ประสิทธิภาพของสารสกัดพญายอ และใบฝรั่งเพื่อควบคุม *Zoothamnium* sp. ในลูกกุ้งกุลาดำระยะ postlarva

Efficiency of *Clinacanthus nutans* and *Psidium guajava* extracts to control *Zoothamnium* sp. in black tiger shrimp (postlarva stage)

วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล สุรพล วิเศษสรรค์

ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กทม.10900

นนทวิทย์ อารีย์ชน

ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กทม.10900

บทคัดย่อ

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพร 2 ชนิด ได้แก่ พญายอ และ ใบฝรั่ง ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อไวรัส และแบคทีเรีย มาทำการสกัดโดยวิธี soxhlet ใช้เอทธิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด *Zoothamnium* sp. ซึ่งเป็นโปรโตซัวที่พบในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ของสารสกัดพญายอใช้ปริมาณ 3 กรัม/ลิตร และสารสกัดใบฝรั่งใช้ปริมาณ 5.034 กรัม/ลิตร สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ได้ภายใน 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ในการศึกษาหาค่า LC_{50} ของสมุนไพรแต่ละชนิดต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15 พบว่าสารสกัดพญายอมีค่า 13.72 กรัม/ลิตร ในขณะที่สารสกัดใบฝรั่งมีค่า 21.47 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ขณะใช้สมุนไพรชนิดนี้ก็ไม่ลดต่ำลงจนเป็นอันตรายต่อลูกกุ้งกุลาดำ

Abstract

Two species of herbal plants, *Clinacanthus nutans* Lindau. and *Psidium guajava* were studied for controlling the protozoa, *Zoothamnium* sp., in black tiger shrimp culture. The experiments were done under laboratorial conditions at Kasetsart University. Leaves of the tested plants were extracted by soxhlet method using ethyl alcohol as the extractor. There were found that the extracts of 3 g./l. of *Clinacanthus nutans* and 5.034 g./l. of *Psidium guajava* were effective to control *Zoothamnium* sp. within 24 hours. The LC_{50} to P15 young shrimps of the extracts from *Clinacanthus nutans* and *Psidium guajava* were 13.72 and 21.47 g./l. respectively. Dissolved oxygen and pH in water were not harmful to the shrimp.

1. บทนำ

กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* Fabricius เป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศเป็นอันดับที่ 5 โดยส่งออกในรูปของกุ้งสดแช่เย็น แช่แข็ง ในปี 2544 (ช่วงเดือนมกราคม - กรกฎาคม) มีมูลค่าการส่งออกถึง 53,050.6 ล้านบาท [1] แต่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งกุลาดำมักจะประสบปัญหาเรื่องโรคในการเลี้ยงตลอดมา เนื่องจากการเลี้ยงในปัจจุบันเป็นแบบพัฒนา (intensive) มีการปล่อยกุ้งในอัตราความหนาแน่นสูง ทำให้มีของเสียจากการขับถ่ายในบ่อเลี้ยงเป็นจำนวนมาก ทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไป เมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไปเป็นสาเหตุทำให้กุ้งเกิดความเครียด และมีภูมิต้านทานลดลงทำให้เชื้อโปรโตซัว แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส เข้าทำอันตรายกุ้งได้ นอกจากนั้นการที่มีอาหารเหลือตกค้างในบ่อ ทำให้มีการสะสมของสารอินทรีย์ที่พื้นก้นบ่อ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมของโปรโตซัว แบคทีเรีย

เชื้อรา และไวรัส ทำให้เชื้อเหล่านี้เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เป็นปัจจัยเสริมที่ทำให้กุ้งเป็นโรคได้ง่ายขึ้น

