วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 2560 : 35 (2) : 31- 40

ผลของการใช้ขิงเป็นระยะเวลานานต่อการตอบสนองของปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และความต้านทานโรคต่อเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล

Effect of Long-term Dietary Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on White Blood Cells, Red Blood Cells and Disease Resistance against *Streptococcus agalactiae* in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย[1] ชฎาพร วงศ์ติณชาติ[1] และ ธนากร เหมะสถล[1]
Duangjai Pisuttharachai,[1] Chadaporn Wongtinnachart[1] and Tanakorn Haemasaton[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใช้ขิงเป็นระยะเวลานานต่อการตอบสนองของปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และความต้านทานโรคต่อเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล โดยลูกปลานิลน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.36 ± 0.05 กรัมต่อตัว จะถูกเลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลานาน 40 วัน จากนั้นทำการทดสอบโดยการฉีดเชื้อ *S. agalactiae* แล้วบันทึกอัตราการรอดตาย ปริมาณเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง ผลการทดลองพบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการรอดตายหลังจากได้รับเชื้อ *S. agalactiae* สูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการรอดตายสูงสุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) สำหรับปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง หลังจากได้รับเชื้อ *S. agalactiae* พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากผลการทดลองสรุปได้ว่า การให้อาหารผสมขิงเพื่อเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคเป็นเวลานาน 40 วัน ระดับความเข้มข้นที่ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระดับที่เหมาะสมที่สามารถกระตุ้นการเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาว และความต้านทานโรคต่อเชื้อ *S. agalactiae* ในปลานิลได้

คำสำคัญ : ปลานิล ขิง เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง *Streptococcus agalactiae*

Abstract

The study was performed to examine the effect of long-term dietary ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on white blood cells (WBC), red blood cells (RBC) and disease resistance against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The Nile tilapia (0.36 ± 0.05 g initial body weight) were fed with diets supplemented with ginger at 0 (control), 1, 3, 5 and 7 g/kg of feed for 40 days. After, fish were challenged with *S. agalactiae*. Survival rate and the number of WBC and RBC were recorded. Fish fed diets supplemented with ginger in all levels showed survival rate after challenged higher than control. Significantly increased survival rate were found in fish fed with ginger at 5 g/kg of feed ($p<0.05$). The number of WBC and RBC after challenged was significantly increased in fish fed with ginger at 5 and 7 g/kg of feed compared to the control ($p<0.05$). In conclusion, the use of dietary ginger as an

[1]สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จ. ชุมพร 86160

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

immunostimulant for 40 days, diet supplemented with ginger at 5 g/kg of feed was suitable level to improve the number of WBC and reduce susceptibility to *S. agalactiae* in Nile tilapia.

Keywords: Nile tilapia, ginger, white blood cells, red blood cells, *Streptococcus agalactiae*

