

ผลของอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวต่อการเจริญเติบโต ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพการต้านทานเชื้อแบคทีเรียในปลาคาร์พ

Effect of Dietary *Melaleuca cajuputi* Crude Extract on Growth, Hematology, and Resistance to Bacteria in Common Carp (*Cyprinus carpio*)

ปิ่นประภา เกรียงยงค์¹, อัจฉรี เรืองเดช^{1*} และดวงใจ พิสุทธิธารชัย²
Pinprapha Kreangyong¹, Uscharee Ruangdej^{1*} and Duangjai Pisuttharachai²

Received date: 17 ธ.ค. 67 Revised date: 20 ม.ค. 67 Accepted date: 22 ม.ค. 68

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2025.06.30.017>

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพการต้านทานเชื้อแบคทีเรียในปลาคาร์พที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวที่มีระดับต่างกัน ชุดการทดลองแรกประกอบด้วยอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวต่างกัน 5 ระดับ; 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองในประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ($P>0.05$) ชุดการทดลองที่สองทดลองเลี้ยงปลาต่อด้วยอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับ; 0 (ชุดควบคุม), 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อกิโลกรัม หลังให้อาหาร 2 สัปดาห์ทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อด้วยการฉีดเชื้อก่อโรค *Aeromonas hydrophila* หลังจากการฉีดเชื้อ 7 วัน พบว่าปลากลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ 20 กรัมต่อกิโลกรัมมีอัตราการรอด (80 %) ตีกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด (0 %) ค่าโลหิตวิทยาในปลาที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวในกลุ่มปลาที่ได้รับสารสกัด 20 กรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเทียบกับปลาที่กินอาหารในกลุ่มควบคุม พบปริมาณเซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC) $3.34\pm0.11\times10^6/\mu\text{L}$ และ $1.82\pm1.58\times10^6/\mu\text{L}$ และเม็ดเลือดขาว (WBC) เท่ากับ $1.83\pm0.51\times10^3/\mu\text{L}$ และ $1.33\pm1.20\times10^3/\mu\text{L}$ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ค่าฮีมาโตคริต (HTC) พบสูงที่สุดในกลุ่มปลาที่ได้รับสารสกัด 40 กรัมต่อกิโลกรัม (25.67 ± 6.03 %) จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าการเสริมอาหารปลาคาร์พด้วยสารสกัดใบเสม็ดขาว ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทางด้านโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพการต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

คำสำคัญ: เสม็ดขาว แอโรโมนแนส ไฮโดรฟิลลา ปลาคาร์พ โลหิตวิทยา

Abstract

This study aimed to investigate growth performance, hematological parameters, and antibacterial efficacy in carp fed with different levels of *Melaleuca cajuputi* leaf extract supplementation. The first experimental setup consisted of five different levels of *M. cajuputi* leaf extract supplementation: 0 (control), 5, 10, 15, and 20 g/kg. After 8 weeks, no significant differences were observed in growth performance between treatment groups ($P>0.05$). The second experimental setup involved feeding fish with five different levels of *M. cajuputi* leaf extract: 0 (control), 10, 20, 30, and 40 g/kg. After 2 weeks of feeding, antibacterial efficacy was tested by challenging the fish with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. Seven days post-challenge, fish receiving 20 g/kg extract showed a higher survival rate (80%) compared to the control group without extract supplementation (0%). Hematological parameters in fish fed with 20 g/kg extract supplementation, compared to the control group, showed red blood cell (RBC) counts of $3.34\pm0.11\times10^6/\mu\text{L}$ and $1.82\pm1.58\times10^6/\mu\text{L}$, and white blood cell (WBC) counts of $1.83\pm0.51\times10^3/\mu\text{L}$ and $1.33\pm1.20\times10^3/\mu\text{L}$, respectively, with statistically significant differences ($P<0.05$). The highest hematocrit (HTC) value was observed in fish receiving 40 g/kg extract

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

² ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง และทรัพยากรทางน้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จ.ชุมพร 86160

¹ Department of Animal product technology and Fisheries, School of Agriculture Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

² Department of Fishery Science and Aquatic Resources, School of Agriculture Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chumphon, 86160

* Corresponding author: uscharee.ru@kmitl.ac.th

(25.67±6.03%). These results indicate that *M. cajuputi* leaf extract supplementation in feed can enhance hematological parameters and antibacterial efficacy in carp infected with *Aeromonas hydrophila*.

Keywords: *Melaleuca cajuputi*, *Aeromonas hydrophila*, common carp, Hematology

คำนำ

ปลาการ์ป เป็นชื่อเรียกปลาในสกุลเดียวกันกับปลานิล มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ (*Cyprinus carpio*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีแหล่งดั้งเดิมอยู่ในบริเวณประเทศอิหร่าน ที่ปรับตัวอยู่ในแหล่งน้ำจืดที่มีอุณหภูมิที่แตกต่างได้ดี จึงเป็นปลาที่มีความนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย ปลาการ์ปจัดเป็นปลาสวยงามที่ไม่ได้มีถิ่นกำเนิดในไทย แต่ปัจจุบันกลายเป็นสินค้าส่งออกที่ผู้ประกอบการไทยให้ความสนใจ การนำมาเลี้ยงในประเทศไทยมักจะประสบปัญหาการเกิดโรคโดยเฉพาะการติดเชื้อแบคทีเรียชนิด *Aeromonas hydrophila* ปลาที่ติดเชื้อรุนแรงจะทำให้ตายเฉียบพลัน และสร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงอย่างมาก อาการปลาที่ติดเชื้อจะมีแผลบนลำตัวลึกไปถึงใต้ผิวหนัง มีเลือดออกตามฐานครีบหรือใต้ท้อง และยังมีอาการบวม มีแผลใหญ่กว่าบริเวณอื่น ปลาที่ติดเชื้อจะแสดงอาการท้องบวม (ascitis) ในท้องจะมีน้ำสีเหลืองขุ่น อวัยวะภายในและลำไส้มีการแตกเลือด (hemorrhage) (Wangkahart, 2018) จึงต้องมีการจัดการในด้านสิ่งแวดล้อม การป้องกัน และการรักษาโรคที่ดี (Tebsun et al., 2016)

