

ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางต่อการงอกใหม่ของหางปลากัด
Optimal Concentrations of Tannin Extracted from *Terminalia catappa* Leaves
on Tail Regeneration of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens*)

พรพิมล พิมลรัตน์^{1*} สุพันธุ์ณี สุวรรณภักดี² และพัชราวลัย ศรียะศักดิ์²

Pornpimol Pimolrat^{1*}, Supanee Suwanpakdee² and Patcharawalai Sriyasak²

¹สาขาวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร ชุมพร 86170

²ภาควิชาประมง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร สกลนคร 47160

¹Department of Coastal Aquaculture, Faculty of Maejo University at Chumphon, Chumphon, Thailand 86170

²Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon, Thailand 47160

*Corresponding author: paqua50@gmail.com

Received: January 06, 2021

Revised: May 04, 2022

Accepted: May 19, 2022

Abstract

The objective of this research was to study the optimal concentration of tannin extract from *Terminalia catappa* leaves on tail regeneration of Siamese fighting fish (*Betta splendens*). The experiment was divided into two experiments. The first experiment was performed the optimal concentration of the tannin extract from *Terminalia catappa* leaves on tail regeneration in the Siamese fighting fish. The caudal fin of the Siamese fighting fish was cut off and cultured in the tannin extract from *Terminalia catappa* leaves at the concentration of 0, 5, 10, 20 and 40 ppm. Treatment with each concentration was repeated 3 times over 5 weeks. The results showed that the Siamese fighting fish soaked in 40 ppm tannin extract had the fastest tail regeneration rate ($p < 0.05$) comparing to the other experiments. The second experiment was to investigate the optimal concentration of the tannin extract from *Terminalia catappa* leaves at the concentration of 0, 5, 10, 20 and 40 ppm in combination with 1 percent sodium chloride (NaCl). This experiment was repeated 3 times. The results revealed that the combination of 1 percent sodium chloride and tannin extract from *Terminalia catappa* leaves 40 ppm showed the highest tail regeneration rate of the Siamese fighting fish ($p < 0.05$) comparing to the control experiments (100 percent within 3 weeks). Therefore, the optimal concentration of the tannin extract from *Terminalia catappa* leaves resulting in the fastest tail regeneration of the Siamese fighting fish was 40 ppm. Besides, the tannin extract should be combined with 1 percent sodium chloride for the best result.

Keywords: tannin, *Terminalia catappa*, tail regeneration, concentration, Siamese fighting fish

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารแทนนินที่สกัดจากใบหูกวางต่อการงอกใหม่ของหางปลากัด โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางต่อการงอกใหม่ของหางปลากัด โดยการเลี้ยงปลากัดที่ผ่านการตัดครีบหางในสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางที่ระดับความเข้มข้นของแทนนิน คือ 0, 5, 10, 20 และ 40 ppm ความเข้มข้นละ 3 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า ปลากัดชุดที่แช่ในสารสกัดแทนนินความเข้มข้น 40 ppm มีอัตราการงอกใหม่ของหางเร็วที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ การทดลองที่ 2 ศึกษาการใช้สารสกัดแทนนินจากใบหูกวางที่ระดับความเข้มข้นของแทนนิน คือ 0, 5, 10, 20 และ 40 ppm ความเข้มข้นละ 3 ชั่วโมง ร่วมกับเกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์ ต่ออัตราการงอกใหม่ของหางปลากัด ผลการศึกษาพบว่า เมื่อใช้เกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางที่ความเข้มข้นของแทนนิน 40 ppm อัตราการงอกของหางปลากัดมีค่าสูงที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 3 สัปดาห์) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้น ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารแทนนินจากใบหูกวางที่มีผลทำให้หางปลากัดงอกใหม่ได้เร็วที่สุด คือ ความเข้มข้น 40 ppm และควรใช้สารสกัดร่วมกับเกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: แทนนิน ใบหูกวาง การงอกใหม่ของหาง
ความเข้มข้น ปลากัด

คำนำ

ปลากัด หรือ Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910) เป็นปลาสวยงามพื้นเมืองของประเทศไทยที่นิยมเพาะเลี้ยงมายาวนาน ทั้งเลี้ยงเพื่อดูเล่น