คำนำ

Streptococcus agalactiae เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ก่อให้เกิดโรค Streptococcosis รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 ไมครอนจะอยู่เป็นคู่หรือเรียงต่อกันเป็นสายสั้น ๆ เชื้อสกุลนี้ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้และไม่มีการสร้างสปอร์ (Johri *et al*., 2006) แบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ มีรายงานว่าเชื้อชนิดนี้สามารถก่อให้เกิดโรคในปลาได้หลายชนิดเช่น ปลาเรนโบว์ เทร้า (*Oncorhynchus mykiss*), ปลากดอเมริกัน (*Ictalurus punctatus*), ปลากะพงขาว (*Morone saxatilis* x *M. saxatilis*), ปลากระบอก *(Liza klunzingeri*), ปลาจะละเม็ดขาว (*Pampus argenteus*, Eupharsen) และปลานิล (*Oreochromis niloticus*) (Eldar and Ghittino,1999; Shoemaker *et al*., 2001; Evans *et al*., 2002; Suanyuk *et al*., 2008; Duremdez *et al*., 2004) ปลาที่ติดเชื้อจะแสดงอาการตกเลือดตามผิวหนัง ตาโปน ท้องบวมน้ำ และว่ายน้ำไร้ทิศทาง (Austin and Austin, 2007) ในประเทศไทยปลานิลจัดเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตไว จึงทำให้มีปริมาณผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงต่อปีสูงสุดถึง 197,600 ตัน เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดชนิดอื่น (กรมประมง, 2556) การเลี้ยงปลานิลในปัจจุบันเป็นระบบเชิงอุตสาหกรรมเพื่อเพิ่มผลผลิต หากเลี้ยงอย่างหนาแน่นจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค ซึ่งโรค Streptococcosis เป็นโรคติดเชื้อที่สร้างความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิลในฟาร์มเลี้ยงปลานิลทุกภูมิภาคของประเทศไทย การรักษาโรคส่วนใหญ่จะใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งหากมีการใช้บ่อย ๆ ก็จะก่อให้เกิดผลเสีย เช่น เกิดการดื้อยาต่อเชื้อแบคทีเรียทำให้การรักษาโรคไม่ได้ผล นอกจากนี้ยังเกิดการสะสมของยาปฏิชีวนะในตัวปลาซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและผู้บริโภค (Smith *et al*., 1994) ดังนั้นจากปัญหาเหล่านี้จึงกระตุ้นให้นักวิจัยทำการทดลองเพื่อหาทางเลือกที่จะทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมโรคในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สมุนไพรเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเพราะมีราคาถูกกว่ายาปฏิชีวนะ หาง่ายตามท้องตลาดทั่วไปและยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) เป็นพืชพื้นบ้านของทวีปเอเชียแถบร้อนชื้น ส่วนของรากมีกลิ่นฉุน มีรสเผ็ดร้อนและมีคุณสมบัติเป็นยา ในหลายประเทศเช่น จีน อินเดีย และญี่ปุ่น ขิงได้กลายเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในยาเพื่อรักษาโรค (Castleman, 2001) เนื่องจากขิงประกอบด้วยสารที่มีฤทธิ์ antioxidant, antibacterial, antifungal, anti-carcinogenic, anti-inflammatory, hypolipidemic, anti-nausea และ antithrombotic (Habib *et al*., 2008; Manju and Nalini, 2005; Stoilova *et al*., 2007; Thomson *et al*., 2002; Kadnur and Goyal, 2005) การทดลองใช้ขิงในสัตว์น้ำได้มีรายงานว่า ขิงสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์น้ำได้ เช่น กระตุ้นการเจริญเติบโตในลูกกุ้งขาวแวนนาไม (Chang *et al*., 2012) กุ้งกุลาดำ (Venketramalingam *et al*., 2007) กุ้งก้ามกราม (Rebecca and Bhavan, 2014; Rebecca *et al*., 2014; El-Desouky *et al*., 2012) ปลากะพง (Talpur *et al*., 2013) และปลาเรนโบว์เทร้า (Nya and Austin, 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าขิงสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโรคได้ทั้งในปลาและกุ้ง ซึ่งระยะเวลาการให้อาหารผสมขิงเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโรคในปลาจะใช้ระยะเวลา 14 วันในปลาเรนโบว์ เทร้า (Nya and Austin, 2009) และ 15 วันในปลากะพง (Talpur *et al*., 2013) สำหรับกุ้งจะใช้ระยะเวลา 35 วันในกุ้งก้ามกราม (El-Desouky *et. al*., 2012) และ 56 วันในกุ้งขาวแวนนาไม (Chang *et al*., 2012)

ระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลามีทั้งแบบไม่จำเพาะ (non-specific immunity) และจำเพาะ (specific immunity) โดยแต่ละระบบประกอบด้วยระบบการทำงานโดยเซลล์และสารน้ำ เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวที่เป็นเสมือนด่านแรกในการทำลายสิ่งแปลกปลอม จากงานวิจัยทดลองเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลาชี้ให้เห็นว่าปริมาณเม็ดเลือดขาว สามารถใช้เป็นพารามิเตอร์ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันโรคในปลาได้ (Nya and Austin, 2009; Talpur *et al*., 2013; Rahimi *et al*., 2015) เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณเม็ดเลือดขาวจะทำให้เกิดกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytic activity) โดยการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophils และ macrophages (Secombes and Fletcher, 1992) เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังเพิ่มปริมาณ serum lysozymes ซึ่งเป็นเอมไซม์ที่ใช้ในการทำลายแบคทีเรีย พบในเม็ดเลือดขาวชนิด monocytes, macrophages, neutrophils และ eosinophilic granule cells (Uribe *et al*., 2011; Sveinbjornsson *et al*., 1996)

ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาผลของการใช้ขิงในปลานิลซึ่งเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย อีกทั้งยังไม่เคยมีการศึกษาผลของการใช้ขิงผสมอาหารให้ปลากินเป็นเวลานานมากกว่า 15 วัน ว่ามีการตอบสนองของปริมาณเม็ดเลือดขาวและความต้านทานโรคต่อเชื้อแบคทีเรียเป็นอย่างไร ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ขิงเป็นระยะเวลานานต่อการตอบสนองของปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และความต้านทานโรคต่อเชื้อ *S. agalactiae* ในปลานิล

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้จะทำการเตรียมขึ้นมาเอง โดยนำขิงแก่ มาล้างให้สะอาดแล้วนำมาหั่นเป็นแผ่นบาง ๆ นำไปตากลมนาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้ง นำขิงที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยครกบดยา (mortar) แล้วนำมาผสมในอาหารสูตรมาตรฐานสำหรับเลี้ยงลูกปลานิลอายุ 1 - 2 เดือนที่มีระดับโปรตีนเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 0 (ชุดควบคุม), 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ส่วนวัตถุดิบอื่นประกอบด้วย ปลาป่นร้อยละ 20 ปลายข้าวร้อยละ 9.5 ข้าวโพดร้อยละ 10.5 กากถั่วเหลืองร้อยละ 29.5 รำอ่อนร้อยละ 28.5 น้ำมันร้อยละ 1 และพรีมิกซ์ร้อยละ 1 จากนั้นนำไปอัดเม็ดอาหารและอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

2. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลานิลจำนวน 600 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.36 $\pm$ 0.05 กรัมต่อตัว มาทำการเลี้ยงในถังขนาด 500 ลิตร จำนวน 15 ถัง (ถังละ 40 ตัว) ด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 1, 3, 5, และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ระดับความเข้มข้นละ 3 ถัง ให้อาหารวันละ 2 มื้อ คือเวลา 08.00 นาฬิกา และ 17.00 นาฬิกา ในอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เป็นเวลานาน 40 วัน โดยระหว่างการเลี้ยงจะทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 3 วัน

3. การศึกษาผลของขิงต่อความต้านทานโรคต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ในปลานิล

หลังจากเลี้ยงปลานิลเป็นเวลานาน 40 วัน ทำการสุ่มปลานิลมาถังละ 15 ตัว มาเลี้ยงในตู้ขนาด 30 x 16 x 18 นิ้ว จำนวน 15 ตู้ ซึ่งน้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าเท่ากับ 3.71 $\pm$ 0.14, 3.09 $\pm$ 0.16, 3.29 $\pm$ 0.14, 4.05 $\pm$ 0.12 และ 3.95 $\pm$ 0.14 กรัมต่อตัวตามลำดับ จากนั้นทำการฉีดเชื้อ *S. agalactiae* ที่มีปริมาณเชื้อ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เข้าทางกล้ามเนื้อด้านข้างลำตัวปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่อตัว บันทึกจำนวนปลานิลที่ตายหลังจากได้รับเชื้อ *S. agalactiae* ภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง เพื่อศึกษาเปรียบเทียบอัตราการรอดตายของปลานิลต่อเชื้อ *S. agalactiae* สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ที่ใช้ในการทดสอบ นำมาจาก Stock เชื้อ ณ ห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการทดลองทุกครั้ง จะเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหาร Brain Heart Infusion agar (BHI) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 18 - 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การศึกษาผลของขิงต่อการตอบสนองของปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงในปลานิล

หลังจากเลี้ยงปลานิลเป็นเวลานาน 40 วัน ทำการสุ่มปลานิลมาถังละ 1 ตัว มาเลี้ยงในตู้ขนาด 30 x 16 x 18 นิ้ว จำนวน 15 ตู้ ทำการเก็บเลือดปลาก่อนการฉีดเชื้อ *S. agalactiae* (Pre-challenge) โดยใช้เข็มฉีดยาที่กลั้วด้วยสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (0.5 M EDTA) เพื่อนำไปนับจำนวนเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงตามวิธีการของ ธาราทิพย์ (2554) หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ทำการฉีดเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ที่มีปริมาณเชื้อ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เข้าทางกล้ามเนื้อด้านข้างลำตัวปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่อตัว แล้วทิ้งไว้อีก 24 ชั่วโมง จึงจะทำการเก็บเลือดปลาหลังการฉีดเชื้อ (post–challenge) เพื่อนำไปนับจำนวนเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงอีกครั้ง

การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว ทำการเจือจางเลือดปลาด้วยสารละลาย 0.1 N HCl โดยใช้ปิเปตสำหรับเจือจางเพื่อนับเม็ดเลือดขาว (Thoma diluting white cell pipette) ดูดเลือดถึงขีด 0.5 จากนั้นดูด 0.1 N HCl ถึงขีด 11 จะได้อัตราส่วนเจือจาง 1:20 (dilution factor เท่ากับ 20) เขย่าให้เข้ากัน 2 – 3 นาที หยดสารละลายทิ้ง 3 หยด จากนั้นหยดลงบน hemocytometer chamber แล้วนำไปนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำนวนเม็ดเลือดขาวจะนับในช่องพื้นที่มุมตารางทั้ง 4 ช่อง ส่วนการนับจำนวนเม็ดเลือดแดง ทำการเจือจางเลือดปลาด้วยสารละลาย Gower's solution โดยใช้ปิเปตสำหรับเจือจางเพื่อนับเม็ดเลือดแดง (Thoma diluting red cell pipette) ดูดเลือดถึงขีด 0.5 จากนั้นดูด Gower's solution ถึงขีด 101 จะได้อัตราส่วนเจือจาง 1:200 (dilution factor เท่ากับ 200) เขย่าให้เข้ากัน 2 – 3 นาที หยดสารละลายทิ้ง 3 หยด จากนั้นหยดลงบน hemocytometer chamber แล้วนำไปนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำนวนเม็ดเลือดแดงจะนับในช่องพื้นที่ใหญ่ตรงกลาง ซึ่งมีพื้นที่เล็ก 25 ช่อง นับเพียง 5 ช่อง ตรงมุมบน ล่าง ซ้าย ขวา และตรงกลาง นำค่าที่ได้มาคำนวณ

$$\text{จำนวนเม็ดเลือดขาว / แดง ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร} = \frac{\text{จำนวนเม็ดเลือดขาว / แดงที่นับได้ x dilution factor}}{\text{ปริมาตรที่ใช้นับ}}$$

