

บทที่ 4

ผล และ วิจารณ์

4.1 วิธีการแยก และจำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium* spp.

ผลการทดลอง

การแยกเชื้อรา *Fusarium* spp. และตรวจหาสารพิษจากเชื้อราจากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ซึ่งผลิตในประเทศไทย จำนวน 122 ตัวอย่าง จากแหล่งรวมข้าวโพดต่าง ๆ ในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จ.ลพบุรี จ.นครสวรรค์ สระแก้ว และ จ.นครราชสีมา) โดยวิธี ten fold dilution ตรวจพบสารพิษ fumonisin 86 ตัวอย่าง T-2 toxin 51 ตัวอย่าง ochratoxin 63 ตัวอย่าง และ aflatoxin 105 ตัวอย่าง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้ คือ fumonisin 70.49% T-2 toxin 41.80% ochratoxin 63.63% และ aflatoxin 86.66% ตามลำดับ และสามารถตรวจพบเชื้อรา *Aspergillus* spp. *Penicillium* spp. *Mucor* spp. ฯลฯ นอกจากนี้ยังพบ *Fusarium* spp. ได้จากทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 5)

ทำการคัดเลือกเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ได้จากข้าวโพดที่มีสารพิษ fumonisin มากกว่า 4,000 ppb จำนวน 8 ตัวอย่าง (ตารางที่ 6) มาทำการจำแนกชนิด พบว่าเชื้อราสามารถเจริญบนอาหาร PDA และ PSA ลักษณะของโคโลนีมีทั้งฟูและเรียบคล้ายกำมะหยี่ อัตราการเจริญเติบโตและลักษณะของโคโลนีเมื่ออายุ 7 วัน และ 15 วัน แสดงในตารางที่ 7-8 และรูปภาพที่ 8-15 สามารถตรวจพบ microconidia ได้เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 10-14 วัน บนอาหาร PDA PSA และ CLA ไม่พบ macroconidia บนอาหารเลี้ยงเชื้อราดังกล่าว แต่สามารถพบได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา CSA เมื่ออายุประมาณ 30 วัน ไม่พบ chlamydospore และ sporodochium ตลอดการทดลอง

ลักษณะของ microconidia มีรูปร่างรูปไข่ (oval) ถึงรูปกระบอก (club-shaped) มี 1 เซลล์ โดยสร้างบน conidiophore แบบ monophialide macroconidia มีรูปร่างโค้งเล็กน้อยจนถึงเกือบตรง โดยมีด้านทั้งสองของ macroconidia ขนานกัน basal cell มีลักษณะเป็น foot shape มี 3-5 septate ลักษณะของ microconidia และ macroconidia ดังแสดงในรูปภาพที่ 8-15

วิจารณ์ผล

Booth (1971b) อธิบายลักษณะ (รูปภาพที่ 1) microconidia ของ *F. moniliforme* ว่ามีรูปร่างยาวรี (spindle) หรือรูปไข่ (oval) ลักษณะเป็นสาย (chain) จำนวนมากหรือน้อยมาก Macroconidia รูปร่างผอมยาว และมีรอยคอดที่ส่วนปลาย และมีฐาน (pedicellate) รูปร่างและสีคล้ายกับ Section Lateritium และมี scatered sporodochia หรือ pionnates สีขาวอมน้ำตาล (brownish-white) จนถึงส้มน้ำตาล (orange-cinnamon) ไม่พบ chlamydo-spores มี stroma สีขาวถึงม่วง ลักษณะ effuse หรือ erumpent และบางครั้งมี sclerota สีน้ำเงิน สารสี และลักษณะ สปอร์คล้ายกันกับกลุ่ม Lateritium แต่ *F. oxysporum* จะสร้าง chlamydo-spore และ microconidia จะไม่เกิดต่อกันเป็นสาย โดยจะสร้าง phialides ที่ไม่แตกแขนงบน conidiophore *F. moniliforme* แยกออกจาก *F. moniliforme* var *subglutinans* (*F. subglutinans*) ได้โดยลักษณะของ microconidia ของ *F. moniliforme* จะเป็น simple phialides และ มักเรียงตัวเป็นสาย ขณะที่ *F. moniliforme* var *subglutinans* เป็นแบบ polyphialides และไม่เรียงตัวเป็นสาย

Nelson และคณะ (1983) ได้จัดเชื้อรา *Fusarium* ที่เจริญบน PDA ได้เร็ว มี aerial mycelium สีขาว บางครั้งมีสีม่วงปน สีของโคโลนีสบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จะมีสีน้ำเงิน จนถึงสีม่วง สีของด้านหลังของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่มีสี จนถึงสีม่วงเข้ม ไว้ใน Section Liseola (*F. moniliforme* *F. proliferatum* *F. subglutinans* *F. anthophilum*) Section Elegans (*F. oxysporum*) และ Section Martiella and Ventricosum (*F. solani*) ภา ในแต่ละ Section มีรายละเอียดในรูปถ่าย ลักษณะ ขนาดของ macroconidia microconidia phialide และ conidiophore รวมทั้งการสร้าง หรือไม่สร้าง chlamydo-spore แตกต่างกันไป จากลักษณะโคโลนีของเชื้อรา รวมทั้งลักษณะของ microconidia และ macroconidia ของเชื้อราทั้ง 8 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษา จะคล้ายคลึงกับเชื้อราทั้ง 6 ชนิดนี้ แต่เชื้อรา Section Liseola เป็นกลุ่มที่ไม่สร้าง chlamydo-spore จากนี้ เชื้อรา *F. moniliforme* เพียงชนิดเดียวที่พบ monophialide ไม่สร้าง polyphialide เชื้อราทั้ง 8 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษาพบสีและลักษณะโคโลนีดังกล่าวข้างต้น การที่พบเพียง monophialide และไม่พบการสร้าง chlamydo-spore จึง อาจสรุปได้ว่า เชื้อราทั้ง 8 สายพันธุ์ข้างต้น จัดจำแนกเป็นรา *F. moniliforme* Sheldon

นอกจากนี้ ปิยะวดี (2533) ได้ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณนิษฐานวิทยาของเชื้อรา 15 ชนิด (species) ที่แยกได้ในประเทศไทย รายละเอียดของ *F. moniliforme* ตรงกับการศึกษาครั้งนี้ กล่าวคือไม่พบการสร้าง chlamydospore ลักษณะของ macroconidiophore เป็นแบบ monophialides ส่วน microconidiophore เป็นก้านเดี่ยว (monophialides) สร้าง microconidia เกิดต่อเป็นสาย (chain) microconidia มีรูปร่างรี ขนาด $1-3 \times 3-10 \mu\text{m}$ macroconidia ยาว ขนาด $1-3 \times 14-40 \mu\text{m}$ เซลล์กลางค่อนข้างตรงเกือบขนาน มีผนังบาง พบว่าเชื้อราทั้ง 8 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษาตรงกับลักษณะดังกล่าว

จากงานวิจัยการแยกเชื้อราที่สามารถสร้างสารพิษจากข้าวโพด ได้มีการศึกษาในประเทศเวเนซุเอลา (Raybaudi *et al.*, 2000) โดยใช้ตัวอย่างข้าวโพด จำนวน 50 ตัวอย่าง พบเชื้อรา *F. moniliforme* *F. oxysporum* *F. proliferatum* *Aspergillus* spp. *Penicillium* spp. etc. ซึ่งงานวิจัยดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยเรื่องนี้ คือ สามารถแยกเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้จากเมล็ดข้าวโพดเช่นกัน แต่แตกต่างกันที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เท่านั้น กล่าวคือ ได้ใช้ dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBCA) dichloran chloramphenicol peptone agar (DOPA) และ *Aspergillus flavus* and *parasiticus* agar (AFPA) แทน PCNB-peptone agar potato dextrose agar และ cornmeal agar

ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า เชื้อราทั้ง 8 สายพันธุ์นี้ คือ รา *F. moniliforme* Sheldon

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารพิษจากเชื้อราโดย Elisa test kit (Veratox™)
ที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวโพด 122 ตัวอย่าง

ลำดับ	รหัสตัวอย่าง	สารพิษจากเชื้อรา			
		Aflatoxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	T-2 toxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
1	2388	0.0	nd	0.0	3,500
2	3565	0.0	0.6	0.0	2,300
3	3653	1.1	1.5	7.5	0.0
4	3786	7.6	nd	36.1	0.0
5	3787	6.2	nd	24.4	0.0
6	3792	4.8	nd	0.0	1,500
7	3815	0.0	nd	33.0	4,400
8	3900	1.5	0.8	0.0	1,200
9	3901	9.3	0.5	8.0	11,000
10	3910	2.3	0.1	0.0	1,300
11	3911	18.7	0.7	1.0	1,500
12	3968	1.0	nd	3.0	700
13	3969	0.3	nd	0.0	0.0
14	3970	0.0	nd	0.0	300
15	3971	0.8	nd	45.7	2,300
16	3972	0.0	nd	0.0	200
17	3982	0.0	nd	0.0	0.0
18	4008	2.4	4.6	30.0	0.0
19	4038	19.0	0.6	0	0.0
20	4040	0.8	0.8	3.9	500
21	4042	38.1	0.5	1.9	2,800
22	4044	0.3	0.0	0.0	0.0
23	4066	0.4	nd	37.8	0.0
24	4067	1.0	nd	43.7	0.0
25	4068	19.0	nd	58.4	900
26	4069	5.0	nd	25.9	5,900
27	4070	8.0	nd	26.8	100

ตารางที่ 5 (ต่อ) แสดงปริมาณสารพิษจากเชื้อราโดย Elisa test kit (Veratox™) ที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวโพด 122 ตัวอย่าง

ลำดับ	รหัสตัวอย่าง	สารพิษจากเชื้อรา			
		Aflatoxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	T-2 toxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
28	4072	35.0	nd	21.4	12,000
29	4073	3.0	nd	11.7	7,900
30	4074	58.2	nd	15.9	500
31	4100	0.4	0.0	0.0	1,000
32	4103	0.3	0.0	43.1	1,400
33	4104	0.0	0.1	4.1	8,300
34	4107	78.3	0.3	0.6	1,200
35	4108	2.2	1.3	0.2	0.0
36	4109	1.1	3.0	0.0	0.0
37	4136	2.7	nd	0.0	0.0
38	4137	0.0	nd	0.0	1,000
39	4138	0.3	nd	0.0	300
40	4140	1.3	nd	0.0	0.0
41	4141	30.5	nd	13.6	400
42	4197	1.7	nd	0.2	0.0
43	4200	2.2	nd	0.0	2,000
44	4201	174.7	nd	0.0	0.0
45	4202	1.4	nd	0.0	0.0
46	4203	0.7	nd	0.0	100
47	4232	1.4	1.0	17.4	300
48	4233	70.0	0.9	8.5	0.0
49	4234	1.5	2.7	22.7	0.0
50	4235	27.2	1.5	12.4	1,700
51	4235	1.0	1.1	10.0	10,000
52	4236	0.6	2.7	20.0	500
53	4237	1.1	0.4	15.8	600
54	4255	1.2	3.0	11.6	500
55	4257	nd	1.8	3.7	200

ตารางที่ 5 (ต่อ) แสดงปริมาณสารพิษจากเชื้อราโดย Elisa test kit (Veratox™) ที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวโพด 122 ตัวอย่าง

ลำดับ	รหัสตัวอย่าง	สารพิษจากเชื้อรา			
		Aflatoxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	T-2 toxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
56	4258	5.9	0.4	10.0	600
57	4261	2.1	2.7	19.4	4,400
58	4262	1.2	1.1	25.8	17,800
59	4356	53.3	2.6	37.5	300
60	4357	338.7	4.5	39.2	0.0
61	4385	0.0	0.3	7.2	600
62	4387	5.0	1.5	6.0	900
64	4389	34.2	3.6	28.4	2,600
65	4390	0.0	2.6	11.2	5,200
66	4409	492.5	2.6	15.1	1,900
67	4411	0.0	3.7	67.0	0.0
68	4412	2.2	3.1	112.4	100
69	4419	226.5	0.0	40.3	800
70	4422	277.9	0.0	0.0	3000
71	4451	268.0	0.7	11.6	1,000
72	4452	115.6	1.2	6.4	1,100
73	4453	141.2	0.1	9.3	1,300
74	4454	2.8	0.2	11.3	200
75	4455	3.0	0.0	0.0	0.0
76	4456	92.8	0.0	60.3	1,500
77	4457	12.8	0.0	0.0	1,300
78	4458	0.9	0.0	0.0	1,200
79	4459	1.8	0.0	0.0	1,500
80	4460	1.6	0.0	0.0	2,400
81	4461	327.3	0.6	0.0	1,900
82	4491	5.6	1.1	0.0	1,400
83	4492	82.7	1.1	0.0	2,800
84	4493	69.4	0.0	0.0	1,100

ตารางที่ 5 (ต่อ) แสดงปริมาณสารพิษจากเชื้อราโดย Elisa test kit (Veratox™)
ที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวโพด 122 ตัวอย่าง

ลำดับ	รหัสตัวอย่าง	สารพิษจากเชื้อรา			
		Aflatoxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	T-2 toxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
85	4494	5.6	1.1	149.8	0.0
86	4496	5.9	0.0	70.5	1,000
87	4497	6.6	0.0	83.8	1,100
88	4498	6.3	0.0	0.0	400
89	4499	3.1	0.0	0.0	9,500
90	4500	29.8	0.0	0.0	4,200
91	4501	12.0	0.0	0.0	1,700
92	4502	129.0	0.0	0.0	300
93	4509	0.1	0.0	1.0	3,800
94	4510	1.8	0.0	2.5	300
95	4511	0.3	0.0	0.0	300
96	4512	0.0	0.0	0.0	0.0
97	4513	134.7	0.0	0.0	1,000
98	4514	11.5	1.5	0.0	2,300
99	4541	0.0	0.8	10.7	500
100	4542	0.0	0.2	26.5	800
101	4543	11.7	1.4	1.9	0.0
102	4544	0.5	0.0	0.0	0.0
103	4545	13.7	0.0	0.0	100
104	4549	201.4	0.0	0.0	1,300
105	4551	60.4	0.0	0.0	2,200
106	4552	1.0	0.0	0.0	2,600
107	4553	173.3	1.8	0.0	0.0
108	4644	2.0	1.7	0.0	0.0
109	4645	80.6	1.4	1.4	0.0
110	4646	147.8	1.8	0.0	0.0
111	4690	2.8	0.5	57.2	5,000
112	4691	5.5	4.3	66.4	2,100

ตารางที่ 5 (ต่อ) แสดงปริมาณสารพิษจากเชื้อราโดย Elisa test kit (Veratox™) ที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวโพด 122 ตัวอย่าง

ลำดับ	รหัสตัวอย่าง	สารพิษจากเชื้อรา			
		Aflatoxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	T-2 toxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
113	4692	1.6	4.8	10.8	700
114	4693	157.2	0.4	53.9	200
115	4694	0.3	0.4	2.9	500
116	4695	0.5	1.1	11.8	1,000
117	4724	12.9	0.2	0.0	0.0
118	4725	0.0	0.2	0.0	0.0
119	4726	0.5	1.0	0.0	0.0
120	4727	0.7	0.3	0.0	0.0
121	4728	14.4	1.2	0.0	0.0
122	2728	0.0	0.8	0.0	0.0
ตรวจพบ/จำนวนที่ตรวจ		105/122	63/99	51/122	86/122
คิดเป็น %		86.06	63.63	41.80	70.49

nd = not done

ค่า Limit of detection (LOD) ของสารพิษแต่ละชนิด คือ

fumonisin < 200 ppb, T-2 toxin < 30 ppb , ochratoxin < 1 ppb และ aflatoxin < 2 ppb.

ตารางที่ 6 รหัสตัวอย่างข้าวโพด 8 ตัวอย่างซึ่งพบเชื้อรา *Fusarium* spp. และพบสารพิษ fumonisin มากกว่า 4,000 ppb ที่ใช้ในการทดลอง

ตัวอย่าง ที่	รหัสตัวอย่าง	Aflatoxin (ppb)	T2-toxin (ppb)	Orchatoxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
1	4072	35.0	21.4	nd	12,000
2	4073	3.0	11.7	Nd	7,900
3	4104	0	4.1	0.1	8,300
4	4262	1.2	25.8	1.1	17,800
5	4390	0	11.2	2.6	5,200
6	4499	3.1	0	0	9,500
7	4500	29.8	0	0	4,200
8	4691	5.5	66.4	2.1	4,300

nd = not done

ค่า Limit of detection (LOD) ของสารพิษแต่ละชนิด คือ

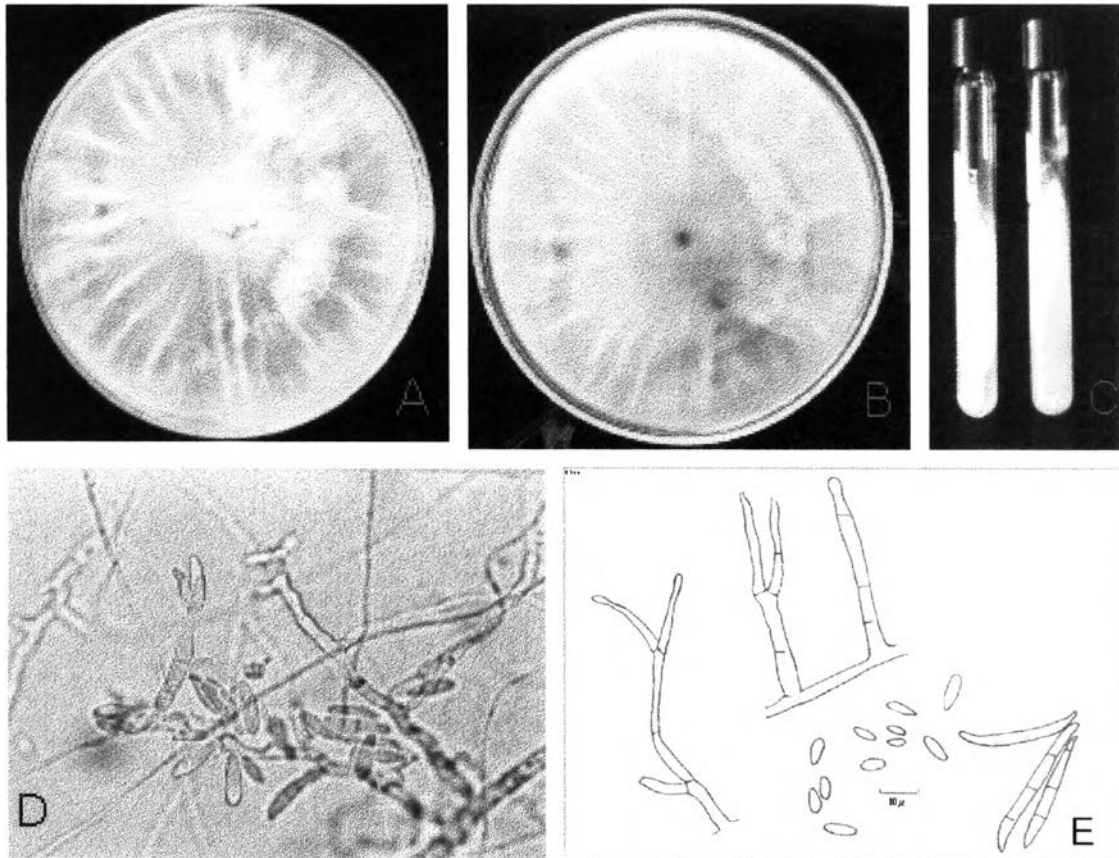
fumonisin < 200 ppb, T-2 toxin < 30 ppb , ochratoxin < 1 ppb และ aflatoxin < 2 ppb.