การป้องกัน รักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย นิยมรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ ซึ่งนิยมใช้ tetracycline, ceftazidime และ amikacin (Kanchan et al., 2018) โดยทั่วไปการรักษาโรคแบคทีเรียในปลาน้ำจืดจะนิยมใช้ยาต้านจุลชีพ 2 ชนิด ได้แก่ ออกซิเตตราซัยคลิน และโรเนต-30 (Yuwapanichsamphan, 2022) การใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในการรักษาโรคติดเชื้อในสัตว์น้ำเป็นวิธีที่ให้ผลดี แต่การใช้ผิดวิธีและใช้แบบไม่มีการควบคุมอาจจะทำให้เชื้อโรคดื้อยา และยาที่ใช้อาจส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม หรือตกค้างในสัตว์น้ำ ดังนั้นการนำพืชสมุนไพรมาใช้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะจะสามารถลดหรือทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ และลดการใช้สารเคมี ลดการปนเปื้อน ไม่เกิดสารตกค้างที่ส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำ ผู้บริโภค และสภาพแวดล้อม อีกทั้งพืชสมุนไพรสามารถหาได้ง่าย (Tebsun et al., 2016; Deangroj et al., 2022) และยังสามารถลดต้นทุนในการซื้อยา สมุนไพรหลายชนิดยังช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ กำจัดอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ลดความเครียด กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immunostimulant) เช่น alkaloids, flavonoids, phenolics, terpenoids และ essential oils (Rattanachaiakunsophon and Phumkhachorn, 2010)

พืชสมุนไพรหลายชนิดเป็นแหล่งของยาที่สำคัญ เนื่องจากมีสารสำคัญหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และ alkaloids ที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบร่วมกับฤทธิ์อื่นๆ มีการนำน้ำมันหอมระเหยของพืชในวงศ์ Myrtaceae มาใช้ประโยชน์หลายด้าน เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยของพืชกลุ่มนี้มีองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางยาที่น่าสนใจ (Khongsai et al., 2019) เช่น เสมัดขาว (*Melaleuca cajuputi*) สารพฤษเคมีที่พบในใบเสมัดขาวมีส่วนผสมในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฟลาโวนอยด์, เทอร์พีนอยด์, สารประกอบฟีนอลิก, alpha-tetralone และ 1,4-naphthalenedione (Sahimi et al., 2022) การวิเคราะห์ส่วนของลำต้น ใบ และเมล็ดของเสมัดขาว พบว่ามีสารแทนนินเป็นองค์ประกอบ ในส่วนของน้ำมันเสมัด (Cajuput oil) มีสรรพคุณทางยาค่าย Eucalyptus oil ใช้เป็นส่วนผสมของยาหม่อง น้ำมันมวย ยารักษาโรคต่างๆ รักษาสิว ฆ่าเชื้อโรค ใช้เป็นยากระตุ้น และถ่ายพยาธิ เป็นต้น (Khongsai and Vittaya, 2019) จากการค้นคว้างานวิจัยด้านผลของการใช้เสมัดขาวในสัตว์น้ำ Sahimi et al. (2022) รายงานว่าเมื่อให้กุ้งก้ามกรามกินอาหารเสริมสารสกัดเสมัดขาว 60 วัน ค่าโลหิตวิทยา ของกุ้งที่กินอาหารเสริมสารสกัดเสมัดขาวที่ 15 กรัมต่อกิโลกรัมเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกุ้งกลุ่มควบคุม Hamdan et al. (2023) รายงานว่าในกุ้งก้ามกรามที่แช่ในสารสกัดเสมัดขาว 0.85 กรัมต่อลิตร พบค่าโลหิตวิทยาในกุ้งกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดเสมัดขาวเพิ่มขึ้นทุกกลุ่มเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม Hassan et al. (2023) รายงานว่าการแช่ปลาตุ๊กแกฟรังก์ในสารสกัดเสมัดขาวช่วยรักษาบาดแผลได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน เพราะสามารถสลายเองได้ ปัจจุบันการตรวจสุขภาพปลาเพิ่มขึ้นโดยใช้ตัวแปรทางโลหิตวิทยา เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว (WBC), เซลล์เม็ดเลือดแดง (RBC), ฮีโมโกลบิน (Hb), และฮีมาโตคริต (Hct) WBC ในเลือดช่วยในเรื่องการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย บอกถึงการฟิตแอนติบอดี phagocytosis และการปล่อยโมเลกุลภูมิคุ้มกันสำหรับการติดเชื้อ (Giri et al., 2024) Hb มีหน้าที่สำคัญในการเผาผลาญ RBC และกำหนดภาวะของการส่งออกซิเจนไปยังเนื้อเยื่อในร่างกาย ฮีมาโตคริต (HCT) เป็นตัวกำหนดปริมาตรของเม็ดเลือดแดง (Abarike et al., 2022) ดังนั้นการนำพืชสมุนไพรมาใช้เป็นทางเลือกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อรักษาและป้องกันโรคที่เกิดขึ้นจึงเป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจ จึงจัดทำงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของสารสกัดใบเสมัดขาวต่อการเจริญเติบโต ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพการต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียในปลาการ์ป

วิธีการศึกษา

การสกัดสารสกัดหยาบจากใบเสม็ดขาวด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์

เลือกตัวอย่างใบเสม็ดขาวที่สมบูรณ์และไม่เป็นโรคมาล้างน้ำสะอาด และนำไปผึ่งลมให้แห้งประมาณ 30 นาที แล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและบดให้ละเอียด นำตัวอย่างใบเสม็ดขาวที่บดแล้ว 500 กรัม แช่ในตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:2) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วกรองด้วยกระดาษ Whatman เพื่อให้ได้สารสกัดแอลกอฮอล์ การหาความเข้มข้นของสารสกัดทำโดยแบ่งสารที่ทราบปริมาตรแน่นอนมาระเหยแห้งแล้วชั่งน้ำหนัก