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ในแต่ละพารามิเตอร์มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี DMRT ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows, version 6.12 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

1. ผลของขิงต่อความต้านทานโรคต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ในปลานิล

หลังจากเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารทดลองเป็นเวลานาน 40 วัน ทำการสุ่มปลานิลมาถังละ 15 ตัว เพื่อทดสอบความต้านทานโรคต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ที่มีปริมาณเชื้อ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยการฉีดเข้าทางกล้ามเนื้อด้านข้างลำตัวปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่อตัว พบว่า ปลานิลในทุกชุดการทดลองเริ่มมีการตายภายหลังได้รับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* นาน 12 ชั่วโมง ซึ่งอัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ทุกระดับความเข้มข้นในช่วงเวลา 12 - 24 ชั่วโมง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (p>0.05) อัตราการตายของปลานิลจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในช่วงเวลา 36 – 60 ชั่วโมง ภายหลัง 60 ชั่วโมง อัตราการตายของปลานิลจะเริ่มลดลง และในช่วงเวลา 72 – 96 ชั่วโมง ไม่พบการตายเพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลอง จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการรอดตายสูงสุดตั้งแต่ในช่วงเวลา 36 – 96 ชั่วโมง และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (p<0.05) (Table 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 1 Survival rate (%) of Nile tilapia, *O. niloticus*, fed diets with different concentrations of *Z. officinale* Roscoe including 0 (control), 1, 3, 5 and 7 g/kg diet for 40 days after challenged with *S.agalactiae*.

Treatment (g/kg diet)	Time after challenge (h)						
	12	24	36	48	60	72	96
0	100.00±0.00	77.78±3.85	64.44±7.70^{b}	42.22±10.18^{b}	33.34±11.55^{b}	33.34±11.55^{b}	33.34±11.55^{b}
1	100.00±0.00	86.66±11.55	75.56±7.70^{ab}	55.55±10.18^{ab}	46.67±11.55^{ab}	44.44±13.88^{ab}	44.44±13.88^{ab}
3	100.00±0.00	82.22±7.70	68.89±10.18^{ab}	48.89±13.88^{ab}	37.78±10.18^{ab}	37.78±10.18^{ab}	37.78±10.18^{ab}
5	100.00±0.00	88.89±3.85	82.22±3.85^{a}	68.89±7.70^{a}	57.78±10.18^{a}	57.78±10.18^{a}	57.78±10.18^{a}
7	100.00±0.00	86.67±6.67	75.56±10.18^{ab}	62.22±10.18^{ab}	51.11±13.87^{ab}	51.11±13.87^{ab}	51.11±13.87^{ab}

The different superscript letters in each column are significantly different (p<0.05)

2. ผลของขิงต่อการตอบสนองของปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงในปลานิล

ปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับต่าง ๆ เป็นเวลานาน 40 วัน แสดงไว้ใน Figure 1 และ 2 ตามลำดับ พบว่า ก่อนปลานิลได้รับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (p>0.05) โดยปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าเท่ากับ (16.87 ± 2.14) x 10^5, (18.61 ± 2.21) x 10^5, (18.17 ± 1.35) x 10^5, (19.19 ± 1.64) x 10^5 และ (18.53 ± 1.28) x 10^5 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตรตามลำดับ ส่วนปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าเท่ากับ (15.88 ± 0.96) x 10^5, (13.72 ± 0.60) x 10^5, (22.80 ± 7.15) x 10^5, (18.03 ± 3.88) x 10^5 และ (22.27 ± 2.97) x 10^5 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตรตามลำดับ

สำหรับปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ภายหลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ที่มีปริมาณเชื้อ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยการฉีดเชื้อเข้าทางกล้ามเนื้อด้านข้างลำตัวปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่อตัว มีค่าเท่ากับ (11.16 ± 3.18) x 10^5, (10.88 ± 1.93) x 10^5, (12.73 ± 6.59) x 10^5, (20.80 ± 0.87) x 10^5 และ (23.13 ± 3.77) x 10^5 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตรตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 1 และ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (p>0.05) แต่ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงกว่าชุดควบคุมและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ภายหลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* มีค่าเท่ากับ (10.87 ± 5.71) x 10^5, (11.33 ± 1.64) x 10^5, (7.77 ± 2.93) x 10^5, (22.02 ± 1.83) x 10^5 และ (24.87 ± 2.40) x 10^5 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตรตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลานิลภายหลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* มีลักษณะเช่นเดียวกับปริมาณเม็ดเลือดขาว โดยพบว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีปริมาณสูงกว่าชุดควบคุมและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

