยนไปเป็นกรดคาร์บอนิก ซึ่งทำให้ค่าความเป็นต่างของน้ำลดลงตามค่า pH ของน้ำที่ลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Mount (1973) ว่าค่าความเป็นต่างของน้ำที่ลดลงสอดคล้องกับค่า pH ที่ลดลง เนื่องจากในน้ำมีปริมาณไฮดรอกไซด์ไอออนลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ วิจิตรตา อรรถสาร และคณะ (2567) ทดสอบสกัดเปลือกของสีเสียดด้วยน้ำความเข้มข้น 0 - 2.00 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ค่าความเป็นต่างของสารสกัดเปลือกสีเสียดมีค่าลดลงสัมพันธ์กับค่า pH ที่ลดลง

ตารางที่ 4.5 พารามิเตอร์คุณภาพน้ำของการเพาะพันธุ์ปลากัดเริ่มต้นการทดลอง

พารามิเตอร์	น้ำไม่ใส่สารสกัด	สารสกัด		
		ใบหูกวาง (2.5 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร)	เปลือกสีเสียด (0.3 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร)	เปลือกสีเสียด (0.7 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร)
pH	7.81±0.36 ^a	6.78±0.32 ^c	7.18±0.24 ^b	6.97±0.12 ^{bc}
EC (µS /cm)	429.66±21.95 ^b	466.66±37.42 ^a	412.50±32.77 ^b	432.00±17.09 ^b
DO (ppm)	5.57±0.32 ^a	3.25±0.11 ^d	4.40±0.41 ^b	3.99±0.17 ^c
Hardness (ppm)	153.33±5.16 ^a	136.66±22.22 ^b	153.00±3.94 ^a	161.66±5.71 ^a
Alkalinity (ppm)	86.66±2.16 ^a	67.83±1.60 ^c	77.33±1.86 ^b	65.33±1.03 ^d

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากชุดการทดลองในน้ำไม่ใส่สารสกัดไม่มีการวางไข่ ซึ่งมีค่า pH 7.81 สูงกว่าสารสกัดใบหูกวาง สารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ($p \leq 0.05$) โดยมีอัตราการวางไข่เฉลี่ย 100% และค่า pH เฉลี่ยเท่ากับ 6.78, 7.18 และ 6.97 ตามลำดับ และมีอัตราการรอดพ่อแม่พันธุ์ปลากัด 100% ในทุกชุดการทดลอง ($p > 0.05$) (ตารางที่ 4.6) เนื่องจากเอนไซม์คอรีเรียเนสที่ทำให้เกิดการฟักไข่ของปลา (Kelley, 1946) มีความสามารถในการทำงานที่เหมาะสมโดยขึ้นอยู่กับชนิดของปลา และค่า pH ของน้ำเป็นหลัก (Swain *et al.*, 2020) โดยค่า pH เหมาะสมแก่การเลี้ยงปลากัดอยู่ที่ 6.5 - 7.5 ซึ่งเหมาะสมในการผสมพันธุ์ของปลากัด (วันเพ็ญ มินกาญจน์ และคณะ, 2531) การศึกษาของสุกสกว รอดปั่นและคณะ (2563) ทดลองเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดใบหูกวางพบว่า น้ำไม่ใส่สารสกัดใบหูกวาง pH 7.90 มีอัตราการวางไข่อยู่ที่ 20% และน้ำใส่สารสกัดใบหูกวาง 2.5 - 7 กรัม/ลิตร มีอัตราการวางไข่อยู่ที่ 80 - 60%

อัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร (pH 6.97) มีค่าเฉลี่ย 73.21% รองลงมาคือสารสกัดใบหูกวาง 2.5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร และสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 กรัมในน้ำ 1 ลิตร (pH 6.78 และ 7.18) เท่ากับ 62.92 และ 58.82% ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.6) การศึกษาของ สุกสกว รอดปั่น (2563) ทดสอบผสมพันธุ์ปลากัดในน้ำที่มีสารสกัดใบหูกวางพบว่า สารสกัดใบหูกวาง 2.5 กรัม/ลิตร (pH 7.31) มีอัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลากัด 42.66% Reddon and Peter (2013) รายงานว่าค่า pH ที่ลดลงทำให้การแสดงออกของ Gonadal aromatase promoter gene ลดลงส่งผลให้มีอัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลามากขึ้น

หลังจากการเพาะพันธุ์ในน้ำไม่ใส่สารสกัด สารสกัดใบหูกวาง 2.5 กรัมในน้ำ 1 ลิตร และสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร นำลูกปลามาอนุบาลในน้ำไม่ใส่สารสกัดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อัตรารอดของลูกปลากัดที่เพาะพันธุ์ในสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.3 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร และ

สารสกัดใบหูกวาง มีค่าเท่ากับ 86.17, 71.09 และ 74.17 % ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 ผลของสารสกัดเปลือกสีเสียดต่ออัตราการวางไข่ และอัตราการรอดของพ่อแม่พันธุ์ปลา อัตราส่วนเพศผู้ และอัตราการรอดลูกปลากัด

พารามิเตอร์	น้ำไม่ใส สารสกัด	สารสกัด		
		ใบหูกวาง (2.5 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร)	เปลือกสีเสียด (0.3 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร)	เปลือกสีเสียด (0.7 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร)
อัตราการวางไข่ (%)	0.00±0.00 ^b	100±0.00 ^a	100±0.00 ^a	100±0.00 ^a
อัตราการรอดพ่อแม่พันธุ์ (%)	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00
อัตราการรอดแม่พันธุ์ (%)	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00
อัตราส่วนเพศผู้ของลูกปลา (%)	ND	62.92±12.88 ^b	58.82±8.35 ^b	73.21±6.27 ^a
อัตราการรอดลูกปลา (%)	ND	74.17±26.78	86.17±6.95	71.09±22.04