ปรสิตที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ และทำความเสียหายให้กับกุ้งกุลาดำ ซึ่งมักจะพบอยู่เสมอ คือ *Zoothamnium* sp. (ภาพที่ 1) โดย *Zoothamnium* sp. เป็นโปรโตซัวที่อยู่รวมกันเป็นโคโลนี มีรูปร่างแบบระฆังหงาย มีขนสั้น ๆ (cilia) รอบปาก มีก้านที่ยืดหดได้ และมี myoneme ในแกนกลางของก้าน ซึ่งจะพบปรสิตชนิดนี้ในลูกกุ้งกุลาดำ รวมถึงกุ้งกุลาดำในบ่อดินช่วงตั้งแต่เริ่มปล่อยกุ้งไปจนถึงกุ้งมีอายุประมาณ 50 วัน หรืออาจพบตลอดช่วงของการเลี้ยงกุ้ง กุ้งที่มีปรสิตเกาะอยู่มีเส้นฝอยเป็นกระจุกบาง ๆ เกาะอยู่ตามเหงือกลำตัว ระยางค์ต่าง ๆ กุ้งว่ายน้ำช้าลง แพนหางและระยางค์ต่าง ๆ ที่เปื่อยขาดมีลักษณะคล้ายเมือกเคลือบอยู่ตามข้างตัวทั้งสองด้าน เหงือกสกปรก บางครั้งเหงือกจะเปื่อย บางครั้งจะลอกคราบไม่ออก [2]

การรักษาโรคซูโอแทมเนี่ยมนิยมใช้ฟอร์มาลินความเข้มข้น 25-50 ppm. ฟอร์มาลินจะทำให้ปริมาณของ *Zoothamnium sp.* ลดลง กุ้งลอกคราบได้ง่ายขึ้น แต่ฟอร์มาลินมีผลทำให้ปริมาณของออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลง และเป็นสารเคมีที่มีกลิ่นฉุนอาจเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้ได้ นอกจากใช้ฟอร์มาลินแล้วอาจมีการใช้สารเคมีอื่นอีก เช่น Trifluralin, Benzalkonium chloride (BKC),คอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate), มาลาไคท์กรีน (malachite green) ดิพเทอเร็กซ์ (dipterex)

สารที่ใช้ในการรักษากุ้งที่ป่วยด้วยโรคซูโอแทมเนี่ยมที่ได้กล่าวถึงมาทั้งหมดนี้ล้วนแต่เป็นสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นมา ทั้งสิ้น ซึ่งในปัจจุบันเนื่องจากการแข่งขันทางการค้าในตลาดโลกมีมากขึ้น รวมทั้งตลาดของผู้บริโภคจะเน้นในด้านสุขอนามัยและความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น จึงควรที่จะมีการค้นคว้าถึงสารที่สกัดได้จากพืชสมุนไพรที่หาได้ง่ายมาทดแทนการใช้สารเคมี

มีผู้ทำการวิจัยใช้สมุนไพรบางชนิดในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยพบว่าสารสกัดจากใบพญายอ (*Clinacanthus nutans* Lindau.) มีฤทธิ์ทำลายเชื้อไวรัส YHV (Yellow Head Virus) ซึ่งทำให้เกิดโรคหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำได้ [3] และสารสกัดพญายอสามารถที่จะกระตุ้นขบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) ในกุ้งกุลาดำได้ด้วย [4]

ได้มีนักวิจัยนำสารสกัดพญายอมาใส่ในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งโดยทดลองในระดับตู้ปลา เพื่อฆ่าไวรัสตัวแดงดวงขาว พบว่าใช้พญายอ 0.001 ppm. ก็สามารถที่จะฆ่าไวรัสนี้ได้ผล และ LD_{50} ของพญายอจะอยู่ที่ 2,000 ppm. ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่ค่อนข้างสูง [5]

นอกจากนั้น ยังมีผู้ทำการทดลองใช้สมุนไพรไทยบางชนิดในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio* sp. ที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ โดยจากผลการทดลองพบว่าใบฝรั่ง (*Psidium guajava*) สามารถใช้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำเพียง 0.625 mg./ml. [6]

ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำเอาสมุนไพรทั้ง 2 ชนิดนี้ มาประยุกต์ใช้ในการกำจัด *Zoothamnium* sp. ซึ่งเป็นโปรโตซัวที่พบในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ใน อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำต่อไป

2. วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบหาความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรบางชนิดเพื่อมาใช้ทดแทนสารเคมี ในการกำจัด *Zoothamnium* sp.