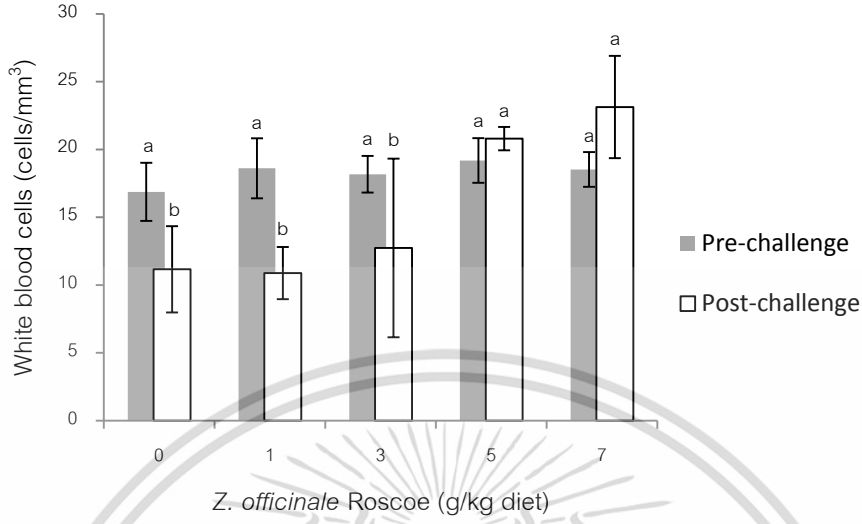

Figure 1 The number of white blood cells of Nile tilapia, *O. niloticus*, fed diets with different concentrations of *Z. officinale* Roscoe including 0 (control), 1, 3, 5 and 7 g/kg diet for 40 days at pre-challenge and post-challenge with *S. agalactiae*. Data (mean ± SD) with different letters significantly differ (p<0.05) among treatments.