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ND หมายถึง ปลากัดไม่ได้ผสมพันธุ์ และวางไข่

4.5 ศึกษาการใช้น้ำแช่เปลือกสีเสียดที่ต่างกันต่ออัตราการรอด และการเติบโตของลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏ

การทดลองอนุบาลลูกปลากัดในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียดที่แตกต่างกัน 5 ระดับได้แก่ 0 (ชุดควบคุม), 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า การอนุบาลลูกปลากัดในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียดไม่ส่งผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลากัดตั้งแต่ 2 สัปดาห์ จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ทำให้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.7) น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลากัดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 ถึง สัปดาห์ที่ 8 ในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร (ภาพที่ 4.1) พารามิเตอร์การเติบโตของลูกปลากัดในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลากัดเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.32 กรัม/ตัว น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุดการทดลองของลูกปลากัด เท่ากับ 0.39, 0.41, 0.40, 0.41 และ 0.43 กรัม/ตัว ตามลำดับ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.07, 0.09, 0.08, 0.09 และ 0.11 กรัม/ตัว ตามลำดับ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน เท่ากับ 0.001, 0.002, 0.001, 0.002 และ 0.002 กรัม/วัน ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.38, 0.44, 0.39, 0.46 และ 0.53 %/วัน ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 4.8) ซึ่งสารสกัดเปลือกสีเสียดมีสารแทนนินเป็นองค์ประกอบที่

สามารถพบได้ในใบหูกวางเช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Malawa *et al.* (2022) ทดลองอนุบาลลูกปลากัดด้วยน้ำผสมสารสกัดใบหูกวางปริมาณ 0 - 1 กรัม/ลิตร พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของพารามิเตอร์การเติบโตของลูกปลากัด และยังไม่พบผลกระทบของสารสกัดใบหูกวางต่อเอนไซม์ย่อยโปรตีน (เปปซิน, ไทรปซิน, และ คิมโมไทรปซิน) แต่สารสกัดใบหูกวางส่งผลต่อการเติบโตในการอนุบาลลูกปลาใบไม้เมซอน (*M. polyacanthus*) ซึ่งลูกปลาที่อนุบาลในสารสกัดใบหูกวางความเข้มข้น 0.75 กรัม/ลิตร สามารถเพิ่มน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเติบโตจำเพาะได้ (Ramos *et al.*, 2020) ปลาการ์ดินัลเตตรา (*Paracheirodon axelrodi*) ที่เลี้ยงด้วยสารสกัดใบหูกวาง 0.5 และ 1.5 กรัม/ลิตร พบว่า มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น (Nurhidayat *et al.*, 2016) และยังมีการศึกษาการเลี้ยงปลาการ์ดินัลเตตรา (*P. innesi*) ในสารสกัดใบหูกวางใน พบว่า ปลาการ์ดินัลเตตราที่ 500 ppm มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอีกด้วย (Ardi *et al.*, 2020)

อัตราการอดลูกปลากัดที่อนุบาลในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตรมีค่าเท่ากับ 96.66, 100.00, 96.66 และ 100.00% ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่ามากกว่าลูกปลากัดที่ไม่ได้อนุบาลด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด (0 กรัมในน้ำ 1 ลิตร) ที่ 83.33% (ตารางที่ 4.8) สอดคล้องกับการศึกษาของ Nugroho *et al.* (2016) ทดลองเลี้ยงปลากัดในสารสกัดใบหูกวางความเข้มข้น 0 - 625 ppm พบว่าความเข้มข้นสูงกว่า 375 ppm ช่วยเพิ่มอัตราการอด และค่าโลหิตวิทยาได้แก่ Red Blood Cells, White Blood Cells และ Haemoglobin ซึ่งเป็นตัวชี้วัดสถานะทางโลหิตวิทยาในปลาเนื่องจากมีความสัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกัน และการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาสารสกัดใบหูกวางที่สามารถเพิ่มอัตราการอดของปลาใบไม้เมซอน (Ramos *et al.*, 2020) และปลาการ์ดินัลเตตราได้ (Nurhidayat *et al.*, 2016) Ashraf and Bengtson (2007) รายงานว่า การเสริมสารแทนนินในอาหารให้ลูกปลากะพงลาย (*Morone saxatilis*) ส่งผลให้อัตราการอดของลูกปลากะพงลายเพิ่มขึ้น

ค่า pH ของน้ำลูกปลากัดที่อนุบาลด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.33 ในช่วง 6.61 - 6.12 และค่าเฉลี่ย 6.38 ในช่วง 6.69 - 5.97 ตามลำดับ มีค่าน้อยกว่าน้ำลูกปลากัดที่อนุบาลด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0 และ 0.3 กรัมในน้ำ 1 ลิตรมีค่าเฉลี่ย 7.26 ในช่วง 7.38 - 7.13 และค่าเฉลี่ย 7.45 ในช่วง 7.59 - 7.33 ตามลำดับ และค่า pH ของน้ำลูกปลากัดที่อนุบาลด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.1 ในน้ำ 1 ลิตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.62 ในช่วง 7.72 - 7.58 มีค่ามากกว่าน้ำที่อนุบาลลูกปลากัดด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.9) การลดลงของค่า pH เกิดจากสารแทนนินที่มีอยู่ในสารสกัดเปลือกสีเสียด ทำให้ค่า pH ที่ลดน้อยลงในน้ำจากการใช้สารสกัดเปลือกสีเสียด หากค่า pH ของน้ำต่ำเกินไปจะส่งผลให้ทำให้ปลากัดตาย