การเตรียมสัตว์ทดลองและการเตรียมอาหารทดลอง

ซื้อลูกปลาจากฟาร์มที่ปลอดโรค น้ำหนักประมาณ 5 กรัม เลี้ยงในห้องทดลอง 1 สัปดาห์เพื่อให้ปลาปรับตัวให้ชินกับสภาพแวดล้อมระหว่างการปรับตัวจะให้ปลากินอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับโปรตีน 30% วันละ 2 ครั้ง ช่วงเช้า 08.00 น. ช่วงเย็น 16.00 น. วางแผนการทดลองแบบสุ่ม (Completely randomized design, CRD) ชุดการทดลองแรกแบ่งปลาออกเป็น 5 กลุ่มการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ แต่ละกลุ่มการทดลองประกอบด้วยปลา 15 ตัว/ตู้ โดยให้อาหารผสมสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับคือ 0 (ควบคุม), 5, 10, 15 และ 20 กรัม/กิโลกรัม ให้อาหารทดลองอย่างเพียงพอวันละ 2 ครั้ง เช้า 08.00 น. เย็น 16.00 น. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ วัดคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยง และเก็บตัวอย่างน้ำตรวจค่าแอมโมเนีย ไนไตรท์ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เปลี่ยนถ่ายน้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และดูดตะกอนวันละครั้งหลังการให้อาหารเย็น ชุดการทดลองที่สองแบ่งปลาออกเป็น 5 กลุ่มการทดลอง แต่ละกลุ่มการทดลองประกอบด้วยปลา 10 ตัว/ตู้ โดยให้อาหารผสมสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับคือ 0 (ควบคุม), 10, 20, 30 และ 40 กรัม/กิโลกรัม ให้อาหารทดลองอย่างเพียงพอวันละ 2 ครั้ง เช้า 08.00 น. เย็น 16.00 น. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยขั้นตอนการทดลองได้ดำเนินการตามแนวทางการใช้สัตว์เพื่องานวิจัยทางวิทยาศาสตร์โดยผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (เลขที่ ACUC-KMITL-RES/2023/012)

การวิเคราะห์การเจริญเติบโต

ชั่งน้ำหนักปลาทุกตัว ทั้ง 3 ซ้ำ ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 56 วัน เพื่อวิเคราะห์การเจริญเติบโตของปลาดังนี้

- น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain; WG) = น้ำหนักสุดท้าย (กรัม) – น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)
- ความยาวที่เพิ่มขึ้น = ความยาวสุดท้าย (ซม) – ความยาวเริ่มต้น (ซม)
- อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) = น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม)/น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)
- อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) = $(\ln \text{น้ำหนักสุดท้าย} - \ln \text{น้ำหนักเริ่มต้น}) / \text{จำนวนวันที่เลี้ยง} \times 100$

การทดสอบค่าโลหิตวิทยา

โดยนำปลาที่ต้องการเก็บตัวอย่างมาทำให้สลบในถังที่มียาสลบ (MS-222) จนกว่าปลาจะหยุดการเคลื่อนไหว หลังจากนั้นทำการเจาะเลือดปลาแต่ละตัวจากเส้นเลือดบริเวณคอดหาง (Caudal vein) ด้วยเข็มฉีดยาเบอร์ 24 G และกระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร กลั้วด้วย EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือดจากนั้นนำเลือดที่เจาะได้มาหาค่าโลหิตวิทยา (Hosseini et al., 2020)

การหาค่า Hematocrit index (HI)

การวัดปริมาณของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Pack red blood cell volume) หรือฮีมาโตคริตในปลาด้วยวิธี microhematocrit method ใส่เลือดลงใน capillary tube แล้วปิดด้านหนึ่งของหลอดทดลองด้วยดินน้ำมัน นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง hematocrit centrifuge บันทึกค่า Hematocrit index

Total protein

ใช้เข็มเจาะเลือดที่เคลือบสาร Heparin เจาะเลือดปลาใส่ Eppendorf นำ Eppendorf ที่ใส่เลือดไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ดูด serum ที่ปั่นเหวี่ยงแล้วใส่น้ำกลั่น และ alkaline copper เติม Folin แล้วนำไปวัดค่า OD ด้วยเครื่อง spectrophotometer ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

Immunoglobulin

ใช้เข็มเจาะเลือดที่เคลือบสาร Heparin เจาะเลือดปลาใส่ Eppendorf นำ Eppendorf ที่ใส่เลือดไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ดูด serum และเติม 12% Polyethyleneglycol solution (PEG) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงดูด serum ใส่หลอดทดลอง ใส่ น้ำกลั่นและ alkaline copper เติม Folin แล้วนำไปวัดค่า OD ด้วยเครื่อง spectrophotometer

Lysozyme activity

ใช้เข็มเจาะเลือดที่เคลือบสาร Heparin เจาะเลือดปลาใส่ Eppendorf นำ Eppendorf ที่ใส่เลือดไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ดูด serum ที่ปั่นแล้ว 10 ไมโครลิตรใส่ใน 96 well plate แล้วเติมเชื้อที่อยู่ในสารละลาย นำเข้าเครื่อง microplate reader วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

การนับเม็ดเลือด

นำเลือดที่เจาะแล้วมาผสมกับน้ำยาสำหรับนับเม็ดเลือด แล้วนำไปหยดใน counting chamber

การทดสอบประสิทธิภาพการต้านทานเชื้อ

การเตรียมเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

นำเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่บ่มแล้วมาเลี้ยงในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) ลงในขวดรูปชมพู่ เข้าเครื่อง Shaker ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำเชื้อที่ได้มาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 3,600 รอบต่อนาที นาน 4 นาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อล้างอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.85% นำเชื้อที่มีความบริสุทธิ์มา Streak ลงบนอาหาร TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อ Single colony ลงในน้ำเกลือ 0.85% และปรับความเข้มข้นของสารละลายแบคทีเรียให้มีความเข้มข้นที่ 10^8 Colony forming unit ต่อมิลลิลิตร (cfu.mL^{-1}) วัดค่า OD เท่ากับ 0.15 ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (Meng et al., 2022)

การทดสอบความต้านทานโรค

หาความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยทดสอบการหาความเข้มข้นที่สามารถทำให้ปลาตาย 50% ที่ 24 ชั่วโมง (Lethal dose 50 หรือ LD_{50}) ใช้ระดับความเข้มข้นของเชื้อ 3 ระดับ แต่ละระดับใช้ปลา 5 ตัว ฉีดเชื้อแบคทีเรียปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร กลุ่มควบคุมจะฉีดด้วยน้ำเกลือ 0.85% สังเกตอาการและบันทึกผลการตาย 24-72 ชั่วโมง หลังจากทดสอบ LD_{50} สุ่มปลาจำนวน 10 ตัวจากแต่ละกลุ่มการทดลอง ฉีดเชื้อที่ความเข้มข้น 10^7 cfu.mL^{-1} ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรเข้าบริเวณช่องท้อง ส่วนกลุ่ม positive ฉีดน้ำเกลือ สังเกตอาการเป็นระยะเวลา 7 วัน และนำมาคำนวณหาอัตราการรอด

