สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของไตรฟลูราลินต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและสาหร่ายเซลล์เดียว

Effect of trifluralin to antibacterial activity and microalgae

T104664

โดย

นางสาว เอมวลี รักษาแสง

ปพ.
0899ผ
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 104664
วันเดือนปี - 5 พ.ย. 2552

b 12160027
i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของไดรฟลูราลินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและสาหร่ายเซลล์เดียว

Effect of trifluralin to antibacterial activity and microalgae

โดย

นางสาว เอมวลี รักษาแสง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

Department of Fisheries Science Faculty of Agricultural Technology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Bangkok 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของไตรฟลูราลินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและสาหร่ายเซลล์เดียว
Effect of trifluralin to antibacterial activity and microalgae

ชื่อนักศึกษา นางสาว เอมวลี รักษาแสง รหัสประจำตัว 47040639

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรี เรืองเดช
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เดาหะวิสุทธิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรี เรืองเดช)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เดาหะวิสุทธิ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 22 **เดือน** พ.ค. **พ.ศ.** 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของไตรฟลูราลินต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและสาหร่ายเซลล์เดียว

Effect of trifluralin to antibacterial activity and microalgae

การศึกษาการใช้สารไตรฟลูราลินในการควบคุมยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวเพื่อหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารไตรฟลูราลินที่ปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้ง ดำเนินการทดลองโดยแบ่งออกเป็น 3 การทดลองคือ การทดลองแรกศึกษาระดับของสารไตรฟลูราลินในการควบคุมกิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นต่างๆได้แก่ 0, 0.78, 1.41, 2.54, 4.57, 8.23, 14.81 และ 26.67 ppm บันทึกข้อมูลโดยการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าระดับความเข้มข้นที่สามารถควบคุมยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้คือที่ความเข้มข้น 2.54 ppm ขึ้นไป การทดลองที่ 2 ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารไตรฟลูราลินในการควบคุมยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว โดยทำการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของสาร 0, 0.0001, 0.0005, 0.001, 0.01, 0.05 และ 0.1 ppm บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตรเป็นเวลา 4 วัน ทำการเก็บข้อมูลวันละครั้ง พบว่าระดับความเข้มข้นที่สามารถควบคุมยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวได้คือระดับความเข้มข้น 0.05 ppm ขึ้นไป และการทดลองที่ 3 ศึกษาระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้ง โดยทำการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 ppm บันทึกข้อมูลการตายของกุ้งหลังจากได้รับสารไตรฟลูราลินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 0, 30 นาที, 1, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้งมากที่สุดคือที่ระดับความเข้มข้น 0.032 ppm จากการศึกษานี้สามารถกล่าวได้ว่าสารไตรฟลูราลินสามารถควบคุมยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวได้ และระดับที่มีความปลอดภัยต่อการเลี้ยงกุ้งมากที่สุดอยู่ที่ระดับความเข้มข้นที่น้อยกว่า 0.032 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ต้องขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่ให้ความรู้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งท่านอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ผศ.ดร.อัจฉรี เรืองเดช ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาต่างๆ และท่านอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ สำหรับคำแนะนำที่ล้ำค่าในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ รวมทั้งคุณบุปผา จงพัฒน์ คุณนภพล เผ่ามนัส และพี่กิ๊ฟ นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่อำนวยความสะดวกด้านเครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำการทดลองต่างๆ ขอขอบคุณพี่ปริญญาโท ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้คำแนะนำในการแก้ปัญหามาโดยตลอด และขอบใจเพื่อนๆที่คอยให้กำลังใจมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบคุณพ่อแม่ พี่สาวและน้องชาย รวมทั้งญาติผู้ใหญ่ทุกท่านที่ให้ทั้งกำลังใจและกำลังทรัพย์มาโดยตลอด และอีกหลายสิ่งหลายอย่างจนทำให้ดิฉันได้มีวันนี้

นางสาว เอมวลี รักษาแสง

พฤษภาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	8
ผลการทดลองและวิจารณ์	12
สรุป	15
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อัตราการรอดของกุ้งแชบ๊วยจากระยะซูเอี้ยถึง P5 ที่อนุบาลในน้ำทะเล 30 ppt และบำบัดเชื้อราด้วยไตรฟลูราลิน 0.5 และ 1 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (0 ppm)	5
2	ผลการวิเคราะห์สารไตรฟลูราลินในเนื้อกุ้งตัวอย่างที่เลี้ยงในน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt และเติมสารเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 ppm ในระยะเวลา 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง	6
3	อัตราการตายเริ่มต้นและการตาย 100% เมื่อลูกกุ้งแชบ๊วยได้สัมผัสกับสารไตรฟลูราลินในน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt ในช่วงเวลา 96 ชั่วโมง ด้วยความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5, 1, 5, 10, 20 และ 30 ppm	7
4	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อTCBS	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของไตรฟลูราลิน	3
2	เชื้อวิบริโอ	4
3	ค่าดูดกลืนแสงของสาหร่ายเมื่อได้รับสารไตรฟลูราลินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ที่ความยาวคลื่นแสง 680 นาโนเมตร	13
4	เปอร์เซ็นต์การตายของกุ้งหลังจากได้รับสารไตรฟลูราลินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	15
5	ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของไตรฟลูราลินที่มีผลต่อกุ้ง	15