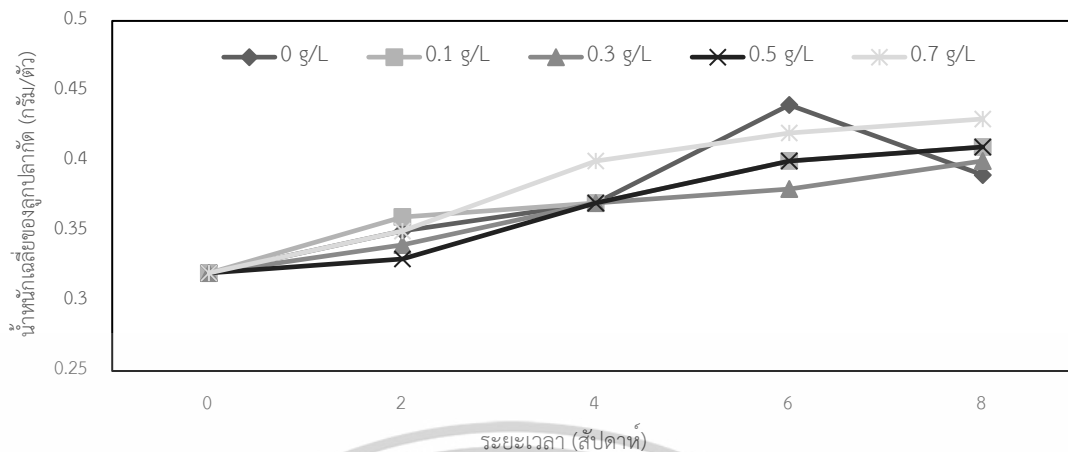
ซึ่งจากการศึกษาของ สุกสกา รอดปิ่น และคณะ (2563) ใช้สารสกัดใบหูกวาง 10 กรัม/ลิตร ทำให้ค่า pH อยู่ที่ 5.42 ทำให้ปลากัดที่แช่ตายทั้งหมด เนื่องจากค่า pH ของน้ำที่ต่ำส่งผลทำให้ปริมาณออกซิเจนในเลือดของสัตว์น้ำลดลง (Gomez Isaza *et al.*, 2020) และยังไปขัดขวางการแพร่ของออกซิเจนบริเวณเหงือกปลา และทำให้ปลาระคายเคือง (Chansue *et al.*, 2008)

ค่า EC ของน้ำลูกปลากัดที่อนุบาลด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0, 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 455.46 ในช่วง 477 - 427, 435.86 ในช่วง 451 - 421, 400.13 ในช่วง 443 - 270, 390.86 ในช่วง 414 - 367 และ 417.06 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ในช่วง 430 - 405 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 4.9) ค่า EC น้อยกว่างานทดลองของ Malawa *et al.* (2022) อนุบาลลูกปลากัดด้วยน้ำผสมสารสกัดใบหูกวางความเข้มข้น 0 - 1 กรัม/ลิตร ซึ่งมีค่า EC อยู่ระหว่าง 1,400 - 1,500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ พบว่า สารสกัดใบหูกวางความเข้มข้น 1 กรัม/ลิตร ส่งผลให้ค่า EC ต่ำกว่าชุดการทดลองอื่น เนื่องจากสารแทนนินที่พบทั้งในเปลือกสีเสียดและใบหูกวางนั้นมีคุณสมบัติในการจับกับไอออนในน้ำ เช่น แคลเซียม (Ca^{2+}) และแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ที่ละลายในน้ำ เมื่อไอออนเหล่านี้ถูกจับ และแยกตัวออกจากสถานะอิสระในน้ำ ความเข้มข้นของไอออนในสารละลายจะลดลง ส่งผลให้ค่า EC ลดลง

ตารางที่ 4.7 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว) ของลูกปลากัดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 - 8 ในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด

สัปดาห์	สารสกัดเปลือกสีเสียด (กรัมในน้ำ 1 ลิตร)					F-test
	0	0.1	0.3	0.5	0.7	
0	0.32±0.00	0.32±0.00	0.32±0.00	0.32±0.00	0.32±0.00	NS
2	0.35±0.00	0.36±0.01	0.34±0.03	0.33±0.02	0.35±0.02	NS
4	0.37±0.02	0.37±0.03	0.37±0.05	0.37±0.04	0.40±0.00	NS
6	0.44±0.01	0.40±0.03	0.38±0.05	0.40±0.04	0.42±0.01	NS
8	0.39±0.02	0.41±0.05	0.40±0.05	0.41±0.05	0.43±0.00	NS

หมายเหตุ: NS = non-significant แสดงถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



ภาพที่ 4.1 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลากัด (กรัม/ตัว) ที่เลี้ยงในน้ำที่มีสารสกัดเปลือกความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ตารางที่ 4.8 พารามิเตอร์การเจริญเติบโต และอัตราการรอดของลูกปลากัดที่เลี้ยงด้วยน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเขียว