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบขนาดของ microconidia และ macroconidia ของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* Sheldon จำนวน 8 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษา

ตัวอย่าง ที่	รหัสตัวอย่าง	Microconidia		Macroconidia	
		กว้าง (um)	ยาว (um)	กว้าง (um)	ยาว (um)
1	4072	1.3 – 3.3	4.67 – 10.00	2.6 – 3.3	30.00 – 40.00
2	4073	1.3 – 2.6	4.67 – 7.33	1.3 – 2.6	24.67 – 34.00
3	4104	1.3 – 2.0	3.33 – 10.67	2.0 – 2.6	20.00 – 40.67
4	4262	1.3 – 3.3	3.33 – 8.00	2.0 – 3.3	14.00 – 14.67
5	4390	1.3 – 2.6	4.67 – 7.33	2.0 – 2.6	14.67 – 30.00
6	4499	1.3 – 2.0	3.33 – 8.67	2.0 – 2.6	16.67 – 32.00
7	4500	1.3 – 2.0	4.00 – 8.00	2.0 – 2.6	28.00 – 33.33
8	4691	2.0 – 2.6	5.33 – 8.67	2.6 – 3.3	14.00 – 27.33

ตารางที่ 8 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่จำแนก เมื่อเลี้ยงบน Potato Dextrose Agar (PDA)

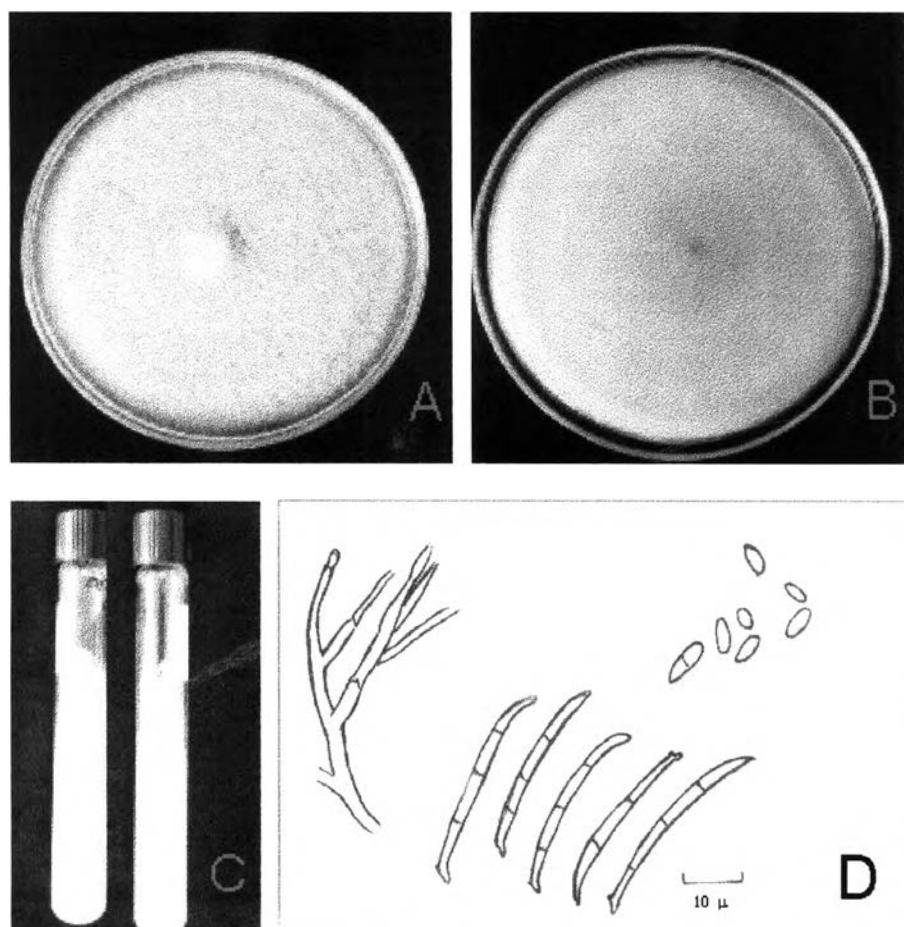
ลำดับ ที่	รหัสตัวอย่าง	ขนาดของโคโลนี เมื่ออายุ 7 วัน (ซ.ม)	ลักษณะโคโลนี บน PDA เมื่ออายุ 7 วัน
1.	4072	7.0	โคโลนีคล้ายกำมะหยี่สีครีม ตรงกลางสร้างเส้นใยสีขาว ปนม่วง ด้านใต้จานเลี้ยงเชื้อมีสีครีมปนม่วง มีจุดม่วงอยู่บางพื้นที่ ของจานเลี้ยงเชื้อ
2.	4073	6.4	โคโลนีคล้ายกำมะหยี่ สร้างเส้นใยฟูสีชมพูอมม่วง ด้านใต้จานเลี้ยงเชื้อมีสีครีมปนม่วง
3.	4104	5.7	โคโลนีฟูสีขาวปนม่วงสด มีเส้นใยแผ่โดยรอบ ด้านใต้จานเลี้ยงเชื้อสีครีม มีรัศมีสีม่วงเข้ม กระจายรอบ
4.	4262	6.5	โคโลนีคล้ายกำมะหยี่ลักษณะฟู ตรงกลางสีขาว ล้อม รอบด้วยสีม่วงเข้ม ด้านนอกสุดสีจางลงจากม่วง จนถึง ชมพู ด้านใต้จานเลี้ยงเชื้อมีพื้นสีชมพู ถึงม่วง มีรัศมีสีม่วง เข้มกระจายรอบ
5.	4390	7.5	โคโลนีคล้ายกำมะหยี่สีขาวปนชมพูอมสีน้ำตาล ตรง กลางสร้างเส้นใยฟูสีขาว. ด้านใต้จานเลี้ยงเชื้อเหมือนสีด้านหน้า ตรงกลางมีสีม่วง เข้ม
6.	4499	9.0	โคโลนีลักษณะฟูคล้ายกำมะหยี่ ตรงกลางนูน มีเส้นใยสี ขาวยาว ล้อมด้วยสีชมพู จนถึงม่วง ด้านนอกสุดสีชมพู ด้านใต้จานเลี้ยงเชื้อสีครีม ถึงชมพู หรือ มีรัศมีสีม่วง
7.	4500	6.0	โคโลนีลักษณะฟู สีม่วงสด เปลี่ยนจากขาวเป็น ม่วงสด ถึงม่วงคล้ำ ด้านใต้จานเลี้ยงเชื้อมีสีครีม มีรัศมีเป็นแฉกสีม่วง
8.	4691	6.2	โคโลนีลักษณะฟู เป็นวงตรงกลางล้อมด้วยสีขาว ล้อม อีกชั้นด้วยสีม่วงถัดออกไปเป็นสีขาวอมชมพูน้ำตาลอ่อน ด้านใต้จานเลี้ยงเชื้อมีสีชมพู มีสีม่วงล้อมเป็นชั้น และ เป็นแฉก



รูปภาพที่ 8

เชื้อรา *Fusarium moniliforme* รหัส 4072 (ตัวอย่างที่ 1)

- A) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- B) ลักษณะด้านหลังของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- C) ลักษณะของโคโลนีบน PDA slant อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- D) ภาพ conidiophores, phialides และ young conidia (X400)
- E) ภาพวาด conidiophores, phialides, macroconidia และ microconidia จาก camera lucida



รูปภาพที่ 9

เชื้อรา *Fusarium moniliforme* รหัส 4073 (ตัวอย่างที่ 2)

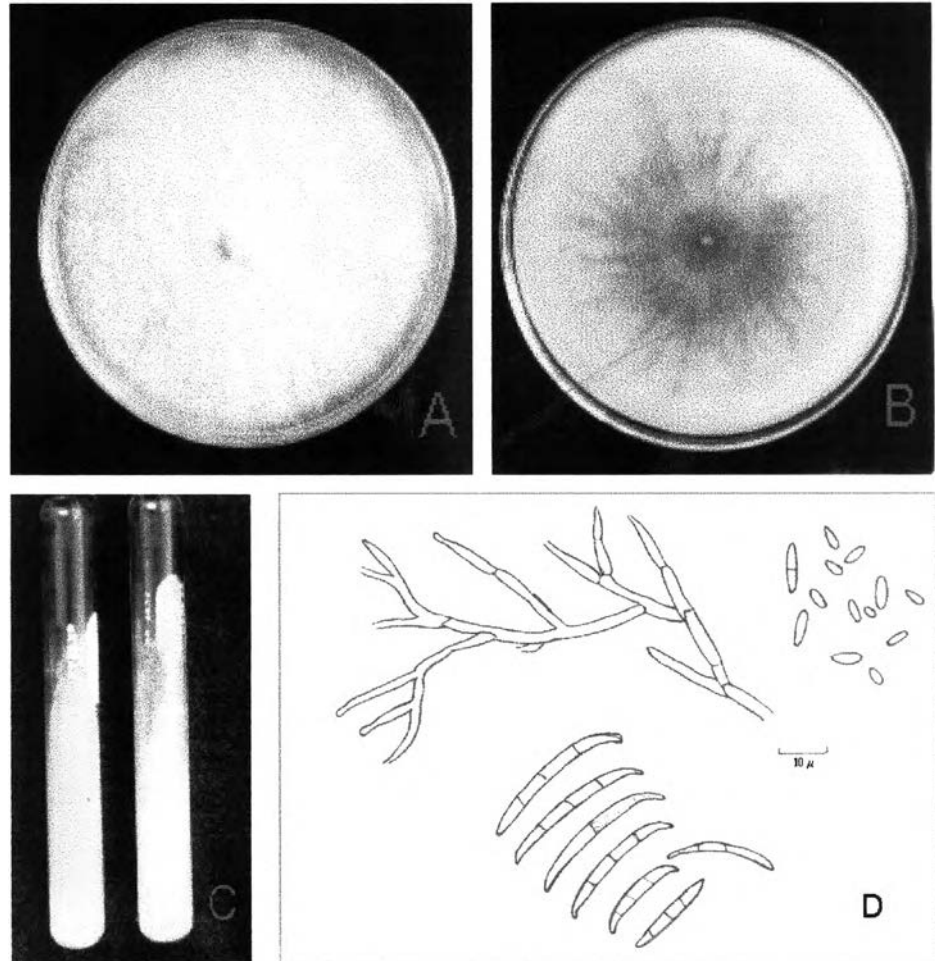
A) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C

B) ลักษณะด้านหลังของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C

C) ลักษณะของโคโลนีบน PDA slant อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C

D) ภาพวาด conidiophores, phialides, macroconidia และ microconidia

จาก camera lucida



รูปภาพที่ 10

เชื้อรา *Fusarium moniliforme* รหัส 4104 (ตั้งอย่างที่ 3)

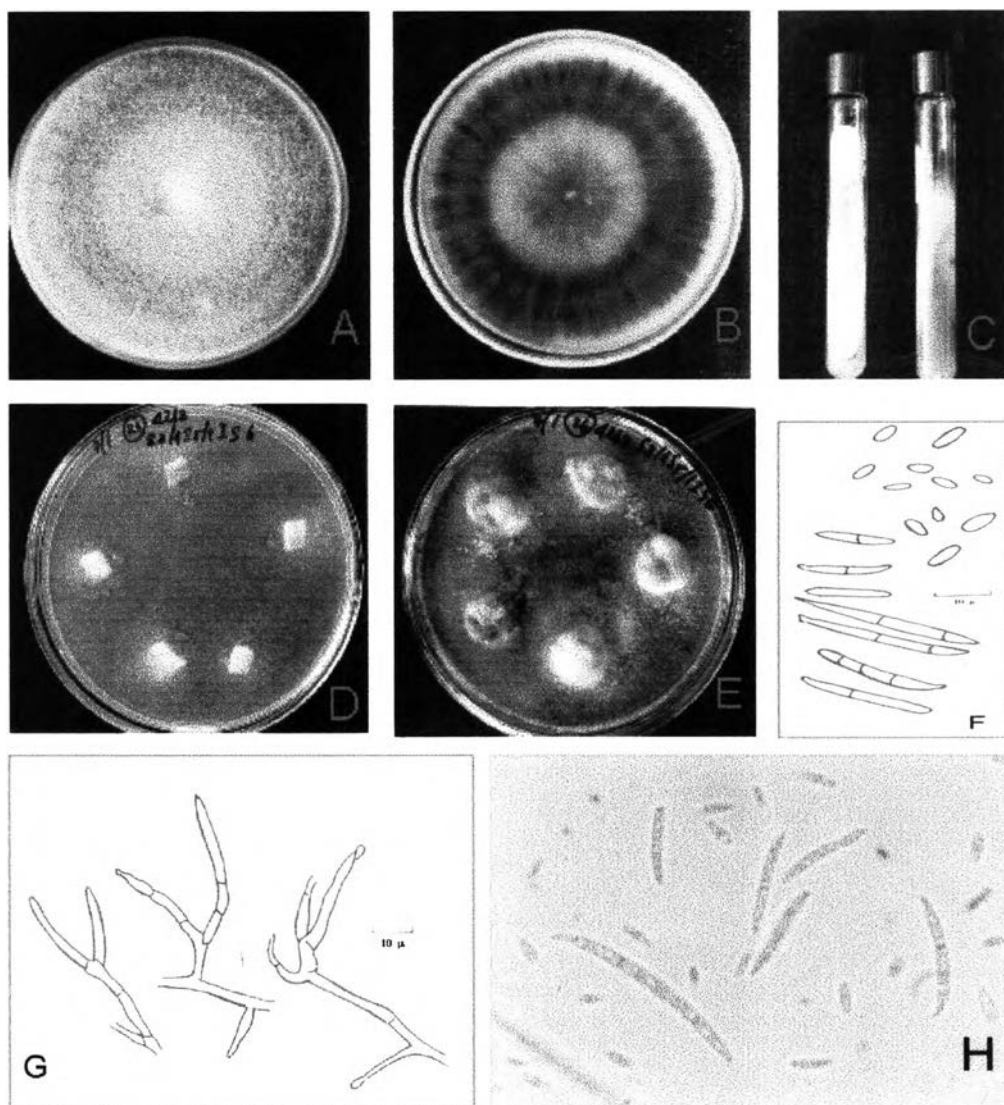
A) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30°C

B) ลักษณะด้านหลังของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30°C

C) ลักษณะของโคโลนีบน PDA slant อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30°C

D) ภาพวาด conidiophores, phialides, macroconidia และ microconidia

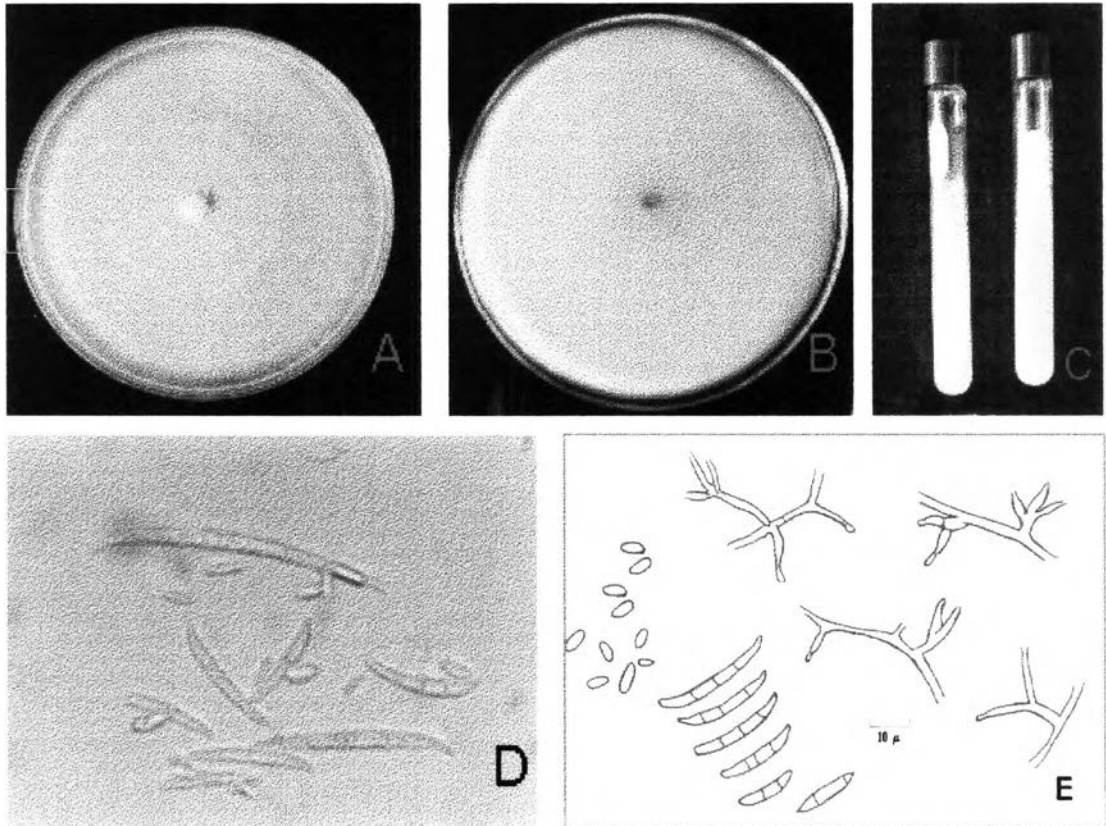
จาก camera lucida



รูปภาพที่ 11

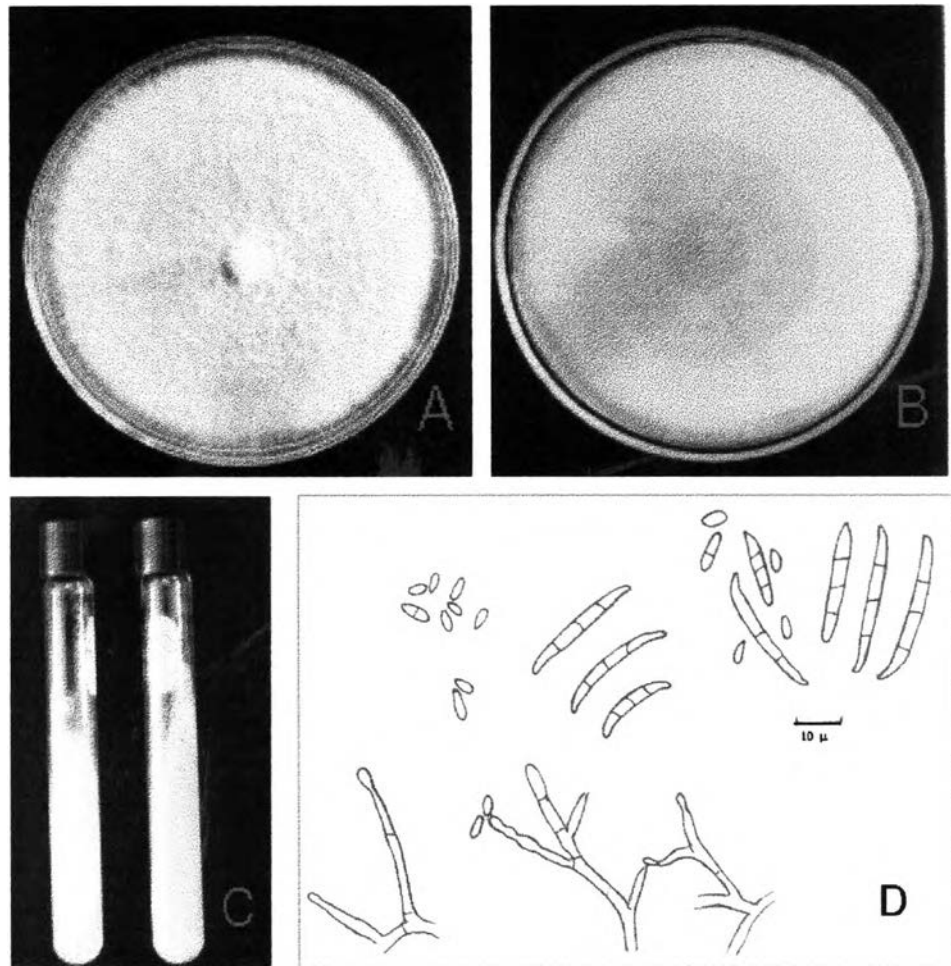
เชื้อรา *Fusarium moniliforme* รหัส 4262 (ตัวอย่างที่ 4)