ภาพผนวกที่		หน้า
1	เชื้อแบคทีเรีย	17
2	สาหร่ายเซลล์เดียว	17
3	การเตรียมสารไตรฟลูราลิน	18
4	การทดสอบกับสาหร่าย	18
5	การเลี้ยงสาหร่ายบนเครื่องเขย่า	18
6	วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร	19
7	การทดสอบกับกุ้ง	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในปัจจุบันการเกิดของเชื้อแบคทีเรียและการบลูมของสาหร่ายเซลล์เดียวในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังเป็นปัญหาที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง อีกทั้งยังส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ อัตราการรอด รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทำให้เกิดความสนใจในการศึกษาถึงการควบคุมและยับยั้งการเกิดของเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวนี้ เพื่อไม่ให้ส่งผลเสียต่อสัตว์น้ำและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ยาปฏิชีวนะและสารเคมีจึงเข้ามามีบทบาทและยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความสะดวกในการนำมาใช้ควบคุมและยับยั้งการเกิดของเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งสามารถควบคุมและยับยั้งการเกิดเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวที่เกิดการบลูมขึ้นอย่างรวดเร็วในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้เป็นอย่างดี

ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงผลของสารไตรฟลูราลิน ในปริมาณความเข้มข้นของสารที่เหมาะสมและเป็นอันตรายต่อลูกกุ้งน้อยที่สุด ในการควบคุมและยับยั้งการเกิดเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว ที่อาจก่อให้เกิดโรคและปัญหาการบลูม อันส่งผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอด รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสมต่อกุ้ง คือ เมื่อเกิดเชื้อแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น เชื้ออาจเข้าไปทำลายระบบต่างๆภายในตัวกุ้งส่งผลทำให้กุ้งที่ได้รับเชื้ออ่อนแอและตายในที่สุด และเมื่อในน้ำมีธาตุอาหารมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส อันเนื่องมาจากของเสีย เศษอาหาร และอินทรียวัตถุต่างๆ ประกอบกับสาหร่ายเซลล์เดียวเหล่านี้ได้รับแสงในปริมาณมาก ในสภาวะอากาศนิ่ง สาหร่ายเซลล์เดียวจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำหลักในรอบวัน โดยสาหร่ายเซลล์เดียวจะดึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำมาเป็นสารสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์แสงในช่วงเวลากลางวัน ทำให้ค่า pH สูงขึ้น และในช่วงเวลากลางคืนจะดึงก๊าซออกซิเจนจากน้ำมาใช้ในกระบวนการหายใจ ทำให้ค่า DO ลดลง เป็นการแย่งก๊าซออกซิเจนกับสัตว์น้ำ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำตามมา

จากการศึกษานี้มีความคาดหวังถึงผลของสารไตรฟลูราลิน จะสามารถควบคุมและยับยั้งการเกิดเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวได้ และส่งผลข้างเคียงต่อลูกกุ้งน้อยที่สุด เพื่อเพิ่มอัตราการรอดและการเจริญเติบโตของกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึงการใช้สารไตรฟลูราลินในระดับความเข้มข้นต่ำสุด ในการควบคุมยับยั้งกิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว โดยไม่ส่งผลเสียต่อการเลี้ยงกุ้ง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.สามารถควบคุมและยับยั้งกิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียได้

2.สามารถลดปริมาณของสาหร่ายเซลล์เดียวที่เกิดการบลูมอันก่อให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพน้ำเพื่อการเลี้ยงกุ้งและสารไม่ส่งผลเสียต่อกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

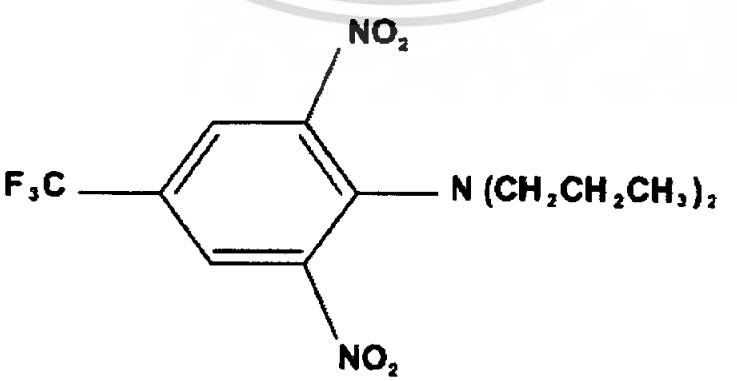
ตรวจเอกสาร

ในปัจจุบันการเกิดของเชื้อแบคทีเรียและการบลูมของสาหร่ายเซลล์เดียวในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังเป็นปัญหาที่สามารถควบคุมได้ยาก อีกทั้งยังส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ อัตราการรอด รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทำให้เกิดความสนใจในการศึกษาถึงการควบคุมและยับยั้งการเกิดของเชื้อแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวนี้ เพื่อไม่ให้ส่งผลเสียต่อสัตว์น้ำและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สารไตรฟลูราลิน

ไตรฟลูราลิน (α,α,α-2,6-dinitro-N-N-dipropyl-p-toluidine) เป็นยาที่ใช้ในการกำจัดพืชชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งมีผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในพืช การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการจับกลุ่มของเซลล์ microtubular ในระยะ metaphase ดังนั้นไตรฟลูราลินจึงเป็นสารเคมีที่จะไปยับยั้งกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารประกอบของ microtubular (Zaidenberg et al., 2006) สารไตรฟลูราลินเริ่มมีการนำมาใช้ประโยชน์ในทางการเกษตรตั้งแต่ปี 1960 โดยมีกันใช้กันอย่างแพร่หลายและกว้างขวางในการผลิตถั่วเหลืองในประเทศบราซิล ซึ่งมีความทนทานอยู่ในดินได้พอสมควร และสารไตรฟลูราลินนี้สามารถเสื่อมลงได้โดยแสงและกิจกรรมของสิ่งมีชีวิต (Ballinaso et al., 2003)