พารามิเตอร์การเจริญเติบโต	สารสกัดเปลือกสีเขียว (กรัมในน้ำ 1 ลิตร)				
	0	0.1	0.3	0.5	0.7
น้ำหนักเริ่มต้นการทดลอง (กรัม/ตัว)	0.32±0.00	0.32±0.00	0.32±0.00	0.32±0.00	0.32±0.00
น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง (กรัม/ตัว)	0.39±0.02	0.41±0.05	0.40±0.05	0.41±0.05	0.43±0.00
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	0.07±0.02	0.09±0.05	0.08±0.05	0.09±0.05	0.11±0.01
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/วัน)	0.001±0.000	0.002±0.001	0.001±0.001	0.002±0.001	0.002±0.000
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/วัน)	0.38±0.13	0.44±0.23	0.39±0.23	0.46±0.21	0.53±0.02
อัตราการรอด (%)	83.33±12.58 ^b	96.66±2.88 ^a	100.00±0.00 ^a	96.66±5.577 ^a	100.00±0.00 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.9 พารามิเตอร์คุณภาพน้ำของลูกปลากัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารสกัดเปลือกสีเขียว (กรัมในน้ำ 1 ลิตร)	pH		EC ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	ช่วง	ค่าเฉลี่ย±SE	ช่วง	ค่าเฉลี่ย±SE
0	7.38-7.13	7.26±0.09 ^b	477-427	455.46±20.30
0.1	7.72-7.58	7.62±0.05 ^a	451-421	435.86±10.51
0.3	7.59-7.33	7.45±0.09 ^{ab}	443-270	400.13±72.87
0.5	6.61-6.12	6.33±0.21 ^c	414-367	390.86±20.34
0.7	6.69-5.97	6.38±0.27 ^c	430-405	417.06±12.19

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดเปลือกสีเสียดแห้งโดยให้อากาศตลอดเวลา ควรแช่เปลือกสีเสียดเป็นเวลา 30 นาที ปริมาณสารแทนนินจากเปลือกสีเสียด 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1 กรัมในน้ำ 1 ลิตร เท่ากับ 27.73, 61.01, 155.30, 194.13 และ 227.41 ppm ตามลำดับ

5.1.2 ปริมาณเปลือกสีเสียด 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีค่าเฉลี่ย pH เท่ากับ 6.42, 5.75, 4.97, 4.57, 4.38 และ 4.43 ตามลำดับ

5.1.3 ค่า MIC ของสารสกัดเปลือกสีเสียดต่อเชื้อ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. มีค่าเท่ากับ 5,000 และ 2,500 ppm ตามลำดับ และ ค่า MBC ของสารสกัดเปลือกสีเสียดต่อเชื้อ *Aeromonas* sp. และ *Streptococcus* sp. อยู่ที่ 10,000 และ 40,000 ppm ตามลำดับ

5.1.4 การอนุบาลลูกปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด 0.1 - 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีอัตราการรอดมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้อนุบาลในน้ำเลี้ยงผสมสารสกัดเปลือกสีเสียด แต่การเติบโตของปลากัดไม่มีความแตกต่างกัน

5.1.5 การเพาะพันธุ์ปลากัดสายพันธุ์หางมงกุฏในสารสกัดเปลือกสีเสียดที่ 0.7 กรัมในน้ำ 1 ลิตร มีอัตราการวางไข่ที่ 100% และมีอัตราส่วนลูกปลาเพศผู้เท่ากับ 73.21%

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการศึกษาการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์พ่อแม่พันธุ์ปลากัดที่ถูกเลี้ยงในสารสกัดเปลือกสีเสียด เนื่องจากปลากัดเพศผู้ และเพศเมียที่เลี้ยงในสารสกัดเปลือกสีเสียดแสดงพฤติกรรมพร้อมผสมพันธุ์ได้รวดเร็วกว่าปลากัดที่ไม่ได้เลี้ยงในสารสกัดเปลือกสีเสียด

5.2.2 ควรศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากัดในสารสกัดเปลือกสีเสียดช่วงฤดูหนาวซึ่งเป็นช่วงที่มีการเพาะพันธุ์ประสบความสำเร็จต่ำ เนื่องจากอุณหภูมิที่ต่ำซึ่งส่งผลต่อการผสมพันธุ์ และวางไข่ของปลากัด

เอกสารอ้างอิง

- การุณ ทองประจุแก้ว. 2556. ชีววิทยาของปลากัดไทย (*Betta splendens* Regan, 1910). วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 41(1) : 1-15.
- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2561. ตำรับยาเหลืองปิดสมุทร(ยาแก้ท้องเสีย)จากภูมิปัญญาสู่งานวิจัย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/researchknowledge>.
- ชัย เกียรติธีรนาท และบุญชัย อัครวิจวานิช. 2548. การพัฒนาปลากัดไทยก้าวไกลสู่ตลาดโลก. วารสารการประมง. 58(6) : 505-517.
- ณัฐพงษ์ ปานขาว. (2549). ผลของ pH จากน้ำหมักใบหูกวางต่อสัดส่วนเพศในปลากัดจีน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ด้านตรวจสัตว์น้ำท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ. 2565. รายงานประจำปี 2565 ด้านตรวจสัตว์น้ำท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www4.fisheries.go.th>.
- ธวัช ดอนสกุล. 2530. การศึกษากระบวนการผสมพันธุ์และการเพาะเลี้ยงปลากัดไทย. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- ธวัฒน์ชัย งามศิริ และอภิวัฒน์ เหลื่อมสมบูรณ์. 2564. ผลของน้ำแช่ใบหูกวางแห้งต่อการงอกทดแทนครีบบปลาทอง. วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี. 2(1) : 26-35.
- นฤชยา ไกรเนตร. 2553. การป้องกันและกำจัดโรคปลา. กรุงเทพฯ: กรมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- นันทริกา ชันช้อย. 2553. โรคปลา: อายุรศาสตร์และคลินิกปฏิบัติ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปภาศิริ ศรีโสภารณ. 2537. โรคและพยาธิของสัตว์น้ำ. ชลบุรี: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ประภาส โฉลกพันธ์รัตน์. 2553. การเพาะเลี้ยงปลากัด. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://home.kku.ac.th/pracha/Betta.htm>.
- มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, กำชัย ลาวัณยวุฒิ, สุจินต์ หนูขวัญ และพรเลิศ จันทร์รัชกุล. 2531. การใช้ fluoxymesterone ในการเปลี่ยนแปลงเพศปลากัดจีน. หน้า 295-307. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 26 สาขาสัตว สัตวแพทย์และประมง. กรุงเทพฯ: กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการพลังงาน.