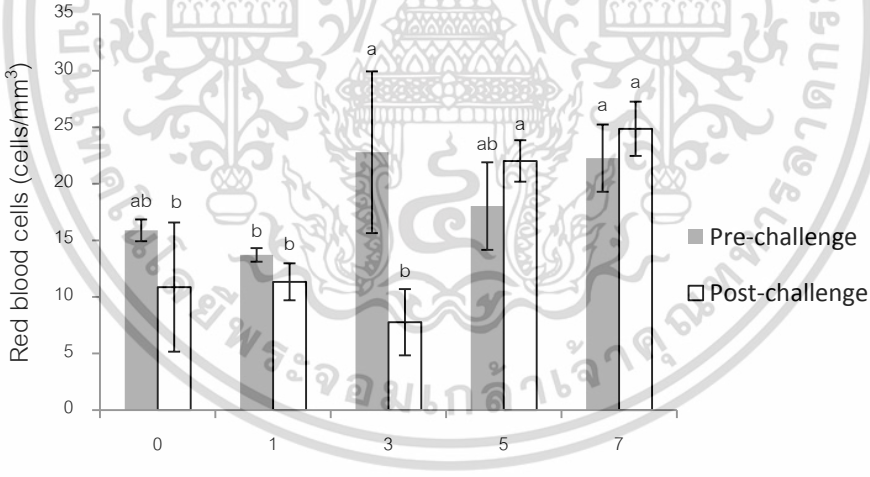

Figure 2 The number of red blood cells of Nile tilapia, *O. niloticus*, fed diets with different concentrations of *Z. officinale* Roscoe including 0 (control), 1, 3, 5 and 7 g/kg diet for 40 days at pre-challenge and post-challenge with *S. agalactiae*. Data (mean ± SD) with different letters significantly differ (p<0.05) among treatments.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ทุกระดับความเข้มข้นเป็นเวลานาน 40 วัน มีอัตราการรอดตายหลังจากได้รับเชื้อ *S. agalactiae* ที่ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สูงกว่าชุดควบคุม แต่ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการรอดตายสูงสุด (57.78 $\pm$ 10.18 เปอร์เซ็นต์) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (33.34 $\pm$ 11.55 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งสอดคล้องกับ Nya and Austin (2009) ได้ทดลองเลี้ยงปลาเรนโบว์ เทร้าด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 0, 0.05, 0.1, 0.5 และ1.0 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม นาน 14 วัน หลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าปลาเรนโบว์ เทร้าที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 0.5 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม มีอัตราการรอดตายสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดตายเพียง 36 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับการศึกษาของ Talpur *et al*. (2013) รายงานว่าปลากะพงที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 และ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงนาน 15 วัน หลังจากฉีดเชื้อ *Vibrio harveyi* ที่ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีอัตราการรอดตายสูงที่สุดเท่ากับ 86.6 เปอร์เซ็นต์ แต่ชุดควบคุมมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 26.7 เปอร์เซ็นต์ จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า ขิงเป็นพืชสมุนไพรที่มีสารออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแบบวงกว้าง (broad spectrum) คือ สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เนื่องจากในขิงมีสารประกอบพวก alkaloids, flavonoids, polyphenols, saponin, steroids, tannin และ carotenoids (Shirin and Prakash, 2010; Otunola *et al*., 2010) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสาร antioxidant, antibacterial และ antifungal (Stoilova *et al*., 2007; Otunola *et al*., 2010; Scalbert *et al*., 2005) ทำให้ปลามีความต้านทานโรคดีขึ้น และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบอัตราการรอดตายที่ดีที่สุดของการศึกษาครั้งนี้กับการศึกษาของ Nya and Austin (2009) และ Talpur *et al*. (2013) พบว่า ปลานิลมีอัตราการรอดตาย (57.78 เปอร์เซ็นต์) ต่ำกว่าปลาเรนโบว์ เทร้า (100 เปอร์เซ็นต์) และ ปลากะพง (86.6 เปอร์เซ็นต์) ถึงแม้จะให้อาหารผสมขิงที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน คือ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม อาจเป็นเพราะว่าปลาแต่ละชนิดมีความสามารถในการต้านทานเชื้อโรคต่างกัน

ปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 1, 3, 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลานาน 40 วัน ก่อนได้รับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* พบว่ามีปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่หลังจากปลานิลได้รับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ไปนาน 24 ชั่วโมง พบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 และ 7 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ซึ่งสอดคล้องกับ Talpur *et al*. (2013) รายงานว่าปลากะพงที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมขิงที่ระดับ 1, 2, 3, 5 และ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลานาน 15 วัน หลังจากได้รับเชื้อ *V. harveyi* มีปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารผสมขิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และเช่นเดียวกับ Nya and Austin (2009) รายงานว่าปลาเรนโบว์ เทร้าที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 0.05, 0.1, 0.5 และ 1 กรัมต่ออาหาร 100 กรัม เป็นเวลานาน 14 วัน หลังจากได้รับเชื้อ *A. hydrophila* มีปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophils, macrophages และ lymphocytes เพิ่มจำนวนขึ้นมากกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ประสิทธิภาพการจับกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) ของเม็ดเลือดขาวยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย (Dugenci *et al*., 2003) และสอดคล้องกับ Tende *et al*. (2012) พบว่าหนูที่กินสารสกัดจากขิงที่ระดับ 40 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophils และ lymphocytes เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากข้อมูลการเพิ่มขึ้นของปริมาณเม็ดเลือดขาวชี้ให้เห็นว่า ขิงสามารถช่วยกระตุ้นให้เกิดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันโรคในปลาได้ ซึ่งเม็ดเลือดขาวจะทำหน้าที่เปรียบเสมือนด่านแรกที่ช่วยทำลายเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ส่งผลทำให้ปลามีความต้านทานโรคดีขึ้น สำหรับการเพิ่มขึ้นของปริมาณเม็ดเลือดแดงนั้น Tende *et al*. (2014) ได้รายงานไว้ว่า ขิงมีสารประกอบที่มีความเป็นพิษต่อเม็ดเลือดแดง โดยสารประกอบของขิงจะไปจับกับฮีโมโกลบินของเม็ดเลือดแดงซึ่งทำหน้าที่ในการจับกับออกซิเจน จึงทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) มีผลทำให้ร่างกายเกิดการเร่งสร้างปริมาณเม็ดเลือดแดงเพิ่มมากขึ้น และนี้อาจเป็นสาเหตุร่วมด้วยที่ทำให้ปลานิลที่กินอาหารผสมขิงเป็นระยะเวลานาน 40 วัน มีอัตราการรอดตายหลังจากได้รับเชื้อต่ำกว่าปลาเรนโบว์ เทร้า และปลากะพง ที่ได้รับอาหารผสมขิงเป็นระยะเวลาสั้น ๆ ไม่เกิน 15 วัน กล่าวคือ ขิงอาจมีผลทำให้ร่างกายมีการสูญเสียพลังงานรวมถึงสารอาหารไปกับการสร้างเม็ดเลือดแดงใหม่ตลอดเวลา จึงทำให้การให้อาหารผสมขิงยิ่งเป็นเวลานานขึ้นแก่ปลา มีผลทำให้ร่างกายยิ่งมีการสูญเสียพลังงานและสารอาหารมากขึ้น ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพและความแข็งแรงของปลาค่อย ๆ ลดลงได้ ซึ่งมีรายงานว่าการให้หนูได้รับขิงเป็นเวลานานจะทำให้หนูมีน้ำหนักลดลง และการเจริญเติบโตหยุดชะงักได้ (Banerjee and Maulik, 2002) จากข้อมูลที่ได้จะเห็นว่าขิงเป็นพืชสมุนไพรที่มีทั้งประโยชน์และโทษต่อร่างกายของสัตว์ ดังนั้นแนวทางการใช้ขิงผสมอาหารเพื่อป้องกันโรค Streptococcosis ในปลานิลนั้น ควรใช้ในช่วงที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเท่านั้น