- A) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- B) ลักษณะด้านหลังของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- C) ลักษณะของโคโลนีบน PDA slant อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- D) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน CLA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- E) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน CSA อายุ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- F) ภาพวาดของ microconidia และ macroconidia จาก camera lucida
- G) ภาพวาด conidiophores, phialides และ young conidia จาก camera lucida
- H) ภาพถ่ายของ microconidia และ macroconidia (X400)



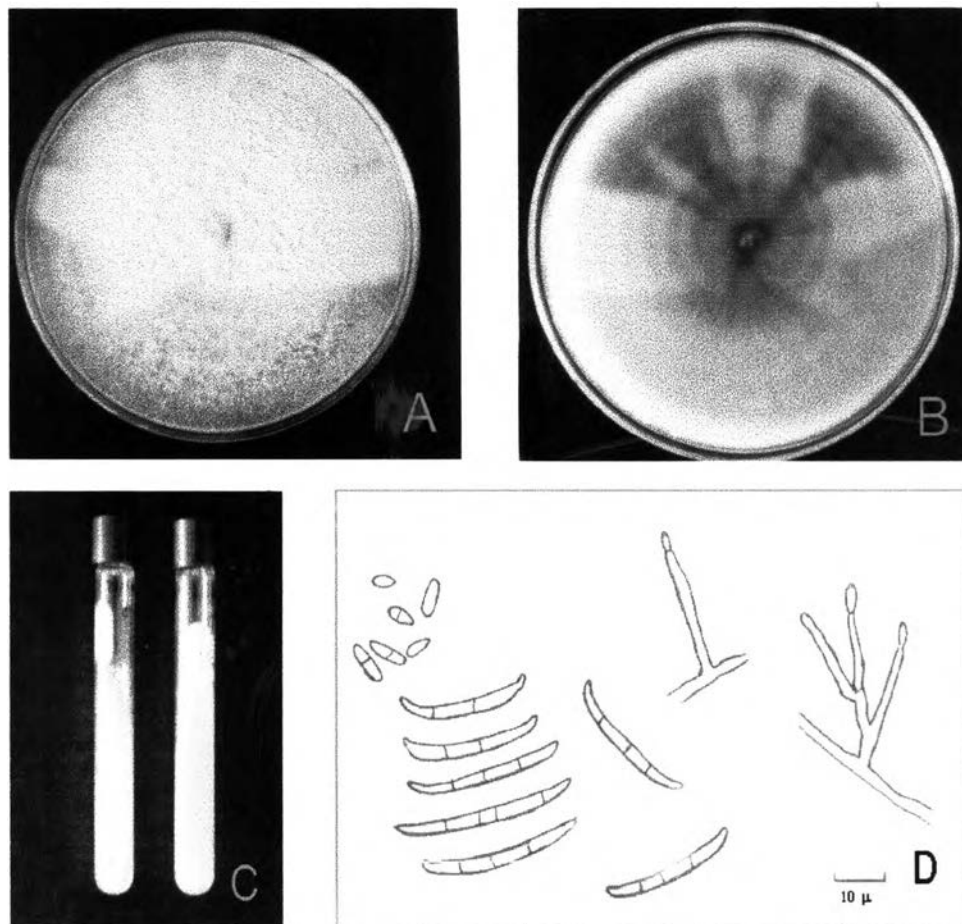
รูปภาพที่ 12 เชื้อรา *Fusarium moniliforme* รหัส 4390 (ตัวอย่างที่ 5)

- A) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 B) ลักษณะด้านหลังของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 C) ลักษณะของโคโลนีบน PDA slant อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 D) ภาพถ่ายของ microconidia และ macroconidia (X 1000)
 E) ภาพวาด conidiophores, phialides, macroconidia และ microconidia จาก camera lucida



รูปภาพที่ 13 เชื้อรา *Fusarium moniliforme* รหัส 4499 (ตัวอย่างที่ 6)

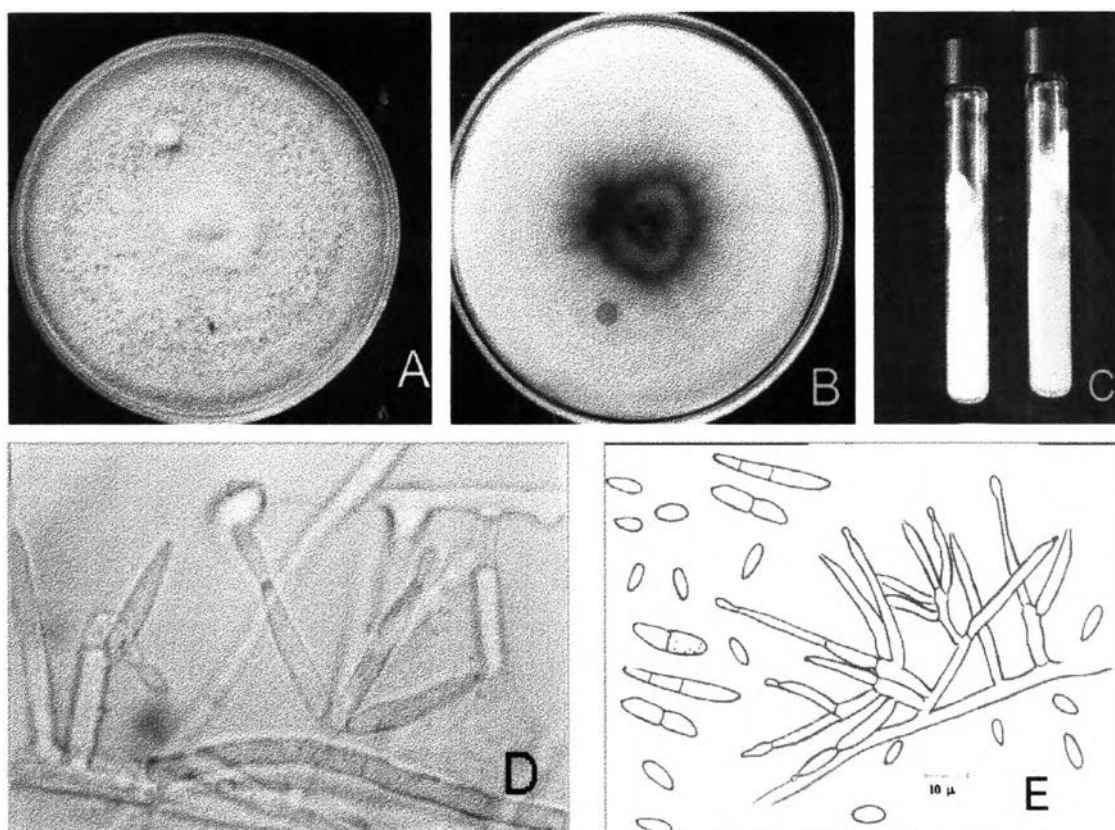
- A) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีสบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 B) ลักษณะด้านหลังของโคโลนีสบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 C) ลักษณะของโคโลนีสบน PDA slant อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 D) ภาพวาด conidiophores, phialides, macroconidia และ microconidia จาก camera lucida



รูปภาพที่ 14

เชื้อรา *Fusarium moniliforme* รหัส 4500 (ตัวอย่างที่ 7)

- A) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 B) ลักษณะด้านหลังของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 C) ลักษณะของโคโลนีบน PDA slant อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
 D) ภาพวาด conidiophores, phialides, macroconidia และ microconidia จาก camera lucida



รูปภาพที่ 15 เชื้อรา *Fusarium moniliforme* รหัส 4691 (ตัวอย่างที่ 8)

- A) ลักษณะด้านหน้าของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- B) ลักษณะด้านหลังของโคโลนีบน PDA อายุ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- C) ลักษณะของโคโลนีบน PDA slant อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28 – 30 °C
- D) ภาพ conidiophores, phialides และ young conidia
- E) ภาพวาด conidiophores, phialides, macroconidia และ microconidia จาก camera lucida

4.2 การศึกษาความสามารถของเชื้อรา *Fusarium spp.* ในการสร้างสารพิษ เมื่อนำไปเลี้ยงบนข้าวโพดอาหารสัตว์

ผลการทดลอง

ตารางที่ 9 ทำการทดสอบการสร้างสารพิษของเชื้อราจำนวน 8 ตัวอย่าง โดยเริ่มเลี้ยงเชื้อราในสภาวะอากาศผ่านเข้าออกสะดวก (aerobic condition : A) และจำกัดการเข้าออกของอากาศ (semi-aerobic condition : S) ดังที่แสดงไว้ในตาราง นาน 35 วัน ทำการตรวจหาระดับสารพิษในข้าวโพดด้วยชุดตรวจหาสารพิษสำเร็จรูป จากการทดลองพบว่า เชื้อราตัวอย่างที่ 1-4 พบสารพิษ aflatoxin ในระดับ 1.4 2.2 2.1 และ 1.4 ppb ตามลำดับ เชื้อราตัวอย่างที่ 2 6 7 และ 8 พบ สารพิษ T-2 toxin ในระดับ 40.9 0.3 38.7 และ 36.7 ppb ตามลำดับ เชื้อราตัวอย่างที่ 2 5 6 และ 8 พบสารพิษ ochratoxin ในระดับ 1.5 0.2 11.6 และ 5.1 ppb ตามลำดับ และเชื้อราตัวอย่างที่ 1-8 พบสารพิษ fumonisin ในระดับ 3,600 28,000 1,100 5,600 18,900 600 200 และ 0 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อราตัวอย่างที่ 1-4 โดยมีข้าวโพดปลอดเชื้อราชุดเดียวกันกับชุดที่นำมาเลี้ยงเชื้อราเป็นชุดควบคุม (control) พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อรานาน 35 วัน ตรวจพบสารพิษจากเชื้อราดังต่อไปนี้คือ ในตัวอย่างที่ 1-4 และ control พบสารพิษ aflatoxin ในปริมาณ 0 0.9 1.3 1.9 และ 1.5 ppb ตามลำดับ พบสารพิษ ochratoxin ในปริมาณ 0.7 2.5 1.2 1.8 และ 0.2 ppb ตามลำดับ และพบสารพิษ fumonisin ในปริมาณ 2,800 3,300 1,900 3,700 และ 200 ppb ตามลำดับ ทุกตัวอย่างไม่พบสารพิษ T-2 toxin เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อราต่อจนอายุได้ 49 วัน จึงทำการทดสอบหาสารพิษจากเชื้อราอีกครั้ง พบว่าในตัวอย่างที่ 1-4 และ control มี aflatoxin ในปริมาณ 0.6 10 1.7 0 และ 1.5 ppb ตามลำดับ มี T-2 toxin ในปริมาณ 0 0 15 0 และ 3.7 ppb ตามลำดับ มี ochratoxin ในปริมาณ 0.2 0.4 1.3 0.3 และ 0 ppb ตามลำดับ มี fumonisin ในปริมาณ 2,000 0 1,400 1,700 และ 300 ppb ตามลำดับ

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ในสภาพที่แตกต่างกัน ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 35 วัน

ตัวอย่าง ที่	Aflatoxin (ppb)	T2-toxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	Fumonisin (ppb)	เงื่อนไขภาวะ ขณะเลี้ยง
1	1.4	0	0	3,600	S
2	2.2	40.9	1.5	2,800	A
3	2.1	0	0	1,100	S
4	1.4	0	0	5,600	A
5	0	0	0.2	18,900	S
6	0	0.3	11.6	600	S
7	0	38.7	0	200	S
8	0	36.7	5.1	0	A

A = aerobic condition S = semi-aerobic condition

ค่า Limit of detection (LOD) ของสารพิษแต่ละชนิด คือ

fumonisin < 200 ppb, T-2 toxin < 30 ppb , ochratoxin < 1 ppb และ aflatoxin < 2 ppb.

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อรา

Fusarium moniliforme ด้วยสภาพ semi-aerobic condition

ตัวอย่าง ที่	เพาะเลี้ยงนาน 35 วัน				เพาะเลี้ยงนาน 49 วัน			
	Aflatoxin (ppb)	T2-toxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	Fumonisin (ppb)	Aflatoxin (ppb)	T2-toxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
1	0	0	0.7	2800	0.6	0	0.2	2,600
2	0.9	0	2.5	3300	1.0	0	0.4	0
3	1.3	0	1.2	1900	1.7	15.0	1.3	1,400
4	1.9	0	1.8	3700	0	0	0.3	1,700
Control *	1.5	0	0.2	200	1.5	3.7	0	300

* ข้าวโพดปลอดเชื้อราชุดเดียวกับที่นำมาเลี้ยงเชื้อรา

ค่า Limit of detection (LOD) ของสารพิษแต่ละชนิด คือ

fumonisin < 200 ppb, T-2 toxin < 30 ppb , ochratoxin < 1 ppb และ aflatoxin < 2 ppb.

จากตารางที่ 11 ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษจากเชื้อราข้าว เป็นการทดลองซ้ำที่ 3 จึงเลือกมาทำการทดสอบเพียง 2 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่สามารถสร้าง fumonisin ได้สูงสุด 2 อันดับแรก คือ ตัวอย่างที่ 1 และ 4 (ดังแสดงไว้ในตารางที่ 10) ในการทดลองครั้งนี้ได้นำเอาลำดับของการถ่ายเชื้อ (Subculture) มาเป็นข้อมูลที่ทำการศึกษาด้วย จากการทดลอง พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อรานาน 14 วัน เชื้อราตัวอย่างที่ 1 subculture 4/3 สามารถสร้างสารพิษทั้ง fumonisin และ T-2 toxin ได้สูงกว่า subculture 4/1 เชื้อราตัวอย่างที่ 4 subculture 3/4-I สามารถสร้างสารพิษ fumonisin ได้สูงสุดถึง 26,900 ppb แต่ไม่สร้างสารพิษ T-2 toxin เชื้อราตัวอย่างที่ 4 subculture 3/3 สามารถสร้างสารพิษ fumonisin ได้รองลงมา คือ 14,800 ppb และไม่สร้างสารพิษ T-2 toxin ส่วนเชื้อราตัวอย่างที่ 4 subculture 3/2 และ 3/4-II สร้างได้ทั้งสารพิษ fumonisin และ T-2 toxin ได้ระดับใกล้เคียงกัน โดยสร้างสารพิษ fumonisin 12,300 และ 10,400 ppb สารพิษ T-2 toxin 1.9 และ 7.9 ppb ตามลำดับ สำหรับตัวอย่าง subculture 3/1 และ 3/4-III สามารถสร้างสารพิษได้ต่ำสุด คือ สารพิษ fumonisin 3,100 และ 2,300 ppb ตามลำดับ และไม่สร้างสารพิษ T-2 toxin

ได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราตัวอย่างที่ 4 ถ่ายเชื้อครั้งที่ 3 / 4 ต่อจนเชื้อรา มีอายุ 35 วัน ในสภาวะ semiaerobic พบว่า subculture ทั้งสาม สามารถสร้างสารพิษ fumonisin และ T-2 toxin ได้ดังนี้คือ สารพิษ fumonisin ในปริมาณ 99,100 28,500 และ 13,000 ppb ตามลำดับ สารพิษ T-2 toxin ในปริมาณ 28.3 16.2 และ 28.3 ppb ตามลำดับ ส่วนสารพิษ aflatoxin มีในระดับต่ำมาก คือ 0 1 0 และ 0 ppb ตามลำดับ และสารพิษ ochratoxin 2.4 1.4 และ 1.8 ppb ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำเช่นกัน



ตารางที่ 11 ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสารพิษของเชื้อรา
Fusarium moniliforme ที่ให้สารพิษ fumonisin สูงสุด 2 อันดับแรก
 ใน semi-aerobic condition

ระยะเวลาเพาะเลี้ยง		14 วัน				35 วัน			
ตัวอย่าง (รหัส)	ถ่ายเชื้อ ครั้งที่ / plate ที่	Aflatoxin (ppb)	T2-toxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	Fumonisin (ppb)	Aflatoxin (ppb)	T2-toxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
1 (4072)	4/1	0	0	0	1,200	nd	nd	nd	nd
	4/3	0.8	7.2	0.7	3,200	nd	nd	nd	nd
4 (4262)	3/1	0	0	2.2	3,100	nd	nd	nd	nd
	3/2	0	1.9	0	12,300	nd	nd	nd	nd
	3/3	0	0	4.4	14,800	nd	nd	nd	nd
	3/4-I	0.8	0	0.7	26,900	0.1	28.3	2.4	99,100
	3/4-II	0.6	7.9	0.1	10,400	0	16.2	1.4	28,500
	3/4-III	1.1	0	0	2,300	0	28.3	1.8	13,000

nd = not done

ค่า Limit of detection (LOD) ของสารพิษแต่ละชนิด คือ

fumonisin < 200 ppb, T-2 toxin < 30 ppb , ochratoxin < 1 ppb และ aflatoxin < 2 ppb.