- วัชรียา ภูริวิโรจน์กุล และนนทวิทย์ อารีรัชช. 2549. ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปลา กัดและความเป็นพิษของสารสกัดใบหูกวางต่อปลา กัด. หน้า 109-116. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาประมง. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- วันเพ็ญ มินกาญจน์, นงนุช เลาะห์วิสุทธิและสุภาพ พรหมยศ. 2531. การเพาะพันธุ์ปลา กัด. กรุงเทพฯ: สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ.
- วันเพ็ญ มินกาญจน์, กาญจนา จิรพันธ์พิพัฒน์ และพิสิฐ ภูมิคง. 2543. การเพาะเลี้ยงปลาทอง. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- วิจิตรตา อรรถสาร, ศตพร โนนคู่เขตโขง, จุฬาลักษณ์ จันทบาล, อติเทพชัยการณ ภาชนะวรรณ และ จิรวรรณ คำธร. 2567. ผลของน้ำหมักเปลือกของสีเสียดเปลือกต่ออัตราส่วนเพศและอัตราการรอดตายในปลา กัด. วารสารแก่นเกษตร. 52(4) : 713-723.
- ศิวพงษ์ โกสิงห์, ภัทริยา พลชา, กัลย์กนิต พิสมมรมย์, พรพิมล แสงจันทร์ และสุพัฒน์ พลชา. 2561. การใช้สารสกัดใบหูกวางชนิดผงเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลา กัด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 49(3) : 85-91.
- สถิตย์ จันทรมณี. 2563. ผลของสารสกัดหยาบจากเมล็ดตะเคียนทองต่อการรักษาแผลในปลา กัด. วารสารวิชาการสถาบันการอาชีวศึกษาเกษตร. 4(1) : 50-55.
- สุกสกา รอดปั้น นงนุช เลาะห์วิสุทธิ และอัจฉรี เรืองเดช. 2563. ผลของความเป็นกรด-ด่างของน้ำใบหูกวางแห้งต่อการเพิ่มอัตราส่วนเพศผู้และการเจริญเติบโตในปลา กัดสายพันธุ์หางพระจันทร์ครึ่งซีก. วารสารพระจอมเกล้า. 38(4) : 511-518.
- สุกสกา รอดปั้น. 2563. ผลของอุณหภูมิช่วงแสงและความเป็นกรด-ด่าง (pH) จากสารสกัดใบหูกวางต่ออัตราส่วนเพศในลูกปลา กัด (*Betta splendens*) สายพันธุ์หางพระจันทร์ครึ่งซีก (halfmoon). วิทยาสตรมหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์การประมง เทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อรัญญา พลพรพิสิฐ, นันทริกา ชันชื้อ, วิณา เคยพุดชา, จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์, ณิชฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ และ เอนโดะ, มาคาโตะ. 2549. การใช้ใบหูกวาง (*Terminalia catappa* L.) เพื่อรักษาโรคในปลา กัด (*Betta splendens*) และปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*). กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อรุณี รอดลอย. 2566. ปลา กัดไทย: นักสู้ที่สง่างามแห่งแผ่นดินสยาม. กรุงเทพฯ: กรมประมง กระทรวงเกษตร และสหกรณ์.
- อุไรวรรณ ไพชานาญ และวัฒนา วัฒนกุล. 2544. ผลของสารสกัดจากใบมังคุดต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะเพศในปลา กัด. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

- Adhikari, B., Aryal, B. and Bhattarai, B.R. 2021. A Comprehensive Review on the Chemical Composition and Pharmacological Activities of *Acacia catechu* (Lf) Willd. **Journal of Chemistry**. 1–11.
- Alambayan, J., Vats, M., Sardana, S. and Sehrawat, R. 2015. Evaluation of antiulcer activity of roots of *Acacia catechu* Willd. (Mimosoideae). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**. 3(5) : 79–84.
- Alavinia, S. J., Mirzargar, S. S., Rahmati-Holasoo, H. and Mousavi, H. E. 2018. The in vitro and in vivo effect of tannic acid on *Ichthyophthirius multifiliis* in zebrafish (*Danio rerio*) to treat ichthyophthiriasis. **Journal of Fish Diseases**. 41(12) : 1793-1802.
- American Public Health Association (APHA). 1985. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington: D.C. American Public Health Association.
- Ardi, I., Zamroni, M., and Setiadi, E. 2020. Utility of almond leaf (*Terminalia cattapa*) for improving growth and color quality of neon tetra fish (*Paracheirodon innesi*). 1-8. In IOP Conference Series: **Earth and Environmental Science**.
- Aryal, B., Adhikari, B., Aryal, N., Bhattarai, B. R., Khadayat, K., and Parajuli, N. 2021. LC-HRMS profiling and antidiabetic, antioxidant, and antibacterial activities of *Acacia catechu* (Lf) willd. **BioMed research international**. 2021 : 1-16.
- Ashraf, M. and D. A, Bengtson. 2007. Effect of tannic acid on feed intake, survival and growth of striped bass (*Morone saxatilis*) larvae. **International Journal of Agriculture and Biology**. 9 : 751-754.
- Azaza, M. S., Dhraïef, M. N. and Kraïem, M. M. 2008. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Thermal Biology**. 33(2) : 98-105.
- Bhattarai, R., Sharma, P., Wagle, B., Adhikari, A. and Acharya, S. 2020. Revision and compilation of health management plan of Khair (*Acacia catechu*). **Grassroots Journal of Natural Resources**. 3(1) : 15-28.

