รหัสโครงการ SUT3-303-51-12-63

รายงานการวิจัย

รูปแบบของยีน Major Histocompatibility Complex ต่อลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคในไก่พื้นเมืองไทย
(The Pattern of Major Histocompatibility Complex Gene on Disease Resistance Traits in Thai Indigenous Chicken)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-303-51-12-63

รายงานการวิจัย

รูปแบบของยีน Major Histocompatibility Complex ต่อลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคในไก่พื้นเมืองไทย (The Pattern of Major Histocompatibility Complex Gene on Disease Resistance Traits in Thai Indigenous Chicken)

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมรรัตน์ โมพี

สาขาวิชา เทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชา เทคโนโลยีการเกษตร

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

24 มีนาคม 2557

กิตติกรรมประกาศ

นักวิจัยขอขอบพระคุณนักศึกษาบัณฑิตศึกษาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านการเก็บตัวอย่าง เก็บข้อมูล ด้วยความทุ่มเทและรับผิดชอบเป็นอย่างดี และท้ายที่สุด นักวิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้การสนับสนุนเงินทุนวิจัย ในการดำเนินโครงการวิจัยครั้งนี้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของยีน Major Histocompatibility complex (MHC) class II และ microsatellite ตำแหน่งที่ LEI0258 ต่อลักษณะความสามารถในการต้านทานโรค และลักษณะน้ำหนักตัวไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาว และศึกษารูปแบบ allele genotype ของทั้งสองตำแหน่ง โดยทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวจำนวน 125 ทำการศึกษา allele, genotype ของ LEI0258 และ single nucleotide polymorphism ของยีน MHC class II ด้วยเทคนิค PCR และ PCR sequencing ตามลำดับข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาคือน้ำหนักตัวและค่า titer ของไก่ที่อายุ 3 – 7 เดือน ใช้ general linear model ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง genotype ของ microsatellite และ SNPs ของยีน MHC class II ผลการศึกษาพบว่า LEI0258 มี 6 allele คือ A (205 bp) B (249 bp) C (307 bp) D (321 bp) E (345 bp) และ F (420 bp) และมีทั้งหมด 11 genotype คือ AB, AC, BC, BD, CC, CD, CE, CF, DD, DE, และ EF ส่วนยีน MHC class II พบ SNPs ทั้งหมด 16 ตำแหน่งคือ C125T, A126T, C128T, A131G, G136T, C209G, C242T, A243T, C244T, C250T, A254T, A274G, A282T, C360T, A361G และ G720T ส่วนผลการศึกษาความสัมพันธ์ของยีนกับการเจริญเติบและค่า titer พบว่า genotype BD, DE และ CD มีความสัมพันธ์กับค่า titer ต่อการต้านทานโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 7 เดือน ส่วนยีน MHC พบความสัมพันธ์ของ SNP ตำแน่งที่ 3 (C128T), 6 (C209G), และ ตำแหน่งที่ 16 (G720T) กับน้ำหนักตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความสัมพันธ์ของตำแหน่ง SNPs กับลักษณะระดับ titer พบความความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ตำแหน่งที่ 3 (C128T), 5 (G136T), 6 (C209G), 10 (C250T), 11 (A254T) และ 12 (A274G) ผลการศึกษาสรุปได้ว่า ยีนดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันโรค จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นยีนเครื่องหมายในประชากรไก่พื้นเมือง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำสำคัญ Major Histocompatibility complex (MHC), ไตเตอร์, น้ำหนักตัว, ยีน MHC BLβ exon 2, Single nucleotide polymorphisms (SNPs), Microsatellite LEI0258

ABSTRACT

The aim of the present study was to study the effect of Major Histocompatibility Complex (MHC) class II, and microsatellite LEI0258 on the ability of disease resistance and bodyweight of Thai Indigenous chicken, and study the pattern of both of loci. One hundred and twenty-five Thai Indigenous chicken were used in this study. Blood samples were collected for Microsatellite-based and SNP analysis. PCR and PCR sequencing were used to classify the allele of LEI0258, and the SNPs of MHC class II gene, respectively. Bodyweight were collected at the age of 3 - 7 months. Titers of Newcastle disease at the age of 3 – 7 months were measured. Six alleles of LEI0258 can be classified, A (205 bp), B (249 bp), C (307 bp), D (321 bp), E (345 bp) and F (420 bp). Sixteen SNPs were found, C125T, A126T, C128T, A131G, G136T, C209G, C242T, A243T, C244T, C250T, A254T, A274G, A282T, C360T, A361G and G720T. The significant relationship between genotype and titer and bodyweight were detected for the BD, DE and CD correlated with the titer against Newcastle disease at the age of 7 months. The significant association between SNP and bodyweight were found at the SNP 3 (C128T), 6 (C209G) and 16 (G720T). The association between SNP and titer were found at the SNP 3 (C128T), 5 (G136T), 6 (C209G), 10 (C250T), 11 (A254T) and 12 (A274G). The results can suggest that these loci have the relationship with bodyweight and disease resistance ability, and there are possible to use the loci as gene marker for Thai indigenous chicken.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Keywords Major Histocompatibility complex (MHC), Titer, Body weight, MHC BLβ exon 2 gene, Single nucleotide polymorphisms (SNPs), Microsatellite LEI0258