วิจารณ์ผล

จากตารางที่ 9 พบว่าเชื้อราทุกตัวสามารถสร้างสารพิษ fumonisin ได้ ยกเว้นตัวอย่างที่ 8 เชื้อราที่สร้างสารพิษ fumonisin ได้ต่ำ คือ ตัวอย่างที่ 6 และ 7 ซึ่งการพบสารพิษ fumonisin ในระดับต่ำ เกิดจากการที่ตัวอย่างทั้งสองมีความสามารถในการสร้างสารพิษ fumonisin ต่ำ โดยทั่วไปแล้ว ในการรายงานผลการทดสอบสารพิษจากเชื้อราด้วยชุดทดสอบสารพิษ (ELISA test kit) นั้น ถ้าตรวจพบสารพิษในปริมาณต่ำกว่าค่า limit of detection (LOD) จะรายงานผลว่าไม่พบสารพิษตัวนั้น โดยมีค่า LOD ของ aflatoxin น้อยกว่า 2 ppb T-2 toxin น้อยกว่า 30 ppb ochratoxin น้อยกว่า 1 ppb และ fumonisin น้อยกว่า 200 ppb แต่ในการทดลองนี้ต้องการแสดงให้เห็นถึงการแปรผันของค่าที่วัดได้ให้ชัดเจนยิ่งขึ้น จึงรายงานผลการทดสอบที่ได้ค่าต่ำกว่าค่า LOD เป็นตัวเลขด้วย

จากตารางที่ 10 พบว่าสารพิษ fumonisin ที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ 1-4 สูงกว่าที่ตรวจพบในชุดควบคุมมาก แสดงว่า ตัวอย่างเชื้อราทั้ง 4 ตัวอย่าง มีความสามารถในการสร้างสารพิษ fumonisin ได้ในระดับสูงจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราในครั้งนี้ การพบสารพิษ T-2 toxin และ ochratoxin สูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อเลี้ยงนาน 49 วัน ในตัวอย่างที่ 3 และชุดควบคุมอาจเป็นเพราะความคาดเคลื่อนในขั้นตอนการตรวจหาสารพิษจากเชื้อราได้ แต่อย่างไรก็ตามค่าที่ได้ยังต่ำกว่าค่า LOD แสดงว่า ไม่พบสารพิษสองตัวนี้หลังจากเลี้ยงไปนาน 49 วัน สารพิษ aflatoxin มีระดับเปลี่ยนแปลงไม่มาก เมื่อเลี้ยงนาน 35 และ 49 วัน แสดงว่า ไม่มีการสร้างสารพิษ aflatoxin

ดังนั้น สรุปผลการทดลองในตารางที่ 9 และ 10 พบว่า เชื้อราตัวอย่างที่ 1-5 มีความสามารถในการสร้างสารพิษ fumonisin เมื่อเลี้ยงเชื้อรานาน 35 วัน ปริมาณสารพิษ fumonisin ที่ได้จะอยู่ในปริมาณสูง คือ 1,100-18,900 ppb แต่อย่างไรก็ดีการเลี้ยงนานถึง 49 วัน อาจพบสารพิษ fumonisin ในระดับที่ต่ำลงหรือสูงขึ้นได้ ปริมาณสารพิษ aflatoxin และ ochratoxin มีปริมาณต่ำมากเกือบทุกตัวอย่าง ยกเว้นตัวอย่างที่ 1 และ 8 แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อรา *Aspergillus flavus* หรือ *Aspergillus ochraceus* ที่สามารถสร้างสารพิษได้ในตัวอย่างเกือบทุกตัวอย่างในการทดลอง 2 ครั้งนี้ จากการสังเกตลักษณะเส้นใยของเชื้อราพบว่า เส้นใยจะเจริญดีจนถึงอายุประมาณ 30 วัน จากนั้นจะยุบตัวลง แสดงว่าอัตราการเจริญเติบโตของ

เชื้อราลดลงมากในระยะเวลาสั้น ดังนั้นในการทดลองถัดไปจึงทำการเลือกเชื้อราตัวที่มีความสามารถในการสร้างสารพิษ fumonisin ได้สูงในระยะเวลาการเลี้ยงประมาณ 30 วัน มาทำการศึกษาต่อ เพื่อใช้ระยะเวลาในการทำการทดลองสั้นลง และได้สารพิษในปริมาณสูง

จากตารางที่ 11 ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการสร้างสารพิษของเชื้อราที่สามารถสร้าง fumonisin ได้สูงสุด ตัวอย่างที่ 1 และ 4 ในสภาวะ semi-aerobic เพื่อเป็นการทดลองซ้ำ พบว่าปริมาณสารพิษ aflatoxin และ ochratoxin มีปริมาณต่ำมากในทุกตัวอย่าง แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่สามารถสร้างสารพิษเหล่านี้ในการทดลองสองครั้งนี้ เชื้อราทุกตัวอย่างที่นำมาทดลองสามารถสร้างสารพิษ fumonisin ได้ โดยที่ตัวอย่างที่ 4 ถ่ายเชื้อครั้งที่ 3/4 plate ที่ I (เชื้อรารหัส 4262 subculture 3/4-I) เป็นเชื้อรา *F. moniliforme* ที่สามารถสร้างสารพิษ fumonisin ได้สูงสุดในปริมาณ 26,900 และ 99,100 ppb เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 14 และ 35 วัน ตามลำดับ แสดงว่าเชื้อราตัวอย่างดังกล่าวสามารถสร้างสารพิษ fumonisin ได้สูงขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงอายุ 35 วัน นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อราตัวอย่างที่ 4 subculture 3/4 นานถึง 35 วัน จะพบสารพิษ ochratoxin และ T-2 toxin ในตัวอย่างทุกตัวอย่าง ในขณะที่เมื่อเลี้ยงเพียง 14 วัน พบระดับสารพิษ T-2 toxin ในระดับต่ำมาก แสดงว่าถ้าทำการเลี้ยงเชื้อรานานขึ้น โอกาสที่เชื้อราจะสร้างสารพิษ ochratoxin และ T-2 toxin ก็มีสูงขึ้นด้วย จากการตรวจเอกสารที่มีการทำการทดลองไว้แล้ว ไม่พบว่า เชื้อรา *F. moniliforme* ที่มีความสามารถสร้างสารพิษ fumonisin จะมีความสามารถในการสร้างสารพิษ T-2 toxin ได้ด้วย ฉะนั้นคงจะต้องมีการศึกษาต่อไปว่ามีการปนเปื้อนเชื้อรา *Fusarium* spp. ชนิดอื่น ๆ ในเชื้อที่เก็บรักษาไว้ (seed) หรือ มีการสร้างสารพิษทั้งสองกลุ่มโดยเชื้อ *F. moniliforme* รหัส 4262

4.3 การศึกษาผลของสารพิษจากเชื้อราที่เลี้ยงบนข้าวโพด ต่อไก่เนื้ออายุ 1-25 วัน

ผลการทดลอง

ผลการตรวจหาโภชนะ และปริมาณสารพิษจากเชื้อรา ในหัวอาหารไก่ ไข่ ข้าวโพดอบ ข้าวโพดเลี้ยงเชื้อรา อาหารทดลอง และอาหารควบคุม (ตารางที่ 12) พบว่าทั้งอาหารควบคุม และอาหารทดลองมี โปรตีน ความชื้น เกลือ เถ้า แคลเซียม และ ฟอสฟอรัส โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์อยู่ในระดับใกล้เคียงกัน ผลการตรวจหาปริมาณสารพิษจากเชื้อรา (ตารางที่ 13) พบว่า อาหารควบคุม มี aflatoxin 10.5 ppb ochratoxin 0 ppb T-2 toxin 7.9 ppb และ fumonisin 0 ppb อาหารทดลองมี aflatoxin 5.3 ppb ochratoxin 0 ppb T-2 toxin 56.5 ppb และ fumonisin 1,200 ppb

ผลการชั่งน้ำหนักตัวไก่ เมื่ออายุ 5 10 15 และ 25 วัน บันทึกปริมาณอาหารที่ไก่กินทุกวัน นำมาคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร (FCR) จากตารางที่ 14 และรูปภาพที่ 16-17 พบว่า เมื่ออายุ 5 10 15 และ 25 วัน ไก่กลุ่มควบคุม กินอาหารได้ 14.2 24.3 47.4 และ 104.0 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับน้ำหนักตัว 90.3 177.2 312.5 และ 498.4 ตามลำดับ มีค่า FCR 0.63 0.69 0.76 และ 2.09 ตามลำดับ ไก่กลุ่มทดลองกินอาหารได้ 15.36 29.32 54.52 และ 118.90 กรัม/ตัว/วันน้ำหนักตัว 86.8 168.1 288.5 และ 501.8 กรัม ตามลำดับ มีค่า FCR 0.71 0.87 0.94 และ 2.37 ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะภายในของไก่ อันได้แก่ ตับ ม้าม และ ต่อมเบอริช่า โดยการใช้โปรแกรม คำนวณทางสถิติ SPSS (แสดงไว้ในตารางที่ 15) พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะของกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง ที่อายุ 5 10 และ 25 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ที่อายุ 15 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือ น้ำหนักสัมพัทธ์ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง มีค่า 3.03 ± 0.46 และ 3.97 ± 0.53 ตามลำดับ สำหรับน้ำหนักสัมพัทธ์ของม้าม และต่อมเบอริช่า ไม่พบความแตกต่างกันตลอดการทดลอง

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบปริมาณโภชนะของข้าวโพด และอาหารไก่เนื้อ

ตัวอย่าง	% ความชื้น	% โปรตีน	% เกลือ	% ไขมัน	% แคลเซียม	% ฟอสฟอรัส
หัวอาหารไก่ไข่	7.0	39.8	nd	15.2	4.6	1.7
ข้าวโพดอบ	10.5	6.9	nd	nd	nd	nd
ข้าวโพดเลี้ยงเชื้อรา	7.8	9.1	nd	nd	nd	nd
อาหารควบคุม	8.5	20.8	0.3	7.1	0.8	0.8
อาหารทดลอง	8.1	20.8	0.3	6.5	0.8	0.7

nd = not done

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบปริมาณสารพิษจากเชื้อราของข้าวโพด และอาหารไก่เนื้อ

ตัวอย่าง	Aflatoxin (ppb)	Ochratoxin (ppb)	T2-toxin (ppb)	Fumonisin (ppb)
หัวอาหารไก่ไข่	6.0	0	0	100
ข้าวโพดอบ	7.5	0	7.1	200
ข้าวโพดเลี้ยงเชื้อรา	6.3	0.8	36.1	2,100
อาหารควบคุม	10.5	0	7.9	0
อาหารทดลอง	5.3	0	56.5	1,200

ค่า Limit of detection (LOD) ของสารพิษแต่ละชนิด คือ

fumonisin < 200 ppb, T-2 toxin < 30 ppb , ochratoxin < 1 ppb และ aflatoxin < 2 ppb.

ตารางที่ 14 ผลของสารพิษจากเชื้อราต่ออัตราการแลกเนื้อของไก่เนื้อ

อายุ วัน	จำนวนไก่ (ตัว)		อาหาร/ตัว/วัน (กรัม)		น้ำหนักตัว (กรัม)		FCR	
	ควบคุม	ทดลอง	ควบคุม	ทดลอง	ควบคุม	ทดลอง	ควบคุม	ทดลอง
5	66	66	14.2	15.3	90.3	86.8	0.6	0.7
10	48	46*	24.3	29.3 ^a	177.2	168.1	0.6	0.8
15	30	28	47.4	54.5 ^a	312.5	288.5	0.7	0.9
25	12	10	104.0	118.9 ^a	498.4	501.9	2.0	2.3

* ตายระหว่างการทดลอง 2 ตัว

a = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 15 ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อน้ำหนักสัมพัทธ์ของ ตับ ม้าม และ ต่อมเบอริชซ่า

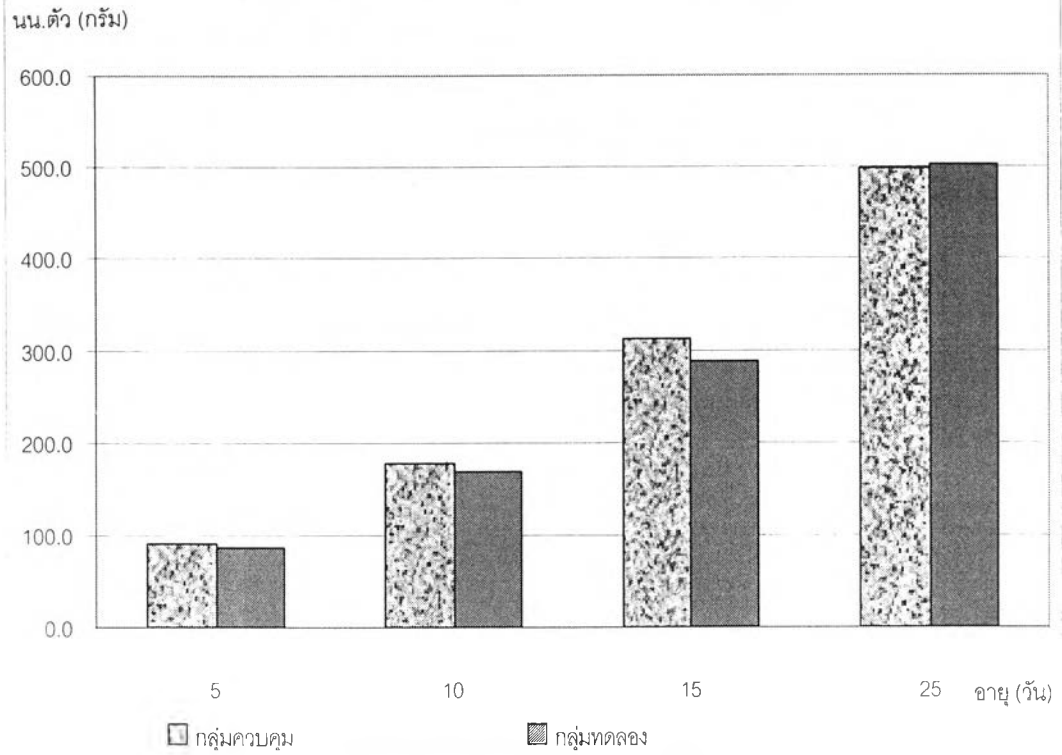
$X \pm SD$. (min - max)

อายุ (วัน)	ตับ		ม้าม		ต่อมเบอริชซ่า	
	ควบคุม	ทดลอง	ควบคุม	ทดลอง	ควบคุม	ทดลอง
5	4.6 ± 1.28 (2.78 - 8.36)	3.97 ± 0.53 (3.33 - 4.85)	nd	nd	nd	nd
10	3.82 ± 0.73 (2.64 - 5.23)	3.65 ± 0.43 (2.98 - 4.75)	0.2 ± 0.08 (0.00 - 0.33)	0.15 ± 0.05 (0.06 - 0.25)	0.28 ± 0.12 (0.00 - 0.43)	0.32 ± 0.07 (0.18 - 0.46)
15	3.03 ± 0.46 (1.96 - 3.82)	3.97 ± 0.53 ^a (3.33 - 4.85)	0.23 ± 0.07 (0.04 - 0.13)	0.09 ± 0.04 (0.05 - 0.21)	0.27 ± 0.05 (0.21 - 0.42)	0.29 ± 0.08 (0.19 - 0.43)
25	2.87 ± 0.65 (2.22 - 4.69)	3.21 ± 0.72 (2.01 - 4.35)	0.2 ± 0.04 (0.15 - 0.26)	0.17 ± 0.04 (0.12 - 0.23)	0.42 ± 0.08 (0.33 - 0.61)	0.40 ± 0.12 (0.27 - 0.59)

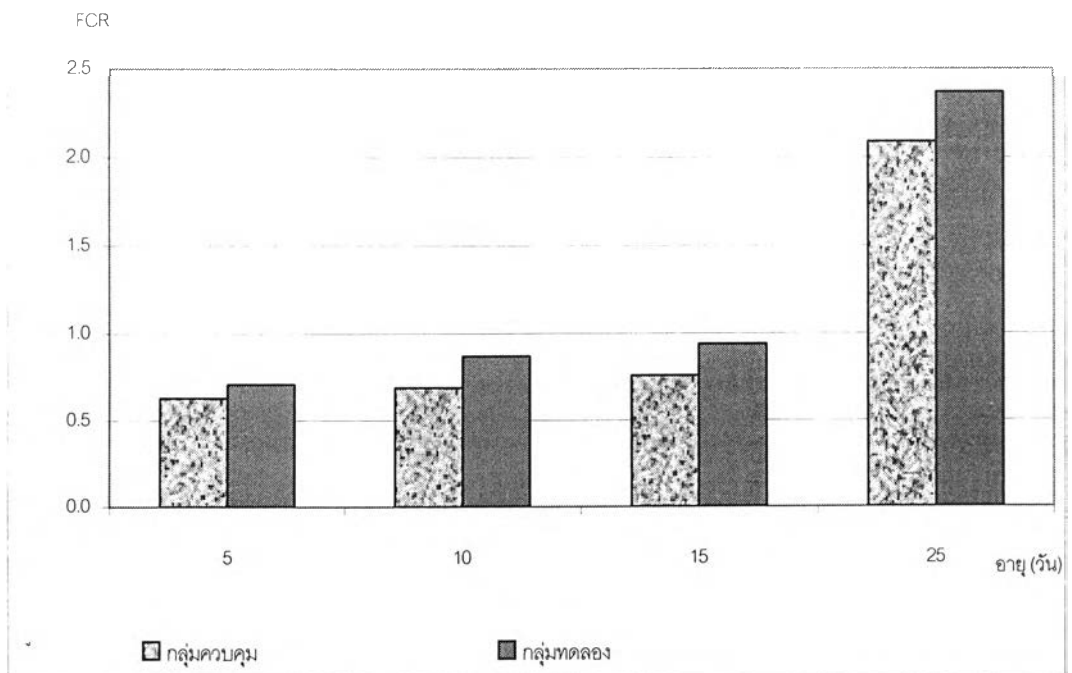
a = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