- Burnett, B. P., Jia, Q., Zhao, Y. and Levy, R. M. 2007. A medicinal extract of *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu* acts as a dual inhibitor of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase to reduce inflammation. **Journal of Medicinal Food**. 10(3) : 442-451.
- Chansue, N. and Assawawongkasem, N. 2008. The *in vitro* antibacterial activity and ornamental fish toxicity of the water extract of Indian Almond leaves (*Terminalia catappa* Linn.). **KKU Veterinary Journal**. 18(1) : 36-45.
- Dong, G., Liu, H., Yu, X., Zhang, X., Lu, H., Zhou, T. and Cao, J. 2018. Antimicrobial and anti-biofilm activity of tannic acid against *Staphylococcus aureus*. **Natural Product Research**. 32(18) : 2225-2228.
- Fakoya, S., Olusola, S. E. and Arifalo, O. V. 2019. Sensitivity of fish pathogenic bacteria to almond (*Terminalia catappa*) leaves and bitter (*Vernonia amygdalina*) leaves extracts. **International Journal of Oceanography and Aquaculture**. 3(1) : 1-8.
- Geetha, R. V., Roy, A. and Lakshmi, T. 2011. In vitro evaluation of anti bacterial activity of heartwood extract of *Acacia catechu* on oral microbes. **International Journal of Current Research and Review**. 3 : 4-9.
- Gomez Isaza, D. F., Cramp, R. L. and Franklin, C. E. 2020. Simultaneous exposure to nitrate and low pH reduces the blood oxygen-carrying capacity and functional performance of a freshwater fish. **Conservation Physiology**. 8(1) : coz092.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo, M.S. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**. 317 : 1-15.
- Hiraganahalli, B. D., Chinampudur, V. C., Dethé, S., Mundkinajeddu, D., Pandre, M. K., Balachandran, J. and Agarwal, A. 2012. Hepatoprotective and antioxidant activity of standardized herbal extracts. **Pharmacognosy magazine**. 8(30) : 116-123.
- Isemura, M. 2019. Catechin in human health and disease. **Molecules**. 24(3) : 523-528.
- Jaroensutasinee, M. and Jaroensutasinee, K. 2001. Bubble nest habitat characteristics of wild Siamese fighting fish. **Journal of Fish Biology**. 58(5) : 1311-1319.

- Jayabharathi, V. and Ramesh, B. 2018. Evaluation of antihyperglycemic and antihyperlipidemic activities of *Acacia catechu* (L.f) willd leaf extract in Wistar albino rats. **Int. J. Green Pharm.** 12(3) : 175–181.
- Jing, W., Xiaolan, C., Yu, C., Feng, Q. and Haifeng, Y. 2022. Pharmacological effects and mechanisms of tannic acid. **Biomedicine & Pharmacotherapy.** 154(2022) : 113561.
- Joshi, S., Subedi, Y.P. and Paudel, S.K. 2011. Antibacterial and antifungal activity of heartwood of *Acacia catechu* of Nepal. **Journal of Nepal Chemical Society.** 27 : 94–99.
- Kelley AM. 1946. Effect of abnormal carbon dioxide tension on development of herring eggs. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada.** 6 : 435-440.
- KnowYourWeeds. 2024. **Aka *Acacia catechu* *Acacia wallichiana* *Mimosa catechu*.** [Online]. Available : <https://www.knowyourweeds.com/en/weeds/Senegalia-catechu/common-names>.
- Konishi, E. and Hotta, S. 1980. Studies on Structural Proteins of Chikungunya Virus: I. Separation of Three Species of Proteins and Their Preliminary Characterization. **Microbiology and Immunology.** 24(5) : 419-428.
- Koregol, A. C., Kalburgi, N. B. and Kotecha, A. K. 2016. *Acacia catechu* and *Acacia-farnesiana* as antimicrobial agents against periodontal pathogens: An *in vitro* assessment. **Journal Of Applied Dental and Medical Sciences.** 2(3) : 31-36.
- Koyakomanda, K. C. K., Firat, M. K., Süzer, C., Engin, S., Hekimoğlu, M., Saygi, H. and Saka, Ş. 2019. Effects of water temperature on sex differentiation and growth parameters of the mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*, Peters, 1852). **Aquatic Sciences and Engineering.** 34(1) : 22-28.
- Kumar, R., Kaur, R., Singh, A. P. and Arora, S. 2014. Diminution of hepatic response to 7, 12-dimethylbenz (**Q**) anthracene by ethyl acetate fraction of *Acacia catechu* willd. through modulation of xenobiotic and anti-oxidative enzymes in rats. **PloS one.** 9(2) : 90083.
- Kumar, R., Mahey, S., Arora, R., Mahajan, J., Kumar, V. and Arora, S. 2019. Insights into biological properties of less explored bark of industrially important *Acacia catechu* Willd. Ind. **Industrial Crops and Products.** 138 : 111486.

