

ผลทางพิษพยาธิวิทยาในไก่เนื้อที่ได้รับสารพิษของเชื้อราฟูซาเรียม
ที่แยกได้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ซึ่งปลูกในประเทศไทย



นางสาว บังอร จินะณรงค์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพยาธิชีววิทยาทางสัตวแพทย์ ภาควิชาพยาธิวิทยา

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-13-1179-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

17 D.H. 2545

119842168

TOXICOPATHOLOGY IN BROILERS RECEIVING MYCOTOXINS OF *FUSARIUM* SPP.
ISOLATED FROM DOMESTIC MAIZE IN THAILAND.

Miss Bangon Jinanarong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Veterinary Pathobiology

Department of Veterinary Pathology

Faculty of Veterinary Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2000

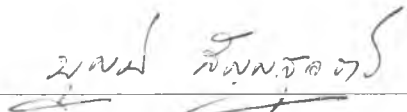
ISBN 974-13-1179-6


หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลทางพิษวิทยาวิทยาในไก่เนื้อที่ได้รับสารพิษของเชื้อราฟูซาเรียมที่แยก
ได้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ซึ่งปลูกในประเทศไทย
โดย นางสาวบังอร จินะณรงค์
สาขาวิชา พยาธิชีววิทยา ภาควิชา พยาธิวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. เล็ก อัครพลังชัย
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. เลขา มาโนช
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. วิจิตร เกียรติพัฒน์สกุล


คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรมหาบัณฑิต



คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร)

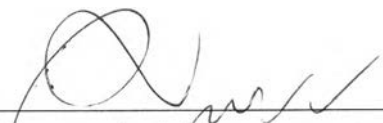
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ น.สพ. บุญมี สัญญ์สุจจารี)


อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. เล็ก อัครพลังชัย)


อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. เลขา มาโนช)


อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. วิจิตร เกียรติพัฒน์สกุล)


กรรมการ
(ศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. สุภกิจ อังศุมากร)

4075556131 MAJOR Pathobiology

KEYWORD : BROILER / MAIZE / FUSARIUM / MYCOTOXINS / TOXICOPATHOLOGY / THAILAND

BANGON JINANARONG: TOXICOPATHOLOGY IN BROILERS RECEIVING MYCOTOXINS OF *FUSARIUM* SPP. ISOLATED FROM DOMESTIC MAIZE IN THAILAND.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. DR. LEK OUSAVAPLANGCHAI, D.V.M., Dr.med.vet.

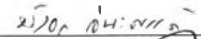
THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. DR. LEKA MANOCH, Ph.D. AND

ASSIST. PROF. DR. WIJIT KIATIPATTANASAKUL, D.V.M., Ph.D. 129 page.

Fusarium species are commonly found in various crops, especially cereals. *Fusarium* mycotoxins such as fumonisin, moniliformin, fusaric acid, fusarin and trichothecenes cause mycotoxicosis in humans and animals. The objectives of this study were to : isolate and identify *Fusarium* spp. from domestic maize; induce suitable laboratory conditions for high yield mycotoxin production and to study toxicopathology in broiler fed with contaminated maize.

The experiment was conducted by collecting 122 maize samples were from various part of Thailand. ELISA test kit (Veratox™) was used to detect fumonisin, T-2 toxin, ochratoxin and aflatoxin. The maize samples were also used for isolate fungi on PCNB-peptone agar, potato dextrose agar (PDA) and cornmeal agar dilution plate. Fumonisin and T-2 toxin were detected from all *Fusarium* strains. Eight *Fusarium* strains from maize kernels producing over 4,000 ppb fumonisin were identified by measuring growth rate and spore formation on PDA , potato sucrose agar, corn leaf agar and corn seed agar and observing morphological characteristics under stereo- and compound microscopes. The strains were identified as *Fusarium moniliforme* Sheldon and all produced fumonisin and T-2 toxin. *F. moniliforme* no. 4262, which produced the highest fumonisin and T-2 toxin content, was cultivated on sterile kernels for 35 days. The culture materials were mixed in feed for 166, day-old chicks for 25 days. The experiment was divided into control and treatment groups. The result revealed that at 5, 10, 15 and 25 days, serum AST, ALT, ALP and GGT were significantly increased. Histopathology showed lesions in liver, spleen, thymus and bursa of fabricious. In summary , mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme* no. 4262 from domestic maize kernels had adverse effect to broiler health.