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพรสดมาอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส, สกัดสมุนไพรโดยใช้วิธีการสกัดแบบใช้ soxhlet [7] โดยใช้สมุนไพรที่อบแล้วเข้าเครื่อง homogenizer เพื่อบดให้ละเอียด จากนั้นนำสมุนไพรที่ได้ใส่ถุงผ้าขาวบาง ชั่งน้ำหนักก่อนสกัด นำไปใส่ใน column ใช้ ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 250 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เวลาสกัด 8 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้นำเข้าเครื่อง evaporator เพื่อแยกเอา solvent ออกจากสารสกัด นำสารสกัดที่ได้ไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสกัด นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร เนื่องจากสารสกัดจะละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ และเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้

เป็น Stock เพื่อใช้ในการทดสอบความสามารถในการกำจัด *Zoothamnium* sp. และ ใช้ในการหาค่า LC_{50}

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสมุนไพรในการกำจัด *Zoothamnium* sp.

เลี้ยง *Zoothamnium* sp. ให้ได้ปริมาณมาก โดยวางแผ่นพลาสติกเป็น substrate เพื่อให้ *Zoothamnium* sp. เกาะใส่ในตู้ทดลอง นำกุ้งที่มี *Zoothamnium* sp. เกาะอยู่ลงไปเลี้ยงในตู้ทดลอง ทิ้งไว้จนมีปริมาณ *Zoothamnium* sp. เกาะบนแผ่นพลาสติกมากพอ

ทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสมุนไพรแต่ละชนิดที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ได้ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 6 treatments แต่ละ treatment มี 3 ซ้ำ

นำ Stock ของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด มาทำการเจือจางโดยใช้น้ำเค็ม ความเค็ม 20 ppt ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ 6 ความเข้มข้นในบีกเกอร์ โดยมีกลุ่มควบคุมซึ่งใช้น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมกับแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร ผสมในน้ำเค็มความเค็ม 20 ppt จำนวน 1 กลุ่ม นำสารละลายที่ได้เทใส่ plate แก้ว โดยเทความเข้มข้นละ 3 plate เพื่อเตรียมใช้ในการทดสอบ ตัดแผ่นพลาสติกที่มี *Zoothamnium* sp. เกาะอยู่ ขนาด 1 x 1 เซนติเมตร ใส่ลงใน plate แก้วที่เตรียมไว้ นับจำนวนเซลล์ของ *Zoothamnium* sp. เริ่มต้น และนับจำนวนเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปทุก 3 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง หากความเข้มข้นที่เลือกมาใช้ทำให้ *Zoothamnium* sp. ลดลงหมดตั้งแต่ 3 ชั่วโมงแรก ให้เลือกความเข้มข้นที่ต่ำกว่านั้นมาทดลองใหม่ รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ที่เปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากจำนวนเซลล์ที่เริ่มต้นในแต่ละความเข้มข้น และแต่ละซ้ำจะมีไม่เท่ากัน

3.3 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15

นำตู้ทดลองจำนวน 18 ตู้ ใส่น้ำเค็มตู้ละ 2 ลิตร นำสารสกัดสมุนไพรจาก stock มาทำการเจือจาง ให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ 6 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำกุ้งกุลาดำระยะ P15 ที่เลี้ยงไว้ใส่ในตู้ทดลอง ตู้ละ 20 ตัว เลี้ยงไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนกุ้งที่ตาย หาค่า LC_{50} โดยวิเคราะห์สมการ regression ระหว่างความเข้มข้นของสมุนไพรแต่ละชนิด (X) และเปอร์เซ็นต์การตายของกุ้ง (Y)

หากความเข้มข้นที่เลือกไว้ทั้ง 6 ความเข้มข้นไม่ทำให้กุ้งตาย หรือตายหมดภายใน 24 ชั่วโมง จะไม่สามารถนำมาคำนวณหาค่า LC_{50} ได้ จะทำการเลือกความเข้มข้นใหม่ เพื่อให้ได้ความเข้มข้นช่วงที่ทำให้กุ้งตาย 0-100% อย่างน้อย 5 ความเข้มข้น