เพื่อการค้า และเพื่อเกมกีฬาปลากัดปลา เนื่องจากเป็นปลาที่มีสีสันสวยงาม เลี้ยงง่าย มีความทนทานปรับตัวได้ดีกับทุกสภาพแวดล้อม ไม่ต้องให้อาหารหรือต่อท่อออกซิเจนลงไปในบ่อปลาเพราะปลากัดมีอวัยวะช่วยในการหายใจ อีกทั้งยังสามารถเลี้ยงได้ในที่แคบๆ เป็นเวลานานหลายวันโดยไม่ต้องเปลี่ยนน้ำบ่อย จึงทำให้มีผู้สนใจเลี้ยงและเกิดการผลิตปลากัดเพื่อการค้าซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (Thongprajukaew, 2013) จากนิสัยที่ดุร้ายจึงมีการนำปลากัดมากัดเพื่อแข่งขันเป็นเกมสีกีฬานับตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ในการเลี้ยงปลากัดนั้นเมื่อปลากัดเป็นแผลหรือแสดงอาการผิดปกติ นอกจากมีการใช้ยาและสารเคมีเพื่อรักษาโรคแล้ว บางครั้งผู้เลี้ยงก็จะนำปลากัดมาแช่ในน้ำหมักใบหูกวางนานประมาณ 10-15 วัน จนผิวหรือเกล็ดเรียบเป็นเงามัน เพื่อรักษาบาดแผลที่เกิดจากการต่อสู้ โดยเชื่อว่าจะช่วยป้องกันรักษาโรคทำให้ปลา มีสุขภาพแข็งแรง ช่วยรักษาบาดแผล หรืออาการบาดเจ็บของปลาทำให้ปลาหายจากอาการบาดเจ็บเร็วขึ้น และสามารถใช้ได้โดยไม่ผลข้างเคียงใดๆ (Purivirojkul and Areechon, 2006) มีรายงานการศึกษาการใช้ใบหูกวาง (*Terminalia catappa* L.) เพื่อรักษาบาดแผลและโรคในปลากัด (Ko-sing *et al.*, 2018) เพื่อสนับสนุนแนวคิดและภูมิปัญญาท้องถิ่นของไทยที่มีการใช้ใบหูกวางในการเลี้ยงปลากัดมาเป็นเวลานาน (Ponpompisit *et al.*, 2006) ทั้งนี้จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบหูกวางพบว่า มีเถ้า Cellulose, Lignin, Pentosan, Alkaloid และมีปริมาณสารแทนนิน (Tannins) อยู่ถึง 12.67 เปอร์เซ็นต์ (Puttamat and Suwannasarn, 2007) โดยสารแทนนินที่ได้จากใบหูกวางนี้มีรายงานว่า สามารถช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำให้ค่าคุณภาพน้ำจากที่ต่ำกว่ามาตรฐานกลับมา มีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐานกำหนด และช่วยลดปริมาณแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำให้หมดไปภายใน 21 วัน โดยไม่มีผลต่ออุณหภูมิ ค่า pH การละลายของออกซิเจนในน้ำ และปริมาณของฟอสฟอรัสในน้ำ ขณะที่ปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์มีค่าลดลง (Puttamat and Suwannasarn, 2007; Pimolrat *et al.*, 2018) เช่นเดียวกับ

รายงานของ Ponpornpisit *et al.* (2006) ที่ศึกษาการใช้ใบหูกวางเพื่อรักษาโรคในปลากัดและปลาหางนกยูงพบว่า น้ำสกัดใบหูกวางมีความเป็นพิษต่อปลากัดและปลาหางนกยูงที่ระดับความเข้มข้น 6,760 ppm และ 5,281 ppm ตามลำดับ โดยระดับความเข้มข้นที่น้ำสกัดใบหูกวางสามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิดแอโรโมแนส สเตรปโตคอคคัส และโปรโตซัวเตตราไฮมีนา เท่ากับ 1,000, 4,000 และ 2,000 ppm ตามลำดับ ในบางครั้งจะมีการใช้ใบหูกวางร่วมกับเกลือแกงที่ความเข้มข้น 0.3-1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อช่วยลดความเครียดของปลาจากการจับ การรวบรวม การคัดขนาดและการขนส่ง ทั้งนี้เพราะเกลือจะมีผลต่ออวัยวะต่างๆ ในเลือดที่มีความสำคัญต่อการควบคุมระบบสมดุลในร่างกาย (Chanratchakool *et al.*, 1988; Mahasawasde and Limsuwan, 1989) แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารแทนนินที่ได้จากน้ำใบหูกวางสกัด เพื่อนำมารักษาอาการบาดเจ็บของปลากัด หรือรักษาบาดแผลที่เกิดจากการต่อสู้กันของปลากัดยังมีอยู่น้อย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือการศึกษาค้นคว้าความเข้มข้นที่เหมาะสมของปริมาณแทนนินจากสารสกัดใบหูกวาง เพื่อนำมาใช้รักษาบาดแผลของปลากัดอย่างถูกวิธี อีกทั้งยังเป็นการใช้สารสกัดจากธรรมชาติมารักษาอาการบาดเจ็บของปลากัดแทนการใช้ยาและสารเคมีซึ่งอาจจะตกค้างในปลา หรือแหล่งน้ำธรรมชาติได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