จากผลการทดลองครั้งนี้ การให้อาหารผสมขิงเป็นเวลานาน 40 วัน ระดับความเข้มข้นที่ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ที่สามารถกระตุ้นการเพิ่มขึ้นของปริมาณเม็ดเลือดขาว และความต้านทานโรคต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ในปลานิลได้ และที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการให้ดังกล่าว ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล ซึ่งได้ทำการทดลองก่อนหน้านี้แล้วว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมขิงที่ระดับ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลานาน 40 วันนั้น ปลามีการเจริญเติบโตที่ดีโดย มีน้ำหนักลำตัวที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักลำตัวเพิ่มเฉลี่ยต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($p<0.05$) (ดวงใจ และคณะ, 2559)

สรุป

ขิงเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันโรค โดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณเม็ดเลือดขาวในปลาได้ ทำให้ปลามีความต้านทานโรคเพิ่มขึ้น จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าการผสมขิงในรูปแบบผงแห้งลงไปในอาหาร เลี้ยงปลานิลเป็นเวลานาน 40 วันนั้น ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่สามารถกระตุ้นการเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาว และความต้านทานโรคต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ในปลานิลได้

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2556. สถิติการประมง. เข้าถึงได้จาก http://www.fisheries.go.th/it stat/yearbook/data_2556/Yearbook/year-book2013-1.7.pdf (เข้าถึงเมื่อ 19 ธันวาคม 2558)

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย, ชฎาพร วงศ์ติณชาติ, วรพงษ์ นลินานนท์ และสายชล เลิศสุวรรณ. 2559. ผลของการได้รับอาหารผสมขิงต่อการเจริญเติบโตของปลานิล. รวมบทคัดย่อการประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยทักษิณครั้งที่ 26. โรงแรมบุรีศรีภูบูติก จังหวัดสงขลา. หน้า 139.

ธาราทิพย์ พิทักษ์สงค์. 2554. ผลของการเสริมวิตามินซีร่วมกับวิตามินอีในอาหารปลาดุกลูกผสมต่อความต้านทานความเครียดภายใต้สภาวะน้ำที่มี

อุณหภูมิ และpH ต่ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

Austin, B. and D.A. Austin. 2007. Bacterial fish pathogen, pp 16-18. *In* U.K. Chichester, ed. Disease of Farmed and Wild Fish 4th.Springer-Praxis publishing.

Banerjee, S.K. and S.K. Maulik. 2002. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. Nurtrition Journal. 1: 4-14.

Castleman, M. 2011. The new healing herbs. 2nd rd. Pennsylvania: Rodale Press.

Chang, Y., C. Liu, C. Wu, C. Chiang, J. Lian and S. Hsieh. 2012. Dietary administration of zingerone to enhance growth, non-specific immune response and resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. Fish and Shellfish Immunol. 32: 284-290.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dugenci, S.K., N. Arda and A. Candan. 2003. Some medicinal plants as immunostimulants for fish. J. Ethnopharm. 88: 99-106.

Duremdez, R., A. .Al-Marzouk, J.A. Qasem, A. Al-Harbiand and H. Gharabally. 2004. Isolation of *Streptococcus agalactiae* from cultured silver pomfret, *Pampusar genteus* (Eupharsen), in Kuwait. J. Fish Dis. 27: 307-310.

Eldar, A. and C. Ghittino. 1999. *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: similar, but different diseases. Dis. Aquat. Organ. 36(3): 227-231.

El-Desouky, H., A. El-Asely, A.A. Shaheen and A. Abbass. 2012. Effects of *Zingiber officinalis* and *Cyanodon dactylon* on the growth performance and immune parameters of *Macrobrachium rosenbergii*. World Journal of Fish and Marine Sciences. 4(3): 301–307.

Evans, J.J., P.H. Klesius, P.M. Gilbert, C.A. Shoemaker, M.A. Al Sarawi, J. Landsberg, R. Duremdez, A. Al Marzouk and S. Al Zenki. 2002. Characterization of β-haemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait. J. Fish Dis. 25(9): 505-513.

Habib, S.H.M., S. Makpol, N.A.A. Hamid, S. Das, W.Z.W. Ngah and Y.A.M. Yusof. 2008. Ginger extract (*Zingiber officinale*) has anti- cancer and anti-inflammatory effects on ethionine-induced hepatoma rats. Clinics. 63: 807-813.