Department Pathology

Student's signature 

Field of study Pathobiology

Advisor's signature 

Academic year 2000

Co-advisor's signature 

Co-advisor's signature 

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์บัณฑิตศึกษา รศ.น.สพ.ดร.เล็ก อัครพลังชัย และ ผศ.น.สพ.ดร. วิจิตร เกียรติพัฒน์สกุล ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รศ. ดร. เลขา มาโนช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ คณาจารย์ ทุก ๆ ท่านที่ให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบพระคุณ บริษัท แหลมทองฟาร์ม จำกัด ที่ให้โอกาสในการเรียนรู้ถึงธุรกิจครบวงจรของการเลี้ยงไก่ ตั้งแต่ ปุ๋ยพันธุ์ พ่อแม่พันธุ์ โรงฟักไข่ โรงงานผลิตอาหารสัตว์ ไข่เนื้อ โรงเชือด ตลอดจนถึงโรงงานแปรรูป จนรอบรู้เป็นอย่างดี และ นาย เกรียงไชย แม่ตระกูล รองผู้อำนวยการบริษัท โกลเด้น โพลทรี อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ที่ให้โอกาสมาศึกษาต่อ

ขอขอบพระคุณ Dr. J. Mike Bonman บริษัท DuPont Crop Protection, U.S.A. และ ดร.อมรา ชินะภูติ นักวิชาการโรคพืช 7 กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผลผลิตเกษตรของโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ช่วยตรวจวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คณาจารย์ และพนักงานทุกคนในห้องสมุด คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สพ.ญ.คนารัตน์ หรินทรานนท์ นายสัตวแพทย์ 7 กลุ่มงานโรคสัตว์ปีก กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ น.ส. พรพิมล อธิปัญญาคม นักวิชาการโรคพืช 6 กลุ่มงานวิจัยโรคไม้ผล กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องสืบค้นข้อมูล และคอมพิวเตอร์

ขอขอบคุณ น.ส. วิชุดา จันทร์ข้างแรม และนางชไมพร ฤงเงินโต เจ้าหน้าที่ภาควิชาพยาธิวิทยา และหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือทางห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ นายสหพร นิยะโมสดี นักวิทยาศาสตร์ แผนกตรวจวิเคราะห์ ฝ่ายบริหารสุขภาพสัตว์ บริษัท โกลเด้น โพลทรี ฟาร์ม จำกัด ที่ให้ความช่วยเหลือในการศึกษาวิธีการแยกหาเชื้อราฟงูซาเรียมเบื้องต้น น.ส. นฤมล โพธิ์อบ น.ส. พนิดา อินทราชัย น.ส. สวรรินทร์ ทั้งจันทร์ น.ส. สมบูรณ์ ฤกษ์เวียง นาง วลัยลักษณ์ อนันต์วราพงษ์ น.ส. ถนอมใจ โชคบัณฑิต และ พนักงานทุกคนของแผนกตรวจวิเคราะห์ ฝ่ายบริหารสุขภาพสัตว์ บริษัท โกลเด้น โพลทรี ฟาร์ม จำกัด ที่ให้ความช่วยเหลือทางห้องปฏิบัติการ และจัดเตรียมเอกสาร

บังอร จินะณรงค์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญรูปภาพ	ฉ

บทที่

1. บทนำ	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 เชื้อรา <i>Fusarium</i>	5
2.2 สารพิษ fumonisin	14
2.3 สารพิษ moniliform	23
2.4 สารพิษกลุ่ม trichothecenes	26
2.5 สารพิษจากเชื้อรา <i>Fusarium</i> ชนิดอื่น ๆ	34
2.6 ความเป็นพิษของสารสีจากเชื้อรา <i>Fusarium</i>	36
2.7 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างสารพิษจากเชื้อรา	37
3. วัสดุและวิธีการ	
3.1 วิธีแยกและ จำแนกชนิดของเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp.	39
3.2 การศึกษาความสามารถของเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. ในการสร้างสารพิษ เมื่อนำไปเลี้ยงบนข้าวโพดอาหารสัตว์	41
3.3 การศึกษามลของสารพิษจากเชื้อราที่เลี้ยงบนข้าวโพดต่อไก่เนื้ออายุ 1-25 วัน	43

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4. ผลและวิจารณ์	
4.1 วิธีแยก และ จำแนกชนิดของเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. -----	46
4.2 การศึกษาความสามารถของเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. ในการสร้างสารพิษ เมื่อนำไปเลี้ยงบนข้าวโพดอาหารสัตว์ -----	64
4.3 การศึกษาผลของสารพิษจากเชื้อราที่เลี้ยงบนข้าวโพดต่อไก่เนื้ออายุ 1-25 วัน -----	70
5. สรุปผลการทดลอง -----	95
รายการอ้างอิง -----	97
ภาคผนวก -----	108
ประวัติผู้เขียน -----	129