เตรียมปลากัดเพศผู้จำนวน 15 ตัว ความยาวเฉลี่ย 4 ± 0.57 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 3 ± 0.34 กรัม จากฟาร์มปลากัดของนายสมพร พุ่มขจร อำเภอท่าชนะ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งเพาะเลี้ยงและเกิดมาจากพ่อแม่

เดียวกัน อาศัยอยู่ในบ่อเดียวกัน นำมาเลี้ยงในโหลทดลองขนาด $10.16 \times 10.16 \times 20.32$ เซนติเมตร ที่มีปริมาตรน้ำ 1 ลิตร ทำการกักโรคปลาเพื่อปรับสภาพและเตรียมความพร้อมของสัตว์ทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนการทดลอง โดยให้อาหารเป็นลูกน้ำแช่แข็ง วันละ 2 ครั้ง เมื่อเริ่มการทดลองดำเนินการตัดหางปลาโดยการวัดความยาวของหางปลาตั้งแต่ส่วนปลายของคอดหาง (Caudal peduncle) ถึงปลายครีบหาง (Homocercal) จดบันทึกและตัดส่วนที่ยืดยาวออกมาจากปลายคอดหาง ออกไปให้เหลือประมาณ 0.33 เซนติเมตร ในการทดลองที่ 1 และเหลือประมาณ 0.23 เซนติเมตร ในการทดลองที่ 2 (ใช้ปลาชุดใหม่) ทั้งนี้ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจะแยกเลี้ยงปลากัดโหลละ 1 ตัว ความเข้มข้นละ 3 โหล (ปลาในการทดลองที่ 1 มาจากพ่อแม่เดียวกันอาศัยอยู่ในบ่อเดียวกันและมีการคัดแยกขนาดให้ใกล้เคียงกันมากที่สุด ขณะที่ปลาในการทดลองที่ 2 จะเป็นคนละครอบครัวกับการทดลองที่ 1 จึงเป็นสาเหตุให้ความยาวของการตัดหางไม่เท่ากันในแต่ละการทดลอง)

การสกัดสารแทนนินจากใบหูกวาง

เก็บใบหูกวางแห้งนำมาล้างน้ำให้สะอาดและนำใบหูกวางที่ได้ไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ $40-45^{\circ}\text{C}$ ประมาณ 6 ชั่วโมง เพื่อลดความชื้น (ให้ต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์มาตรฐานแห้ง) จากนั้นนำใบหูกวางที่ได้มาตัดให้เป็นชิ้นเล็กแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก 20 กรัม ต่อน้ำสะอาดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยความร้อนตามวิธีการของ Pimolrat *et al.* (2018) โดยการใช้ความร้อนประมาณ $80-90^{\circ}\text{C}$ ใช้เวลาในการสกัดนาน 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำการสุ่มตัวอย่างสารสกัดที่ได้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้น ของสารแทนนินตามวิธีการของ AOAC (1990)

การวางแผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารแทนนินจากใบหูกวางสกัดต่ออัตราการงอกของหางปลากัด

การศึกษานี้ได้ออกแบบการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomize Design; CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง (Treatment) ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 1 ตัว (Replication) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 0 ppm (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 5 ppm

ชุดการทดลองที่ 3 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 10 ppm

ชุดการทดลองที่ 4 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 20 ppm

ชุดการทดลองที่ 5 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 40 ppm

การทดลองที่ 2 การศึกษาการใช้เกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางความเข้มข้นต่างกันต่ออัตราการงอกของหางปลากัด