นอกจากสารไตรฟลูราลินจะนำมาใช้ในการเกษตรแล้ว ยังมีการนำสารไตรฟลูราลินมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยนำมาใช้ในการควบคุมสาหร่าย (Hess ana Bayer, 1977) และนำมาใช้ในการลดปริมาณเชื้อราในปู (Perdro et al.,2007) ในประเทศฟิลิปปินส์ใช้ไตรฟูราลินควบคุมโรคในการเพาะกุ้งกุลาดำโดยใช้ความเข้มข้น 5 ppm (Cruz-Lacierda et. Al., 2000)



ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของไตรฟลูราลิน

ที่มา : Zaidenberg et al. (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียนั้นมีจำนวนมากมายหลายชนิด แต่ที่พบมากได้แก่การเกิดโรคแบคทีเรียในสกุลวิบริโอ ซึ่งมีหลายชนิดที่พบคือ *Vibrio fisheri* *V. orientalis* *V. splendidus* *V. logei* *V. mediterranei* *V. albensis* โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *V. harveyi* ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำที่มีการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเล โดยจะเข้าไปทำลายระบบทางเดินอาหารแล้วแพร่ไปตามกระแสเลือด ทำให้กุ้งอ่อนแอและตายในที่สุด จากนั้นเชื้อก็จะแพร่ลงน้ำและเข้าสู่กุ้งตัวอื่นๆ ในบ่อ หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะยิ่งทำให้เชื้อมีความรุนแรงมากขึ้น วิบริโอเป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปเป็นปกติในกุ้งกุลาดำ (normal bacteria flora) และเป็นได้ทั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic bacteria) (ระบิล และวีณา, 2536) โดยจะพบมากในลำไส้ช่วงปล้องที่ 6 จนถึงช่องทวาร (พิกุล, 2543) ซึ่งวิบริโอเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นภายในลำไส้กุ้งในขณะที่กุ้งแข็งแรงดี เมื่อใดก็ตามที่กุ้งมีความเครียดหรืออ่อนแอ วิบริโออาจมีการเพิ่มจำนวน และความรุนแรงจนสามารถก่อให้เกิดโรคขึ้นได้ หรืออาจมีส่วนช่วยในการกระตุ้นการทำงานของวิบริโออื่นๆ ที่ก่อโรคให้มีความรุนแรงยิ่งขึ้น

ภาพที่ 2 เชื้อแบคทีเรียวิบริโอ

ที่มา :http://bepast.org/docs/photos/cholera/vibrio%20comma%20asiatic%20cholera.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพของสารไตรฟลูราลิน

Bellinaso et al. (2003) ได้ทำการศึกษาถึงการเสื่อมสลายของสิ่งมีชีวิตของไตรฟลูราลินโดยการจำแนกแบคทีเรีย เพื่อศึกษาถึงการจำแนกและลักษณะของไตรฟลูราลินในการต้านเชื้อแบคทีเรียจากดินและทำการพิจารณาถึงความสามารถในการเสื่อมสลายของไตรฟลูราลินด้วยวิธี HPLC ทำโดยแยกแบคทีเรีย 8 ชนิด เลี้ยงในอาหารเหลวที่มีไตรฟลูราลินเป็นแหล่งคาร์บอน และทำการจำแนก 9 ชนิดที่มีการเจริญเติบโตรอบอาหารแข็งโปร่งแสงที่มีไตรฟลูราลิน ในทำนองเดียวกันนี้ระดับที่ใช้ในการสังเกตเป็นที่ทราบกันดีว่าไตรฟลูราลินสามารถทำให้แบคทีเรียเสื่อมลงได้ ซึ่งพบว่า *Psuedomonas* sp. 3 ชนิดและ *Bacillus* sp. ชนิดมีระดับที่ลดลงโดยมีน้อยลงถึง 5% การจำแนก 5 ชนิดยืนยันได้ว่าสามารถใช้ศึกษาเคมีวิทยาของสิ่งมีชีวิตและโมเลกุลของสิ่งมีชีวิตด้วยไตรฟลูราลิน การเสื่อมสลายของสิ่งมีชีวิตซึ่งมีจุดมุ่งหมายในเรื่องความสามารถในการเสื่อมลงของหนึ่งหรือมากกว่าของการจำแนกสำหรับใช้ในกระบวนการรักษาสิ่งมีชีวิตในอนาคต

ลีลา, ชัยวุฒิ และวุฒิชัย (2546) ยังได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของไตรฟลูราลินในการบำบัดเชื้อราในน้ำ ระยะการสลายตัวของสาร และพิษเฉียบพลันที่ทำให้ลูกกุ้งแชบ๊วย เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำทดแทนการใช้มาลาไคน์กรีน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง พบว่าประสิทธิภาพของไตรฟลูราลินในการบำบัดเชื้อราจากการเลี้ยงกุ้งในน้ำเค็มในทะเลความเค็ม 30 ppt เติมสารไตรฟลูราลินให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 ppt จากนั้นทำการตรวจสอบการขึ้นของเชื้อรา ผลปรากฏว่าไตรฟลูราลินทั้ง 2 ระดับสามารถบำบัดเชื้อราได้และมีอัตราการรอดตายของลูกกุ้งสูงกว่า โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสาร ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อัตราการรอดของกุ้งแชบ๊วยจากระยะซูเอี้ยถึง P5 ที่อนุบาลในน้ำทะเล 30 ppt และบำบัดเชื้อราด้วยไตรฟลูราลิน 0.5 และ 1 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (0 ppm)

ชุดทดลองสารไตรฟลูราลิน (ppm)	0			0.5			1		
จำนวนซ้ำ	1	2	3	1	2	3	1	2	3
อัตรารอด (%)	17	12	9	65	53	67	58	61	68
รวม (%)		38			185			187	
เฉลี่ย (%)		12.67			61.67			62.33	