- Kusugal, J. R., Setty, S., Agnihotri, P. and Thakur, D. 2020. Evaluation of antimicrobial properties of *Acacia catechu* (Khadir): an *in-vitro* study Evaluation of antimicrobial properties of *Acacia catechu* (Khadir): an *in-vitro* study. **RGUHS Journal of Dental Sciences**. 12(2) : 25-30.
- Lakshmi, T., Geetha, R.V. and Anitha, R. 2011. *Acacia catechu* willd: A pharmacological review. **International Journal of Current Research and Review**. 3 : 101–111.
- Lakshmi, T., and Kumar, A. 2011. Preliminary phytochemical analysis & invitro antibacterial activity of *Acacia catechu* willd Bark against *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* & *Lactobacillus acidophilus*. **International Journal of Phytomedicine**. 3(4) : 579.
- Malawa, S., N. Nuntapong, N. Suanyuk and K. Thongprajukaew. 2022. Addition of different concentrations of Indian almond (*Terminalia catappa*) leaf extract to aquarium water resulted in improved water quality and increased bubble nest formation by male Siamese fighting fish (*Betta splendens*) without having any consistent negative effects on growth metrics and blood chemistry. **Aquaculture International**. 30 : 1-20.
- McNeill, L. 2016. *Acacia catechu*: Nepal Export. **Plant Agriculture International Development**. Canada: University of Guelph.
- Monvises, A., Nuangsaeng, B., Sriwattanothai, N. and Panijpan, B. 2009. The Siamese fighting fish: well-known generally but little-known scientifically. **Science Asia**. 35(1) : 8–16.
- Mount, D.I. 1973. Chronic effects of low pH on Fathead minnow survival, growth and reproduction. **Water Research Pergamon Press**. 7: 987-993.
- Mulani, K., Pawar, N., Nirhali, N., and Rathod, V. 2016. Determination of tannins and sulfur dioxide content of different wine samples by titrimetric method. **Chemical Science**. 5(2) : 458-462.
- Negi, B. S. and Dave, B. P. 2010. In vitro antimicrobial activity of *Acacia catechu* and its phytochemical analysis. **Indian Journal of Microbiology**. 50 : 369-374.
- Nugroho, R. A., H. Manurung, D. Saraswati, D. Ladyescha and F. M. Nur. 2016. The effects of *Terminalia catappa* L. leaves extract on the water quality properties, survival and blood profile of ornamental fish (*Betta sp.*) cultured. **Biosaintifika: Journal of Biology and Biology Education**. 8(2) : 240-247.

- Nurhidayat N, Wardin L and Sitorus E. 2016. The survival and growth performance of juvenile cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*) with application of tropical almond (*Terminalia catappa*) leaves. **Nusantara Biosci.** 8 : 1-4.
- Rahmatullah, M., Hossain, M., Mahmud, A., Sultana, N., Mizanur, S., Mohammad, R., Islam, R., Khatoon, M.S., Jahan, S. and Islam, F. 2013. Antihyperglycemic and antinociceptive activity evaluation of 'khyer' prepared from boiling the wood of *Acacia catechu* in water. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines.** 10(4) : 1–5.
- Ramos, F. M., H. A. Abe, M. V. S. D. Couto, P. E. G. Paixão, M. L. Martins, P. C. F. Carneiro, A. N. Maria, and R. Y. Fujimoto. 2020. *Terminalia catappa* improves growth performance and survival of the Amazon leaf fish (*Monocirrhus polyacanthus*) larvae submitted to handling stress. **Aquaculture Research.** 51(11) : 4805-4808.
- Ray, D., Sharatchandra, K.H. and Thokchom, I.S. 2006. Antipyretic, antidiarrhoeal, hypoglycaemic and hepatoprotective activities of ethyl acetate extract of *Acacia catechu* Willd. in albino rats. **Indian Journal of Pharmacology.** 38 : 408–413.
- Reddon, A. R. and Peter, L. H. 2013. Water pH during early development influences sex ratio and male morph in a west African fish *Pelvicachromis pulcher*. **Zoology.** 116 : 139-143.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. and Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. **Aquaculture.** 433 : 50-61.
- Romer, U., and Beisenherz, W. 1996. Environmental determination of sex in *Apistogramma* (Cichlidae) and two other freshwater fishes (Teleostei). **Journal of Fish Biology.** 48 : 714-725.
- Saini, M.L., Saini, R., Roy, S. and Kumar, A. 2008. Comparative pharmacognostical and antimicrobial studies of *Acacia* species (Mimosaceae). **Journal of Medicinal Plants Research.** 2(12) : 378–386.
- Sharma, P., Adhikari, H., Tripathi, S., Ram, A.K. and Bhattarai, R. 2019. Habitat suitability modelling of Asian Elephant *Elephas maximus* (Mammalia: Proboscidea: Elephantidae) in Parsa National Park, Nepal and its buffer zone. **Journal of Threatened Taxa.** 11(13) : 14643- 14654.