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS for Windows 16.0

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การประเมินประสิทธิภาพของอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลาคาร์พเมื่อได้รับอาหารทดลองที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับ 0-20 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ผลการเจริญเติบโตของปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับคือ 0, 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (Table 1) การให้อาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตในช่วงแรกของการทดลองปลาคาร์พในแต่ละกลุ่มการทดลองมีน้ำหนักประมาณ 10 – 12 กรัมต่อตัว สิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ น้ำหนักสุดท้ายของปลาคาร์พเท่ากับ 29.24 ± 4.12 , 32.11 ± 4.91 , 35.10 ± 1.79 , 34.22 ± 0.95 และ 34.32 ± 1.49 กรัมต่อตัว ตามลำดับ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 18.00 ± 2.67 , 21.56 ± 4.65 , 24.26 ± 0.10 , 22.20 ± 1.61 และ 22.78 ± 1.17 กรัมตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ความยาวเริ่มต้นของปลาคาร์พเท่ากับ 10.02 - 10.90 เซนติเมตร ความยาวสุดท้ายของปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับคือ 0, 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม มีความยาวสุดท้ายเท่ากับ 11.44 ± 0.84 , 12.28 ± 1.77 , 12.33 ± 0.34 , 12.22 ± 0.51 และ 12.11 ± 0.51 เซนติเมตรตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ความยาวที่เพิ่มขึ้นของทุกชุดการทดลองเท่ากับ 1.20 ± 0.73 , 2.08 ± 1.77 , 2.31 ± 0.83 , 1.32 ± 0.83 และ 1.53 ± 0.94 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Feng et al. (2024) ที่เลี้ยงปลาคาร์พด้วยอาหารเสริมกากมันเทศหมัก เมื่อครบ 21 วันไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญในน้ำหนักตัวสุดท้าย และ Yousefi et al. (2023) ที่ทดลองเลี้ยงปลาคาร์พด้วยอาหารเสริมเปลือกทับทิม เมื่อสิ้นสุดการทดลองไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในประสิทธิภาพการเจริญเติบโตเช่นเดียวกันหรือผลการทดลองของ Hosseini et al. (2020) ก็ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในพารามิเตอร์ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตระหว่างปลาคาร์พที่กินอาหารเสริมจากเปลือกส้มในระดับต่าง ๆ อัตราการเติบโตจำเพาะ (SGR) ของทุกชุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 1.92 ± 0.07 , 2.05 ± 0.14 , 2.13 ± 0.06 , 2.04 ± 0.06 และ 2.07 ± 0.07 ตามลำดับ ซึ่งผลการเติบโตดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ปลา

คาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ 10 กรัมต่อกิโลกรัมมีแนวโน้มของผลการเติบโตดังกล่าวมากกว่าปลาคาร์พที่ได้รับอาหารสูตรอื่น

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ 10 กรัมต่อกิโลกรัม มีค่า FCR น้อยที่สุดเท่ากับ 1.07 ± 0.01 รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวระดับ 5, 15 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม มีค่าเท่ากับ 1.24 ± 0.22 , 1.15 ± 0.09 และ 1.10 ± 0.06 ตามลำดับ และปลาคาร์พกลุ่มที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่า FCR มากที่สุดเท่ากับ 1.43 ± 0.21 แม้ว่าสารสกัดจากใบเสม็ดขาวจะมีส่วนของน้ำมันหอมระเหยแต่ไม่ส่งผลต่อการกินอาหารของปลาคาร์พ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Meng et al. (2022) ที่ทดลองเลี้ยงปลาคาร์พ ด้วยผลของชะเอมเทศ พบว่าค่า FCR ในปลาที่ได้รับผลชะเอมเทศลดลงแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนัก (Condition factor) ของทุกชุดการทดลองเท่ากับ 0.02 ± 0.00 , 0.02 ± 0.00 , 0.01 ± 0.00 , 0.02 ± 0.00 และ 0.01 ± 0.00 ตามลำดับ น้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว (HSI) ของทุกชุดการทดลองเท่ากับ 1.19 ± 1.02 , 0.11 ± 0.18 , 0.76 ± 0.35 , 0.96 ± 0.19 และ 0.95 ± 0.04 ตามลำดับ ซึ่งผลการเติบโตของปลาคาร์พข้างต้นที่กล่าวมาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

น้ำหนักอวัยวะภายในต่อน้ำหนักตัว (VSI) ของปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ในปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับ 15 กรัมต่อกิโลกรัม มีค่า VSI สูงที่สุดเท่ากับ 23.59 ± 1.55 เปอร์เซ็นต์ ตามด้วยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมเท่ากับ 18.72 ± 3.58 และ 18.48 ± 2.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับ 0 และ 20 กรัมต่อกิโลกรัม มีค่า VSI น้อยที่สุดเท่ากับ 16.72 ± 2.52 และ 16.07 ± 3.38 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบเสม็ดขาวสามารถใช้ได้จนถึงปริมาณ 20 กรัมต่อกิโลกรัมไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลาคาร์พ ดังนั้นในการทดลองที่ 2 จึงได้เพิ่มปริมาณสารสกัดเพื่อทดสอบความต้านทานเชื้อก่อโรคจากแบคทีเรีย

Table 1 Efficacy of the diet on growth values of common carp feed experimental diets containing *Melaleuca cajuputi* leaf extract at levels of 0-20 g/kg for 8 weeks