ที่มา : ลีลา, ชัยวุฒิ และวุฒิชัย (2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และระยะการสลายตัวของสารไตรฟลูราลินในน้ำทะเลจากความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 0.5 และ 1 ppm ใช้เวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงตรวจพบสารในเนื้อกุ้งเฉลี่ย 0.155 และ 1.197 ppb ตามลำดับแต่ไม่พบสารในเนื้อกุ้งเมื่อเลี้ยงถึง 96 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) ส่วนการศึกษาพิษเฉียบพลันของสารได้ทดสอบเบื้องต้นโดยนำลูกกุ้งแชบ๊วยระยะไมซีส โพสลาร์วา 5, 10, 20 และ 30 มาอนุบาลในน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt ที่เติมสารไตรฟลูราลินในระดับ 0.5 – 30 ppm พบว่าการตายของลูกกุ้งอยู่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 1 – 30 ppm สำหรับที่ความเข้มข้น 0.5 ppm ไม่พบการตายของลูกกุ้ง(ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์สารไตรฟลูราลินในเนื้อกุ้งตัวอย่างที่เลี้ยงในน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt และเติมสารเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 ppm ในระยะเวลา 6, 12, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

เวลา	ความเข้มข้น	ปริมาณไตรฟลูราลินในเนื้อกุ้ง (ppb)								
(ชม.)	เริ่มต้น (ppm)	0			0.5			1		
	จำนวนซ้ำ	1	2	3	1	2	3	1	2	3
6		0	0	0	2.099	3.147	3.926	6.496	8.345	4.763
12		0	0	0	1.377	2.006	1.574	4.002	5.296	2.179
24		0	0	0	0.542	1.001	0.900	2.810	3.790	1.111
48		0	0	0	0.090	0.358	0.016	1.523	1.981	0.870
72		0	0	0	0.007	0.020	0.000	0.056	0.067	0.071
96		0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

ที่มา : ลีลา, ชัยวุฒิ และวุฒิชัย (2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 อัตราการตายเริ่มต้นและการตาย 100% เมื่อลูกกุ้งแชบ๊วยได้สัมผัสกับสารไตรฟลูราลินในน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt ในช่วงเวลา 96 ชั่วโมง ด้วยความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5, 1, 5, 10, 20 และ 30 ppm

ลูกกุ้งแชบ๊วย (ระยะ)	เริ่มตาย (%)	ความเข้มข้นสาร (ppm)	ช่วงเวลาที่สัมผัสสาร (ชม.)	ตายหมด (%)	ความเข้มข้นสาร (ppm)	ช่วงเวลาที่สัมผัสสาร (ชม.)
ไมซีส (Mysis)	6.66	1	12	100	5	12
PL 5	2.00	1	12	100	5	24
PL 10	10.00	5	6	100	20	24
PL 20	3.33	5	6	100	30	12
PL 30	8.67	10	6	100	30	96

ที่มา : ลีลา, ชัยวุฒิ และวุฒิชัย (2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ขวดรูปชมพู่
2. ขวดวัดปริมาตร
3. บีกเกอร์
4. จานเลี้ยงเชื้อ
5. กระบอกตวง
6. กล้องจุลทรรศน์, สไลด์
7. เครื่องเขย่า
8. เครื่อง spectrophotometer , คิวเวต
9. ไมโครปิเปต, ทิป
10. แท่งแก้วเขี่ยเชื้อ
11. ตะเกียงแอลกอฮอล์
12. สารไตรฟลูราลิน

วิธีการ

แผนการทดลอง

1.การทดสอบสารไตรฟลูราลินกับแบคทีเรีย ทำการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่พิจารณา คือ ระดับความเข้มข้นของสารไตรฟลูราลิน ทดลองทั้งหมด 8 ทรีตเมนต์ ได้แก่ ระดับความเข้มข้นของสาร 0 (ชุดควบคุมโดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อปกติ), 0.78, 1.41, 2.54, 4.57, 8.23, 14.81 และ 26.67 ppm ทำ 3 ซ้ำ

2.การทดสอบสารไตรฟลูราลินกับสาหร่ายเซลล์เดียว ทำการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่พิจารณาคือ ระดับความเข้มข้นของสารไตรฟลูราลิน ทดลองทั้งหมด 7 ทรีตเมนต์ ได้แก่ ระดับความเข้มข้นของสาร 0 (ชุดควบคุมโดยเลี้ยงสาหร่ายในสภาพปกติ), 0.0001, 0.0005, 0.001, 0.01, 0.05 และ 0.1 ppm ทำ 3 ซ้ำ

3.การทดสอบสารไตรฟลูราลินในกุ้งขนาด P_{20} ทำการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่พิจารณา คือ ระดับความเข้มข้นของสารไตรฟลูราลิน ทดลองทั้งหมด 7 ทรีตเมนต์ ได้แก่ ระดับความเข้มข้นของสาร 0 (ชุดควบคุมโดยเลี้ยงกุ้งในสภาพปกติ) 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 ppm เปอร์เซ็นต์ ทำ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสารไตรฟลูราลิน

1.1 ทำ stock สารที่ 1 ppm โดยใช้สาร 1 ml จากนั้นทำการปรับปริมาตรใน volumetric flask ขนาด 1000 ml เก็บไว้ในที่ที่ไม่มีแสง

1.2 ทำ stock สารที่ 60 ppm โดยใช้สาร 6 ml จากนั้นทำการปรับปริมาตรใน volumetric flask ขนาด 1000 ml เก็บไว้ในที่ที่ไม่มีแสง

2. การทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อ *V. harveyi* มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (Tryptone soy broth) ผสมเกลือ 2 % โดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 18-20 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการล้างเซลล์ของเชื้อ *V. harveyi* ด้วยน้ำเกลือ 2 % จำนวน 2 ครั้ง โดยปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนคลื่นแสง ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟความเข้มข้นมาตรฐานของเชื้อ *V. harveyi* และความเข้มข้นด้วยน้ำเกลือ 2 % ให้เชื้อ *V. harveyi* มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^6 CFUs/ml

