นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของสารพิษจากเชื้อราทีทูและซีราลีโนนต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius)

อรอนงค์ บัณฑิต[1] หิรัญ กังแฮ[2] วุฒิพร พรหมขุนทอง[3] และ กิจการ ศุภมาตย์[4]

Abstract

Bundit, O.[1], Kanghae, H.[1], Phromkunthong, W.[1] and Supamattaya, K.[1]

Effects of mycotoxin T-2 and zearalenone on histopathological changes in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2006, 28(5) : 937-949

The effects of T-2 toxin and zearalenone were studied in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). In the experiment, black tiger shrimp were fed with different concentrations of T-2 toxin, i.e. 0, 0.1, 1.0 and 2.0 ppm and zearalenone, i.e. 0, 0.1. 0.5 and 1.0 ppm. Shrimp with initial average weight of 4.7 g were experimented for a-10-wk period. Supplementation of 0, 0.1 and 1.0 ppm T-2 produced no histological changes in hepatopancreatic, hemopoietic tissue or lymphoid cell while at higher concentration of 2.0 ppm atrophy, severe necrosis and degeneration of hepatopancreatic tubules, loose contact of hemopoietic tissue and lymphoid organ occurred. Similar observations were noted for the treatments with 0.5 and 1.0 ppm zearalenone - supplemented feed. Histological changes were, however, observed in hepatopancreatic tissue. The scale of histological changes correlated with feeding period and concentrations of zearalenone shrimp received.

Key words : T-2 toxin, zearalenone, black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, histopathology

[1]Aquatic Animal Health Research Center, Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand.

[1]นักศึกษาหลักสูตร วท.ม. สาขาวาริชศาสตร์ [2]วท.ม.(วาริชศาสตร์) [3]Dr.rer.Nat. (Aquatic Animal Nutrition) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวาริชศาสตร์ [4]Dr.rer.Nat. (Aquatic Animal Disease) รองศาสตราจารย์ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

Corresponding e-mail: kidchakan.s@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 10 พฤศจิกายน 2548 รับลงพิมพ์ 10 มีนาคม 2549

บทคัดย่อ

อรอนงค์ บัณฑิต หิรัญ กังแฮ วุฒิพร พรหมขุนทอง และ กิจการ ศุภมาตย์

ผลของสารพิษจากเชื้อราทีทูและซีราลีโนนต่อเนื้อเยื่อในกุ้งกุลาดำ

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2549 28(5) : 937-949

ศึกษาผลของสารพิษทีทูและซีราลีโนนต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในกุ้งกุลาดำ โดยนำกุ้งกุลาดำแบ่งออกเป็น 7 ชุดการทดลอง ๆ ละ 6 ซ้ำ จำนวน 15 ตัว/ซ้ำ มีระดับสารพิษทีทูแตกต่างกัน คือ 0, 0.1, 1.0 และ 2.0 พีพีเอ็ม และสารพิษซีราลีโนนระดับ 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 พีพีเอ็ม นำไปทดลองเลี้ยงในกุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 4.7 กรัม/ตัว เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพตับ เซลล์สร้างเม็ดเลือดและเซลล์น้ำเหลืองในกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษทีทูระดับ 0, 0.1 และ 1.0 พีพีเอ็ม แต่ในกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษระดับ 2.0 พีพีเอ็ม มีการฝ่อและลีบของเซลล์ท่อตับ เซลล์สะสมอาหารลดขนาดลง ตามด้วยการเสื่อมของเซลล์ท่อตับ และเซลล์ตับบางส่วนตาย เซลล์สร้างเม็ดเลือดและเซลล์น้ำเหลืองมีการจับตัวกันอย่างหลวม ๆ สำหรับกุ้งที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 0.5 และ 1.0 พีพีเอ็ม ตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์ มีอาการผิดปกติคล้ายคลึงกับกุ้งที่ได้รับสารพิษทีทู แต่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับรุนแรงขึ้น โดยความรุนแรงที่ตรวจพบจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารพิษและระยะเวลาที่ได้รับ ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือก และกล้ามเนื้อลำตัวตลอดการทดลอง 10 สัปดาห์

ประเทศไทยได้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาเทคนิควิธีเลี้ยงและเพาะขยายพันธุ์สัตว์น้ำต่างๆ ทำให้เกิดการขยายพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงทั้งสัตว์น้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ทั้งทางภาครัฐและเอกชนได้ให้ความสนใจ ทำให้กุ้งทะเลเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศ การเพาะเลี้ยงกุ้งให้มีคุณภาพได้มาตรฐานขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายด้าน โดยเฉพาะที่เป็นปัญหาสำคัญในการผลิตอาหารสัตว์น้ำคือคุณภาพของวัตถุดิบทางการเกษตรที่ไม่ได้มาตรฐาน เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ปลายข้าว ถั่วเหลือง มันสำปะหลัง ปลาป่น และกระดูกป่น เป็นต้น มักพบการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin) หลายชนิดในปริมาณสูง ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์เลี้ยง โดยสารพิษจะไปทำลายระบบการทำงานของร่างกายให้เสื่อมโทรมลง เช่น เติบโตช้า ความต้านทานโรคลดลง อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูง และถ้าได้รับสารพิษในปริมาณสูงก่อให้เกิดอันตรายแก่ชีวิตได้ สารพิษจากเชื้อราเมื่อสัตว์และคนได้รับสารพิษเหล่านี้จะแสดงอาการต่างๆ กันไปตามชนิดของสารพิษและปริมาณที่ได้รับ ซึ่งมักทำให้วินิจฉัยผิดพลาดเนื่องจากอาการป่วยมักคล้ายโรคติดเชื้อต่างๆ (เยาวมาลย์, 2545) เชื้อราหลายสกุลสามารถสร้างสารพิษได้ โดยกลุ่มเชื้อราที่สร้างสารพิษได้มากที่สุดมี 3 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. (ศมนีย์, 2529) โดยเฉพาะเชื้อราฟูซาเรียมที่สามารถสร้างสารพิษได้หลายชนิด แต่สารพิษที่มีการศึกษาผลกระทบต่อคนและสัตว์และพบการปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารค่อนข้างมากนั้น ได้แก่ สารพิษทีทู (T-2 toxin) ซึ่งอยู่ในกลุ่มไตรโคธีซีนส์ และสารพิษซีราลีโนน (zearalenone) ซึ่งพบมากในข้าวโพด วัตถุดิบอาหารสัตว์หลายชนิด และอาหารสำเร็จรูป (Bamburg *et al*., 1968)