Johri, A.K., L.C. Paoletti, P. Glaser, M. Dua, P.M. Sharma, G. Grandi and R. Rappuoli. 2006. Group B *Streptococcus*: global incidence and vaccine development. Nat. Rev. Microbiol. 4: 932–942.

Kadnur, S.V. and R.K. Goyal. 2005. Reneficial effects of *Zingiber officinale* Roscoe on fructose induced hyperlipidemia and hyperinsulinemia in rats. Indian J. Exp. Biol. 43: 1161-1164.

Manju, V. and N. Nalini. 2005. Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post- initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine-induced colon cancer. Clinica Chimica Acta. 358(1–2): 60–67.

Nya, E.J. and B. Austin. 2009. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonashydrophila* infections in rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish Dis.32: 971–977.

Otunola, G.A., O.B. Oloyede, A.T. Oladiji and A.J. Afolayan. 2010. Comparative analysis of the chemical composition of three spices — *Allium sativum* L. *Zingiber officinale* Rosc. and *Capsicum frutescens* L. commonly consumed in Nigeria. Afr. J. Biotechnol. 9: 6927–6931.

Rahimi, M., S. Ahmadivand, S. Eagderi and S. Shamohammadi. 2015. Effects of vitamin C and E administration on Leukocyte counts in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Nutri. Health. 1(2): 5.

Rebecca, A.A. and P.S. Bhavan. 2014. Growth promotion and survival enhancement of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae fed with *Allium sativum*, *Zingiber officinale* and *Curcuma longa*. International Journal of Pure and Applied Zoology. 2(2): 138-149.

Rebecca, A.A., P.S. Bhavan and S. Radhakrishnan. 2014. *Allium sativum*, *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* induced digestive and antioxidant enzyme activities in *Macrobrachium rosenbergii* post larvae. International Journal of Life Sciences. 3(1): 22-27.

Scalbert, A., I.T. Johnson and M. Saltmarsh. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. Am. J. Clin. Nutr. 81: 215S–217S (Suppl.).

Secombes, C.J. and T.C. Fletcher. 1992. The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. Annual Review of Fish Disease. 2: 53–71.

Shirin, A.P.R. and J. Prakash. 2010. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). J. Med. Plants Stud. 4: 2674–2679.

Shoemaker, C.A., P.H. Klesius and J.J. Evans. 2001. Prevalence of *Streptococcus iniae* in tilapia, hybrid striped bass, and channel catfish on commercial fish farms in the United States. Am. J. Vet. Res. 62(2): 174-177.

Smith, P., M.P. Hiney and O.B. Samuelesen. 1994. Bacterial resistance to antimicrobial agent used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. Ann. Rev. Fish Dis. 4: 273–313.

Stoilova, I., A. Krastanov, A. Stoyanova, P. Denev and S. Gargova. 2007. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). Food Chem. 102(3): 764–770.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Suanyuk, N., F. Kong, D. Ko, G.L. Gilbert and K. Supamattaya. 2008. Occurrence of rare genotypes of *Streptococcus agalactiae* in cultured red tilapia *Oreochromis* sp. and Nile tilapia *O. niloticus* in Thailand-Relationship to human isolates?. Aquaculture.284(1-4): 35-40.

Sveinbjornsson, B., R. Olsen and S. Paulsen. 1996. Immunocytochemical localization of lysozyme in intestinal eosinophilic granule cells (EGCs) of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis. 19: 349–355.

Talpur, A.D., M. Ikhwanuddin and A.M. Ambok Bolong. 2013. Nutritional effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on immune response of Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. Aquaculture. 400-401: 46-52.

Tende, J.A., J.O. Ayo, A. Mohammed and A.U. Zezi. 2014. Effect of garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) extracts on haemato-biochemical parameters and liver enzyme activities in Wistar rats. Int. J. Food Sci. Nutr. 3(5): 380-386.

Tende, J.A., K.V. Olorunshola, A. Mohammed, A.B. Adelaiye and E.D. Eze. 2012. Some biochemical and haematological: Effects of garlic (*Allium sativum*) ginger (*Zingiber officiale*) and extracts in rats. Journal of Science. 2(2): 121-126.

Thomson, M., K.K. Al-Qattan, S.M. Al-Sawan, M.A. Alnaqeeb, I. Khan and M. Ali. 2002. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential antiinflammatory and antithrombotic agent. Prostag. Leukotr. Ess. 67(6): 475–478.

Uribe, C., H. Folch, R. Enriquez and G. Moran. 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. Veterinarni Medicina.56(10): 486–503.

Venketramalingam, K., J.G. Christopher and T. Citarasu. 2007. *Zingiber officinalis* an herbal appetizer in the tiger shrimp *Penaeusmonodon* (Fabricius) larvi culture. Aquac. Nutr. 13(6): 439-443.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้