Parameters	Concentration (g/kg)					P-value
	0 (control)	5	10	15	20	
Initial weight (g)	11.23 ± 1.63^a	10.55 ± 0.76^a	10.85 ± 1.87^a	12.02 ± 0.69^a	11.24 ± 1.33^a	0.752
Final weight (g)	29.24 ± 4.12^a	32.11 ± 4.91^a	35.10 ± 1.79^a	34.22 ± 0.95^a	34.32 ± 1.49^a	0.208
Initial length (cm)	10.24 ± 0.64^a	10.20 ± 0.00^a	10.02 ± 0.52^a	10.90 ± 0.33^a	10.58 ± 0.48^a	0.196
Final length (cm)	11.44 ± 0.84^a	12.28 ± 1.77^a	12.33 ± 0.34^a	12.22 ± 0.51^a	12.11 ± 0.51^a	0.772
Weight gain (g)	18.00 ± 2.67^a	21.56 ± 4.65^a	24.26 ± 0.10^a	22.20 ± 1.61^a	22.78 ± 1.17^a	0.111
Length gain (g)	1.20 ± 0.73^a	2.08 ± 1.77^a	2.31 ± 0.83^a	1.32 ± 0.82^a	1.53 ± 0.94^a	0.674
SGR (% day ⁻¹)	1.92 ± 0.07^a	2.05 ± 0.14^a	2.13 ± 0.06^a	2.04 ± 0.06^a	2.07 ± 0.07^a	0.120
FCR	1.43 ± 0.21^a	1.24 ± 0.22^a	1.07 ± 0.01^a	1.15 ± 0.09^a	1.10 ± 0.06^a	0.066
Condition factor	0.02 ± 0.00^a	0.02 ± 0.00^a	0.01 ± 0.00^a	0.02 ± 0.00^a	0.01 ± 0.00^a	0.182
HSI	1.19 ± 1.02^a	0.11 ± 0.18^a	0.76 ± 0.35^a	0.90 ± 0.19^a	0.95 ± 0.04^a	0.779
VSI	16.72 ± 2.52^a	18.72 ± 3.58^a	18.48 ± 2.24^a	23.59 ± 1.55^a	16.07 ± 3.38^a	0.051
Survival rate (%)	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00	

Values represent the mean $\pm$ SE.

The same letters horizontally mean there is no significant difference. ($P>0.05$)

Abbreviations: SGR, Specific growth rate; FCR, Feed conversion rate; HSI, Hepatopancreas index; VSI, Visceral index

การประเมินประสิทธิภาพของอาหารต่อค่าโลหิตวิทยาของปลาแคร์ฟเมื่อได้รับอาหารทดลองที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับ 0-40 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์

ผลการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาของปลาแคร์ฟ ที่ได้รับอาหารทดลองที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับคือ 0, 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร ก่อนได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (Table 2) พบว่าปลาแคร์ฟที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับ 40 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดแดงต่อปริมาณเลือดทั้งหมดมากที่สุดเท่ากับ 33.00 ± 5.00 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือปลาแคร์ฟที่ได้รับอาหารที่ระดับ 30 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร คือ 31.67 ± 4.51 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับ 20, 10 และ 0 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร มีค่าเท่ากับ 29.67 ± 5.51 , 26.00 ± 3.00 และ 13.33 ± 11.55 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดแดงต่อปริมาณเลือดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นถึงการที่ปลาสามารถกระตุ้นการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดงได้สูงขึ้น ค่าเม็ดเลือดแดงในปลาแคร์ฟที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวทั้ง 5 ระดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hassan et al. (2023) รายงานว่าค่าเม็ดเลือดแดง ในปลาแคร์ฟแอฟริกันกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบเสม็ดขาวไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จากการทดลองนี้พบแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นในปลาแคร์ฟกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวสูงตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดแดงบ่งชี้ว่าการนำออกซิเจนและสารอาหารไปยังเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ได้ดี ผลของค่าเม็ดเลือดขาวในปลาแคร์ฟที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ 20 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร มีค่าเม็ดเลือดขาวสูงสุดเท่ากับ $2.52 \pm 1.04 \times 10^3$ เซลล์ต่อไมโครลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือปลาแคร์ฟที่ได้รับอาหารที่ระดับ 30 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร คือ $2.27 \pm 1.08 \times 10^3$ เซลล์ต่อไมโครลิตร และที่ระดับ 40, 10 และ 0 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร คือ $1.10 \pm 0.36 \times 10^3$ เซลล์ต่อไมโครลิตร, $0.70 \pm 0.11 \times 10^3$ เซลล์ต่อไมโครลิตร และ $0.54 \pm 0.94 \times 10^3$ เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ ค่าเม็ดเลือดขาวที่สูงแสดงให้เห็นถึงการตอบสนองต่อเชื้อโรคได้ดี ค่าอิมมูโนโกลบูลินและค่าโปรตีนรวมของปลาแคร์ฟที่ได้รับอาหารที่ต่างกัน 5 ระดับคือ 0, 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่เพิ่มขึ้นตามลำดับ ระดับค่าอิมมูโนโกลบูลินที่เพิ่มขึ้นบ่งชี้ว่าปลาแคร์ฟมีภูมิคุ้มกันต่อการต้านทานเชื้อแบคทีเรียและไวรัสได้ดี ค่าโปรตีนรวมที่เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นถึงการที่ปลาแคร์ฟมีโครงสร้างร่างกายที่ดี มีกล้ามเนื้อที่แข็งแรง ค่าไลโซไซม์ของปลาแคร์ฟที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในค่าไลโซไซม์ที่สูงแสดงให้เห็นถึงการปกป้องการรุกรานของเชื้อแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมโดยการออกฤทธิ์ทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้ดี

Table 2 Efficacy of the diet on hematological values of common carp fed experimental diets containing *Melaleuca cajuputi* leaf extract at levels of 0-40 g/kg. before exposure to bacteria

Parameters	Concentration (g/kg)					P-value
	0 (control)	10	20	30	40	
HTC (%)	13.33 ± 11.55^b	26.00 ± 3.00^a	29.67 ± 5.51^a	31.67 ± 4.51^a	33.00 ± 5.00^a	0.027
RBC ($\times 10^6 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	1.25 ± 2.16	3.28 ± 0.24	3.55 ± 0.10	3.65 ± 0.21	3.62 ± 0.21	0.057
WBC ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	0.54 ± 0.94^b	0.70 ± 0.11^b	2.52 ± 1.04^a	2.27 ± 1.08^a	1.10 ± 0.36^{ab}	0.039
Immunoglobulin (mg.mL ⁻¹)	42.55 ± 36.94	65.10 ± 7.57	73.15 ± 16.20	87.64 ± 19.12	93.33 ± 21.09	0.116
Total protein (mg.mL ⁻¹)	0.09 ± 0.08	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.04	0.18 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.113
Lysozyme (U.mL ⁻¹)	25.94 ± 10.90	10.44 ± 9.42	96.85 ± 76.60	7.02 ± 8.00	69.62 ± 99.97	0.287

Values represent the mean $\pm$ SE. Different letters in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

Abbreviations: HTC: Hematocrit; RBC: Red blood cell; WBC: White blood cell.

ผลการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาของปลาแคร์ฟภายหลังการฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* 7 วันที่ได้รับอาหารทดลองที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับคือ 0, 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร (Table 3) พบว่าปลาแคร์ฟที่ได้รับอาหารทดลองที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับ 20 และ 40 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดแดงต่อปริมาณเลือดทั้งหมดมากกว่าชุดการทดลองอื่นเท่ากับ 21.67 ± 3.21 และ 25.67 ± 6.03 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sahimi et al. (2022) ที่ทดลองให้กุ้งกินอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ 15 กรัม

ต่อกลไกการส่งผลให้ค่าเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดต่อปริมาณเลือดทั้งหมด ของกึ่งกลุ่มทดลองสูงกว่ากลุ่มควบคุม และในงานวิจัยของ Hamdan et al. (2023) รายงานว่ากึ่งในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบเสมีดขาวมีปริมาณเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดต่อปริมาณเลือดทั้งหมดเพิ่มขึ้นทุกกลุ่มเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในการทดลองนี้รองลงมาคือปลาคาร์พที่ได้รับอาหารทดลองที่ระดับ 20 กรัมต่อกลไกการคือ 21.67 ± 3.21 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับ 30, 10 และ 0 กรัมต่อกลไกการคือ 10.00 ± 0.00 , 5.67 ± 4.04 และ 6.00 ± 10.39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดต่อปริมาณเลือดทั้งหมดในปลาคาร์พที่มีค่าสูงอาจบ่งชี้ว่าสามารถช่วยกระตุ้นการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดงได้สูงขึ้น ค่าเม็ดเลือดแดงในปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสมีดขาวที่ระดับ 20 กรัมต่อกลไกการ แสดงค่าเม็ดเลือดแดงที่สูงที่สุดเท่ากับ $3.34 \pm 0.11 \times 10^6$ เซลล์ต่อไมโครลิตร พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ตามด้วยอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสมีดขาวที่ระดับ 40 กรัมต่อกลไกการคือ $3.30 \pm 0.03 \times 10^6$ เซลล์ต่อไมโครลิตร และที่อาหารระดับที่ 30, 10 และ 0 กรัมต่อกลไกการคือ $1.00 \pm 0.87 \times 10^6$, $1.04 \pm 0.90 \times 10^6$ และ $1.82 \pm 1.58 \times 10^6$ เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ ค่าเม็ดเลือดขาวในปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสมีดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งพบค่าเม็ดเลือดขาวสูงสุดในปลาคาร์พที่ได้รับอาหารทดลองที่ระดับ 20 และ 40 กรัมต่อกลไกการเท่ากับ $1.83 \pm 0.51 \times 10^3$ และ $1.83 \pm 0.24 \times 10^3$ เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือที่ระดับ 30, 10 และ 0 กรัมต่อกลไกการคือ $0.30 \pm 0.44 \times 10^3$, $0.40 \pm 0.52 \times 10^3$ และ $1.33 \pm 1.20 \times 10^3$ เซลล์ต่อไมโครลิตรตามลำดับ

Table 3 Efficacy of the diet on hematological values of common carp fed experimental diets containing *Melaleuca cajuputi* leaf extract at levels of 0-40 g/kg. for 7 days after exposure to bacteria

Parameters	Concentration (g/kg)					P-value
	0 (control)	10	20	30	40	
HTC (%)	6.00 ± 10.39^b	5.67 ± 4.04^b	21.67 ± 3.21^a	10.00 ± 0.00^b	25.67 ± 6.03^a	0.005
RBC ($\times 10^6 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	1.82 ± 1.58^{ab}	1.04 ± 0.90^b	3.34 ± 0.11^a	1.00 ± 0.87^b	3.30 ± 0.03^a	0.018
WBC ($\times 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	1.33 ± 1.20^{ab}	0.40 ± 0.52^b	1.83 ± 0.51^a	0.30 ± 0.44^b	1.83 ± 0.24^a	0.040
Immunoglobulin (mg.mL ⁻¹)	51.96 ± 11.04^a	0.03 ± 0.06^b	31.37 ± 3.74^a	25.00 ± 30.41^{ab}	42.02 ± 6.88^a	0.015
Total protein (mg.mL ⁻¹)	0.10 ± 0.03^{ab}	0.14 ± 0.02^a	0.15 ± 0.02^a	0.05 ± 0.02^b	0.10 ± 0.05^{ab}	0.018
Lysozyme (U.mL ⁻¹)	0.49 ± 0.21^b	0.00 ± 0.00^b	2.90 ± 0.94^{ab}	3.14 ± 1.36^{ab}	6.04 ± 3.53^a	0.011

Values represent the mean $\pm$ SE.

Different letters in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

Abbreviations: HTC: Hematocrit; RBC: Red blood cell; WBC: White blood cell.

ค่าอิมมูโนโกลบูลินในปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่ไม่มีสารสกัดใบเสมีดขาว พบค่าอิมมูโนโกลบูลินมากที่สุดเท่ากับ 51.96 ± 11.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสมีดขาว ปริมาณโปรตีนรวมในเลือดปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสมีดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับ พบค่าโปรตีนรวมที่สูงที่สุดในกลุ่มปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่ระดับ 20 กรัมต่อกลไกการเท่ากับ 0.15 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือที่ระดับ 10, 30, 40 และ 0 กรัมต่อกลไกการคือ 0.14 ± 0.02 , 0.05 ± 0.02 , 0.10 ± 0.05 และ 0.10 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hamdan et al. (2023) รายงานว่าในกึ่งกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบเสมีดขาวพบค่าโปรตีนรวมสูงกว่ากลุ่มควบคุม ค่าโปรตีนรวมที่สูงแสดงให้เห็นว่าปลาที่มีโครงสร้างร่างกายที่ดี มีกล้ามเนื้อที่แข็งแรง และค่าไลโซไซม์ของปลาคาร์พที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณสารสกัดใบเสมีดขาวที่ต่างกัน 5 ระดับคือ 0, 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อกลไกการ พบค่าไลโซไซม์ที่สูงที่สุดในปลาคาร์พที่ได้รับอาหารในระดับที่ 40 กรัมต่อกลไกการคือ 6.04 ± 3.53 หน่วย ต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารที่ระดับ 30, 20, 10 และ 0 กรัมต่อกลไกการมีค่าเท่ากับ 3.14 ± 1.36 , 2.90 ± 0.94 , 0.00 ± 0.00 และ 0.49 ± 0.21 หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าไลโซไซม์ในปลาคาร์พที่สูงแสดงให้เห็นว่าปลาคาร์พมีการปกป้องตัวเองจากการรุกรานของเชื้อแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม โดยการออกฤทธิ์ทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้ดีขึ้น และโปรตีนรวมเป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และสภาวะสุขภาพปลา การเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีนรวมอาจเป็นส่วนมาจากการเพิ่มขึ้นของจำนวน WBC ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญในการผลิตโปรตีนรวม เช่น lysozyme และ immunoglobulin (Giri et al., 2024) ประสิทธิภาพของพารามิเตอร์