สารพิษจากเชื้อรามักปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ เช่น กากถั่วเหลือง รำ ข้าวโพด ปลาป่น และมันสำปะหลัง สามารถแพร่กระจายได้ทุกขั้นตอนตั้งแต่เมล็ดก่อนปลูก ระหว่างการปลูก ปนเปื้อนในถังเก็บอาหาร ขณะผลิตและบรรจุหีบห่อ ระหว่างขนส่ง ตลอดจนการเก็บรักษา เมื่อคนและสัตว์ได้รับสารพิษเข้าไปจะทำให้เกิดการเจ็บป่วยขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารพิษ ถ้าได้รับในปริมาณมากจะเกิดอาการเป็นพิษเฉียบพลัน สัตว์จะตายทันที แต่ถ้าได้รับสารพิษในระดับต่ำเป็นระยะเวลานานๆ จะทำให้การเจริญเติบโตช้าลง และเกิดความผิดปกติของอวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะตับ ไต ระบบทางเดินอาหาร และระบบสืบพันธุ์ (มาลินี, 2523) แม้ว่าการปนเปื้อนของสารพิษทีทูและซีราลีโนน จะไม่เป็นปัญหาในประเทศไทยมากเท่ากับอะฟลาทอกซิน แต่ก็อาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากการนำเข้าวัตถุดิบอาหารสัตว์บางชนิดจากต่างประเทศ ดังนั้นการ

ศึกษาผลของสารพิษจากเชื้อราสามารถนำมาเป็นแนวทางในการลดอัตราการสูญเสียทางเศรษฐกิจและเพิ่มคุณภาพผลผลิตด้านการเลี้ยงสัตว์ได้อย่างดียิ่ง สำหรับข้อมูลการศึกษาผลกระทบของสารพิษทีทูและซีราลีโนนในสัตว์น้ำนั้นยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด อย่างไรก็ตาม ได้มีรายงานในปลาเรนโบว์เทร้าท์และปลาแซลมอนที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูในระดับต่างๆ พบว่าการกินอาหารและการเจริญเติบโตลดลง ส่งผลกระทบต่อค่าโลหิตวิทยา รวมทั้งมีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อร่วมด้วย (Manning *et al*., 2003; Poston *et al*., 1982)

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาผลของสารพิษทีทูและซีราลีโนนที่ปนเปื้อนในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของกุ้งกุลาดำ เนื่องจากอาการผิดปกติของเนื้อเยื่อจะแสดงออกก่อนที่กุ้งจะมีอาการอื่น ทำให้ควบคุมการเกิดโรคจากเชื้อราได้ทันเหตุการณ์ ซึ่งในปัจจุบันยังไม่พบรายงานการวิจัย ดังนั้นรายละเอียดเหล่านี้สามารถนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับเป็นแนวทางในการศึกษาด้านโรคที่เกิดจากสารพิษจากเชื้อราในสัตว์น้ำได้ครอบคลุมยิ่งขึ้น และสามารถป้องกันโรคที่เกิดขึ้นต่อสุขภาพคนและสัตว์น้ำ รวมทั้งลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจได้ทันเหตุการณ์เพื่อการพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารสัตว์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมกุ้งทดลองและชุดการทดลอง

กุ้งกุลาดำปลอดเชื้อแบคทีเรียและปรสิตภายนอก อายุ 30 วัน น้ำหนักประมาณ 4-6 กรัม จำนวน 2,000 ตัว นำมาพักไว้ในบ่อซีเมนต์แล้วคัดขนาดให้มีน้ำหนักในช่วง 4-5 กรัม ใส่ตู้กระจกทดลองขนาด 45×90×45 ซม. ความจุน้ำ 200 ลิตร พร้อมอุปกรณ์ระบบให้อากาศและน้ำไหลผ่าน (flow through system) อัตราการไหลของน้ำเท่ากับ 2.0 ลิตร/นาที จำนวน 15 ตัว/ตู้ โดยมี 7 ชุดการทดลองๆ ละ 6 ซ้ำ รวม 42 ตู้ ชุดการทดลองที่ 1 ได้รับอาหารไม่ปนเปื้อนสารพิษทั้ง 2 ชนิด ชุดการทดลองที่ 2-7 ได้รับอาหารที่มีสารพิษทีทูระดับ 0.1, 1.0 และ 2.0 พีพีเอ็ม และซีราลีโนนระดับ 0.1, 0.5 และ 1.0 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ก่อนเริ่มการทดลองเลี้ยงกุ้งในตู้ทดลอง 1 สัปดาห์ และให้อาหารชุดควบคุม เพื่อให้สัตว์ทดลองปรับสภาพให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมและอาหารทดลอง สังเกตการยอมรับอาหารของกุ้งก่อนเริ่มการทดลองแล้ว ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของกุ้งและให้อาหารทดลอง โดยปริมาณอาหารที่ให้จะปรับตามตารางการให้อาหารกุ้งกุลาดำซึ่งเปลี่ยนตามน้ำหนักตัวกุ้ง

2. อาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งทดลองมี 7 สูตร มีระดับคุณค่าทางโภชนาการเท่ากันทุกสูตรตามวิธีการของ Boonyaratpalin และคณะ (2000) โดยอาหารมีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นโดยประมาณ 40, 10, 12 และ 7% ตามลำดับ แต่มีระดับความเข้มข้นของสารพิษทั้ง 2 ชนิดไม่เท่ากัน โดยมีระดับสารพิษทีทูแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0.1, 1.0 และ 2.0 พีพีเอ็ม ซีราลีโนน 0.1, 0.5 และ 1.0 พีพีเอ็ม และรวมชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารพิษทั้ง 2 ชนิด ซึ่งสารพิษทีทูและซีราลีโนนได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทไบโอมิน จำกัด ประเทศออสเตรีย การเตรียมอาหารเริ่มจากสารพิษทีทูบริสุทธิ์ 100% ปริมาณ 35 มก. ซึ่งได้จากเชื้อรากลุ่มฟูซาเรียมและซีราลีโนนบริสุทธิ์ 100% ปริมาณ 20 มก. ได้จากเชื้อรา *Fusarium graminearum* ใช้แป้งสาลีเป็นตัวเจือจางเพื่อให้สารพิษกระจายตัวได้ดีและให้แต่ละสูตรมีระดับความเข้มข้นตามที่คำนวณไว้ จากนั้นผสมแร่ธาตุผสม วิตามินผสม แป้งสาลี และสารพิษทีทูหรือซีราลีโนนตามที่คำนวณไว้แต่ละสูตรอาหารในถุงพลาสติกใส ผสมให้เข้ากันแล้วจึงผสมรวมเข้ากับวัตถุดิบอาหารอื่นๆ ที่ชั่งไว้ตามสูตร (Table 1) ในเครื่องผสมอาหารจนเข้ากันดีแล้วนำมาอัดเม็ดอาหาร ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวควรทำในที่โล่งและผสมในเครื่องผสมที่ปิดมิดชิดเพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายของสารพิษ หลังจากนั้นอบที่อุณหภูมิ 60ºC จนแห้งดี บรรจุลงถุงพลาสติกเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4ºC

3. การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษทีทูและซีราลีโนน

ชุดการทดลองแต่ละชุดแบ่งตามระดับความเข้มข้นของสารพิษทีทู 3 ระดับ (0.1, 1.0 และ 2.0 พีพีเอ็ม) และซีราลีโนน 3 ระดับ (0.1, 0.5 และ 1.0 พีพีเอ็ม) รวมชุด

Table 1. Composition of experimental diets with various levels of T-2 toxin and zearalenone

Raw material (g 1 kg^{-1})	Diet						
	1	2	3	4	5	6	7
Fish meal	260	260	260	260	260	260	260
Squid meal	100	100	100	100	100	100	100
Shrimp head meal	100	100	100	100	100	100	100
Soybean meal	100	100	100	100	100	100	100
Wheat flour	200	199.2858	192.8572	171.4289	199.375	196.875	193.75
Rice flour	71.8	71.8	71.8	71.8	71.8	71.8	71.8
Wheat gluten	60	60	60	60	60	60	60
Lecitin	20	20	20	20	20	20	20
Fish oil	40	40	40	40	40	40	40
Vitamin mixed[1]	5	5	5	5	5	5	5
Mineral mixed[2]	20	20	20	20	20	20	20
Choline chloride	3	3	3	3	3	3	3
Cholesterol	5	5	5	5	5	5	5
Zeolite	15	15	15	15	15	15	15
BHT	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
T-2 toxin*	0	0.7142	7.1428	28.5714	-	-	-
ZEN**	0	-	-	-	0.6250	3.1250	6.250
Total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

[1] Vitamin mixed (mg 100 g dry diet^{-1} unless indicated otherwise): thiamine 22.5; riboflavin 20.16; nicotinic acid 36.7; Ca-pantothenate 24.0; inositol 98; biotin 0.5; folic acid 1.68; vitamin B12 0.005; menadione 13.28; vitamin A 1150 IU; vitamin D3 230 IU; BHT 1; PABA 20; cellulose 89.88.

[2] Mineral mixed (mg 100 g diet^{-1}) $MnSO_4$ 2.5 mg; $ZnSO_4.7H_2O$ mg; $FeSO_4.7\ H_2O$ 3 mg; KIO_3 0.5 mg; $CuSO_4.5H_2O$ 0.5 mg; $CoCl_2.6H_2O$ 0.005 mg and Na_2SeO_3 0.03 mg

***Stock T-2 toxin (140 ppm) **Stock ZEN (160 ppm)**

ควบคุม (0 พีพีเอ็ม) เริ่มต้นการทดลองโดยชั่งน้ำหนักกุ้งกุลาดำ สุ่มกุ้งให้มีน้ำหนักในช่วง 4-5 กรัม/ตัว ปล่อยในตู้ทดลองตู้ละ 15 ตัว/ตู้ ให้อาหาร 3-5% ของน้ำหนักตัว/วัน เหมือนกันทุกชุดการทดลอง วันละ 4 ครั้ง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ชั่งและบันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้ทุกวัน ชั่งน้ำหนักกุ้งทุก 2 สัปดาห์ บันทึกผลตลอดการทดลอง

เก็บตัวอย่างกุ้งกุลาดำในสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 10 โดยสุ่มตัวอย่างกุ้งแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 10 ตัว เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา ตามวิธีของ Bell และ Lightner (1988) โดยฉีดน้ำยาเดวิดสันบริเวณหัวใจตับ ส่วนหัว และกล้ามเนื้อลำตัวให้ทั่ว แล้วตัดส่วนหัวออกจากลำตัวและผ่าออกเป็นสองซีก หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อตัวอย่างดองในขวดที่บรรจุน้ำยาเดวิดสัน โดยให้น้ำยาท่วมตัวอย่างเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำยาดองซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ทั่วถึง ตัวอย่างที่นำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อคือ เนื้อเยื่อตับอ่อน (hepatopancreatic tissue) ต่อมน้ำเหลือง (lymphoid organ) เหงือก (gill) เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (hemopoietic tissue) และกล้ามเนื้อ (muscle) หลังจาก 72 ชั่วโมง เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ 50% หลังจากนั้นนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อโดยเครื่อง Automatic Tissue Processor (Autotechnicon MonoMOD. 2A) ตามวิธีมาตรฐานของ Humason (1979) หลังจากนั้นนำชิ้นเนื้อฝังในพาราพลาสท์ แล้วตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่องไมโครโตม (Jung AG Heidelberg) หนา 3-5 ไมครอน นำตัวอย่างผ่านขั้นตอนการย้อมสี Hematoxylin & Eosin (H&E) (Bancroft, 1967) เพื่อทำเป็นสไลด์ถาวรและนำตัวอย่างไปตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อโดยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (Olympus AX 70) และบันทึกภาพโดยกล้องถ่ายภาพดิจิตอล Olympus DP-10

ผลการทดลอง

1. ผลการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของกุ้งกุลาดำหลังได้รับสารพิษทีทูและซีราลีโนน ตลอด 10 สัปดาห์

1.1 ผลของสารพิษทีทู

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด (2.0 พีพีเอ็ม) แสดงพฤติกรรมเชื่องช้า หลบตามมุมตู้ทดลอง กินอาหารลดลงเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ ได้แก่ เนื้อเยื่อตับ ต่อมน้ำเหลือง อวัยวะสร้างเม็ดเลือด เหงือก และกล้ามเนื้อลำตัวของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูและซีราลีโนนระดับต่างๆ เป็นเปอร์เซ็นต์และในวงเล็บเป็นจำนวนตัวที่พบความผิดปกติต่อจำนวนที่ศึกษา

Table 2. Effects of mycotoxin T-2 and zearalenone on histopathological changes in black tiger shrimp at 8 weeks.