- Shen, D., Wu, Q., Wang, M., Yang, Y., Lavoie, E.J. and Simon, J.E. 2006. Determination of the predominant catechins in *Acacia catechu* by liquid chromatography/electrospray ionization– mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 54(9) : 3219–3224.
- Shen, Z.-G., Wang, H.-P., Yao, H., O’Bryant, P., Rapp, D., and Zhu, K.-Q. 2016. Sex determination in bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*: effect of temperature on sex ratio of four geographic strains. **The Biological Bulletin**. 230(3) : 197-208.
- Shirasago, Y., Inamori, Y., Suzuki, T., Tanida, I., Suzuki, T., Sugiyama, K., Wakita, T., Hanada, K. and Fukasawa, M. 2019. Inhibition mechanisms of hepatitis C virus infection by caffeic acid and tannic acid. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. 42(5) : 770-777.
- Shruthi, D. and R.V. Geetha. 2018. Effect of herbal extracts in prevention of dental caries-an *In Vitro* study. **International Journal of Drug Development and Research**. 10(1) : 20-21.
- Singh, A. and Raizada, P. 2010. Seed germination of selected dry deciduous trees in response to fire and smoke. **Journal of Tropical Forest Science**. 22(4) : 465–468.
- Snekser, J.L., McRobert, S.P. and Clotfelter, E.D. 2006. Social partner preferences of male and female fighting fish (*Betta splendens*). **Behavioural Processes**. 72(1) : 38–41.
- Soyocak, A., Kurt, H., Cosan, D. T., Saydam, F., Calis, I., Kolac, U. K., Koroglu, Z. O., Degirmenci, I., Mutlu, F. S., and Gunes, H. 2019. Tannic acid exhibits anti-inflammatory effects on formalin-induced paw edema model of inflammation in rats. **Human & experimental toxicology**. 38(11) : 1296-1301.
- Sunil, M.A., Sunitha, V.S., Radhakrishnan, E.K. and Jyothis, M. 2019. Immunomodulatory activities of *Acacia catechu*, a traditional thirst quencher of South India. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**. 10(3) : 185–191.
- Swain, S., Sawant, P. B., Chadha, N. K., Chhandaprajnadarsini, E. M. and Katare, M. B. 2020. Significance of water pH and hardness on fish biological processes: A review. **International Journal of Chemical Studies**. 8(4) : 330-337.

- Tseng-Crank, J., Sung, S., Jia, Q., Zhao, Y., Burnett, B., Park, D. R. and Woo, S. S. 2010. A medicinal plant extract of *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu* reduced LPS-stimulated gene expression in immune cells: a comprehensive genomic study using QPCR, ELISA, and microarray. **Journal of Dietary Supplements**. 7(3) : 253-272.
- Wattanuruk, D. and Detraksa, J. 2023. Effect of herbal plant extracts on inhibition of pathogenic bacteria in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Food Health and Bioenvironmental Science**. 16(1) : 46-53.
- Wang, H. P., Gao, Z. X., Rapp, D., O'Bryant, P., Yao, H., and Cao, X. J. 2014. Effects of temperature and genotype on sex determination and sexual size dimorphism of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*. **Aquaculture**. 420 : S64-S71.
- Winemiller, K.O. and Leslie, M.A. 1992. Fish assemblages across a complex tropical freshwater/marine ecotone. **Environmental Biology of Fishes**. 34(1) : 29-50.
- Wu, D., X. D., Wu, X. F., You, Ma, X. F., and Tian, W. X. 2010. Inhibitory effects on bacterial growth and beta-ketoacyl-ACP reductase by different species of maple leaf extracts and tannic acid. **Phytotherapy research**. 24(1) : 35-41.
- Yadav, V. and Yadav, Y. C. 2022. Bioactive potential and phytopharmacological activity of *Acacia catechu*. **International Journal of Drug Discovery and Medical Research**. 11(1) : 11-14.
- Zhu, C., Lei, M., Andargie, M., Zeng, J. and Li, J. 2019. Antifungal activity and mechanism of action of tannic acid against *Penicillium digitatum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. 107 : 46-50.
- Zukflee, Z., Mohamed, R., Kamaruddin, I. S. and Sehat, S. 2024. Effect of *Terminalia Catappa* Linn. leaves extract on water quality, survival and blood profile of *Betta* sp. **Semarak International Journal of Agriculture, Forestry and Fisheries**. 1(1) : 43-52.



ภาคผนวก



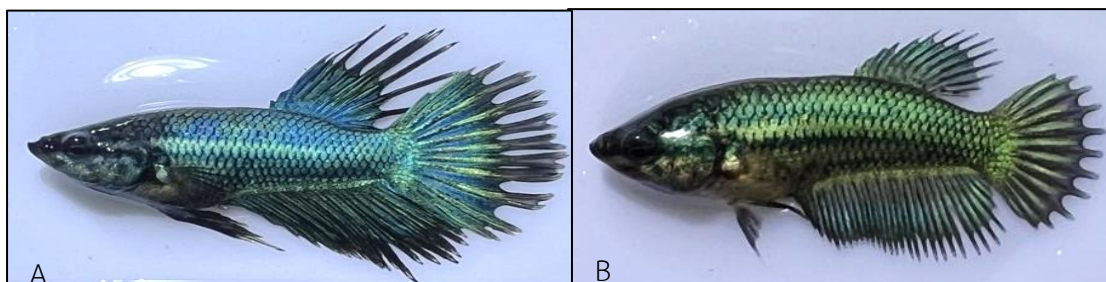
ภาพผนวกที่ 1 เปลือกสีเสียดฝอย



ภาพผนวกที่ 2 ใบหูกวางตัดขนาดประมาณ 3x4 เซนติเมตร



ภาพผนวกที่ 3 ภาชนะเพาะพันธุ์



ภาพผนวกที่ 4 ความแตกต่างระหว่าง (A) ลูกปลากัดเพศผู้ และ (B) ลูกปลากัดเพศเมีย

ตารางผนวกที่ 1 ผลของระยะเวลาในการสกัดเปลือกสีเสียดต่อความเข้มข้นแทนนิน

เวลาที่ใช้สกัด (นาที)	ความเข้มข้นแทนนิน (ppm)
30	227.40±18.19 ^a
60	227.65±4.14 ^a
90	227.69±14.69 ^a
120	227.74±16.68 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	ปรีดา ไวยเจริญ
วัน เดือน ปีเกิด	20 กรกฎาคม 2543
ที่อยู่	8/3 หมู่ 8 ต.บางแก้ว อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา 24000
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2565 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตรการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