3.4 การตรวจวัดคุณภาพน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อใช้สมุนไพร ระหว่างการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15

นำสารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งความเข้มข้นที่หาไว้แล้วว่าเหมาะสมในการใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำ ใส่ลูกกุ้งกุลาดำลงไปเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง, ทำการตรวจคุณภาพน้ำ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ระหว่างการทดลองเพื่อดูว่าเมื่อใช้สารสกัดสมุนไพร จะมีผลทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงหรือไม่

4. ผลการทดลอง

4.1 ผลการสกัดสมุนไพร

4.1.1 ผลการสกัดพญายอ

น้ำหนักก่อนสกัดของใบพญายอที่บดละเอียดแล้วคือ 180 กรัม หลังจากการสกัด และเข้าเครื่อง evaporator ได้น้ำหนักสารสกัด 31.83 กรัม เปอร์เซ็นต์การสกัด 17.68 เปอร์เซ็นต์

4.1.2 ผลการสกัดใบฝรั่ง

น้ำหนักก่อนสกัดของใบฝรั่งที่บดละเอียดแล้วคือ 201.33 กรัม หลังจากการสกัด และเข้าเครื่อง evaporator ได้น้ำหนักสารสกัด 28.415 กรัม เปอร์เซ็นต์การสกัด 14.11 เปอร์เซ็นต์

เมื่อได้สารสกัดเข้มข้นออกมาแล้ว นำไปเจือจางด้วยแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บไว้เป็น stock สำหรับใช้ทดลองต่อไป

4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรในการกำจัด *Zoothamnium* sp.

4.2.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพญายอ

จากการนำสารสกัดพญายอความเข้มข้นต่าง ๆ 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 1.5, 3, 6, 12 และ 24 กรัม/ลิตร มาทำการทดสอบประสิทธิภาพเพื่อหาความเข้มข้นที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ภายใน 24 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นที่

เหมาะสมที่สุดที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ภายใน 24 ชั่วโมง คือ 3 กรัม/ลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารสกัดพญายอปริมาณ 6, 12, 24 กรัม/ลิตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับการใช้สารสกัดพญายอปริมาณ 1.5 กรัม /ลิตร (ตารางที่ 1,ภาพที่ 2)

4.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดใบฝรั่ง

จากการนำสารสกัดใบฝรั่งความเข้มข้นต่าง ๆ 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 1.26, 2.52, 5.03, 10.07 และ 20.14 กรัม/ลิตร มาทำการทดสอบประสิทธิภาพ เพื่อหาความเข้มข้นที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ภายใน 24 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ภายใน 24 ชั่วโมง คือ 5.03 กรัม/ลิตร ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารสกัดใบฝรั่ง ปริมาณ 10.07, 20.14 กรัม/ลิตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับการใช้สารสกัดใบฝรั่งปริมาณ 1.26 และ 2.52 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 2, ภาพที่ 3)

4.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อ ลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15

จากการทดลองเมื่อใส่สารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด ความเข้มข้นต่าง ๆ ในน้ำที่ใช้เลี้ยงลูกกุ้งระยะ P15 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกอัตราการตาย และนำค่าที่ได้คำนวณหาค่า LC_{50}

4.3.1 ผลการหาค่า LC_{50} ของสารสกัดพญายอ

ความเข้มข้นที่นำมาทดลองได้แก่ 0, 1.5, 11.5, 21.5, 31.5 กรัม/ลิตร ค่าเฉลี่ยอัตราการตายในแต่ละความเข้มข้น นำมาคำนวณหาสมการ linear regression ได้เป็น

$Y = 6.775+3.15X$

โดย Y = เปอร์เซ็นต์การตาย

X = ความเข้มข้นของสารสกัดพญายอ (กรัม/ลิตร)