2.2 นำถาดพลาสติกไร้เชื้อ 96 well cell culture เป็นชุดทดสอบซึ่งประกอบด้วยจำนวน 96 หลุม และเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 80 ไมโครลิตรลงใน แถว A, B และ C ในช่องที่ 1-6 และช่อง D, E, F และ G ในช่องที่ 4-6

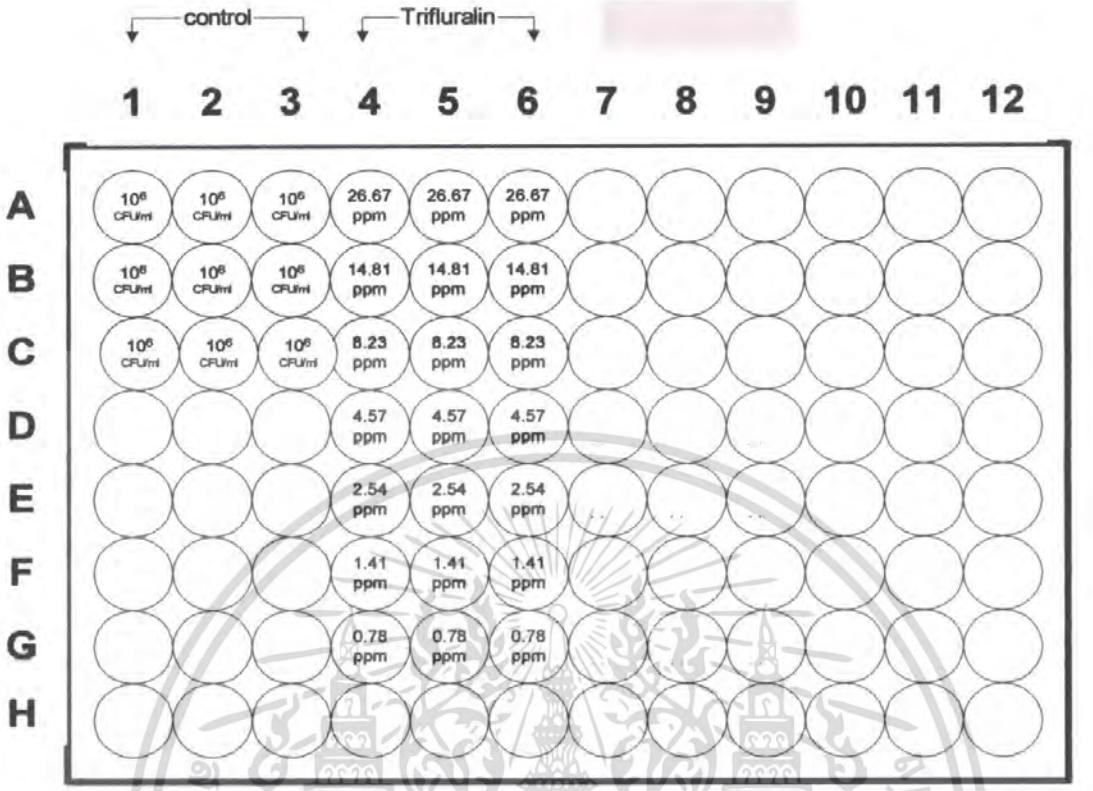
2.3 นำสารละลายไตรฟูราลินความเข้มข้น 60 ppm เติมลงในช่อง 4, 5 และ 6 ของแถว A อย่างละ 100 ไมโครลิตร และช่องที่ 1, 2 และ 3 ของแถว A, B และ C คือกลุ่มควบคุม ที่ไม่มีการเติมสารเคมี

2.4 หลังจากนั้นใช้ไมโครปิเปตต์เพื่อเจือจางสารละลาย โดยผสมสารละลายในแถว A ให้เข้ากัน และดูดสารละลาย 100 ไมโครลิตรจากแถว A ลงในแถว B และเช่นเดียวกันนี้จนกระทั่งถึงแถว H

2.5 นำเชื้อแบคทีเรีย 10^6 CFU/mL ปริมาณ 20 ไมโครลิตรเติมลงในแต่ละแถว และผสมให้เข้ากันโดยใช้ไมโครปิเปตต์ ดังนั้นความเข้มข้นในแถว A ของสารละลายไตรฟูราลินท่ากับ 26.67 ppm และความเข้มข้นลดลงดังภาพที่ 1 หลังจากนำถาดดังกล่าวบ่มในตู้บ่มเชื้อ นาน 20 ชั่วโมง

2.6 นำตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียจากแต่ละหลุมของ well plate 10 ไมโครลิตร นำมาหยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (Thiosulfate citrate bile salt sucrose) โดยใช้ไมโครปิเปตต์ จำนวน 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



3. การทดสอบกับสาหร่ายเซลล์เดียว

3.1การเตรียมสาหร่ายเซลล์เดียว

ทำการกรองสาหร่ายเซลล์เดียวที่เกิดในบ่อทดลองของภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง ด้วยผ้ากรองขนาด 40 μm เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวหลายชนิดปนกัน และทำการเลี้ยงเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว ที่ความเค็ม 40 ppt

3.2เตรียมสาหร่ายใส่ใน flask ขนาด 125 ml ในปริมาณ flask ละ 80 ml

3.3นำสารไตรฟลูราลินที่ทำการ stock ไว้ ทำการปรับความเข้มข้นของสารที่ 0 (ชุดควบคุม),0.0001, 0.0005, 0.001, 0.01, 0.05 และ 0.1 ppm ใส่ลงใน flask ที่มีสาหร่าย ทำ 3 ซ้ำ