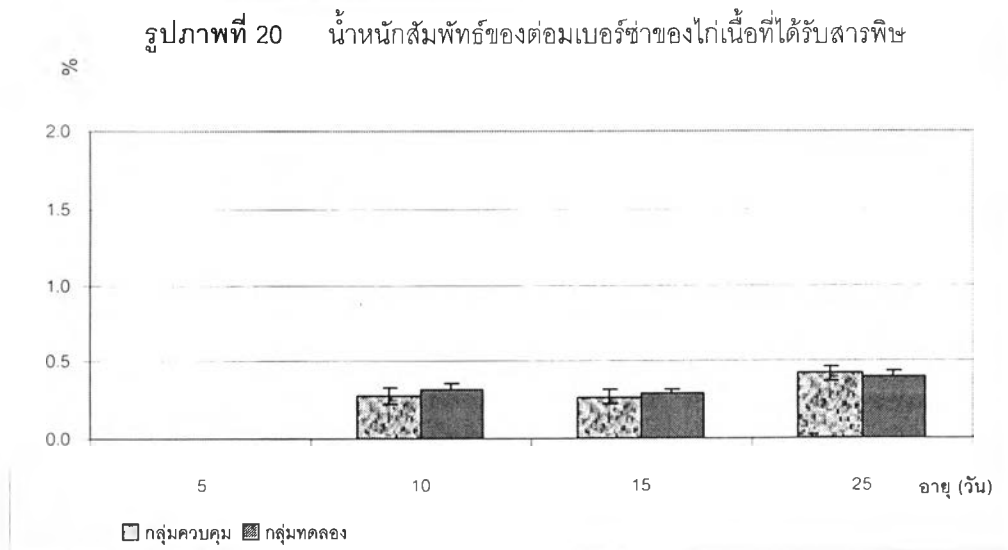
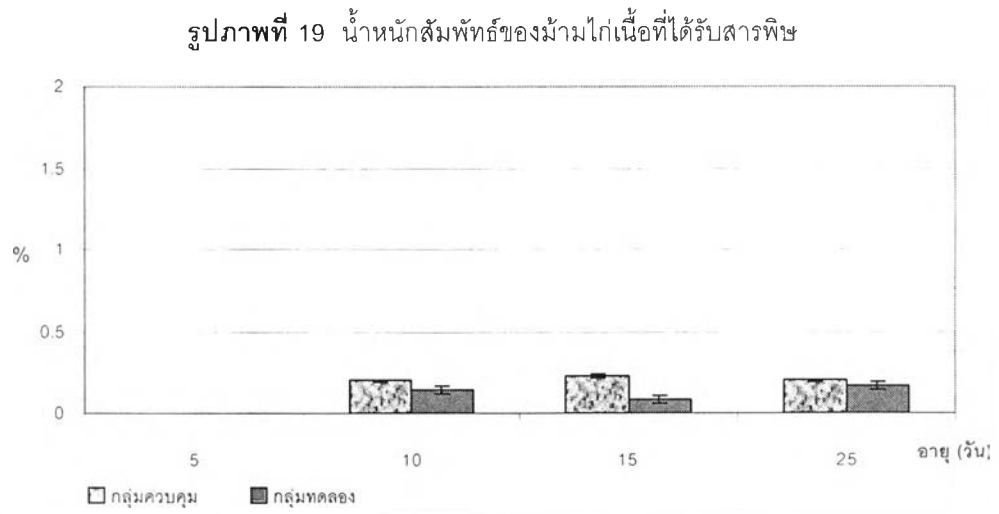
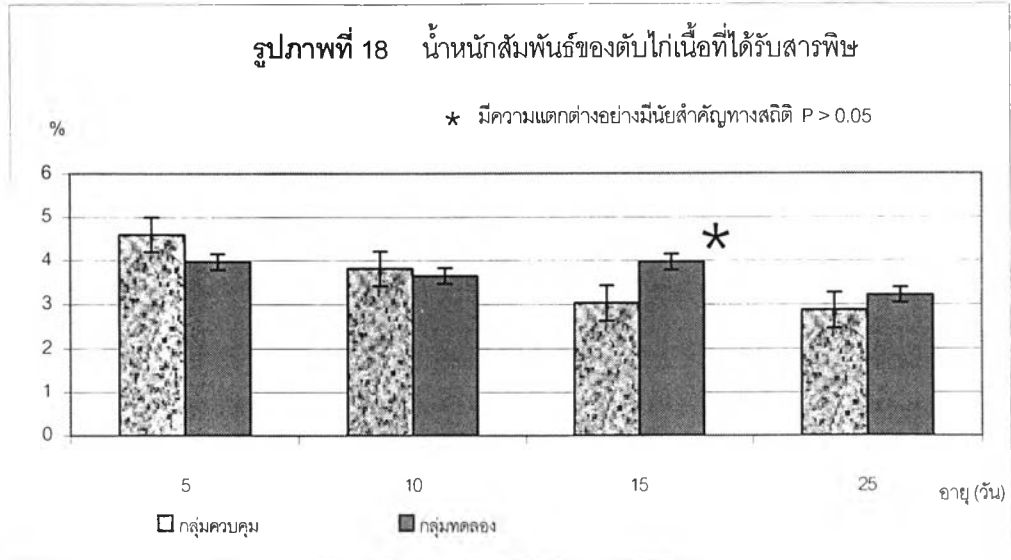
nd = not done

รูปภาพที่ 16 เปรียบเทียบน้ำหนักตัวของไก่ที่ได้รับสารพิษ



รูปภาพที่ 17 เปรียบเทียบอัตราแลกเนื้อ (FCR) ของไก่ที่ได้รับสารพิษ

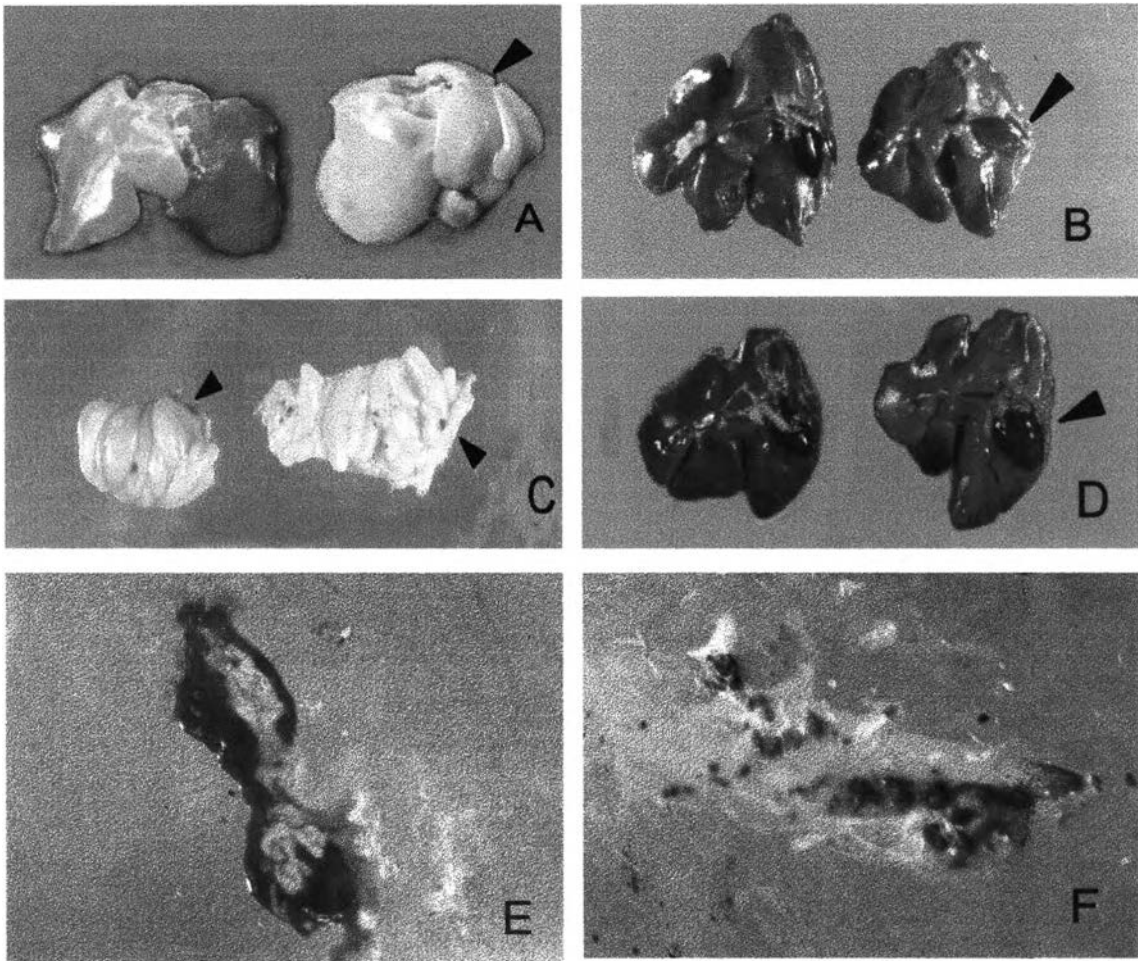




ไ้กลุ่มทดลองแสดงอาการทางคลินิก ดังต่อไปนี้คือ มีอาการซีม ถ่ายอุจจาระเหลวเป็นน้ำตลอด การทดลอง (รูปภาพที่ 21) ไ้กลุ่มทดลองตายในวันที่ 4 หนึ่งตัว และ วันที่ 6 อีกหนึ่งตัว ตลอด การทดลองตายรวมทั้งสิ้น 2 ตัว คิดเป็น 3.05 % เมื่อทำการผ่าซากพบรอยโรคการอักเสบใน ช่องท้องของไ้ทั้ง 2 ตัว ผลการชันสูตรซากไ้ ที่อายุ 5 วันไ้กลุ่มทดลองพบรอยโรคตับเหลือง (fatty change) คิด เป็น 50 % (9/18 ตัว) ึ่งน้ำดีมีสีเหลืองใส คิดเป็น 16.7 % (3/18 ตัว) ที่อายุ 10 วัน ไ้กลุ่มทดลองพบรอยโรคตับเหลือง คิดเป็น 5.5 % (1/18 ตัว) ที่อายุ 15 วัน ไ้กลุ่มทดลองพบรอยโรคตับเหลืองคิดเป็น 16.7 % (3/18 ตัว) ึ่งน้ำดีมีสีเหลืองใส คิดเป็น 5.5 % (1/18 ตัว) พบ hydropericardium 11.1 % (2/18 ตัว) และเริ่มพบความผิดปกติของกระดูกนี้้ว เ้า โดยมีลักษณะนี้้วบิตคล้ายงจักร 2 ตัว เดินไม่ได้ 1 ตัว คิดเป็น 16.7 % (3/18 ตัว) ที่อายุ 25 วัน พบว่า ในไ้กลุ่มทดลอง มีึ่งน้ำดีบวมใหญ่ผิดปกติมาก 60 % (6/10 ตัว) ต่อมเบอร์ ซ่าของทุกตัวบวม 100 % (10/10 ตัว) พบจุดเลือดออก 50 % (5/10 ตัว) และพบหนองสะสม 10 % (1/10 ตัว) นอกจากนี้ยังพบไ้ทดลอง 1 ตัวมี hydropericardium อีก 1 ตัว มีความผิดปกติของกระดูก โดยพบว่านี้้วบิตและเดินไม่ได้

ผลการตรวจค่าเคมีในเลือด ของไ้เมื่ออายุ 1 5 10 15 และ 25 วัน พบว่าไ้กลุ่มทดลองมีค่า AST และ ALT (ตารางที่ 16 และ รูปภาพที่ 22 23) สูงขึ้นกว่าไ้ กลุ่มควบคุมทุกระยะการทดลอง แต่ที่อายุ 10 15 และ 25 วัน มีค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ค่า ALP (ตารางที่ 17 และรูปภาพที่ 24) พบว่ามีค่าสูง มากแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ส่วนค่า GGT (ตารางที่ 17 และ รูปภาพที่ 25) พบว่าในไ้กลุ่ม ทดลองอายุ 5 วัน มีค่าสูงเป็น 2 เท่าของไ้กลุ่มควบคุม และหลังจากนั้น ที่อายุ 10 15 และ 25 วัน พบว่ามีค่าสูงมากขึ้นอย่างเด่นชัด ทั้งค่า ALP และ GGT ในไ้กลุ่มทดลองมีค่าแตกต่าง จากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทุกระยะการทดลอง

ผลทางจุลพยาธิวิทยา จากตารางที่ 18 และรูปภาพที่ 26 – 30 ในไ้ อายุ 1 วัน พบว่าตับยังคงมีการสะสมไขมันในรูปของหยดไขมันขนาดเล็กทั่วเซลล์ตับ และกระจาย ทั่วทั้งตับ (panlobular fatty infiltration) จุลพยาธิวิทยาตับในไ้ทดลอง อายุ 5 วัน พบการ บวมของเซลล์ตับ (hepatic cell swelling) ในระดับปานกลาง มีคะแนนเฉลี่ย 1.28 รวมทั้ง รอยโรค fatty degeneration ในไ้ทั้งสองกลุ่มอยู่ในระดับต่ำ (รูปภาพที่ 27 และ 34) คือกลุ่ม ควบคุมมีคะแนนเฉลี่ย 1.0 และกลุ่มทดลองมีคะแนนเฉลี่ย 0.89 นอกจากนี้ในไ้กลุ่มทดลอง พบว่ามีการตายของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี (bile duct epithelial cell death) โดยพบการแตกสลาย



รูปภาพที่ 21 รอยโรคที่พบในต้น และ ต่อมเบอริซ่า ลักษณะอาการของโกที่รับประทานอาหารที่มีสารพิษจากเชื้อรา *F.moniliforme* รหัส 4262 ในระยะเวลาต่าง ๆ

- A) ต้นของโกอายุ 5 วัน พบรอยโรคต้นเหลือง
- B) ต้นของโกอายุ 15 วัน พบรอยโรคถุงน้ำดีมีสีเหลืองใสและขยายใหญ่
- C) ต่อมเบอริซ่าของโกอายุ 25 วัน พบรอยโรคจุดเลือดออกแบบ multifocal กระจายอยู่ทั่ว mucosa
- D) ต้นของโกอายุ 25 วัน พบรอยโรคถุงน้ำดีขยายใหญ่ผิดปกติ และมีน้ำดีสีเขียวเข้ม
- E) และ F) ลักษณะอาการแผลของโกทดลองที่รับประทานอาหารที่มีสารพิษ

หมายเหตุ อวัยวะที่มีลูกศรชี้ คือ อวัยวะของโกทดลองที่มีรอยโรค

ตารางที่ 16 การเปลี่ยนแปลงของค่าเคมีเลือด AST และ ALT ของไก่ทดลองหลังจากได้รับสารพิษจากเชื้อรา $X \pm SD$ (min - max)

อายุ (วัน)	AST (unit / lit.)		ALT (unit / lit.)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
1	27.0 \pm 5.6 (20 - 37)	ไม่มีตัวอย่าง	29.7 \pm 5.5 (19 - 39)	ไม่มีตัวอย่าง
5	35.6 \pm 8.2 (20 - 210)	46.5 \pm 10.5 (33 - 76)	62.8 \pm 52.4 (43 - 250)	62.8 \pm 14.0 (41 - 87)
10	33.0 \pm 54.1 (19 - 250)	96.6 \pm 1.9 ^a (57 - 140)	22.2 \pm 5.7 (19 - 40)	85.9 \pm 34.4 ^a (53 - 170)
15	20.3 \pm 0.9 (4 - 19)	132.7 \pm 83.1 ^a (21 - 250)	28.3 \pm 12.2 (19 - 47)	131.9 \pm 76.0 ^a (53 - 250)
25	21.45 \pm 2.6 (19 - 27)	91.0 \pm 29.0 ^a (62 - 163)	39.4 \pm 56.0 (19 - 208)	132.3 \pm 42.35 ^a (67 - 210)

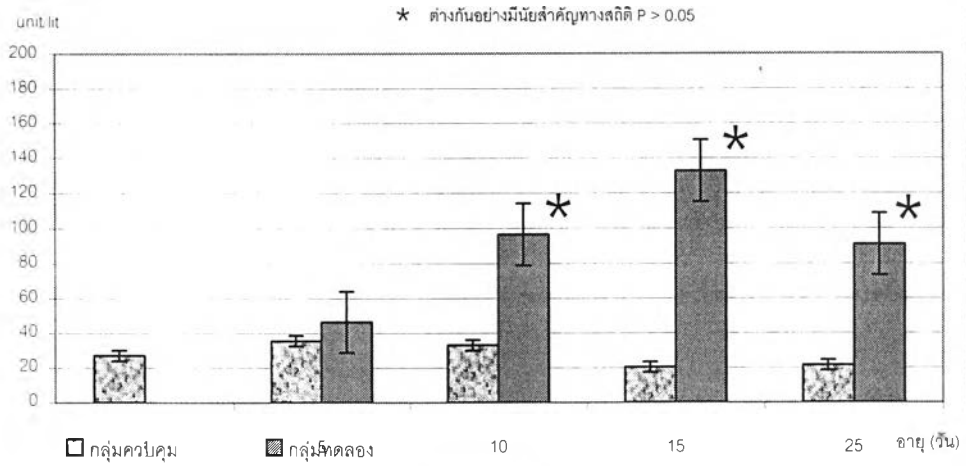
a = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.05)

ตารางที่ 17 การเปลี่ยนแปลงของค่าเคมีเลือด ALP และ GGT ของไก่ทดลองหลังจากได้รับสารพิษจากเชื้อรา $X \pm SD$ (min - max)

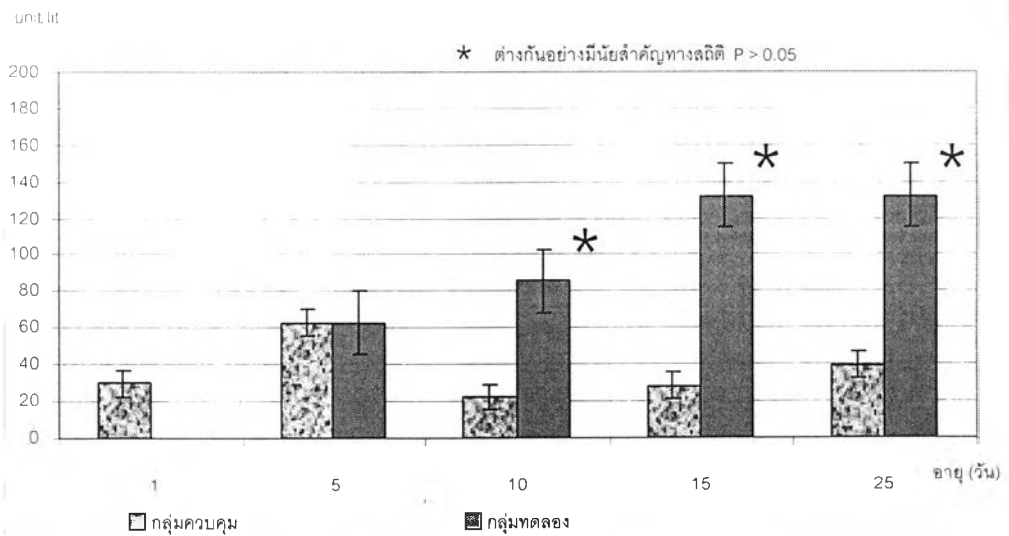
อายุ (วัน)	ALP (unit / lit.)		GGT (unit / lit.)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
1	272.6 \pm 197.5 (60.8 - 999.1)	ไม่มีตัวอย่าง	201.1 \pm 73.5 (47.5 - 35.2)	ไม่มีตัวอย่าง
5	364.3 \pm 390.2 (110.5 - 1706.7)	1420.9 \pm 709.3 ^a (823.6 - 4034.0)	191.9 \pm 72.1 (59.1 - 833.8)	384.3 \pm 85.7 ^a (242.0 - 548.83)
10	174.2 \pm 74.1 (60.8 - 572.1)	1355.9 \pm 458.7 ^a (642.6 - 2136.5)	174.2 \pm 74.1 (45.5 - 335.2)	1161.0 \pm 10.2 ^a (994.9 - 1355.1)
15	432.4 \pm 519.4 (109.1 - 1951.3)	1210.4 \pm 232.2 ^a (825.0 - 1673.6)	188.0 \pm 81.9 (45.5 - 335.2)	1194.4 \pm 129.4 ^a (994.9 - 1355.1)
25	221.7 \pm 108.3 (60.8 - 487.8)	1212.0 \pm 239.2 ^a (825.0 - 1496.7)	179.5 \pm 69.6 (90.5 - 324.9)	998.4 \pm 262.9 ^a (425.5 - 1355.4)