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1. เชื้อรา <i>Fusarium</i> จัดจำแนกเป็น Section และ Species ต่างๆ	1
2. เชื้อรา <i>Fusarium</i> species ที่สามารถสร้างสารพิษในกลุ่มต่าง ๆ	2
3. ผลของสารพิษ trichothecenes ในอาหารต่อไก่เนื้อ	32
4. ชื่อสารพิษที่สร้างโดย เชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. และผลทางพิษวิทยาต่อไก่	35
5. แสดงปริมาณสารพิษจากเชื้อรา โดย ELISA test kit (Veratox™) ที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวโพดทั้งหมด	49
6. ข้าวโพดซึ่งพบเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. และพบสารพิษ fumonisin มากกว่า 4,000 ppb ที่ใช้ในการทดลอง	54
7. ขนาดของ microconidia และ macroconidia ของเชื้อราที่เลือกมาศึกษา	54
8. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่จำแนก เมื่อเลี้ยงบน Potato Dextrose Agar (PDA)	55
9. ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ในสภาวะที่แตกต่างกัน ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อรานาน 35 วัน	65
10. ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ด้วยสภาวะ semi-aerobic condition	65
11. ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> ที่ให้สารพิษ fumonisin สูงสุด 2 อันดับแรกใน semi-aerobic condition	67
12. ผลการทดสอบปริมาณโภชนะของข้าวโพด และอาหารไก่เนื้อ	71
13. ผลการทดสอบปริมาณสารพิษจากเชื้อราของข้าวโพด และอาหารไก่เนื้อ	71
14. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่ออัตราการแลกเนื้อของไก่เนื้อ	72
15. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อน้ำหนักสัมพัทธ์ของ ตับ ม้าม และต่อมเบอริชซ่า	72
16. การเปลี่ยนแปลง ค่าเคมีเลือด AST และ ALT ของไก่ทดลอง หลังจากได้รับสารพิษจากเชื้อรา	77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
17. การเปลี่ยนแปลง ค่าเคมีเลือด ALP และ GGT ของไก่ทดลอง หลังจากได้รับสารพิษจากเชื้อรา	77
18. ค่าคะแนนเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา ของตับไก่ทดลอง	81
19. ค่าคะแนนเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของต่อมเบอริ์ซ่า ม้าม และ ต่อมไทมัสของไก่ทดลองแบบ cell depletion	82

สารบัญรูปภาพ

รูปภาพที่	หน้า
1. ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของ <i>Fusarium moniliforme</i> (<i>Gibberella fujikuroi</i>)	9
2. โครงสร้างพื้นฐาน (backbone) ของ fumonisin และ ตารางแสดงโครงสร้างของ fumonisin แต่ละชนิด	15
3. โครงสร้างของ fumonisin B1, B2 sphingosine และ sphinganine	16
4. กลไกการยับยั้งขบวนการสังเคราะห์ sphingolipid โดยสารพิษ fumonisins	17
5. โครงสร้างทางเคมีของ trichothecenes type A	27
6. โครงสร้างทางเคมีของ trichothecenes type B	28
7. โครงสร้างทางเคมีของ fusarochoomanone, fusaric acid และ moniliformin	35
8. เชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> รหัส 4072 (ตัวอย่างที่ 1)	56
9. เชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> รหัส 4073 (ตัวอย่างที่ 2)	57
10. เชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> รหัส 4014 (ตัวอย่างที่ 3)	58
11. เชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> รหัส 4262 (ตัวอย่างที่ 4)	59
12. เชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> รหัส 4390 (ตัวอย่างที่ 5)	60
13. เชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> รหัส 4499 (ตัวอย่างที่ 6)	61
14. เชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> รหัส 4500 (ตัวอย่างที่ 7)	62
15. เชื้อรา <i>Fusarium moniliforme</i> รหัส 4691 (ตัวอย่างที่ 8)	63
16. เปรียบเทียบน้ำหนักตัวของไก่ที่ได้รับสารพิษ	73
17. เปรียบเทียบอัตราการแลกเนื้อ (FCR) ของไก่ที่ได้รับสารพิษ	73
18. น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับไก่เนื้อที่ได้รับสารพิษ	74

สารบัญญรูปภาพ (ต่อ)

รูปภาพที่	หน้า
19. น้ำหนักสัมพัทธ์ของม้ามไก่นื้อที่ได้รับสารพิษ	74
20. น้ำหนักสัมพัทธ์ของต่อมเบอริช่าไก่นื้อที่ได้รับสารพิษ	74
21. รอยโรคที่พบในตับและต่อมเบอริช่า ลักษณะอุจจาระของไก่นื้อที่ได้รับ อาหารที่มีสารพิษจากเชื้อรา <i>F.moniliforme</i> รหัส 4262 ในระยะเวลาด่าง ๆ	76
22. ผลการตรวจหาค่า AST ในซีรัม	78
23. ผลการตรวจหาค่า ALT ในซีรัม	78
24. ผลการผลการตรวจหาค่า ALP ในซีรัม	79
25. ผลการตรวจหาค่า GGT ในซีรัม	79
26. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ hepatic cell swelling	82
27. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ glycogen degeneration ของตับ	83
28. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ fatty degeneration ของตับ	83
29. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ hepatic cell death	84
30. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ bile duct epithelial cell death	84
31. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ cell depletion ของต่อมเบอริช่า	85
32. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ cell depletion ของม้าม	85
33. ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ cell depletion ของต่อมไทมัส	85
34. แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับไก่นื้อที่มีการเสื่อมสภาพของเซลล์	86
35. แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับไก่นื้อกลุ่มทดลองที่อายุ 15 วัน	87
36. แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับไก่นื้อที่มีการเสื่อมและตายที่อายุ 25 วัน	88
37. แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของม้าม	89
38. แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของต่อมเบอริช่า และ ต่อมไทมัสที่อายุ 25 วัน	90