3.4เลี้ยงสาหร่ายด้วยเครื่อง Shaker

3.5ตรวจนับการเจริญของสาหร่ายทุกวันเป็นเวลา 4 วัน

4. การทดสอบกับลูกกุ้ง

การเลี้ยงกุ้ง

นำลูกกุ้งขนาด P_{20} มาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในถังที่ความเค็ม 30 ppt โดยให้ O_2 ตลอด

4.2 นับจำนวนลูกกุ้งใส่ขวดโหลแก้วขนาด 1500 ml โหลละ 30 ตัว ปริมาตรน้ำที่ใช้เลี้ยง 1000 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 นำสารไตรฟลูราลินที่ทำการ stock ไว้ 1 ppm ทำการปรับความเข้มข้นของสารที่ 0 (ชุดควบคุม),0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 ppm ใส่ลงในโหลที่เลี้ยงลูกกุ้ง ทำ 3 ซ้ำ และมีการให้ O_2 ตลอด

การบันทึกข้อมูล

การทดสอบสารไตรฟลูราลินกับเชื้อแบคทีเรียบันทึกผลตรวจสอบการเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหาร TCBS โดยการนับจำนวนโคโลนี

การทดสอบสารไตรฟลูราลินกับสาหร่ายเซลล์เดียว บันทึกค่าที่ได้จากการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 680 nm ทุกวันเป็นเวลา 4 วัน

การทดสอบสารไตรฟลูราลินกับลูกกุ้ง บันทึกค่าที่ได้โดยนับจำนวนลูกกุ้งที่ตายที่เวลา 0, 30 นาที, 1, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูล

โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel โปรแกรม SPSS และหาค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารไตรฟลูราลินกับลูกกุ้ง

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ระยะเวลาในการทดลอง

ประมาณ 1 เดือน คือ มีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

หลังจากทำการนับจำนวนโคโลนีที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า สารละลายไตรฟูราลิน สามารถยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ที่ระหว่างระดับความเข้มข้นของสาร 2.54 – 26.67 ppm (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อTCBS

ชุดการทดลอง	ความเข้มข้น (ppm)	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *
กลุ่มควบคุม	-	++
ไตรฟูราลิน	26.67	-
	14.81	-
	8.23	-
	4.57	-
	2.54	-
	1.41	++
	0.78	++

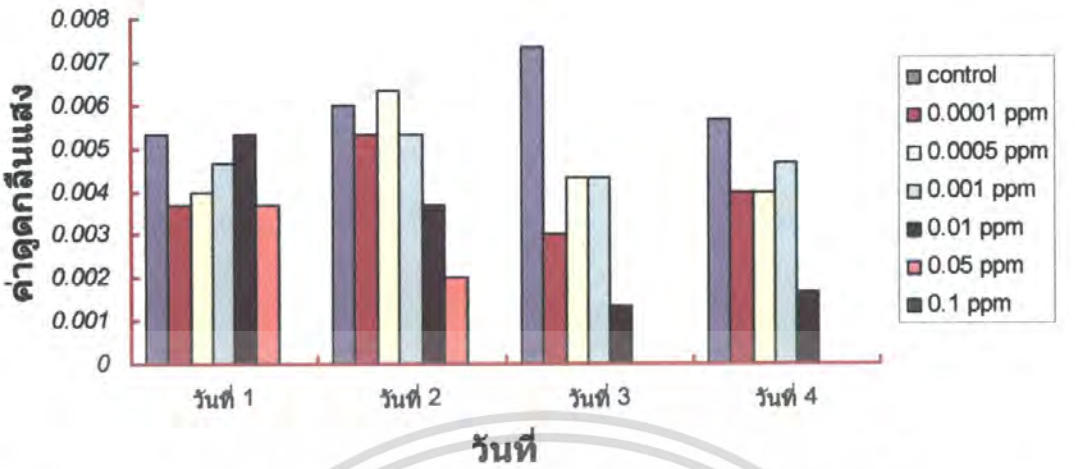
* - หมายถึง ไม่มีเชื้อแบคทีเรียเจริญในอาหาร TCBS

\+ หมายถึง มีเชื้อแบคทีเรียเจริญในอาหาร TCBS ปริมาณน้อย

++ หมายถึง มีเชื้อแบคทีเรียเจริญในอาหาร TCBS ปริมาณมาก

ส่วนการทดลองของสาหร่ายเซลล์เดียว (ภาพที่3) ที่ได้รับไตรฟลูราลินในระดับความเข้มข้นต่างๆได้แก่ 0, 0.0001, 0.0005, 0.001, 0.01, 0.05 และ 0.1 ppm เมื่อพิจารณาจากค่าดูดกลืนแสงพบว่าในชุดควบคุม (ไม่ได้รับสารไตรฟลูราลิน) สาหร่ายมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ ส่วนในชุดการทดลองอื่นคือที่ระดับความเข้มข้นของสาร 0.0001, 0.0005, 0.001, 0.01 และ 0.05 ppm สาหร่ายมีการเจริญลดลงเป็นอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายในชุดควบคุม และในระดับความเข้มข้น 0.1 ppm ไม่สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้