Histological changes	Control 0 ppm	T-2 toxin 0.1 ppm	T-2 toxin 1.0 ppm	T-2 toxin 2.0 ppm	ZEN 0.1 ppm	ZEN 0.5 ppm	ZEN 1.0 ppm
1. Degeneration of hepatopancreatic tubule	0%	0%	0%	10% (1/10)	0%	0%	30% (3/10)
2. Atrophic change of hepatopancreatic tubule	0%	0%	0%	10% (1/10)	0%	0%	30% (3/10)
3. Cell necrosis of hepatopancreatic	0%	0%	0%	10% (1/10)	0%	0%	40% (4/10)
4. Infiltration of hemocyte in hepatopancreatic tubule	0%	0%	0%	0%	0%	0%	20% (2/10)
5. Hemopoietic tissue - loose contact	0%	0%	0%	0%	0%	0%	25% (1/4)
6. Lymphoid organ - loose contact	0%	0%	0%	16.66% (1/6)	0%	0%	16.66% (1/6)

[1]**% abnormality = (number of abnormality/total) × 100**

Table 3. Effects of mycotoxin T-2 and zearalenone on histopathological changes in black tiger shrimp at 10 weeks.

Histological changes	Control 0 ppm	T-2 toxin 0.1 ppm	T-2 toxin 1.0 ppm	T-2 toxin 2.0 ppm	ZEN 0.1 ppm	ZEN 0.5 ppm	ZEN 1.0 ppm
1. Degeneration of hepatopancreatic tubule	0%	0%	0%	30% (3/10)	0%	30% (3/10)	70% (7/10)
2. Atrophic change of hepatopancreatic tubule	0%	0%	0%	30% (3/10)	0%	20% (2/10)	50% (5/10)
3. Cell necrosis of hepatopancreatic	0%	0%	0%	10% (1/10)	0%	30% (3/10)	60% (6/10)
4. Infiltration of hemocyte in hepatopancreatic tubule	0%	0%	0%	0%	0%	10% (1/10)	40% (4/10)
5. Hemopoietic tissue - loose contact	0%	0%	0%	16.66% (1/6)	0%	0%	37.5% (3/8)
6. Lymphoid organ - loose contact	0%	0%	0%	25% (1/4)	0%	0%	16.66% (1/6)

[1]**% abnormality = (number of abnormality/total) × 100**

ทั้งหมด (Table 2-3)

1.1.1 เนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษทีทูที่ 4 สัปดาห์

หลังจากกุ้งกุลาดำได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับ 0, 0.1, 1.0 และ 2.0 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ ต่อมน้ำเหลือง อวัยวะสร้างเม็ดเลือด เหงือก และกล้ามเนื้อลำตัว โดยพบว่าโครงสร้างของท่อตับปกติ เซลล์ตับเรียงตัวเป็นระเบียบ

1.1.2 เนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษทีทูที่ 8 สัปดาห์

1) ตับ

กุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษทีทูระดับ 0, 0.1 และ 1.0 พีพีเอ็ม มีโครงสร้างท่อตับปกติ เซลล์ตับเรียงตัวเป็นระเบียบ ช่องว่างกลางท่อตับเป็นรูปดาว (Figure 1) เริ่มพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อกุ้งที่ได้รับสารพิษทีทูระดับสูงสุด (2.0 พีพีเอ็ม) ในสัปดาห์ที่ 8 โดยพบการฝ่อและลีบของเซลล์ตับ เซลล์ที่ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหารมีขนาดลดลง แต่โครงสร้างท่อตับยังปกติ (Figure 2) ในกุ้งบางกลุ่มที่มีอาการรุนแรงพบการเสื่อมของเซลล์ท่อตับ โครงสร้างท่อตับผิดปกติไป และเริ่มพบเซลล์ตับตายเฉพาะส่วน เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (0 พีพีเอ็ม)

2) เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง

กุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษทีทูระดับ 0, 0.1 และ 1.0 พีพีเอ็ม ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อน้ำเหลือง เซลล์มีขนาดปกติและการเรียงตัวเป็นระเบียบ พบความผิดปกติในเนื้อเยื่อน้ำเหลืองกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับ 2.0 พีพีเอ็ม โดยเซลล์มีการจับตัวกันอย่างหลวมๆ แต่เซลล์ยังมีลักษณะปกติ

3) อวัยวะสร้างเม็ดเลือด

กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับ 0, 0.1 และ 1.0 พีพีเอ็ม ไม่พบความผิด

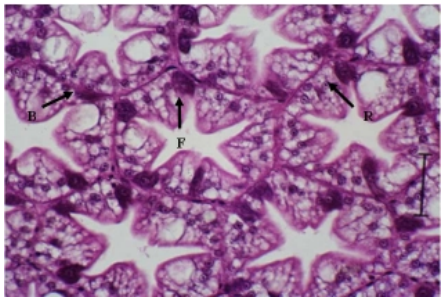

Figure 1. Hepatopancreas of healthy black tiger shrimp (control diet) showing complete structure of different cell type, B = B-cell (Blasenzellen), R = R-cell (Storage or Restzellen), F = F-cell (Fibrillazellen) (arrows) (H&E, Bar = 100 µm)

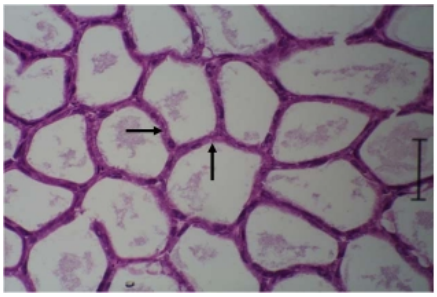

Figure 2. Severe atrophic changes of hepatopancreas observed in shrimp fed with diet containing T-2 toxin 2.0 ppm for 8 weeks. Arrow indicates R-cell that was reduced in size (H&E, Bar = 100 µm)

[Color figure can be viewed in the electronic version]

ปกติของเซลล์สร้างเม็ดเลือด เซลล์มีขนาดปกติและการเรียงตัวเป็นระเบียบ กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับ 2.0 พีพีเอ็ม พบว่าเซลล์สร้างเม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างหลวมๆ

1.1.3 เนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษทีทูที่ 10 สัปดาห์

1) ตับ

กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับ 0, 0.1 และ 1.0 พีพีเอ็ม โครงสร้างท่อตับยังปกติ เซลล์ตับมีการเรียงตัวเป็นระเบียบ แต่เซลล์ฝ่อและลีบกระจายเป็นบริเวณกว้าง ในกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับ 2.0 พีพีเอ็ม พบการเสื่อมสลายของเซลล์ท่อตับ เซลล์เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ เกิดการกร่อนของเซลล์ท่อตับ และพบเซลล์ตับตาย (Figure 3) ความผิดปกติโดยรวมในตับกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทู 10 สัปดาห์ พบจำนวนตัวที่ผิดปกติและอาการรุนแรงมากกว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับ 2.0 พีพีเอ็ม ในสัปดาห์ที่ 8 (Table 2)

2) เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง

ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษทีทูระดับ 0, 0.1 และ 1.0 พีพีเอ็ม โดยเซลล์น้ำเหลืองมีขนาดปกติ เซลล์เรียงตัวเป็นระเบียบ เซลล์น้ำเหลืองจับตัวกันอย่างหลวมๆ เซลล์เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ท่อน้ำเหลืองหดตัว ความผิดปกติโดยรวมที่พบในเซลล์น้ำเหลืองสูงขึ้นในกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับสูงขึ้น และสูงที่สุดในกุ้งที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับ 2.0 พีพีเอ็ม

3) เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด เหงือก และกล้ามเนื้อ

พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างเม็ดเลือดในกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับสูงสุด (2.0 พีพีเอ็ม) ในสัปดาห์ที่ 10 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกและกล้ามเนื้อลำตัวกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษทีทูระดับต่างๆ ทั้งในสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 10

1.2 ผลของสารพิษซีราลีโนนในกุ้งกุลาดำ

สำหรับกุ้งที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด (1.0 พีพีเอ็ม) แสดงพฤติกรรมและความผิดปกติคล้ายคลึงกับกุ้งที่ได้รับสารพิษทีทูช่วงสัปดาห์สุดท้าย กุ้งที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษระดับสูงสุดกินอาหารน้อยมาก กุ้งบางตัวลำตัวสีคล้ำ สีตับซีด และพบลักษณะตัวหลวม เมื่อเทียบกับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ

1.2.1 เนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนที่ 4 สัปดาห์

ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ ต่อมน้ำเหลือง เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด เหงือก และกล้ามเนื้อลำตัวของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนระดับต่างๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในส่วนของตับพบโครงสร้างท่อตับปกติ เซลล์ตับเรียงตัวเป็นระเบียบ

1.2.2 เนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนที่ 8 สัปดาห์

1) ตับ

กุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 0, 0.1 และ 0.5 พีพีเอ็ม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ โครงสร้างท่อตับปกติ เซลล์เรียงตัวเป็นระเบียบ เช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 4 ขณะที่อาการผิดปกติของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนระดับ 1.0 พีพีเอ็ม เซลล์ที่สร้างน้ำย่อยและสะสมอาหารฝ่อและลีบ การสร้างน้ำย่อยลดลง พบการเสื่อมสลายและการตายของเซลล์ตับ มีเม็ดเลือดจำนวนมากแทรกระหว่างท่อตับ กุ้งกุลาดำที่มีอาการรุนแรง พบการเสื่อมสลายของเซลล์ท่อตับ โครงสร้างท่อตับผิดปกติ พบการตายของเซลล์ท่อตับ และเกิด melanization บริเวณเซลล์ท่อตับที่ตาย

2) เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง

กุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 0, 0.1 และ 0.5 พีพีเอ็ม เซลล์น้ำเหลืองปกติและมีการเรียงตัวเป็นระเบียบ เช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 4 สำหรับกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 1.0 พีพีเอ็ม พบเซลล์น้ำเหลืองจับตัวกันอย่างหลวมๆ ท่อน้ำเหลืองบางส่วนหดตัว สังเกตได้จากการติดสีชมพูเข้มของอีโอซิน

3) อวัยวะสร้างเม็ดเลือด

ไม่พบความผิดปกติของเซลล์สร้างเม็ดเลือดในกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 0, 0.1 และ 0.5 พีพีเอ็ม เช่นเดียวกับชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ 4 (Figure 8) สำหรับกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนน

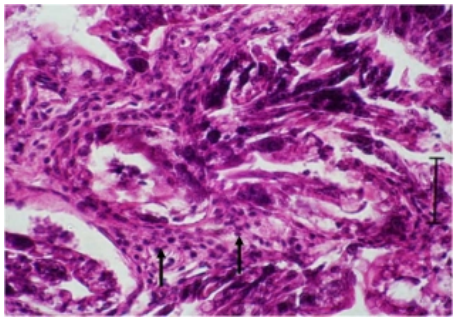

Figure 3. Black tiger shrimp fed with diet containing T-2 toxin 2.0 ppm for 10 weeks. Degeneration of hepatopancreatic tubules and increasing of infiltration of hemocyte into the intertubular space (arrows) (H&E , Bar = 50 µm)

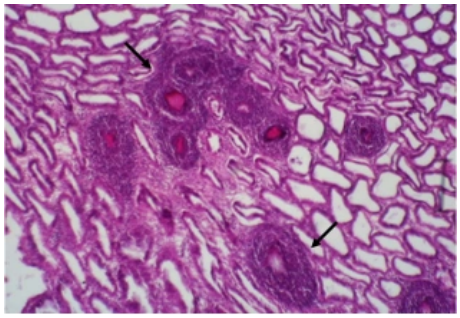

Figure 4. Atrophy changes, Degeneration of hepatopancreas and infiltration of intertubular tissue with hemocytes (arrows) in black tiger shrimp fed with diet containing 0.5 ppm zearalenone for 10 week (H&E, Bar = 200 µm)

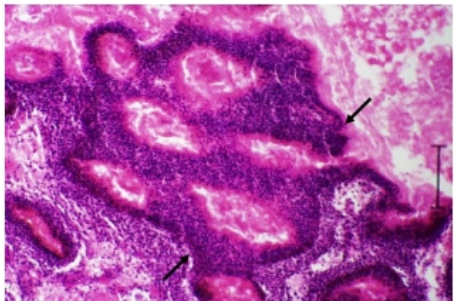

Figure 5. Atrophy changes, Degeneration of hepatopancreas and increasing of infiltration of intertubular tissue with hemocytes (arrows) in black tiger shrimp fed with diet containing 0.5 ppm zearalenone for 10 week (H&E, Bar = 50 µm)
[Color figure can be viewed in the electronic version]

ระดับ 1.0 พีพีเอ็ม พบว่าเซลล์สร้างเม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวมๆ (Figure 9)

1.2.3 เนื้อเยื่อของกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนที่ 10 สัปดาห์