การศึกษานี้ได้ออกแบบการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง (Treatment) ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 1 ตัว (Replication) ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 0 ppm และเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 5 ppm และเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 10 ppm และเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 4 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 20 ppm และเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 5 ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง 40 ppm และเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์

การเก็บข้อมูลและบันทึกผล

โดยในแต่ละสัปดาห์ คือ 0 , 1 , 2 , 3, 4 และ 5 จะทำการจับปลามาตรวจวัดความยาวของครีบท้องเพื่อหาอัตราการงอกขึ้นมาใหม่ของหางปลากัดทุกความเข้มข้นทำการตรวจทุกเช้าและทุกตัวโดยใช้ Venire caliper หน่วยเป็นเซนติเมตร

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลความยาวของหาง และอัตราการงอกของหางปลากัดแต่ละสัปดาห์มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของตัวแปรโดยรวมด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบแจกแจงทางเดียว (One-Way Analysis of Variance: ANOVA) ทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของตัวแปร โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 25

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารแทนนินจากใบหูกวางสกัดต่อประสิทธิภาพในการงอกของหางปลากัด ความยาวของหางปลากัด

จากการศึกษาพบว่า ความยาวของหางปลากัดที่แช่ในสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางทั้ง 4 ความเข้มข้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ไปจนกระทั่งสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง โดยปลากัดที่แช่ด้วยสารแทนนินจากใบหูกวางสกัดที่ความเข้มข้น 40 ppm มีการงอกของหางเร็วที่สุดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นไป (Table 1) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะคุณสมบัติของสารแทนนินในใบหูกวางที่สามารถช่วยลดการอักเสบ มีฤทธิ์ในการสมานแผล มีสารแอนติ

ออกซิแดนซ์ และมีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเชื้อรา (Chyau *et al.*, 2002; Goun *et al.*, 2003; Ponpompisit *et al.*, 2006; Ko-sing *et al.*, 2018) จึงทำให้ระยะที่มีการอักเสบ (Inflammatory phase หรือ substrate phase) ลดลงส่งผลให้บาดแผลเข้าสู่ขบวนการงอกขยาย (Proliferative หรือ Fibroplasia) ได้เร็วขึ้น (Harari, 1996) ผลที่ได้จากการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Chansue (2006) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรฟ้าทะลายโจรและใบหูกวางแห้งต่อการงอกของทางปลาคาร์พเป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยแบ่งปลาคาร์พออกเป็น 3 กลุ่มคือ เลี้ยงในน้ำประปา น้ำผสมสารสกัดฟ้าทะลายโจร และน้ำผสมใบหูกวางแห้ง พบว่ากลุ่มปลาคาร์พที่มีการเลี้ยงในน้ำแช่ใบหูกวางแห้งการงอกของทางได้เร็วกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าการนำสารสกัดใบหูกวางมาใช้มีผลในการช่วยกระตุ้นการฟื้นฟูเซลล์เพื่อให้เซลล์มีการซ่อมแซมที่เร็วกว่าการเลี้ยงในน้ำประปา แต่อย่างไรก็ตามควรใช้ในปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดผลกระทบและเป็นพิษต่อ

ปลากัดจนอาจก่อให้เกิดความเสียหายตามมาได้ ทั้งนี้ Ko-sing *et al.*, (2018) พบว่า สารสกัดใบหูกวางชนิดผงที่ระดับความเข้มข้นของใบหูกวางตั้งแต่ 600-2,400 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นไป (มีปริมาณความเข้มข้นของแทนนิน 3.80-15.21 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่ก่อโรคในปลากัดได้ แต่ควรใช้ในระดับที่ต่ำกว่า 1,430 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากระดับความเข้มข้นของสารสกัดใบหูกวางชนิดผงที่ทำให้ปลากัดตายครั้งหนึ่ง (50 เปอร์เซ็นต์) ในเวลา 96 ชั่วโมง (LC50 96 hrs) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,789 มิลลิกรัมต่อลิตร (ปริมาณความเข้มข้นของแทนนินอยู่ในช่วง 7.66-15.21 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 1,430 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าสูงสุดเท่ากับ 2,155 มิลลิกรัมต่อลิตร แตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่ปลากัดที่แช่ด้วยสารสกัดจากใบหูกวางที่ความเข้มข้นของแทนนิน 40 ppm มีการงอกของทางเร็วที่สุดและไม่พบการตายของปลาในระหว่างการศึกษาเป็นเวลา 5 สัปดาห์