เลือดที่เพิ่มขึ้นอาจส่งผลมาจากสารพิษเคมีหลายชนิดที่มีอยู่ในสารสกัดใบเสม็ดขาวซึ่งเป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตและสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Sahimi et al., 2022) การมีอยู่ของสารเมตาโบไลต์ เช่น ฟลาโวนอยด์ แทนนิน โพลีฟีนอล และสารประกอบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เป็นสาเหตุให้เกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

ประสิทธิภาพของอาหารต่อการต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในปลาคาร์พเมื่อได้รับอาหารทดลองที่มีปริมาณสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ระดับ 0-40 กรัมต่อกิโลกรัม

จากการทดลองประสิทธิภาพการต้านเชื้อของปลาคาร์พต่อการติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* หลังจากการฉีดเชื้อ 7 วันพบอัตราการรอดตายสูงสุด (80%) ในกลุ่มปลาทดลองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ 20 กรัมต่อกิโลกรัม รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวที่ 30, 10 และ 40 กรัมต่อกิโลกรัมเท่ากับ 50%, 30% และ 20% ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารควบคุมที่ฉีดเชื้อ พบค่าอัตราการรอดตายเท่ากับ 10% และในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุมที่ฉีดน้ำเกลือ (positive) ไม่พบอัตราการตาย (Figure 1) แต่การใช้สารสกัดในปริมาณที่มากเกินไปก็ส่งผลให้อัตราการรอดต่ำลงได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sahimi et al. (2022) กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดใบเสม็ดขาวสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ มีการอธิบายไว้ว่าสารประกอบหลักในเสม็ดขาวโดยเฉพาะฟลาโวนอยด์ และกลุ่มเทอร์พีนสามารถทำลายผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียให้เกิดความเสียหาย และจากการออกฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียทั้งหมดจึงสามารถยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ได้

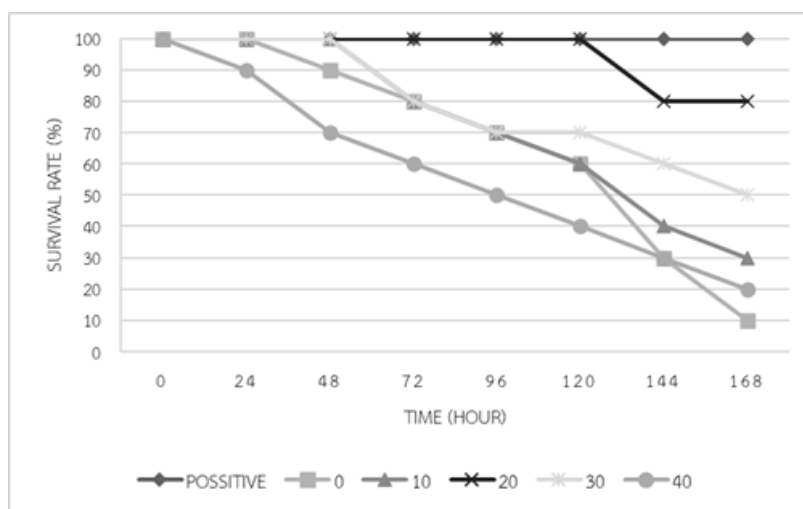


Figure 1 Survival rate (%) of common carp feed different levels of dietary *Melaleuca cajuputi* a 7-day period of exposure to *Aeromonas hydrophila*.

ซึ่งการเพิ่มประสิทธิภาพที่ดีอาจมาจากการมีอยู่ของสารพิษเคมีในสารสกัดใบเสม็ดขาว เช่น เทอร์พีนอยด์ โพลีฟีนอล คีโตน สารประกอบฟีนอล และฟลาโวนอยด์ และอะโรมาติกอื่น ๆ (Khongsai and Vittaya, 2019) เพราะพิษเคมีเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และสารประกอบหลักโดยเฉพาะฟลาโวนอยด์ และสารในกลุ่มเทอร์พีน ช่วยเสริมการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี (Khongsai et al., 2019)

สรุปผลการศึกษา

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดเอทานอลของใบเสม็ดขาวลงในอาหารของปลาคาร์พในระดับที่ 20 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร เป็นระดับที่เหมาะสม ปลาคาร์พสามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีสารสกัดในอาหาร นอกจากนี้ การเสริมสารสกัดในอาหารยังช่วยปรับปรุงพารามิเตอร์เลือด แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดยเพิ่มระดับเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดต่อปริมาณเลือดทั้งหมด เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว อิมมูโนโกลบูลิน โปรตีนรวมในเลือด และ ไลโซไซม์ รวมถึงประสิทธิภาพการต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา และนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการของหลักสูตรสาขาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่อนุเคราะห์ให้ความช่วยเหลือในการทำการทดลอง การใช้เครื่องมือ และ อุปกรณ์ต่างๆ และขอขอบคุณเพื่อน พี่ น้องปริญญโทที่ช่วยเหลือระหว่างการศึกษาและเก็บผลการทดลอง

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม และสมมุติฐาน: อัจฉรี เรืองเดช. การมีส่วนร่วมในการออกแบบ การทดลอง การทดสอบ เครื่องมือ วัด วิธีการเก็บข้อมูล: อัจฉรี เรืองเดช, ปิ่นประภา เกรียงยงค์. การปฏิบัติการวิจัย การจัดเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผล: ปิ่นประภา เกรียงยงค์. การมีส่วนร่วมในการเขียน manuscript: อัจฉรี เรืองเดช, ปิ่นประภา เกรียงยงค์. ให้คำปรึกษาการทดลองเรื่องระบบภูมิคุ้มกัน และวิธีการจัดการด้านโรค: ดวงใจ พิสุทธิธรรมาชัย. การให้การสนับสนุนเครื่องมือ ห้องปฏิบัติการ และ ครุภัณฑ์: อัจฉรี เรืองเดช.