1) ตับ

กุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 0 และ 0.1 พีพีเอ็ม พบเซลล์ตับเรียงตัวเป็นระเบียบ โครงสร้างท่อตับปกติเช่นเดียวกับกุ้งในชุดควบคุม พบการ

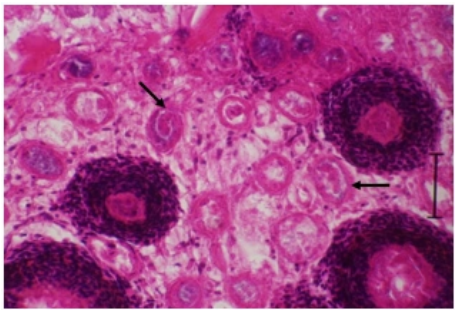

Figure 6. Black tiger shrimp fed with zearalenone 1.0 ppm for 10 weeks. Degeneration of hepatopancreas and necrotic tubules were encapsulated by hemocyte (arrows) (H&E, Bar = 50 µm)

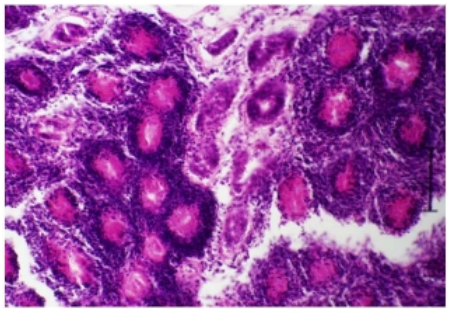

Figure 7. Severe degeneration of hepatopancreatic tubules in black tiger shrimp fed with diet containing 1.0 ppm zearalenone for 10 weeks (H&E, Bar = 100 µm)

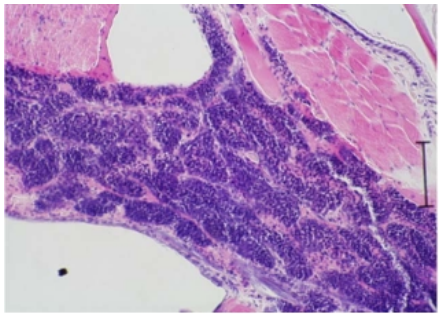

Figure 8. Normal histology of hemopoietic tissue of black tiger shrimp (control diet) (H&E, Bar = 100 µm)
[Color figure can be viewed in the electronic version]

เปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับในกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 0.5 และ 1.0 พีพีเอ็ม อาการที่พบในกุ้งที่ได้รับสารพิษระดับ 0.5 พีพีเอ็ม ได้แก่ การฝ่อและลีบของเซลล์ตับกระจายทั่วเนื้อเยื่อตับ บางกลุ่มที่มีอาการรุนแรงพบการสลายตัวของเซลล์ท่อตับร่วมด้วย (Figure 4-5) สำหรับกุ้งที่ได้รับสารพิษระดับสูงสุด (1.0 พีพีเอ็ม) พบการฝ่อและลีบของเซลล์ท่อตับ การสะสมอาหารและการสร้างน้ำย่อยลดลง ช่องว่างกลางท่อตับกว้างขึ้น เซลล์ท่อตับเสื่อมสลาย โครงสร้างท่อตับผิดปกติ มีเม็ดเลือดจำนวนมากแทรกระหว่างท่อตับ เกิด melanization เด่นชัดและ

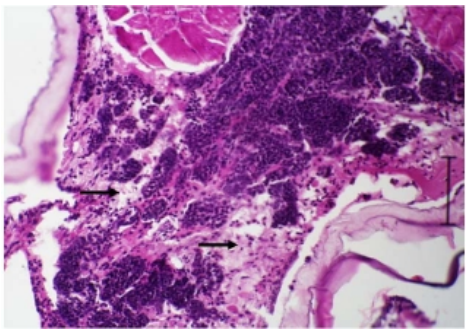

Figure 9. Severe loose contact of hemopoietic tissue (arrows) observed in shrimp fed with diet containing zearalenone 1.0 ppm for 8 weeks. (H&E, Bar = 100 µm)

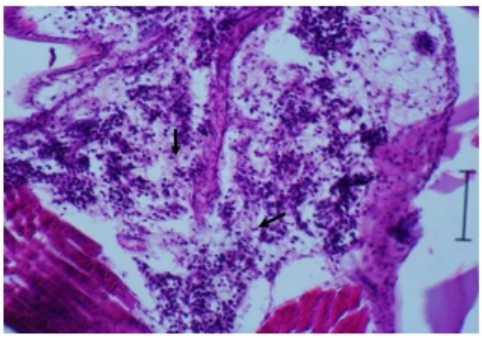

Figure 10. Severe loose contact of hemopoietic tissue (arrows) observed in shrimp fed with diet containing zearalenone 1.0 ppm for 10 weeks. (H&E, Bar = 100 µm)
[Color figure can be viewed in the electronic version]

รุนแรงขึ้น (Figure 6-7) นอกจากนี้พบเซลล์ตายในกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 1.0 พีพีเอ็ม และมีจำนวนตัวผิดปกติสูงกว่าในสัปดาห์ที่ 8 ความผิดปกติโดยรวมในตับกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่ามีจำนวนตัวผิดปกติและอาการรุนแรงมากกว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อที่ตรวจพบจะสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของสารพิษซีราลีโนนที่ได้รับ

2) เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง

กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนระดับ 0, 0.1 และ 0.5 พีพีเอ็ม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์น้ำเหลือง แต่กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนระดับ 1.0 พีพีเอ็ม พบการจับตัวกันอย่างหลวมๆ ของเซลล์น้ำเหลือง และการหดตัวของท่อน้ำเหลืองบางส่วน

3) อวัยวะสร้างเม็ดเลือด

ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างเม็ดเลือดในกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 0, 0.1 และ 0.5 พีพีเอ็ม เซลล์เรียงตัวเป็นระเบียบ ขนาดและรูปร่างของเซลล์ปกติเช่นเดียวกับชุดควบคุม (Figure 8) พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างเม็ดเลือดในกุ้งกุลาดำที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 1.0 พีพีเอ็ม อาการผิดปกติที่พบ ได้แก่ เซลล์มีการจับตัวกันอย่างหลวมๆ แต่ขนาดและรูปร่างเซลล์ปกติ (Figure 10)

4) เนื้อเยื่อเหงือกและกล้ามเนื้อ

ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหงือกและกล้ามเนื้อลำตัวของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนระดับต่างๆ ในสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 10