Table 1 The length of the Siamese fighting fish tails (cm) soaked in tannin extraction from *Terminalia catappa* leaves at different concentrations

Concentration (ppm)	Initial (cm)	Time (weeks)					
		0	1	2	3	4	5
0 (n=3)	0.83	0.33±0.06 ^a	0.40±0.01 ^a	0.47±0.06 ^{b*}	0.63±0.06 ^b	0.73±0.06 ^b	0.83±0.06 ^a
5 (n=3)	0.87	0.33±0.06 ^a	0.50±0.00 ^a	0.60±0.00 ^a	0.67±0.06 ^b	0.80±0.00 ^{ab}	0.87±0.06 ^a
10 (n=3)	0.80	0.33±0.06 ^a	0.47±0.06 ^a	0.60±0.00 ^a	0.67±0.06 ^b	0.80±0.00 ^{ab}	0.80±0.00 ^a
20 (n=3)	0.83	0.33±0.06 ^a	0.53±0.06 ^a	0.63±0.06 ^a	0.77±0.06 ^a	0.80±0.00 ^{ab}	0.83±0.06 ^a
40 (n=3)	0.83	0.33±0.06 ^a	0.53±0.06 ^a	0.67±0.06 ^a	0.80±0.00 ^a	0.83±0.06 ^a	0.83±0.06 ^a

*Means followed by different letters in the same vertical were significantly different, according to Duncan's multiple range test at p<0.05.

อัตราการงอกทดแทนของครีบทางปลากัดที่แช่ในสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากผลการศึกษาพบว่า อัตราการงอกของหางปลากัดที่แช่ในสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางทั้ง 4 ความเข้มข้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุมในระหว่างช่วงสัปดาห์ที่ 2-4 ของการทดลอง โดยปลากัดที่แช่ในสารสกัดแทนนินที่ความเข้มข้น 40 ppm มีอัตราการงอกทดแทนของหางปลากัดที่สูงที่สุด (100 เปอร์เซ็นต์) แตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (Table 2) ในสัปดาห์ที่ 4 ซึ่งสอดคล้องกับระยะเวลาการงอกทดแทนของครีบทางปลานิลจากรายงานของ RUTSRDI (2015) ที่ศึกษาผลจากการทำศัลยกรรมในปลานิลในตำแหน่งครีบทางที่แตกต่างกัน คือ

ครีบท้อง ครีบทาง และครีบก้น ซึ่งพบว่าครีบทางแต่ละตำแหน่งมีอัตราการงอกทดแทนและระยะเวลาที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่ตัด และปริมาณเนื้อเยื่อที่โดนทำลาย ทั้งนี้ควรหลีกเลี่ยงการกระทบก้านครีบทางซึ่งเนื่องจากการงอกใหม่เป็นไปได้ช้าหรือไม่สมบูรณ์ ในกรณีของครีบทางถ้าตัดแต่งบริเวณที่ไม่ติดโคนหางทั้งหมดปลานิลจะใช้เวลาในการงอกทดแทนเพียง 4 สัปดาห์ ซึ่งเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นว่าปลากัดในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารแทนนินจากใบหูกวางและชุดที่เติมสารแทนนินที่ความเข้มข้น 5-20 ppm จะพบอัตราการงอกทดแทนของครีบทางครบ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งช้ากว่าปลากัดในชุดที่แช่ด้วยสารสกัดแทนนินที่ความเข้มข้น 40 ppm ซึ่งใช้เวลาเพียง 4 สัปดาห์เท่านั้น

Table 2 Percentage of tail regeneration in Siamese fighting fish (*Betta splendens*) soaked in tannin extraction from *Terminalia catappa* leaves at different concentrations

Concentration (ppm)	Time (weeks)				
	1	2	3	4	5
0 (n=3)	47.7±9.25 ^a	56.0±6.26 ^{b*}	75.9±1.60 ^b	88.0±0.80 ^b	100.0±0.00 ^a
5 (n=3)	57.9±4.01 ^a	69.4±4.81 ^{ab}	77.3±10.42 ^b	92.6±6.42 ^{ab}	100.0±0.00 ^a
10 (n=3)	56.5±10.42 ^a	72.2±4.81 ^a	80.6±12.03 ^{ab}	96.3±6.42 ^{ab}	100.0±0.00 ^a
20 (n=3)	64.4±9.85 ^a	76.4±10.49 ^a	92.6±12.83 ^{ab}	96.3±6.42 ^{ab}	100.0±0.00 ^a
40 (n=3)	64.4±9.85 ^a	80.6±12.03 ^a	96.3±6.42 ^a	100.0±0.00 ^a	100.0±0.00 ^a