ดังนั้นหาค่า LC_{50} ได้เท่ากับ 13.72 กรัม/ลิตร

4.3.2 ผลการหาค่า LC_{50} ของสารสกัดใบฝรั่ง

ความเข้มข้นที่นำมาทดลองได้แก่ 2.517, 5.034, 10.067, 20.134, 40.268 และ 50.335 กรัม/ลิตร ค่าเฉลี่ยอัตราการตายในแต่ละความเข้มข้น นำมาคำนวณหาสมการ linear regression ได้เป็น

$Y = 8.464+1.9346X$

โดย Y = เปอร์เซ็นต์การตาย

X = ความเข้มข้นของสารสกัดใบฝรั่ง (กรัม/ลิตร)

ดังนั้นหาค่า LC_{50} ได้เท่ากับ 21.47 กรัม/ลิตร

4.4 ผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อใช้สารสกัดสมุนไพร ระหว่างการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ

4.4.1 ผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำของสารสกัดพญายอระหว่างการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ

พบว่าการใช้สารสกัดพญายอความเข้มข้น 3 กรัม/ลิตร เลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ในการกำจัด *Zoothamnium* sp. พบว่าค่า DO มีค่าเท่ากับ 4.22 mg./l ค่า pH มีค่าเท่ากับ 6.81 ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15 ที่เลี้ยงไว้ และเมื่อใช้สารสกัดพญายอความเข้มข้นสูงขึ้นก็จะมีผลทำให้ DO ลดลง pH ลดลง โดยในการทดลองได้ทดลองใช้ความเข้มข้นสูงสุดคือ 31.5 กรัม/ลิตร ซึ่งมากกว่าความเข้มข้นที่ใช้กำจัด *Zoothamnium* sp. ประมาณ 10.5 เท่า พบว่าค่า DO มีค่าเท่ากับ 2.13 mg./l ค่า pH มีค่าเท่ากับ 5.75

4.4.2 ผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำของสารสกัดใบฝรั่งระหว่างการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ

พบว่าการใช้สารสกัดใบฝรั่งความเข้มข้น 5.03 กรัม/ลิตร เลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ในการกำจัด *Zoothamnium* sp. พบว่าค่า DO มีค่าเท่ากับ 4.12 mg./l ค่า pH มีค่าเท่ากับ 6.74 ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15 ที่เลี้ยงไว้ และเมื่อใช้สารสกัดใบฝรั่งความเข้มข้นสูงขึ้นก็จะมีผลทำให้ DO ลดลง pH ลดลง โดยในการทดลองได้ทดลองใช้ความเข้มข้นสูงสุดคือ 50.33 กรัม/ลิตร ซึ่งมากกว่าความเข้มข้นที่ใช้กำจัด *Zoothamnium* sp. ประมาณ 10 เท่า พบว่าค่า DO มีค่าเท่ากับ 2.6 mg./l ค่า pH มีค่าเท่ากับ 5.47

5. สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองเพื่อดูประสิทธิภาพของสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ พญายอ และ ใบฝรั่ง พบว่าความเข้มข้นของสมุนไพรแต่ละชนิดที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ได้ภายใน 24 ชั่วโมง มีค่าแตกต่างกัน โดยสารสกัดพญายอใช้ปริมาณ 3 กรัม/ลิตร สารสกัดใบฝรั่งใช้ปริมาณ 5.03 กรัม/ลิตร ส่วนค่า

ความเป็นพิษของสมุนไพรแต่ละชนิดต่อลูกกุ้งกุลาดำระยะ P15 พบว่าสารสกัดพญายอมีค่า LC_{50} 13.72 กรัม/ลิตร สารสกัดใบฝรั่งมีค่า LC_{50} 21.47 กรัม/ลิตร

เมื่อพิจารณาคุณภาพน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปพบว่าถ้าใช้สมุนไพรแต่ละชนิดในปริมาณที่สามารถกำจัด *Zoothamnium* sp. ได้ ค่า DO และ ค่า pH ก็ไม่ลดลงจนเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ และขณะที่ทำการทดลองไม่ได้มีการเปิดระบบให้อากาศ แต่ในโรงเพาะฟักจะมีการเปิดเครื่องให้อากาศกับลูกกุ้ง จึงมีปริมาณออกซิเจนสูงกว่าในการทดลอง อันตรายเนื่องจากการลดลงของปริมาณออกซิเจนต่อลูกกุ้งกุลาดำเมื่อใช้สมุนไพรจึงแทบไม่มีเลย

6. วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองด้านการใช้สมุนไพรอาจมีผลคลาดเคลื่อนในการทดลองแต่ละครั้ง เนื่องจากปัจจัยหลาย ๆ อย่าง ดังต่อไปนี้ [8, 9]

1. แหล่งของพืชสมุนไพร สมุนไพรแต่ละชนิดเมื่อเก็บจากแต่ละแหล่ง แต่ละพื้นที่ ก็จะมีปริมาณสารออกฤทธิ์แตกต่างกันไป เนื่องจากวิธีการปลูก ปริมาณสารอาหารที่มีอยู่ในดินแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน สภาพภูมิอากาศก็มีความแตกต่างกันด้วย

2. ส่วนต่าง ๆ ของพืชที่นำมาใช้ก็จะมีสารออกฤทธิ์แตกต่างกัน หรือแม้แต่พืชส่วนเดียวกันเช่นส่วนใบ ใบอ่อนกับใบแก่ก็จะมีสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันออกไปด้วย

3. ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ก็จะให้สารออกฤทธิ์ปริมาณที่แตกต่างกันไป

4. วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ก็จะมีปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ออกมาแตกต่างกัน

ในการทดลองครั้งนี้ แม้ว่าจะใช้สมุนไพรจากแหล่งเดียวกัน ใช้ตัวทำละลายเหมือนกัน วิธีการสกัดเดียวกันทุกประการ แต่เปอร์เซ็นต์การสกัดที่ได้แต่ละครั้งในสมุนไพรชนิดเดียวกันก็มีความแตกต่างกันไปด้วย แต่อย่างไรก็ตามค่าที่ได้ก็จะมีค่าที่ใกล้เคียงกันหากใช้พืชสมุนไพรจากแหล่งเดียวกัน ส่วนของพืชเดียวกัน วิธีการสกัด และตัวทำละลายชนิดเดียวกัน ผลการทดลองนี้จึงสามารถเป็นข้อมูลที่ใช้อ้างอิงให้กับผู้สนใจที่จะทำการศึกษาสมุนไพรในสัตว์น้ำ หรือนำไปใช้ประโยชน์จริงในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. เอกสารอ้างอิง

[1] กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์,แหล่งข้อมูล: http://www.moc.go.th., 2544.

[2] ลิลา เรืองแป้น, โปรโตซัวที่ทำให้เกิดปัญหาในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล (*Penaeus monodon* & *Penaeus merguiensis*), เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2528, ฝ่ายทดลองและวิจัยเพื่อการเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง, 13 หน้า, 2528.

[3] สถาพร ดิเรกบุษราคัม, อังคณา หิรัญสาลี, สิทธิ บุญยรัตผลิน, เยาวนิตย์ ดลยดล และ อุษณีย์ เอกปติธานพงศ์, เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2536, สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ชายฝั่ง, กรมประมง, 5 หน้า, 2536.

[4] Itami, T.Y., Takahashi and Y. Nakamura, Efficiency of Vaccination Against Vibriosis in Cultured Kurama Shrimps (*Penaeus japonicus*), J. of Aqua. Ani. Health, 1: 238-242, 1989.

[5] ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ, สมุนไพรใช้ในกุ้ง ลูกใต้ใบ, พญายอ ฟ้าทะลายโจร, วารสารข่าวเกษตรและเทคโนโลยี ฉบับ 2540/2, 117 หน้า, 2540.

[6] สถาพร ดิเรกบุษราคัม, สมพร รุ่งกำเนิดวงศ์, อังคณา หิรัญสาลี และ ลิลา เรืองแป้น, ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยบางชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ, เอกสารวิชาการฉบับที่ 7/2538, สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ชายฝั่ง, กรมประมง, 7 หน้า, 2539.