เอกสารอ้างอิง

- Abarike, E. D., Dandi, S. O., & Yeboah, A. A. (2022). A Blend of guava, bitter, and neem leaf extracts improves hematology and resistance to co-infection of *Streptococcus Agalactiae* and *Aeromonas jandaie* but not liver health in Nile Tilapia. **Fish and Shellfish Immunology Reports**, 3(1), 100066. <https://doi.org/10.1016/j.fsirep.2022.100066>.
- Deangroj, A., Chaiprasert, C., & Kantas, T. (2022). Use of crude extract of mangosteen leaf for inhibiting *Aeromonas hydrophila*. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**, 24(1), 34-39. (in Thai).
- Feng, Y., Cai, H., Liu, X., Zhang, C., Yang, Y., & Wem, M. (2024). Effects of fermented sweet potato residue on growth performance, immune organ morphology, antioxidant capacity and nonspecific immunity in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Reports**, 36(1), 102153. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102153>.
- Giri, S. S., Kim, S. G., Jun, J. W., Chi, C., Saha, S., Sukumaran, V., & Park, S. C. (2024). Jamun fruit extract enhances growth performance, mucosal immunity, disease resistance, and immune-and antioxidant-related gene expression of *Cyprinus carpio* Juveniles. **Aquaculture Reports**, 36(1), 102123. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102123>.
- Hamdan, N. A., Zakariah, M. I., Yusoff, N. A. H., Narhan, N. A. S., Nagi, A. M., Wahab, W., & Hassan, M. (2023). Physiological effects of *Melaleuca cajuputi* extract on *Macrobrachium rosenbergii*, and its sensitivity against *Probopyrus buitendijki*. **Aquaculture International**, 31(2), 703-718. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00996-3>.
- Hassan, H., Melad, A. A. N., Yusoff, N. A. H., Tosin, O. V., Norhan, N. A. S., & Hamdan, N. A. (2023). *Melaleuca cajuputi* leaf extract accelerates wound healing in african catfish, *Clarias gariepinus*. **Aquaculture Reports**, 31(1), 101682. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101682>.
- Hosseini, S. M., Hoseinifar, S. H., Mazandarani, M., Paknejad, H., Doan, H. V., & El-Harom, E. R. (2020). The potential benefits of orange peels derived pectin on serum and skin mucus immune parameters, antioxidants defense and growth performance in common carp (*Cyprinus carpio*). **Fish and Shellfish Immunology**, 103(1), 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.04.019>.
- Kanchan, C., Imjai, P., & Kanchan, N. (2018). **Treatment of Bacterial Disease in Goldfish (*Carassius auratus*)**. Retrieved from: <https://fulltext.rmu.ac.th/fulltext/2562/M127652/Kanchan%20Chutharat.pdf>.
- Khongsai, S., Charoendat, U., & Vittaya, L. (2019). **Effective of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium gratum* Extracts to Inhibit Bacterial Pathogens in Shrimp and Fish**. Retrieved from: <https://riss.rmuts.ac.th/upload/doc/202011/EMXU8HaxdoQeLRkEBF8k/EMXU8HaxdoQeLRkEBF8k.pdf>
- Khongsai, S., & Vittaya, L. (2019). **Phenolics Contents, Flavonoids Contents and Antioxidant Activity of *Melaleuca cajuputi* and *Syzygium* extracts**. Retrieved from: <https://riss.rmuts.ac.th/upload/doc/202011/Wkh4LzuHXfAAVBheXaK0/Wkh4LzuHXfAAVBheXaK0.pdf>
- Meng, X. L., You, F., Cao, H., Cai, H. M., Li, Y., Yang, G. K., Zhang, Y. M., Chang, X. L., Zhang, X. D., & Tian, X. (2022). Effect of dietary licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) supplementation on growth performance, muscle quality, and immunity in the common carp (*Cyprinus carpio haematopterus*). **Aquaculture Reports**, 27(1), 101331. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101331>.
- Rattanachaikunsophon, P., & Phumkhachom, P. (2010). Use of herbs as prophylactic and therapeutic agents in fish. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**, 12(4), 63-71. (in Thai).
- Sahimi, M. B. M. K., Nagi, A. M., Hamdan, N. A., Zakariah, M. I., Yusoff, N. A. H., Tosin, O. V., & Hassan, M. (2022). Cajuput *Melaleuca cajuputi* extract supplementation in diets of *Macrobrachium rosenbergii*: insight on the growth, immunological responses and resistance against *Aeromonad hydrophila*. **Aquaculture Research**, 23(1), 3441-3452. <https://doi.org/10.1111/are.15851>.

- Tebsun, K., Kronkpang, L., Rodloy, A., & Jintasataporn, O. (2016). The effect of turmeric and kariat crude extrace of fancy carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus.1758). **Technical paper no. 6/2016. Department of Fisheries, Bangkok (Thailand)**. Inland Fisheries Research and Development Division.
- Wangkahart, E. (2018). Effect of *Aeromonas hydrophila* infection on hematological value in hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) and sensitivity test to antibiotic drugs. **Science Essence Journal**, 34(1), 151–166.
<https://ejournals.swu.ac.th/index.php/sej/article/view/10083>.
- Yousefi, M., Hoseini, S. M., Kulikov, E. V., Babichev, N. V., Bloshakova, M. V., Shopinskaya, M. I., Rogov, R. V., & Zharov, A. N. (2023). Effects of Dietary pomegranate peel supplementation on growth performance and biochemical repoes of common carp, *Cyprinus carpio*, to chronic crowding stress. **Aquaculture Reports**, 30(1), 101532.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101532>.
- Yuwapanichsamphan, S. (2022). **Aeromonas Infection**. Retrieved from:
<https://niah.dld.go.th/webnew/images/newsletter/2550/news2550v66.pdf>. (in Thai).