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของสารพิษทีทูที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของกุ้ง พบว่ากุ้งที่ได้รับสารพิษทีทูระดับสูงสุด (2.0 พีพีเอ็ม) เป็นเวลา 8 และ 10 สัปดาห์ เริ่มมีการฝ่อและลีบของเนื้อเยื่อตับ เซลล์ที่สะสมอาหารลดขนาดลง นอกจากนี้พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับอย่างรุนแรง เช่น การสลายตัวของเซลล์ท่อตับ และเซลล์ตาย การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่พบในสัปดาห์ที่ 10 มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติที่สูงกว่าสัปดาห์ที่ 8 แสดงให้ทราบว่ากุ้งที่ได้รับสารพิษระดับเดียวกันแต่เป็นระยะเวลาที่นานขึ้นก่อให้เกิดความผิดปกติและอาการที่รุนแรงขึ้น ซึ่งอาการดังกล่าวแสดงความเป็นพิษแบบเรื้อรัง การเปลี่ยนแปลงที่พบจากการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับที่เคยมีรายงานในกุ้งกุลาดำ มะลิ และคณะ (2543) รายงานว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารปนเปื้อนอะฟลาทอกซินระดับ 74-220 พีพีบี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จะมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับอ่อนอย่างชัดเจน โดยพบเซลล์ท่อตับฝ่อและลีบ มีการแทรกตัวของเม็ดเลือดในส่วนของช่องว่างระหว่างท่อตับ และตรวจพบเซลล์ตาย การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อรุนแรงที่สุดในกุ้งที่ได้รับอะฟลาทอกซินระดับสูงสุด (220 พีพีบี) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lavilla-Pitogo และคณะ (1994) รายงานว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอะฟลาทอกซินระดับ 50 พีพีบี เป็นเวลา 60 วัน พบเซลล์ตับที่ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหารลดขนาดลง เม็ดเลือดจำนวนมากแทรกระหว่างท่อตับและเกิด melanization บริเวณที่มีการตายของเซลล์ Bailey และคณะ (1984) รายงานอาการพิษแบบเรื้อรังของสารพิษทีทูมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในตัวปลาได้หลายอย่างคือ มีจุดเลือดออกในช่องท้องและเซลล์ตับตาย อวัยวะที่พบอาการผิดปกติได้บ่อยคือ ตับ เหงือก และไต ในปลาอายุมาก (3 ปี) จะพบเนื้องอกซึ่งเป็นแบบการแพร่กระจาย (metastasis) ในปลาเทร้าท์ เนื้องอกที่พบบริเวณตับจะเป็นเนื้องอกชนิดร้าย (malignant neoplasm) 90% และเนื้องอกไม่ร้าย (benign neoplasm) 10% เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Marasas และคณะ (1969) รายงานความเป็นพิษของสารพิษทีทูระดับ 0.8 พีพีเอ็ม มีผลทำให้ลำไส้ปลาเทร้าท์ถูกทำลาย เมื่อทำการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อพบการตกเลือดและบวมน้ำในกระเพาะอาหาร ตับบวมโต เซลล์บุผนังลำไส้และเนื้อเยื่อตับปลาเกือบทั้งหมดถูกทำลาย สอดคล้องกับการศึกษาของ Karppanen และ Westerling (1986) รายงานผลของสารพิษทีทูที่ปนเปื้อนในอาหารปลาเรนโบว์เทร้าท์ระดับ 0.2 และ 0.4 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสารพิษสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ โดยมีอาการบวมน้ำ ตกเลือดในกระเพาะอาหารและผนังลำไส้ เนื้อเยื่อตับเกือบทั้งหมดถูกทำลาย รวมทั้งก่อให้เกิดเนื้องอกที่ตับด้วย เมื่อเนื้อเยื่อตับถูกทำลายทำให้ประสิทธิภาพการทำงานลดลง ส่งผลให้ปลามีประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำลง ปลาจึงมีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ไม่ได้รับสารพิษ

สารพิษซีราลีโนนที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ พบว่าคล้ายคลึงกับสารพิษทีทู แต่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับที่รุนแรงขึ้น โดยเริ่มพบอาการผิดปกติในสัปดาห์ที่ 8 และพบเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติที่สูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 10 โดยเริ่มจากการฝ่อและลีบของเนื้อเยื่อตับ เซลล์ที่สร้างน้ำย่อยและสะสมอาหารลดขนาดลง ทำให้การสร้างน้ำย่อยและการสะสมอาหารลดลง ในขณะที่ชุดการทดลองที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับสูงจะมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับอย่างรุนแรงคือ การสลายตัวของเซลล์ท่อตับ เซลล์ตับถูกทำลาย มีเม็ดเลือดแทรกตัวค่อนข้างมากในเซลล์ระหว่างท่อตับเพื่อทำลาย และเกิด melanization บริเวณเซลล์ที่ตาย นอกจากนี้มีการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสร้างเม็ดเลือดในกุ้งที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับสูงสุด (1.0 พีพีเอ็ม) เป็นเวลา 8 และ 10 สัปดาห์ โดยพบเซลล์สร้างเม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวมๆ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อจะพบเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติสูงขึ้นตามระยะเวลาที่นานขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Wijnands และ Leusden Van (2000) ที่รายงานว่า หนูเพศเมียที่ได้รับสารพิษซีราลีโนนระดับ 3.0-5.0 พีพีเอ็ม โดยการฉีดเข้าช่องท้อง เป็นพิษต่อระบบสร้างเม็ดเลือด ทำให้ปริมาณเกล็ดเลือดและปริมาณเม็ดเลือดแดงลดลงตามระดับสารพิษที่สูงขึ้น การเปลี่ยนแปลงที่พบจากการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับที่เคยมีรายงานในหนูตั้งครรภ์ที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสารพิษซีราลีโนนเป็นเวลา 18 วัน พบว่ามีการสะสมของสารพิษในตับมากที่สุด ทำให้เป็นพิษต่อเซลล์ตับ เกิดการอักเสบและมะเร็งในตับได้ (Essefi *et al*., 2004)

สอดคล้องกับ National Toxicology Program (U.S.A.) (1982) รายงานว่าสารพิษซีราลีโนนระดับ 1.5-6.0 พีพีเอ็ม ที่ปนเปื้อนในอาหารสำเร็จรูปและอาหารสัตว์นั้น สามารถลดประสิทธิภาพการทำงานของตับและเปลี่ยนแปลงค่าพารามิเตอร์ในเลือด แสดงให้ทราบว่าตับเป็นอวัยวะเป้าหมายอีกชนิดของสารพิษซีราลีโนนนอกเหนือจากระบบสืบพันธุ์ ซึ่งผลกระทบที่เกิดขึ้นจะคล้ายคลึงกันในสัตว์ชนิดต่างๆ นอกจากนี้ซีราลีโนนสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดเนื้องอกที่ตับ เนื่องจากซีราลีโนนจับตัวกับเซลล์ตับทำให้เซลล์ตับถูกทำลายเป็นแผลก่อให้เกิดมะเร็งตับตามมา