[7] สุรพล วิเศษสรรค์, แนวโน้มการนำสารพิษที่สกัดได้จากพืชตามธรรมชาติมาทดแทนสารเคมี, ข่าวสารวัตถุมีพิษ, 12 (2) : 58-67, 2528.

[8] คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, คู่มือการวิจัยสมุนไพรในการผลิตสัตว์, โรงพิมพ์แสงเทียนการพิมพ์, 2545.

[9] เต็มดวง สมศิริ, ฟ้าทะลายโจร, สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ, กรมประมง, 2545.

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ของจำนวนเซลล์ *Zoothamnium* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเทียบกับจำนวนเริ่มต้น เมื่อนับที่ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 ชั่วโมง เมื่อใช้สารสกัดพญายอความเข้มข้นต่าง ๆ (กรัม/ลิตร)

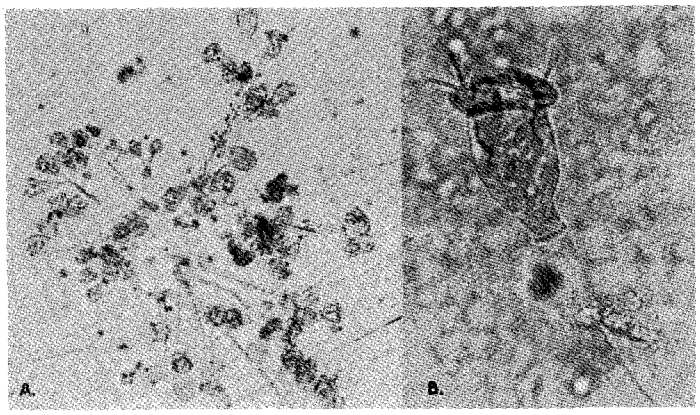
ความเข้มข้นที่ใช้ (กรัม/ลิตร)	% ของจำนวนเซลล์ *Zoothamnium* sp. ที่เปลี่ยนไปเทียบกับจำนวนเริ่มต้น ที่ชั่วโมงที่								
	0	3	6	9	12	15	18	21	24
0	0	0.39	1.91	15.65	18.32	19.09	22.90	23.67	31.31[a]
1.5	0	9.77	-26.32	-0.38	18.04	8.27	-13.16	-33.09	-57.52[b]
3	0	-42.28	-77.85	-95.3	-98.99	-100	-100	-100	-100[c]
6	0	-51.48	-70.3	-91.09	-100	-100	-100	-100	-100[c]
12	0	-96.43	-100	-100	-100	-100	-100	-100	-100[c]
24	0	-100	-100	-100	-100	-100	-100	-100	-100[c]

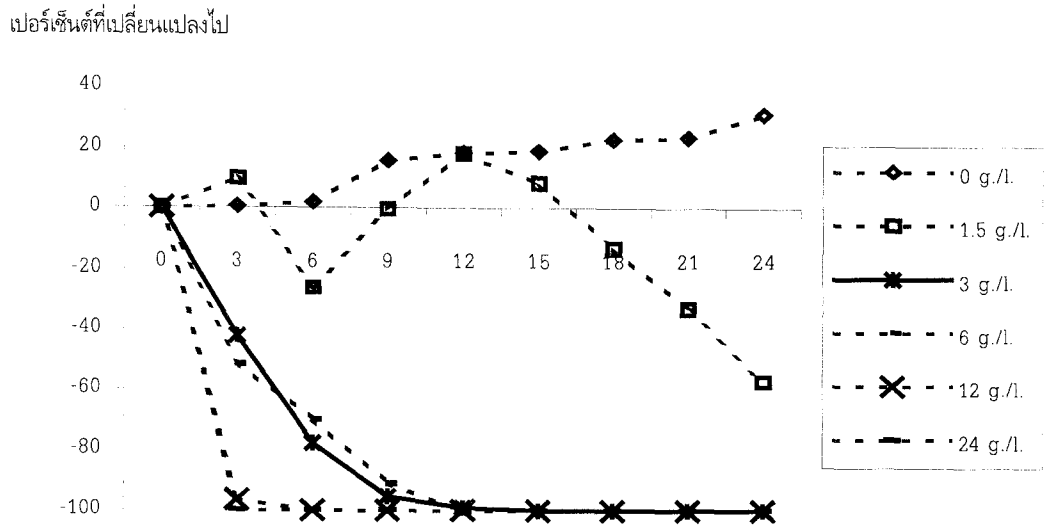
ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรต่างกันภายในแถวตั้งเดียวกันจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ของจำนวนเซลล์ *Zoothamnium* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเทียบกับจำนวนเริ่มต้น เมื่อนับที่ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 ชั่วโมง เมื่อใช้สารสกัดใบฝรั่งความเข้มข้นต่าง ๆ (กรัม/ลิตร)