*Means followed by different letters in the same vertical were significantly different, according to Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

การศึกษาการใช้เกลือแกงร่วมกับสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางความเข้มข้นต่างกันต่อการงอกของหางปลากัด ความยาวและอัตราการงอกทดแทนของหางปลากัด

ผลการศึกษาที่แสดงใน Table 3 พบว่าความยาวของหางปลากัดที่แช่ในสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางที่ความเข้มข้นต่างกันร่วมกับเกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 4 ความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ 1-2 ของการทดลอง

แต่ในสัปดาห์ที่ 3 ปลากัดที่แช่ด้วยสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางที่ความเข้มข้น 40 ppm ร่วมกับเกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวของหางสูงที่สุด (0.73±0.06 ซม.) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ รองลงมาคือ ชุดการทดลองที่ใช้สารสกัดแทนนินที่ความเข้มข้น 20 (0.63±0.06 ซม.) 10 (0.60±0.06 ซม.) 5 (0.57±0.15 ซม.) และ 0 (0.53±0.06 ซม.) ppm ตามลำดับ (Table 3 และ 4)

Table 3 The length of the Siamese fighting fish tails (cm) soaked in tannin extract from *Terminalia catappa* leaves at the tannin concentration level of 0, 5, 10, 20 and 40 ppm combined with 1 percent sodium chloride (NaCl)

Concentration (ppm)	Initial (cm)	Time (weeks)					
		0	1	2	3	4	5
0 (n=3)	0.73	0.23	0.30±0.10 ^a	0.40±0.10 ^a	0.53±0.06 ^{b*}	0.67±0.06 ^a	0.73±0.06 ^a
5 (n=3)	0.73	0.23	0.30±0.10 ^a	0.40±0.10 ^a	0.57±0.15 ^{ab}	0.70±0.10 ^a	0.73±0.06 ^a
10 (n=3)	0.73	0.23	0.33±0.06 ^a	0.43±0.06 ^a	0.60±0.06 ^{ab}	0.70±0.10 ^a	0.73±0.06 ^a
20 (n=3)	0.73	0.23	0.33±0.06 ^a	0.50±0.00 ^a	0.63±0.06 ^{ab}	0.70±0.00 ^a	0.73±0.06 ^a
40 (n=3)	0.73	0.23	0.37±0.06 ^a	0.53±0.06 ^a	0.73±0.06 ^a	0.73±0.06 ^a	0.73±0.06 ^a

*Means followed by different letters in the same vertical were significantly different, according to Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

อัตราการรอดแทนของครีบทองปลา

จากผลการศึกษาพบว่า อัตราการรอดแทนของครีบทองปลาที่แช่ในสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทั้ง 4 ความเข้มข้นร่วมกับเกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ของการทดลอง โดยปลากัดที่แช่ในสารแทนนินจากสารสกัดใบหูกวางที่ความเข้มข้น 40 ppm มีผลทำให้อัตราการรอดแทนของหางสูงที่สุด โดยจะเห็นผลได้ตั้งแต่วันที่ 2 เป็นต้นไป (Table 4) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ponpompisit *et al.* (2006) พบว่า ใบหูกวางหรือน้ำสกัดใบหูกวางที่ระดับความเข้มข้นของใบหูกวาง 1,000 ppm สามารถนำมาใช้ในการสมานแผลปลากัดและปลาหางนกยูงที่มีบาดแผลที่ผิวหนังเพียงเล็กน้อยได้ และการใช้น้ำสกัดใบหูกวางที่ระดับความเข้มข้นของใบหูกวาง 50-200 ppm ช่วยทำให้ปลากัดและปลาหางนกยูงที่ติดเชื้อแบคทีเรียในท้องปฏิบัติการมีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อที่มีในตัวปลาหางนกยูงทั้งหมด การใช้ใบหูกวางที่ความเข้มข้นของใบหูกวาง 1,000-3,000 ppm