ผลของสารพิษซีราลีโนนต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ พบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณสารที่ได้รับ โดยชุดการทดลองที่ได้รับสารพิษในปริมาณสูงมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่ชัดเจนและรุนแรงกว่าในกลุ่มที่ได้รับสารพิษน้อยกว่า นอกจากปัจจัยทางด้านระดับของสารพิษแล้ว ยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่สัตว์ได้รับสารพิษด้วย การได้รับสารพิษในปริมาณน้อยๆ แต่เป็นประจำเก็บสะสมที่อวัยวะต่างๆ ของร่างกาย จนเมื่อระดับการสะสมเพิ่มสูงขึ้นก็จะแสดงอาการพิษออกมา (แก้ว, 2526) ดังนั้นเมื่อกุ้งได้รับสารพิษเป็นระยะเวลาที่นานขึ้นทำให้พบเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติและอาการผิดปกติที่รุนแรงกว่า การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่ได้รับสารพิษทั้ง 2 ชนิดนั้น จะแสดงออกในส่วนของตับค่อนข้างชัดเจน เนื่องจากตับมีหน้าที่เก็บรวบรวมสารอาหารซึ่งดูดซึมจากทางเดินอาหารแล้วผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมเพื่อเปลี่ยนเป็นสารเก็บสะสมไว้ การสังเคราะห์โปรตีน สร้างน้ำย่อย และทำหน้าที่ทำลายพิษของสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย (กนกธร, 2546) แต่ในกุ้งกุลาดำกลไกลการกำจัดพิษยังไม่ทราบแน่ชัด แต่น่าจะผ่านการทำงานของตับเช่นกัน (มะลิ และคณะ, 2543)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์ และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อนุเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์ และสถานที่สำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กนกธร ปิยธำรงรัตน์. 2546. ระบบทางเดินอาหาร. **ใน** เนื้อเยื่อวิทยา. กรุงเทพฯ: โอ.เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์. 408 หน้า.

แก้ว กังสดาลอำไพ. 2526. สารพิษในอาหาร ตอนที่ 2 ปัญหาสารพิษจากเชื้อราในอาหาร. ว. รามาธิบดี 14: 25-30.

มะลิ บุณยรัตผลิน, กิจการ ศุภมาตย์, ดวงจันทร์ สุประเสริฐ และ ชูศักดิ์ บริสุทธิ์. 2543. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ: IX. การศึกษาผลของ Aflatoxin B_1 ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกัน และเนื้อเยื่อในกุ้งกุลาดำ. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 22(ฉบับพิเศษ) : 641-652.

มาลินี ลิ้มโภคา. 2523. พิษวิทยาและวินิจฉัยโรคทางสัตวแพทย์. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์สนิทวงศ์.

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ. 2545. รอบรู้เรื่องสารพิษจากเชื้อรา. ว. สัตว์เศรษฐกิจ 19: 58-61.

ศมนีย์ ศุขรุ่งเรือง. 2529. สารพิษจากเชื้อรา. **ใน** เชื้อราก่อโรคและโรคเชื้อรา. 298 หน้า กรุงเทพฯ: บัณฑิตการพิมพ์.

Bailey, G., Taylor, M., Loveland, P.M., Wilcox. J.S. and Sinnhuber, R.O. 1984. Dietary modification of aflatoxin B_1 carcinogenesis : Mechanism studies with esolated hepatocytes from rainbow trout. National Cancer Institute Monograph. 65: 379-385.

Bamburg, J.R., Riggs, N.V. and Strong, F.M. 1968. The structures of toxins from two strains of *Fusarium tricinctum*. Tetra hedron. 23: 3329-3336.

Bancrof, J.D. 1967. Histochemical Techniques. London: Butterworths.

Bell, T.A. and Lightner, D.V. 1988. A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. pp.114 . Kansas: Allen Press.

Boonyaratpalin, M., Supamattaya, K. and Borisuth, C. 2000. The immune system in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius: VIII. Effect of astaxanthin on blood parameters, immune system and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Songklanakarin J. Sci. Technol. 22: 633-639.

Essefi, S.A., Ouanes, Z., Hassen, H., Baudrimont, I., Creppy, E. and Bacha, H. 2004. Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultured cells exposed to zearalenone. Toxicology *in Vitro*. 18: 467-474.

Humason, G. 1979. Animal Tissue Techniques (4th. edition). pp. 661.San Francisco: W.H. Freeman and Company.

Karppanen, E. and Westerling, B. 1986. Poisonings by fusarium toxins and cases investigated by the national veterinary institute. J. Suomen Elainlaakarilehti. 92 : 515-523.

Lavilla-Pitogo, C.R., Bautista, M.N. and Subosa, P.F. 1994. Histopathology of shrimp, *Penaeus monodon*, juveniles fed aflatoxin B_1 contaminated diets. International Symposium on Aquatic Animal Health. School of Veterinary Medicine. University of California. California. pp.105.

Manning, B.B., Li, M.H., Robinson, Gaunt, P.S. and Rottinghaus, G.E. 2003. Response of channel catfish *Ictalurus punctatus* to diets containing T-2 toxin. J. of Aquatic Amimal Health. 15: 230-239.

Marasas, W.F.O., Bamburg, J.R., Smalley, E.B., Strong, F.M., Ragland, W.L. and Degurse, P.E. 1969. Toxic effects on trout, rats and mice of T-2 toxin produced by the Fungus *Fusarium tricinctum*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 15: 471.479.

National Toxicology Program U.S.A. 1982. Technical report on the Carcinogenesis Bioassay of zearalenone in F 344/N rats and B6C3FI Mice (Feed Study). (NIH Publ. N83-1791), Research Triangle Park, N.C.

Poston, H.A., Coffin, J.L. and Combs, J.R. 1982. Biological effects of dietary T-2 toxin on rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Aquatic Toxicology. 2: 79-88.

Wijnands, L.M. and Leusden Van, F.M. 2000. An overview of adverse health effects caused by mycotoxins and bioassays for their detection. RIVM report 257852004, National institute of Public Health and the environment. Bilthoven, Netherlands.