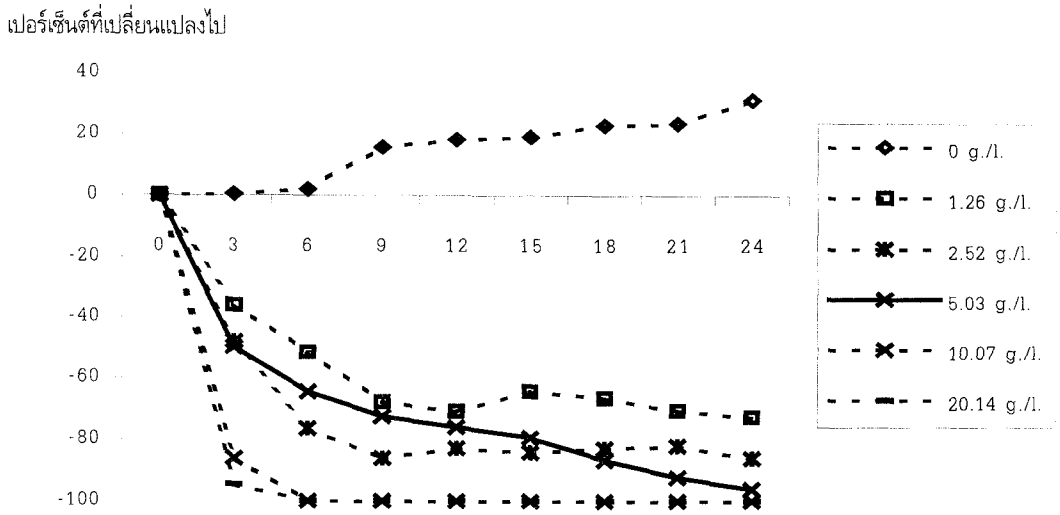
ความเข้มข้นที่ใช้ (กรัม/ลิตร)	% ของจำนวนเซลล์ *Zoothamnium* sp. ที่เปลี่ยนไปเทียบกับจำนวนเริ่มต้น ที่ชั่วโมงที่								
	0	3	6	9	12	15	18	21	24
0	0	0.39	1.91	15.65	18.32	19.09	22.90	23.67	31.31[a]
1.26	0	-35.77	-51.44	-67.63	-70.76	-64.23	-66.32	-70.49	-72.59[b]
2.52	0	-47.97	-76.33	-85.98	-82.87	-84.11	-82.87	-81.93	-85.98[b]
5.03	0	-49.86	-64.5	-72.36	-75.88	-79.41	-86.72	-92.14	-96.2[c]
10.07	0	-86.05	-100	-100	-100	-100	-100	-100	-100[c]
20.14	0	-94.53	-100	-100	-100	-100	-100	-100	-100[c]

ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรต่างกันภายในแถวตั้งเดียวกันจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%





ภาพที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ของจำนวนเซลล์ *Zoothamnium* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเทียบกับจำนวนเริ่มต้น เมื่อนับที่ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 ชั่วโมง เมื่อใช้สารสกัดพญายอความเข้มข้นต่าง ๆ (กรัม/ลิตร)



ภาพที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ของจำนวนเซลล์ *Zoothamnium* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเทียบกับจำนวนเริ่มต้น เมื่อนับที่ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 ชั่วโมง เมื่อใช้สารสกัดใบฝรั่งความเข้มข้นต่าง ๆ (กรัม/ลิตร)