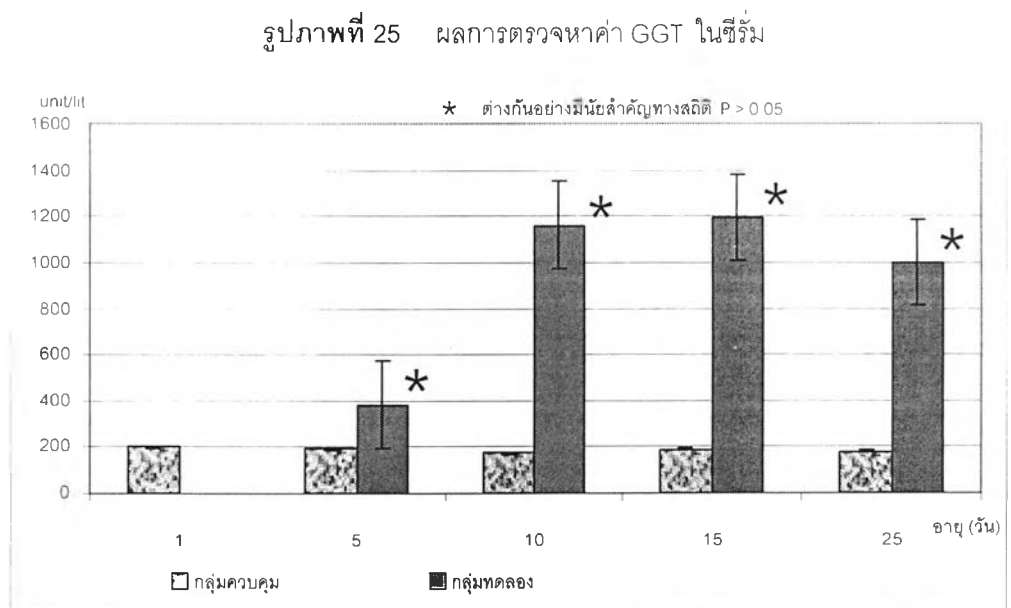
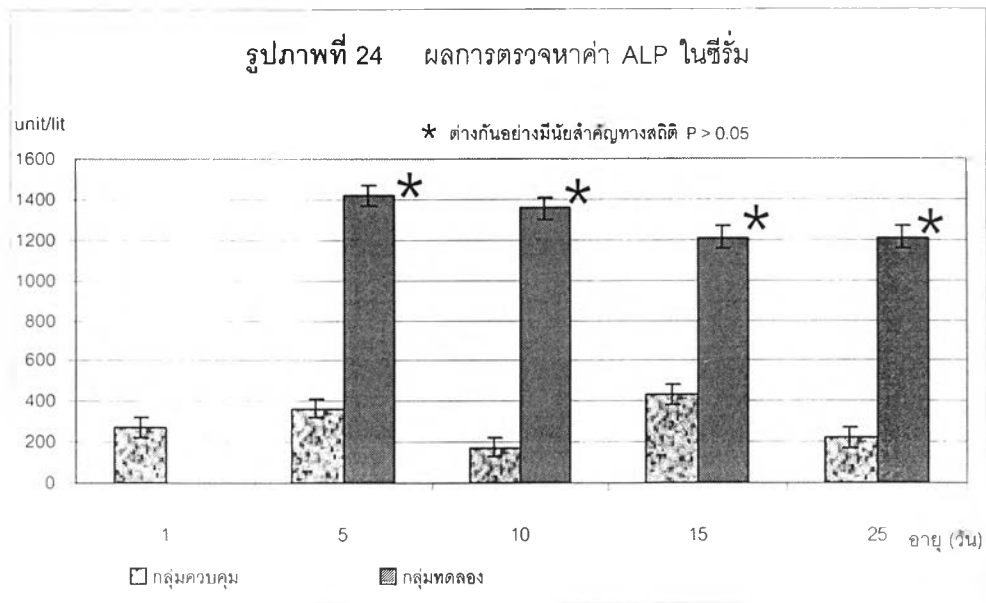
a = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P < 0.05)

รูปภาพที่ 22 ผลการตรวจหาค่า AST ในซีรัม



รูปภาพที่ 23 ผลการตรวจหาค่า ALT ในซีรัม





ของนิวเคลียส (karyorrhexis) จำนวนมาก (รูปภาพที่ 35) ส่วนต่อมเบอริช้ำ และต่อมไทมัส ยังไม่พบความเปลี่ยนแปลง เมื่อโก๋อายุ 10 วัน ดัษของโก๋กลุ่มทดลองพบรอยโรค glycogen degeneration และ hepatic cell swelling ในระดับปานกลาง โดยมีค่าคะแนนเฉลี่ย 1.11 และ 0.89 ตามลำดับ พบว่ามีการตายของเซลล์ดับชนิด single cell apoptosis ในระดับต่ำ (0.61) ส่วนโก๋กลุ่มควบคุม พบการเปลี่ยนแปลงรอยโรคในดับทุกรอยโรคอยู่ในระดับต่ำมาก ต่อมเบอริช้ำ ม้าม และต่อมไทมัส ทั้ง 2 กลุ่มยังคงพบการเปลี่ยนแปลงในระดับต่ำมากเช่นกัน เมื่อโก๋อายุ 15 วัน (รูปภาพที่ 35) ดัษของโก๋กลุ่มทดลองพบรอยโรค hepatic cell swelling ในระดับต่ำ (1.61) มีการตายของเซลล์ดับแบบ single cell apoptosis และพบการตายของเซลล์ดับเป็นบริเวณ กว้าง (massive hepatic cell death) ในโก๋กลุ่มทดลองบางตัวซึ่งอยู่ในระดับปานกลาง (1.39) พบ bill duct epithelial cell death อยู่ในระดับ 0.72 ส่วนต่อมเบอริช้ำ ม้าม และต่อมไทมัส ของทั้งกลุ่มควบคุมและทดลอง การเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างกัน เมื่อโก๋อายุ 25 วัน (รูปภาพที่ 36) พบว่าโก๋กลุ่มทดลองมีการบวมของเซลล์ในระดับรุนแรง (2.60) และมีการตายของเซลล์แบบกว้าง ขวางในระดับสูง (2.20) พบการตายของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีสูงขึ้นอย่างเด่นชัด (1.89) เมื่อเทียบกับอายุ 15 วัน คะแนนเฉลี่ยของ fatty degeneration ไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักเมื่อเทียบกับกัน ในวันที่ 15 และ 10 มีระดับคะแนนเฉลี่ย 0.39 และ 0.28 ตามลำดับ ส่วนคะแนนเฉลี่ยของ glycogen degeneration มีระดับสูงขึ้น (1.44) เมื่อเทียบกับ วันที่ 5 10 และ 15 (0.11 1.11 และ 0.61 ตามลำดับ) แต่ไม่แตกต่างกับโก๋กลุ่มควบคุมที่อายุเดียวกัน (1.50) ต่อมเบอริช้ำของ กลุ่มทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในระดับสูงขึ้น (1.80) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่อายุ 25 วัน (0.75) จะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน (รูปภาพที่ 38) ส่วนม้ามและต่อมไทมัสมีการ เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปภาพที่ 37 - 38) คือ พบในระดับคะแนนเฉลี่ย 0.83 และ 1.00 ในขณะที่กลุ่มควบคุมพบในระดับคะแนนเฉลี่ย 1.11 และ 1.33

ตารางที่ 18 ค่าคะแนนเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของตับไก่ทดลอง

รอยโรค	อายุ (วัน)	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
Hepatic cell swelling	5	0	1.28
	10	0.39	0.89
	15	0.50	1.61
	25	0.42	2.60
Glycogen degeneration	5	0.72	0.11
	10	0.17	1.11
	15	0.44	0.61
	25	1.50	1.44
Fatty degeneration	5	1.00	0.89
	10	0.22	0.28
	15	0.22	0.39
	25	0.08	0.22
Hepatic cell death	5	0	0.61
	10	0.33	0.61
	15	0.17	1.39
	25	0.33	2.20
Bile duct epithelial cell death	5	0	0.33
	10	0	0.06
	15	0	0.72
	25	0	1.89

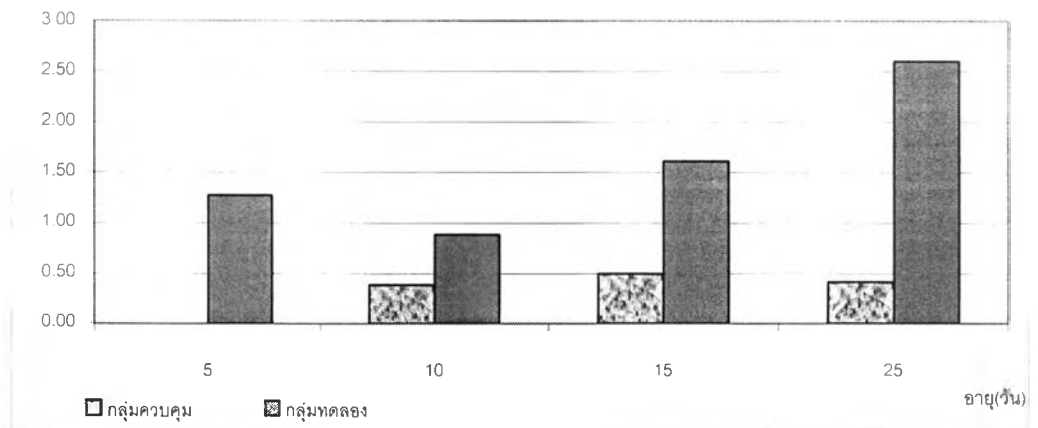
ตารางที่ 19

ค่าคะแนนเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของต่อมเบอริช่า ม้าม และ ต่อมไทมัส ของไก่ทดลอง แบบ cell depletion

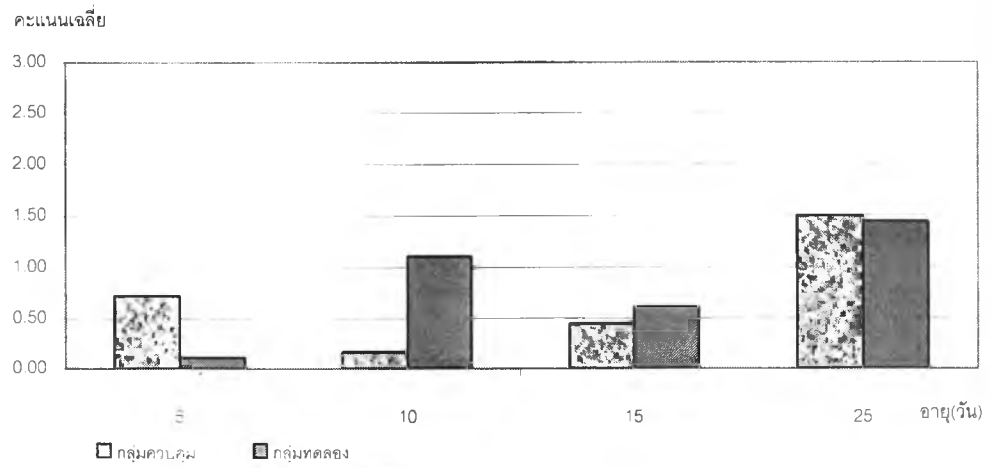
อายุ(วัน)	ต่อมเบอริช่า		ม้าม		ต่อมไทมัส	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
5	0	0	0	0	0	0
10	0.50	0.72	0.11	0.11	0	0.06
15	0.83	0.78	0	0.17	0.56	0.72
25	0.75	1.80	0.83	1.11	1.00	1.33

รูปภาพที่ 26 ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ Hepatic cell swelling

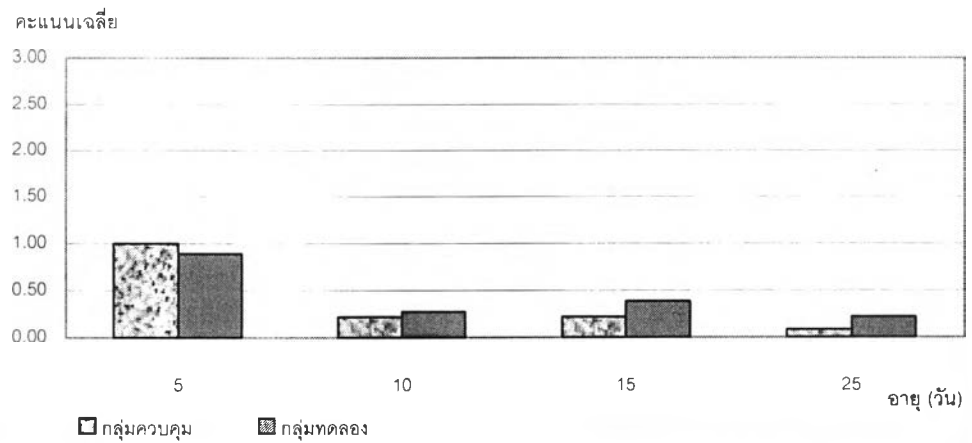
คะแนนเฉลี่ย

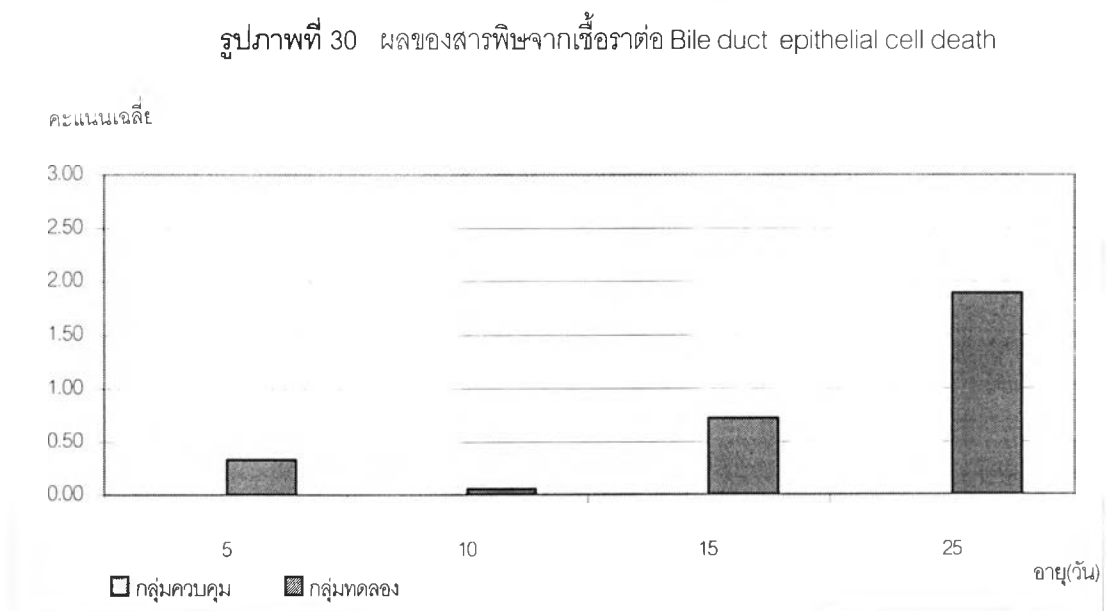
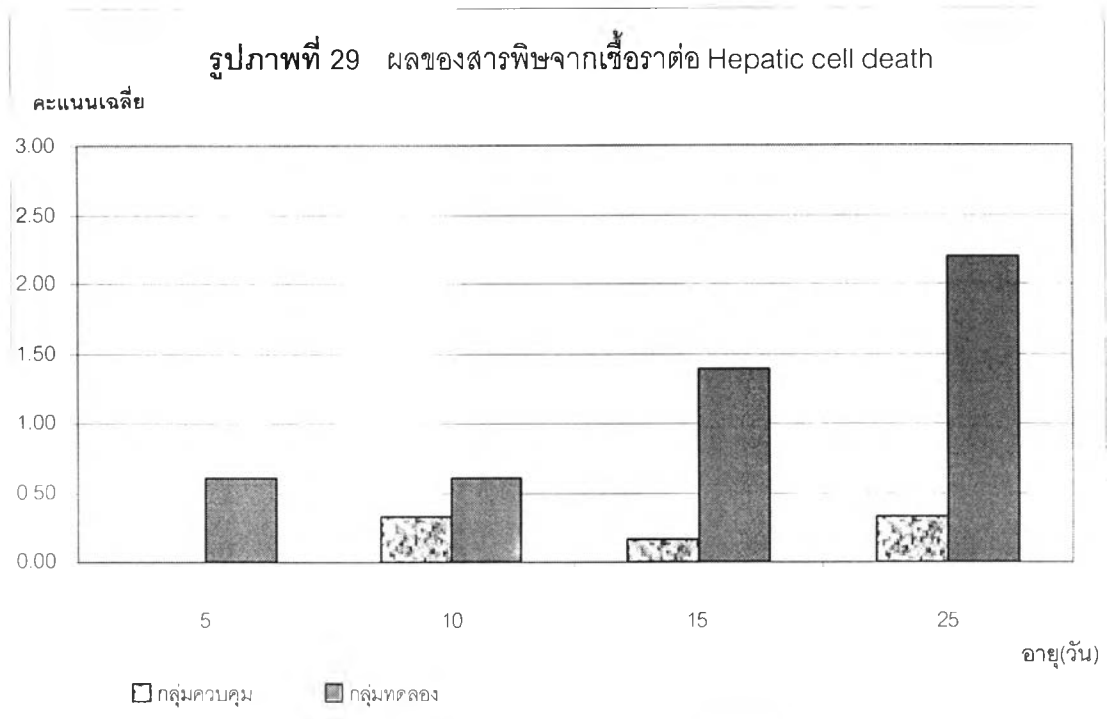


รูปภาพที่ 27 ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ glycogen degeneration ของตับ