ร่วมกับเกลือแกงที่ความเข้มข้น 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อรักษาแผลและลดการติดเชื้อแบคทีเรียในปลาหางนกยูง ช่วยลดอัตราการตายได้มากกว่าการไม่ใช้หรือการใช้ใบหูกวางเพียงชนิดเดียว นอกจากนี้สาเหตุที่การใช้เกลือแกงสามารถช่วยเพิ่มการงอกของหางปลากัด อาจเนื่องมาจากเกลือแกงเมื่อเติมลงในน้ำจะทำให้เกิดภาวะ Hyperosmolarity จึงดึงน้ำออกจากตัวปลา ลดการบวม ช่วยกระตุ้นให้ปลาเริ่มขับเมือกมากขึ้น ทำให้ปลาเริ่มรู้สึกสบายตัว คลายความเครียด อีกทั้งยังสามารถกำจัดและยับยั้งโปรโตซัว เชื้อรา แบคทีเรีย ต่าง ๆ (Schäperclaus, 1986; Ponpompisit *et al.*, 2006) นอกจากนี้มีรายงานว่า การเติมน้ำใบหูกวางที่มีความเข้มข้นของแทนนิน 50-200 ppm สามารถลดปริมาณแอมโมเนียในน้ำได้สูงถึง 56 เปอร์เซ็นต์ (Pimolrat *et al.*, 2018) จากเหตุผลทั้งหมดที่กล่าวมาจึงน่าจะส่งผลทำให้ปลากัดที่ได้รับสารสกัดแทนนินจากใบหูกวางผสมกับเกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์ มีระยะเวลาในการรอดแทนของหางเร็วกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้ผสมเกลือแกง

Table 4 Percentage of tail regeneration in Siamese fighting fish (*Betta splendens*) soaked in tannin extract from *Terminalia catappa* leaves at the tannin concentration level of 0, 5, 10, 20 and 40 ppm combined with 1 percent sodium chloride (NaCl)

Concentration (ppm)	Time (weeks)				
	1	2	3	4	5
0 (n=3)	40.5±10.91 ^a	54.2±10.15 ^c	72.6±2.06 ^b	91.1±7.78 ^a	100.0±0.00 ^a
5 (n=3)	40.5±10.91 ^a	54.2±10.15 ^c	76.8±17.03 ^b	95.2±8.25 ^a	100.0±0.00 ^a
10 (n=3)	45.2±4.12 ^a	58.9±3.09 ^{ab}	81.5±8.81 ^{ab}	95.2±8.25 ^a	100.0±0.00 ^a
20 (n=3)	45.2±4.12 ^a	68.5±5.15 ^{bc}	86.7±12.54 ^{ab}	95.9±7.22 ^a	100.0±0.00 ^a
40 (n=3)	50.0±7.14 ^a	72.6±2.06 ^a	100.0±0.00 ^a	100.0±0.00 ^a	100.0±0.00 ^a

*Means followed by different letters in the same vertical were significantly different, according to Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารแทนนินจากใบหูกวางสกัดต่อประสิทธิภาพในการออกของหางปลากัดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์พบว่า การใช้สารสกัดแทนนินจากใบหูกวางที่ความเข้มข้น 40 ppm ร่วมกับเกลือแกง 1 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้หางปลากัดงอกเร็วที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของหางปลากัดสูงสุด (หางของปลากัดงอกครบ 100 เปอร์เซ็นต์) สามารถเห็นผลได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นไป ขณะที่ชุดที่ไม่ใช้เกลือแกงต้องใช้เวลารวมถึง 4 สัปดาห์ หางของปลากัดจึงจะงอกเท่าความยาวเริ่มต้น ข้อมูลจากงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อการเลือกใช้ความเข้มข้นสารสกัดแทนนินให้เหมาะสมสำหรับการรักษาบาดแผลของปลากัดต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากโครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 ขอขอบคุณ คุณวัชรวิทย์ วงศ์พิทอง นักศึกษา

สาขาวิชาการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร ที่ช่วยการวิจัยครั้งนี้จนกระทั่งการวิจัยสำเร็จลุล่วง ขอคุณฟาร์มปลากัดของนายสมพร พุ่มขจร อำเภอนาทม จังหวัดสุราษฎร์ธานี สำหรับการสนับสนุนปลากัดตลอดระยะเวลาการทดลอง และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร ที่สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. **Official Methods of Analysis**. 15th edition. Washington. DC.: Association of Official Analytical Chemist. 1298 p.
- Chansue, N. 2006. Efficacies of dry Indian almond leaf (*Terminalia catappa*) and *Andrographis paniculata* (Burn.F) Wall. ex Nees extract on tail growth and hematocrit of fancy carp (*Cyprinus carpio* Linn.). **Journal of Thai Veterinary Medical Association Under the Royal Patronage** 57(2): 52-62. [in Thai]

- Chanratchakool, P., C. Limsuwan and S. Chinabut. 1988. Effects of Sodium Chloride on Survival Rate and Plasma Electrolytes of Walking Catfish (*Clarias batrachus*) from Transportation. pp. 393-407. **In Proceedings of the 26th Kasetsart University Annual Conference.** Bangkok: Kasetsart University. [in Thai]
- Chyau, C.C., S.Y. Tsai, P.T. Ko and J.L. Mau. 2002. Antioxidant properties of solvent extracts from *Terminalia catappa* leaves. **Food Chem.** 78(4): 483-488.
- Goun, E., G. Cunningham, D. Chu, C. Nguyen and D. Miles. 2003. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. **Fitoterapia** 74(6): 592-596.
- Harari, J. 1996. **Wound Healing. Small Animal Surgery.** Baltimore: Williams & Wilkins. 408 p.
- Ko-sing, S., P. Ponza, K. Pisamayaron, P. Sangjun and S. Ponza. 2018. Application of India almond (*Terminalia catappa* L.) leaves extract powder to inhibit bacteria (*Aeromonas hydrophila*) in Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan). **Agricultural Science Journal** 49:3(Suppl.): 85-91. [in Thai]
- Mahasawasde, S. and C. Limsuwan. 1989. Relationships between plasma electrolytes and survival rate of juvenile walking catfish (*Clarias batrachus* Linn.) during transportation. **Kasetsart Journal (Natural Science)** 23(4): 358-363. [in Thai]
- Pimolrat, P., N. Whangchai, S. Suwanpakdee and P. Sriyasak. 2018. Extraction Method and Efficiency of Indian Almond Leave (*Terminalia catappa*) Extract on Amount of Ammonia Reducing in Water. pp. 722-728. **In Proceedings of the 3rd National Conference on Informatics, Agriculture, Management, Business Administration, Engineering, Science and Technology (Oral).** Chumphon: KMITL, Prince of Chumphon Campus. [in Thai]
- Ponpornpisit, A., J. Tangtrongpiros, N. Chansue, W. Koeypudsa, N. Paphavasit and M. Endo. 2006. **The Study of Indian Almond Leaves (*Terminalia catappa* L.) on Siamese Fighting Fish (*Betta splendens*) and Guppy (*Poecilia reticulata*) Diseases Treatment.** 121 p. **In Research Report.** Bangkok: Chulalongkorn University. [in Thai]

Purivirojkul, W. and N. Areechon. 2006.

Antibacterial Activity and Toxicity of Indian Almond (*Terminalia catappa*) Extract in Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan). pp. 109-116.

In Proceedings of 44th Kasetsart

University Annual Conference:

Fisheries (Oral). Bangkok: Kasetsart University. [in Thai]

Puttamat, S. and W. Suwannasarn. 2007. Study

of Chemical Composition of Dried Leaves of Indian Almond (*Terminalia catappa* L.) and Its Effect on Water Quality and Anti-aquatic Bacteria

Activity. pp. 579-585. *In Proceedings*

of 45th Kasetsart University Annual

Conference: Plants (Oral). Bangkok:

Kasetsart University. [in Thai]

Rajamangala University of Technology

Suvarnabhum Research and

Development Institute (RUTSRDI). 2015.

Case study of surgery fish. [Online].

Available <https://research.rmutsb.ac.th/fullpaper/2558/2558240240422.pdf>

(January 1, 2021). [in Thai]

Schâperclaus, W. 1986. Hematological and serological techniques. pp. 71-108.

In Schâperclaus, W., H. Kulow and

K. Scheckenbach (eds.). **Fish Diseases**

Vol.1. Berlin: Fischkrankheiten,

Academic-Verlag.

Thongprajukaew, K. 2013. Biology of Siamese

fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910).

KKU Science Journal 41(1): 1-15. [in Thai]