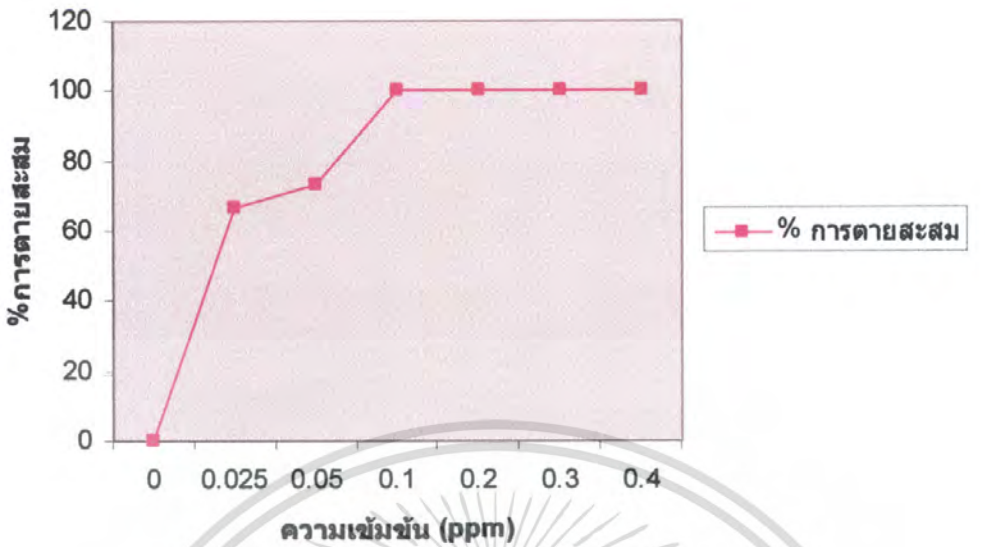
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ค่าดูดกลืนแสงของสาหร่ายเมื่อได้รับสารไตรฟลูราลินที่ระดับความเข้มข้นต่าง ที่ความยาวคลื่นแสง 680 นาโนเมตร

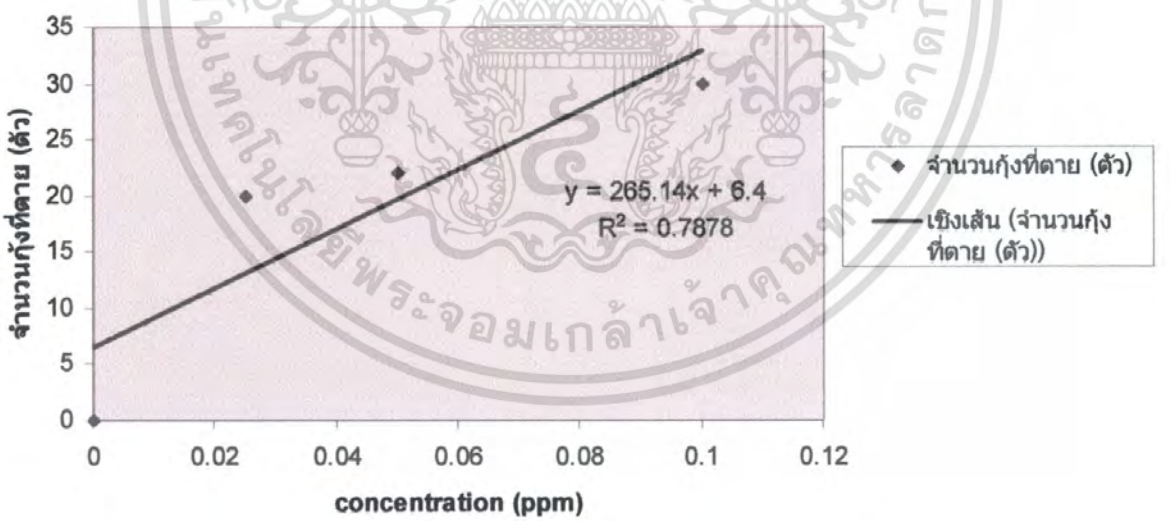
สำหรับกุ้งที่ได้รับสารไตรฟลูราลินในระดับความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งได้แก่ 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 ppm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 4)ผลการทดลองคือในชุดควบคุม (ไม่มีสารไตรฟลูราลิน) พบว่ากุ้งไม่มีความผิดปกติและไม่มีการตายเกิดขึ้น ส่วนในชุดการทดลองอื่นคือที่ระดับความเข้มข้น 0.2 – 0.4 ppm พบว่ากุ้งแสดงอาการผิดปกติและตายในทันที ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 ppm กุ้งแสดงอาการผิดปกติและตายทั้งหมดเมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 ppm กุ้งเริ่มแสดงอาการผิดปกติและทยอยตายเมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที มีอัตราการตายสูงสุดเมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง และการตายลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ในทรีตเมนต์นี้พบว่ามีการรอดของกุ้งบางส่วน และที่ระดับความเข้มข้น 0.025 ppm พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมงหลังจากกุ้งได้รับสารไตรฟลูราลินเริ่มมีการตายเกิดขึ้นเล็กน้อยเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าในทรีตเมนต์นี้มีการรอดของกุ้งมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายของกุ้งหลังจากได้รับสารไตรฟลูราลินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

จากผลการทดลองสามารถนำค่าระดับความเข้มข้นต่างๆและจำนวนการตายของกุ้งมาใช้เพื่อพิจารณาถึงค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารไตรฟลูราลินที่จะส่งผลต่อกุ้ง (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของไตรฟลูราลินที่มีผลต่อกุ้ง

จากการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับระดับความเข้มข้นในการใช้สารไตรฟลูราลินในการควบคุมโรคในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศฟิลิปปินส์ของ Cruz-Lacierda et. al. (2000) โดยสารละลายไตรฟูราลินสามารถยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด ก็คือ 2.54 ppm ก็คือ สารละลายไตรฟูราลิน 254 มิลลิลิตร สามารถใช้ฆ่าเชื้อ *V. harveyi* ที่มีอยู่ในน้ำ 100 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

หลังจากนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียพบว่า สารละลายไตรฟูราลินสามารถยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ระหว่างความเข้มข้น 2.54 – 26.67 ppm

สารไตรฟลูราลินสามารถควบคุมและยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 0.05 ppm โดยไตรฟลูราลินจะยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวได้ดีขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของสารเพิ่มมากขึ้น