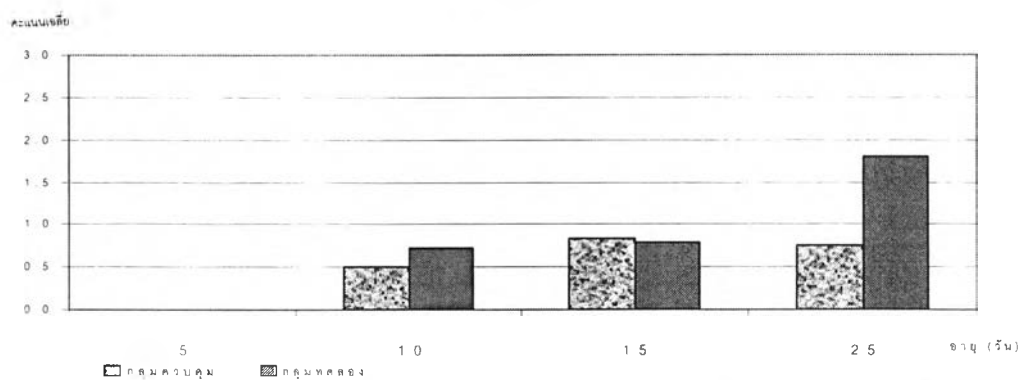


รูปภาพที่ 28 ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ fatty degeneration ของตับ

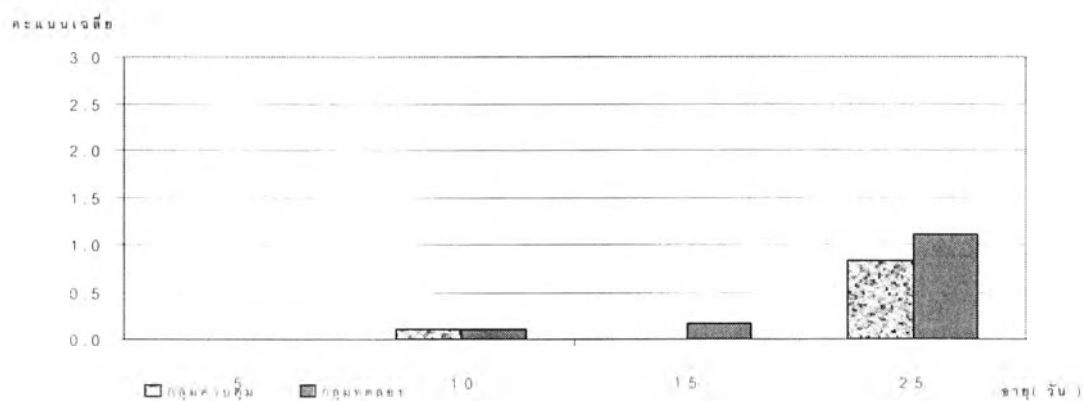




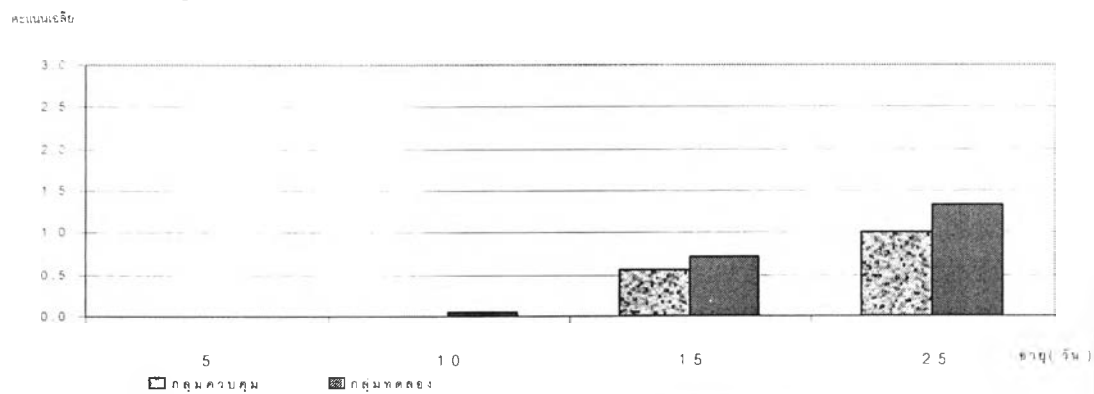
รูปภาพที่ 31 ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ Cell depletion ของต่อมเบอริช

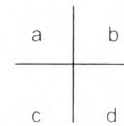
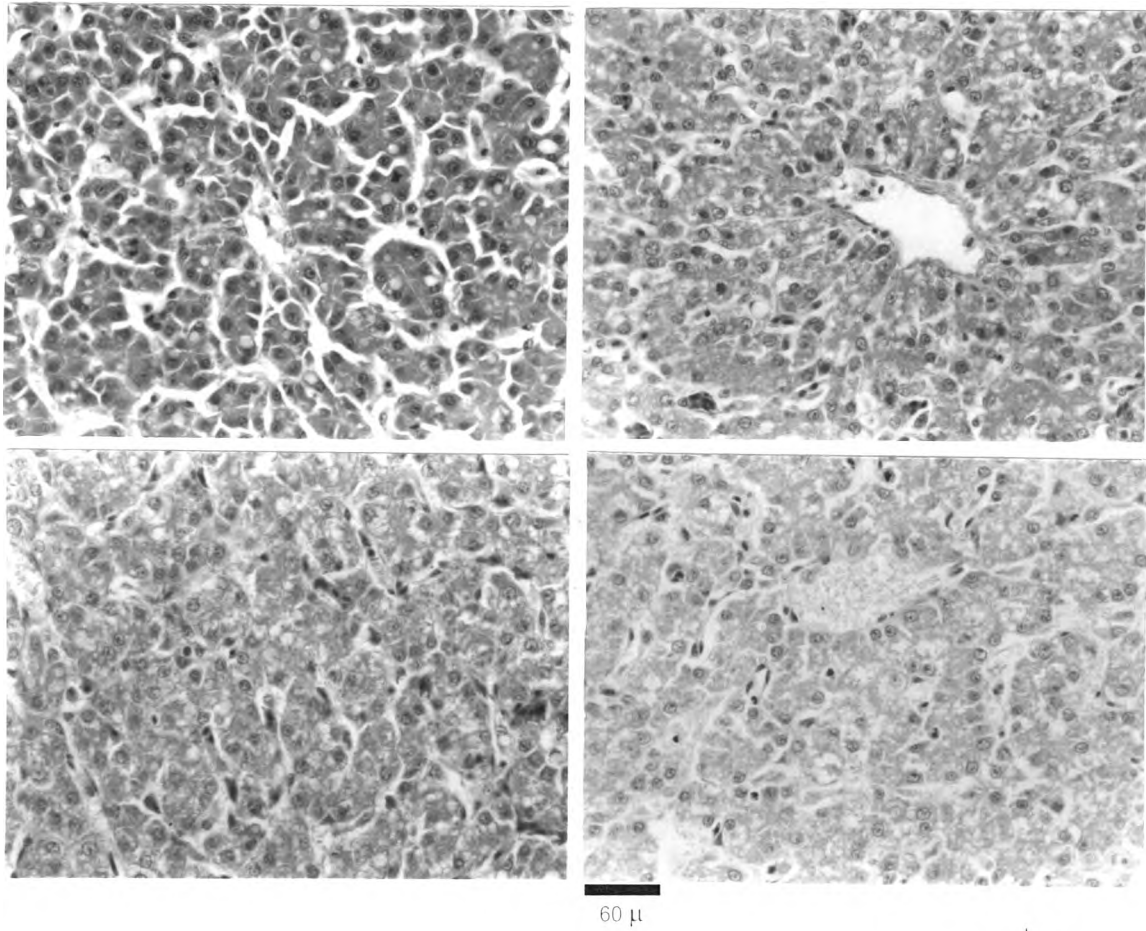


รูปภาพที่ 32 ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ cell depletion ของม้าม



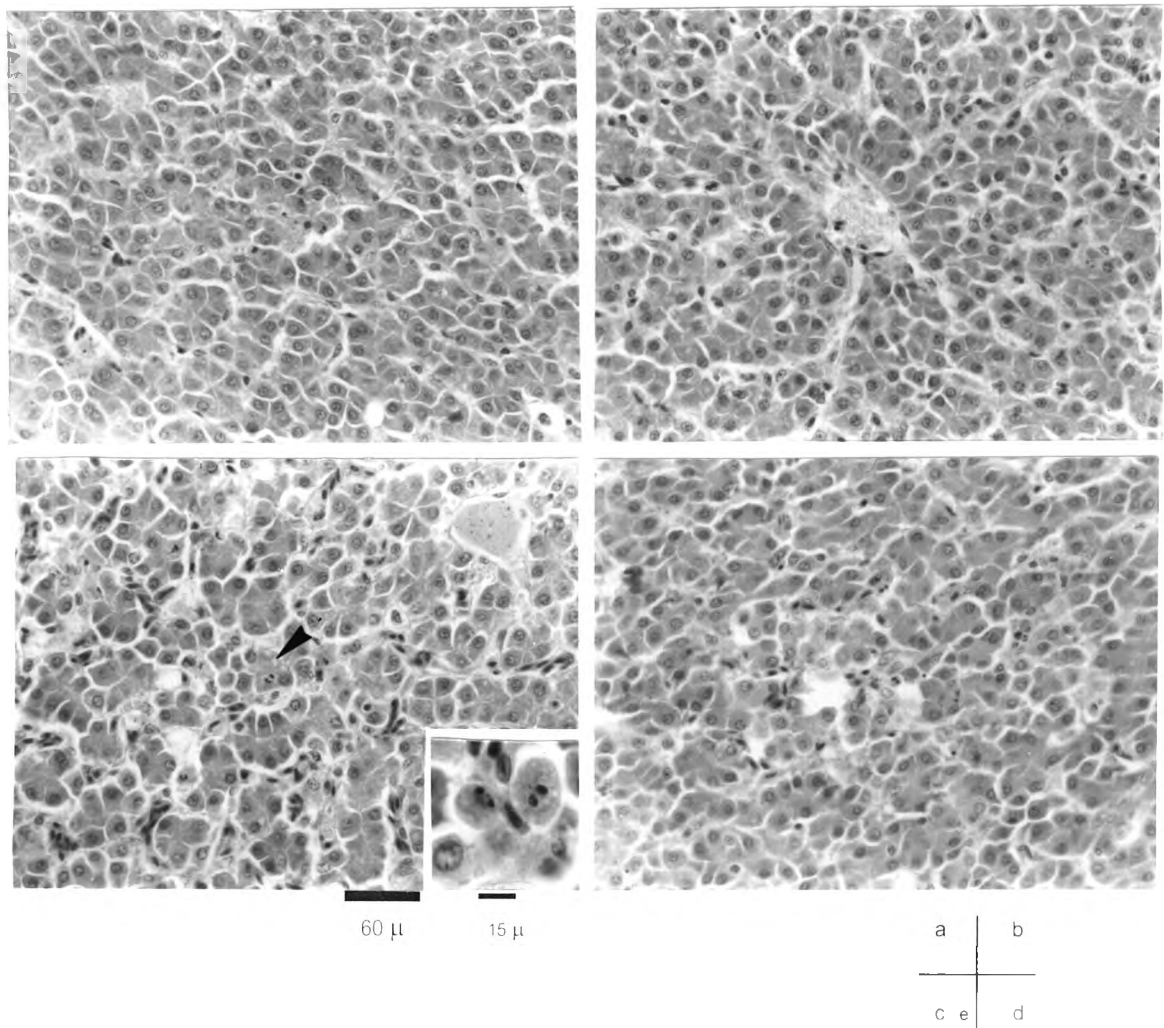
รูปภาพที่ 33 ผลของสารพิษจากเชื้อราต่อ Cell depletion ของต่อมไทมัส





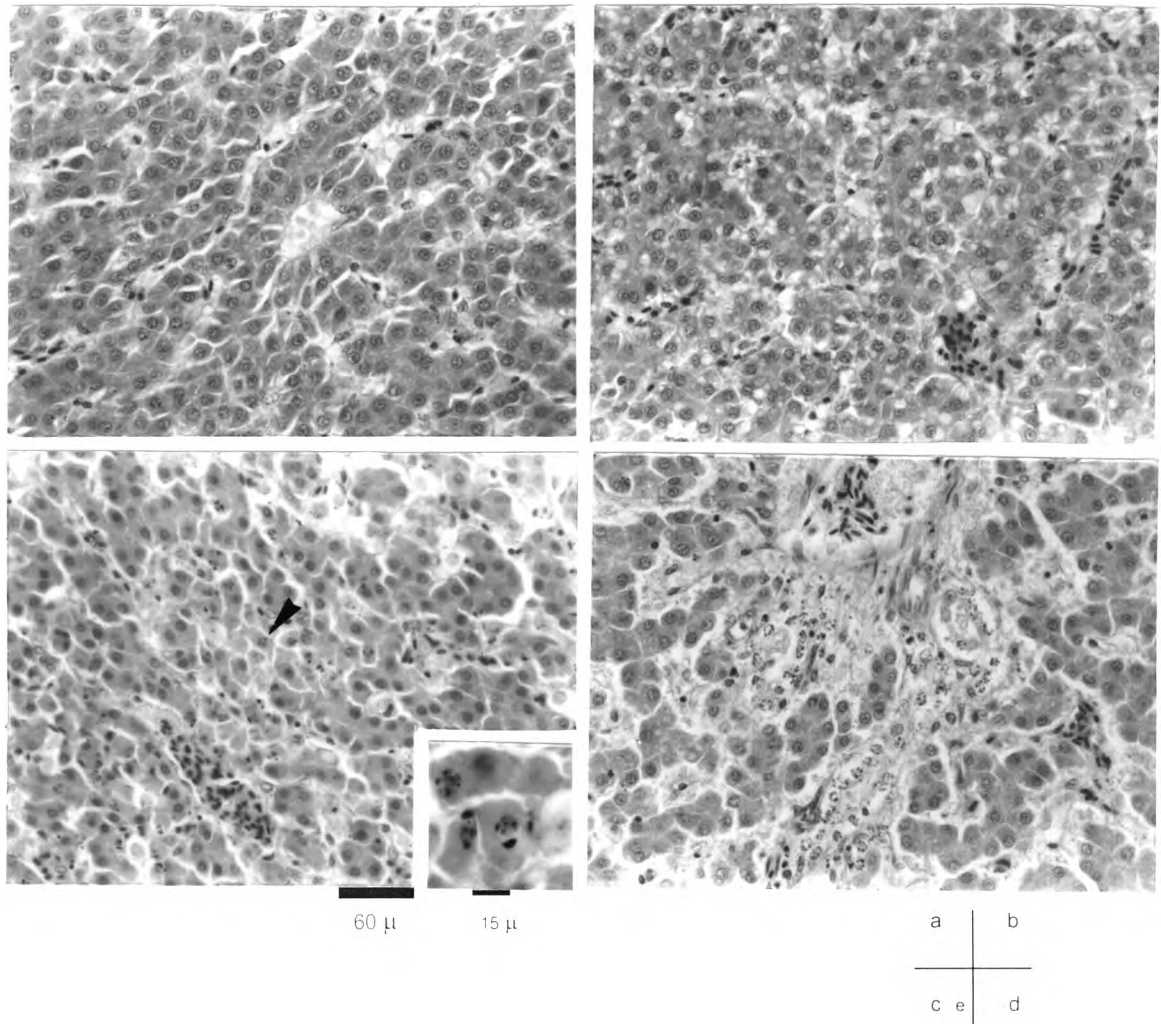
รูปภาพที่ 34 แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับไก่อที่มีการเสื่อมของเซลล์ (H & E)

- a) fatty degeneration ในระดับ 1
- b) fatty degeneration ในระดับ 2
- c) glycogen degeneration ในระดับ 2
- d) glycogen degeneration ในระดับ 3



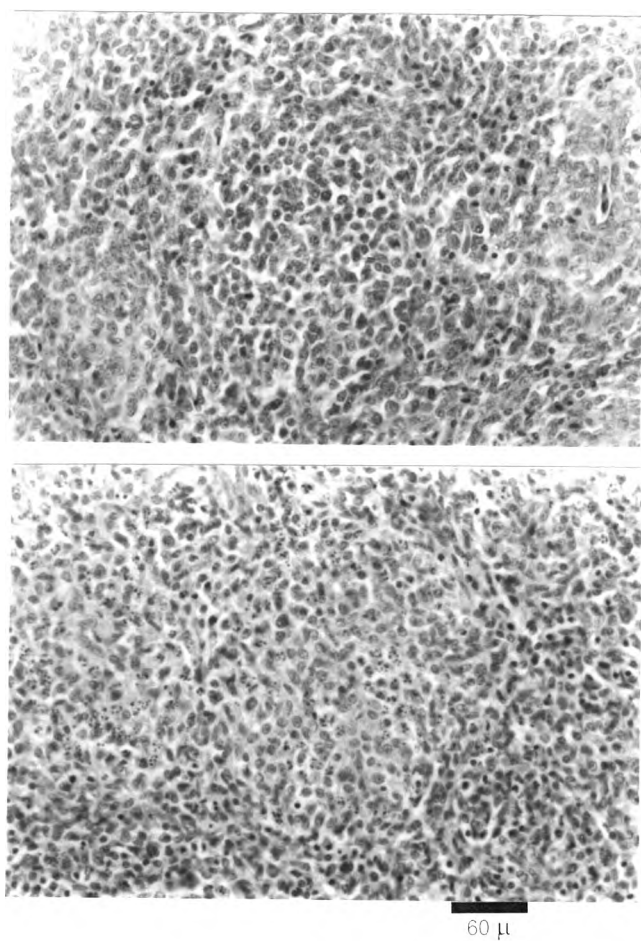
รูปภาพที่ 35 แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับไก่อกลุ่มทดลองที่อายุ 15 วัน (H & E)

- a) เซลล์ตับมีการตายแบบ single cell apoptosis ในระดับ 1
- b) เซลล์ตับมี hepatic cell swelling ในระดับ 2
- c) เซลล์ตับมี hepatic swelling ในระดับ 3 พบนิวเคลียสแตกสลายแบบ karyorrhexis และ hepatic cell apoptosis ในระดับ 1
- d) เซลล์ตับ มี hepatic cell swelling ในระดับ 3 เซลล์ตับมีการตายแบบกว้างขวาง (massive hepatic cell death) ในระดับ 2
- e) การตายของเซลล์ตับ นิวเคลียสแตกแบบ apoptosis



รูปภาพที่ 36 แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับซึ่งมีการเสื่อม และ ตายที่อายุ 25 วัน (H & E)