สำหรับการทดสอบไตรฟลูราลินกับกุ้งพบว่า ระดับความเข้มข้นของสารที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของกุ้งมากที่สุดอยู่ระหว่างระดับความเข้มข้นของสาร 0.025 – 0.05 ppm จากข้อมูลดังกล่าวนำมาคำนวณหาค่า LC_{50} พบว่าระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยต่อกุ้งคือระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 0.032 ppm

เพราะฉะนั้นระดับความเข้มข้นของสารไตรฟลูราลินที่เหมาะสมในการกำจัดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียวและมีผลกระทบต่อกุ้งน้อยที่สุดคือที่ระดับความเข้มข้น 0.032 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

พิกุล จิรวาณิชไพศาล. 2543. โพรไบโอติกคืออะไร ทำไมต้องเป็นโพรไบโอติกด้วย. วารสารข่าวสารริมบ่อ. (พฤษภาคม) : 21-24.

ระบิล รัตนพานี และวีณา เคยพุดซา. 2536. จุลกายวิภาคของโรคที่เกิดจากเชื้อวิบริโอในกุ้งกุลาดำ. วารสารโรคสัตว์น้ำ 14 (1): 32-37.

ลิลา เรืองแป้น, ชัยวุฒิ สุดทองคง และวุฒิชัย ทองล้ำ. 2543. ประสิทธิภาพของไตรฟลูราลินในการบำบัดเชื้อราในน้ำ ระยะการสลายตัวของสาร และพิษเฉียบพลันต่อลูกกุ้งแชบ๊วย. วารสารการประมง. (กรกฎาคม – สิงหาคม) : 307 – 314.

Bellinaso, M.D.L., C.W. Greer, M.C. Peralba, J.A.P. Henriques and C.C. Gaylarde. 2003. Biodegradation of the herbicide trifluralin by bacteria isolated from soil. Microbiology Ecology.43:191-194.

Cruz-Lacierda, L.R., L. D. Peña, S. C. Lumanlan-Mayo. 2000. The Use of Chemicals in Aquaculture in the Philippines. Southeast Asian Fisheries Development Center Aquaculture Department, Philippines.

Donald, P. S., H.H. Funderburk, Jr. and N.S. Negi. 1968. Effect of trifluralin on growth, morphology, and nucleic acid synthesis. Plant Physiol. 43: 265 – 273.

Hess, F.D.and D.E. Bayer. 1977. Binding of the herbicide trifluralin to Chlamydomonas flagellar tubulin. J. Cell Sci. 24: 351-360.

Perdro, J.B., E.T. Quinatio and F. Parado-Estepa. 2007. Formalin as an alternative to trifluralin as prophylaxis against fungal infection in mud crab Scylla seerata (Forsskal) larvae. Aquacul. Res. 38:1554-1562.

Zaindenberg, A., T. Luong, D. Lirussi, J. Bleiz, M.B.D. Buono, G. Quijano, R. Durt, L. Kozubsky, A. Marron and H. Buschiazzo. 2006. Treatment of experimental chronic chagas disease with trifluralin. Phamacology & Toxicology. 98: 351-356.

Zaindenberg, A., C. Marra, T. Luong, P. Gomez, S. Villagra and R. Drut. 2007. Trifluralin toxicity in a chagas disease mouse model. Phamacology & Toxicology. 101: 90 - 95.

http://bepast.org/docs/photos/cholera/vibrio%20comma%20asiatic%20cholera.jpg

http://pathmicro.med.sc.edu/fox/enterobact.htm

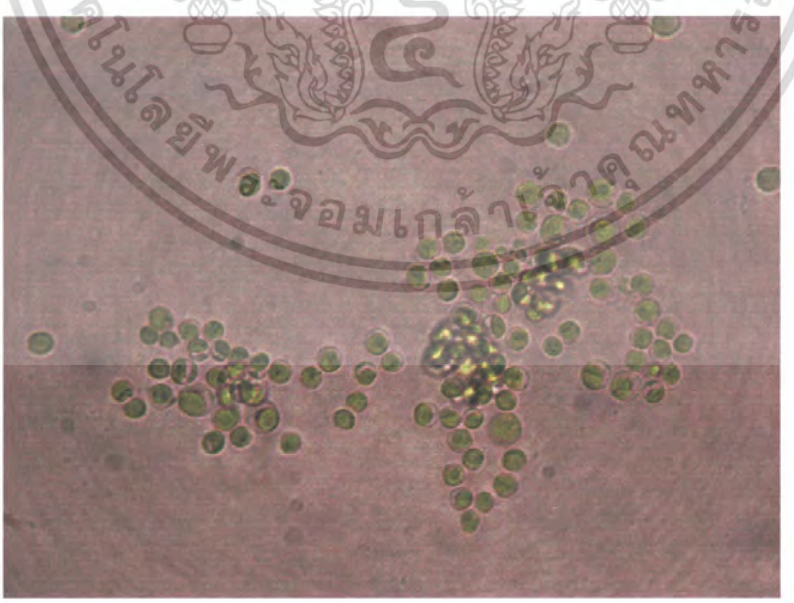
เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ภาคผนวก

ภาพผนวกที่ 1 เชื้อแบคทีเรียวิบริโอ

ที่มา : http://pathmicro.med.sc.edu/fox/enterobact.htm



ภาพผนวกที่ 2 สาหร่ายเซลล์เดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

104664

ภาพผนวกที่ 3 การเตรียมสารไตรฟลูราลิน

ภาพผนวกที่ 4 การทดสอบกับสาหร่าย

ภาพผนวกที่ 5 การเลี้ยงสาหร่ายบนเครื่องเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผนวกที่ 6 วัดการเจริญเติบโตของสาหร่ายด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร

ภาพผนวกที่ 7 การทดสอบกับกุ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้