- ไต่กลุ่มควบคุม เซลล์ตับปกติมีการเรียงตัวเป็นรัศมีออกจากเส้นเลือดดำ portal เห็น sinusoid ชัดเจน ไม่มีไขมันแทรกในเซลล์ตับ พบนิวเคลียสแบบอัดแน่น (dense) จำนวนน้อยกระจายทั่วตับ
- ไต่กลุ่มควบคุม มี hepatic cell swelling ในระดับ 1
มี panlobular fatty degeneration ในระดับ 2
มี glycogen degeneration ในระดับ 2
- เซลล์ตับของไต่กลุ่มทดลองมี hepatic cell swelling ในระดับ 2
เซลล์ตับมีการตายแบบกว้างขวาง (massive hepatic cell death) ในระดับ 3
นิวเคลียสของเซลล์แตกแบบ karyorrhexis
- เซลล์ตับของไต่กลุ่มทดลองมี hepatic cell swelling ในระดับ 2
hepatic sinusoid มีขนาดกว้างกว่าปกติ (dilated)
มีการตายของเซลล์บุท่อน้ำดี (bile duct epithelial cell death)
- การตายของเซลล์ตับ นิวเคลียสมีลักษณะแตกกระจาย (karyorrhexis)



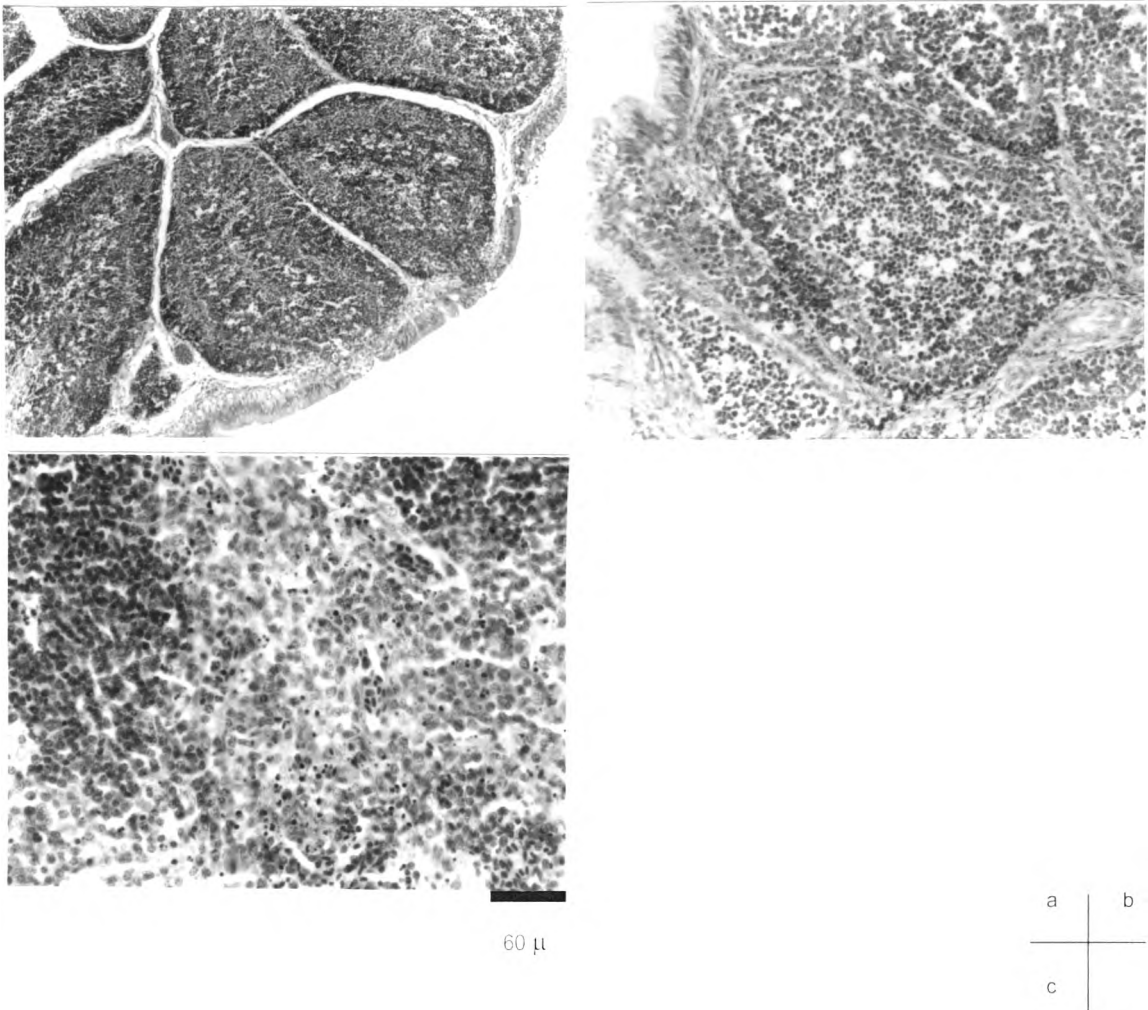
a

b

รูปภาพที่ 37 แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของม้าม (H & E)

a) ที่อายุ 1 วัน แสดงม้ามที่ปกติ

b) ที่อายุ 25 วัน ม้ามของไก่กลุ่มทดลองพบ cell depletion ในระดับ 1



รูปภาพที่ 38 แสดงลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของต่อมเบอริช่า และต่อมไทมัส ที่อายุ 25 วัน (H & E)

- a) ต่อมเบอริช่าบริเวณ medulla มี cell depletion ระดับ 1
- b) ต่อมเบอริช่าบริเวณ medulla มี cell depletion ระดับ 2
- c) ต่อมไทมัสมี cell depletion ระดับ 1

วิจารณ์ผล

อาหารควบคุม และอาหารทดลอง มีระดับค่าทางโภชนาต่างๆ (ตารางที่ 12) คือ %ความชื้น %โปรตีน %เกลือ %เถ้า %แคลเซียม และฟอสฟอรัส เกือบเท่ากันทุกค่า แสดงว่า อาหารทั้งสองชนิดนี้มีคุณค่าทางโภชนาใกล้เคียงกันมาก จนอาจถือว่าเหมือนกันได้ และปริมาณสารพิษที่ตรวจพบ (ตารางที่ 13) ในอาหารควบคุมมี T-2 toxin 7.9 ppb ซึ่งต่ำกว่าค่า LOD จึงอาจกล่าวได้ว่า อาหารควบคุมไม่พบ T-2 toxin fumonisin และ ochratoxin แต่ตรวจพบ aflatoxin ในระดับ 10.5 ppb สำหรับอาหารทดลองไม่พบ ochratoxin เนื่องจากตรวจพบ ochratoxin เพียง 0.8 ซึ่งต่ำกว่าค่า LOD ตรวจพบ fumonisin 1,200 ppb T-2 toxin 56.5 ppb และ aflatoxin 5.3 ppb

พบว่า ในไก่กลุ่มทดลองกินอาหารมากกว่าไก่กลุ่มควบคุม (ตารางที่ 14) ที่อายุ 10 15 และ 25 วัน ปริมาณการกินอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และเมื่อสังเกตแต่ละวัน พบว่า กินอาหารหมดเร็วกว่ากลุ่มควบคุม จากตารางที่ 14 และรูปภาพที่ 15 น้ำหนักตัวของไก่ทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบที่อายุเดียวกัน แต่อัตราการแลกเนื้อ (FCR) ต่างกัน (รูปที่ 15) พบว่ามีผลต่างของ FCR ที่อายุ 5 10 15 และ 25 วัน เท่ากับ - 0.08 - 0.18 - 0.18 และ - 0.28 ตามลำดับ แสดงว่าไก่กลุ่มทดลองมีประสิทธิภาพในการแลกเนื้อได้ต่ำกว่าไก่กลุ่มควบคุม เมื่อได้รับอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาใกล้เคียงกัน แสดงว่า สารพิษจากเชื้อราที่มีอยู่ในอาหารทดลองมีผลต่อประสิทธิภาพในการใช้อาหาร ไก่มีอาการท้องเสียมีผลจากการรบกวนการดูดซึมอาหาร ไก่กลุ่มทดลองจะต้องใช้อาหารเพิ่มขึ้นเพื่อให้ได้น้ำหนักใกล้เคียงกับไก่กลุ่มควบคุม

สารพิษจากเชื้อราที่มีผลต่อน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ เมื่อไก่อายุ 15 วัน (ตารางที่ 15 และ รูปภาพที่ 18 – 20) กล่าวคือ น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับในกลุ่มทดลองสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะอื่นๆ กลุ่ม และทุก ๆ อายุ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การทดลองครั้งนี้ให้ผลคล้ายคลึงกับการทดลองของ Kubena และคณะ (1997 b) ซึ่งให้อาหารที่มี FB1 (0 หรือ 300 mg/kg) และ T-2 toxin (0 หรือ 5mg/kg) กับไก่เนื้อนาน 19 วัน พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์ของตับจะเพิ่มขึ้นในไก่ที่ได้รับ FB1 300 mg/kg ทั้งที่ให้ร่วมกับ T-2 toxin และให้ FB1 อย่างเดียว น้ำหนักสัมพัทธ์ม้ามจะเพิ่มขึ้นถ้าให้ FB1 ขนาด 300 mg/kg แต่ถ้าให้ FB1 ร่วมกับ T-2 toxin หรือ ให้ T-2 toxin อย่างเดียวจะไม่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน น้ำหนักสัมพัทธ์ของต่อมเบอร์ด้าไม่เปลี่ยนแปลงชัดเจนไม่ว่าจะให้ FB1 หรือ T-2 toxin อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือ ให้สารพิษทั้งสองชนิดร่วมกัน Kubenaและคณะ (1997c) ได้ศึกษาน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ

ไก่เนื้อเมื่อให้ aflatoxin ในขนาด 3.5 mg/kg พบว่า น้ำหนักสัมพัทธ์ของม้าม และต่อมเบอริซซา ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม

ผลการตรวจค่าเคมีเลือดในไก่ทดลองตั้งแต่อายุ 5 – 25 วัน พบว่ามีค่าสูงขึ้น โดยที่ค่า AST และ ALT สูงขึ้นเมื่อไก่ได้รับสารพิษที่ 10 15 และ 25 วัน (ตารางที่ 16) ค่า ALP และ GGT สูงขึ้นเมื่อไก่ได้รับสารพิษที่ 10 15 และ 25 วัน (ตารางที่ 17) การที่ค่า AST และ ALT สูงขึ้น เกิดจากการเสื่อมและตายของเซลล์ตับ (hepatocellular damage และ liver necrosis) หรือ กล้ามเนื้อได้รับความเสียหาย (muscle damage) ALP สูงขึ้นบ่งชี้ถึงการทำงานของกระดูก (bone activity) หรือกระดูกได้รับความเสียหาย (Benjamin,1981) GGT สูงขึ้นเนื่องจากมีความเสียหายหรือเสื่อมของเซลล์ตับ ใช้บ่งชี้ถึงการเกิดมะเร็งของตับ (liver carcinoma) GGT มีความจำเพาะ (specificity) ต่อเนื้อเยื่อตับสูง แต่มีความไว (sensitivity) ต่ำ การที่พบ GGT สูงขึ้น เป็นเครื่องยืนยันถึงการเสียหายของเซลล์ตับ (Fadge, 2000) จากข้อมูลข้างต้น สรุปได้ว่า สารพิษจากเชื้อรา *F. moniliforme* สายพันธุ์ที่นำมาศึกษามีผลต่อการทำงานของ ตับ กล้ามเนื้อ และกระดูก Espada และ คณะ (1994) พบว่า ถ้าให้ *F. moniliforme* culture material ที่มี FB1 ในปริมาณ 30 mg/kg feed นาน 2 สัปดาห์ และ ปริมาณ 300mg/kg feed นาน 1 สัปดาห์ พบว่า GGT มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ ALP มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม Kubena และคณะ (1997 b) ให้ไก่ได้รับ FB1 300 mg/kg feed FB2 89 mg/kg feed FB3 27 mg/kg feed และ pure T-2 toxin 5 mg/kg feed นาน 19 วัน พบว่า ในไก่ที่ได้รับ FB ร่วมกับ T-2 toxin และ FB เดี่ยว มีค่า GGT สูงขึ้นอย่างชัดเจน แต่ค่า ALP ไม่เปลี่ยนแปลงทั้งที่ให้สารพิษเดี่ยวหรือ สารพิษผสม Ledoux และคณะ (1992) ได้ศึกษาถึงผลของ fumonisin โดยให้ไก่เนื้อได้รับ *F.moniliforme* material culture ที่มี FB1 ปริมาณ 0 100 200 300 และ 400 mg/kg นาน 21 วัน พบว่า ค่า ALP ไม่เปลี่ยนแปลงเลยทุกงานทดลอง Huff และ คณะ (1988) ทำการศึกษาผลของ aflatoxin ร่วมกับ T-2 toxin โดยให้ aflatoxin ในปริมาณ 2.5 µg/gm feed และ T-2 toxin 4 µg/gm feed นาน 3 สัปดาห์ พบว่า ค่า ALP ลดลงไม่ว่าให้สารพิษเดี่ยว หรือ สารพิษผสม Bintvihok และคณะ (1997) ได้ทำการให้ aflatoxin B1 กับไก่ในปริมาณ 3 ppm นาน 7 วัน พบว่า ค่า ALP ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม Kubena และคณะ (1997c) ได้ทำการศึกษาผลของ aflatoxin ร่วมกับ moniliformin พบว่าถ้าให้ aflatoxin 3.5 mg/kg และ moniliformin 100 mg/kg นาน 3 สัปดาห์ ไก่กลุ่มที่ได้รับ moniliformin มีค่า ALP สูงขึ้นอย่างเด่นชัด กลุ่มที่ได้รับ aflatoxin และกลุ่มที่ได้รับสารพิษผสม ไม่พบ ALP สูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม Javed และคณะ (1995) ได้ศึกษาผลของ FB1 FB2 และ moniliformin โดยเลี้ยงไก่เนื้อจนอายุ 28 วันด้วยอาหารผสมสารพิษ พบว่า ค่า ALP AST ALT และ GGT สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่ามี hepatic และ renal damage นอกจากนี้ ALP ที่เพิ่มขึ้น บ่งว่าเกิด hepatic disorder และ biliary obstruction Kubena และคณะ (1997 c) ให้ความสำคัญ

เห็นว่า ในกรณีที่ทำให้ moniliformin หรือ aflatoxin ร่วมกับ moniliformin ทำให้ค่า AST ALT ALP และ GGT สูงขึ้น เนื่องจากมีความเสียหายของเนื้อเยื่อ (tissue damage) และมี เอ็นไซม์รั่วออกมาในกระแสเลือด จากการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้น อาจกล่าวได้ว่า ค่าเคมีเลือด ALP ของการศึกษาครั้งนี้ที่สูงขึ้น น่าจะมีผลมาจาก moniliformin หรือ สารพิษอื่นร่วมด้วย เนื่องจากไม่ว่าจะให้ fumonisin T-2 toxin หรือ aflatoxin แบบเดี่ยว หรือ ผสมกันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ไม่มีผลต่อการสูงขึ้นของค่า ALP จะมีผลต่อ AST ALT และ GGT เท่านั้น มีเพียง fumonisin ร่วมกับ moniliformin หรือ moniliformin เดี่ยวเท่านั้นที่ทำให้ค่าเคมีเลือดของไก่เนื้อมีค่า ALP สูงขึ้นจากปกติ

ผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาในไก่ทดลองครั้งนี้ พบรอยโรค glycogen degeneration เมื่อได้รับสารพิษที่ 10 วัน hepatic cell swelling และ hepatic cell death พบที่อายุ 5 วัน คะแนนรอยโรคเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ แปรผันตามอายุไก่ทดลองที่เพิ่มขึ้น ลักษณะการตายของเซลล์มีทั้งแบบ single cell apoptosis และ massive cell death การตายของเซลล์บุท่อน้ำดีพบที่อายุ 15 และ 25 วัน โดยพบเด่นชัดที่อายุ 25 วัน cell depletion ของต่อมเบอริชามีมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัดหลังจากได้รับสารพิษที่อายุ 25 วัน สำหรับม้ามและต่อมไทมัส การเปลี่ยนแปลงไม่เด่นชัดตลอดการทดลอง จากการศึกษาครั้งนี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Ledoux และคณะ(1992) ที่อธิบายรอยโรคที่เกิดจาก fumonisin ใน ไก่เนื้อว่า มี acute multifocal randomly oriented hepatic necrosis ร่วมกับ biliary hyperplasia ระดับปานกลาง และมี kupffer cell hypertrophy Weibking และคณะ (1993) ได้รายงานผลของ fumonisin ในไก่เนื้อว่า ถ้าได้รับ fumonisin B1 ในปริมาณ 225 mg/kg ขึ้นไป จะพบหย่อมเนื้อตายของเซลล์ตับที่มี heterophils และ macrophages เข้าแทรกอย่างอ่อน พบ diffuse hepatocellular hyperplasia อย่างปานกลาง และพบ biliary hyperplasia อย่างอ่อน Brown และคณะ(1992) ได้เปรียบเทียบรอยโรคของ fumonisin กับสารพิษอื่นว่า การเกิด biliary hyperplasia และ kupffer cell hyperplasia สามารถเกิดกับไก่ที่ได้รับ aflatoxin หรือ ochratoxin ได้ แต่ acute multifocal hepatic necrosis ที่พบจาก fumonisin มีความแตกต่างกับ hepatocyte necrosis ที่เกิดจาก aflatoxin หรือ ochratoxin Kubena และคณะ (1990) พบว่า T-2 toxin มีผลทำให้ต่อมเบอริชามีเพิ่ม pyknotic nuclei ใน lymphoid follicles Hoerr และคณะ (1981, 1982c) พบว่า T-2 toxin ทำให้เกิดเนื้อตายของต่อมไทมัส โดยพบ depletion ทั้งใน cortex และ medulla จะพบเนื้อตายของต่อมเบอริชาในบริเวณ medulla รุนแรงมากกว่าส่วนอื่น รอยโรคของตับจะพบหย่อมของ coagulation necrosis ในบริเวณ portal เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังพบเนื้อตายของเซลล์ตับ และ เซลล์ของท่อน้ำดี จากผลการศึกษาของนักวิจัยเปรียบเทียบกับการศึกษาครั้งนี้ อาจสรุปได้ว่า ในการทดลองครั้งนี้ มีการเปลี่ยนแปลงของต่อมเบอริชา ม้าม และ ต่อมไทมัส คล้ายกับไก่ที่ได้รับ T-2 toxin มากกว่า fumonisin การเปลี่ยนแปลงของตับได้รับผลจาก T-2 toxin มากกว่า fumonisin เนื่องจาก

เซลล์บุท่อน้ำดีมีเนื้อตายชัดเจน และมีการตายของเซลล์ตับมีลักษณะ karyorrhexis และ single cell apoptosis ผลของ aflatoxin ต่อไก่ทดลองชุดนี้ไม่เด่นชัด ไม่พบ bile duct hyperplasia hepatocytomegaly หรือ intermediated morphology ของ hepatocyte และ bile duct epithelial cell (Bintvihok *et al.* ,1997)