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	2
ตรวจเอกสารงานวิจัย	3
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
สัตว์ทดลอง, การจัดการอาหาร, และข้อมูล	11
ตัวอย่างเลือด วิเคราะห์ภูมิคุ้มกัน การสกัด DNA และตรวจคุณภาพดีเอนเอ	11
ศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน MHC class II	13
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	16
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
อภิปรายผล	17
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	32
บรรณานุกรม	34
ประวัติผู้วิจัย	37

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	โครงสร้างและการทำงานของ MHC ในไก่ (B complex)	5
ตารางที่ 2	สรุปผลการศึกษาอิทธิพลของยีน MHC class II ที่มีต่อความสามารถในการต้านทานโรคและลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ	10
ตารางที่ 3	โปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	11
ตารางที่ 4	ค่าเฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของน้ำหนักตัว และค่า titer ที่อายุต่างๆ ของไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้	17
ตารางที่ 5	ความถี่alleleจาก LEI0258 ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว	18
ตารางที่ 6	ความถี่ genotype จาก LEI0258 ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว	18
ตารางที่ 7	ความสัมพันธ์ระหว่างallele LEI0258 microsatellite กับค่า titer และน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 4 และ 7 เดือน	19
ตารางที่ 8	อิทธิพลของ genotype ต่อค่า titer และ น้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 4 และ 7 เดือน	21
ตารางที่ 9	จำนวน SNP ที่พบ ความถี่ของ SNP และ genotype และสมดุล Hardy – Weinberg ของยีน MHC จากจำนวนไก่ทั้งหมด 125 ตัว	23
ตารางที่ 10	ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE) ของน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือน	25
ตารางที่ 11	ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE) ของค่า log (10) Titer ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือน	30

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	การสร้างโมเลกุล MHC class I และ class II	6
ภาพที่ 2	ขนาด PCR product BLB exon2, 275 bp	14
ภาพที่ 3	ความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการของระบบภูมิคุ้มกันต่อระดับการผลิตในสัตว์ที่มีอิทธิพลมาจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน	28

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ไก่พื้นเมืองเป็นสัตว์พื้นเมือง ชนิดหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านของการผลิตเพื่อการค้า ทั้งนี้เนื่องจากเหตุผลคือ ไก่พื้นเมืองเป็นสัตว์ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมในประเทศ ซึ่งรวมถึงความสามารถในการต้านทานโรคได้ดีกว่าไก่สายพันธุ์ทางการค้าทั่วไป เนื้อไก่พื้นเมืองเป็นเนื้อที่มีรสชาติดี นอกจากนี้ยังมีผลงานวิจัยที่ชัดเจนแล้วว่าเนื้อไก่พื้นเมืองเป็นเนื้อที่มีโคเลสเตอรอลต่ำกว่าเนื้อไก่สายพันธุ์ทางการค้า ซึ่งจะเป็นผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม ไก่พื้นเมืองมีข้อจำกัดเรื่องของสมรรถนะการผลิตที่ต่ำกว่าไก่สายพันธุ์ทางการค้า ซึ่งความสามารถดังกล่าวมีปัจจัยหลักเนื่องจากพันธุกรรมของไก่เอง ดังนั้นปัจจุบัน นักวิชาการจึงพยายามปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองเพื่อให้มีลักษณะที่เกี่ยวข้องกับสมรรถนะการผลิตที่ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม ในหลักการของทฤษฎีแล้วลักษณะที่เกี่ยวข้องกับสมรรถนะการผลิตและลักษณะความสามารถในการต้านโรคและความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมนั้นจะมีความสัมพันธ์กันในทางตรงกันข้าม (Negative correlation) ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์ไก่จึงต้องทำอย่างระมัดระวัง กล่าวคือ เราจำเป็นที่จะต้องมีวิธีการที่จะปรับปรุงลักษณะที่เกี่ยวข้องกับสมรรถนะการผลิตให้ดีขึ้นโดยไม่สูญเสียความสามารถในการต้านทานโรคไป

มีรายงานวิจัยที่ชัดเจนว่า ความสามารถในการต้านทานโรคในไก่นั้น อยู่ภายใต้การทำงานของยีนในกลุ่มของ major histocompatability complex กลุ่มยีนดังกล่าวมีบทบาทหลักในการทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์ และมีงานวิจัยพบว่า ยีน major histocompatability complex class II ซึ่งเป็นยีนในกลุ่มดังกล่าวมีบทบาทชัดเจนต่อลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคในไก่ ยีนนี้มีรูปแบบที่หลากหลาย รูปแบบที่แตกต่างกัน มีผลต่อความสามารถในการต้านทานโรคที่แตกต่างกันด้วย ดังนั้นยีนดังกล่าวจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุศาสตร์ในการช่วยคัดเลือกไก่เพื่อให้มีความสามารถในการต้านทานโรคสูงขึ้น และในขณะเดียวกันสามารถใช้รูปแบบของยีนนี้เป็นเครื่องหมายในการบ่งชี้ความสามารถในการต้านทานโรคของไก่ได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์ดังจะได้กล่าวในย่อหน้าต่อไป

จากที่กล่าวมาข้างต้นแล้วว่าในการปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองเพื่อเพิ่มสมรรถนะการผลิตนั้นจะมีผลกระทบต่อลักษณะความสามารถในการต้านทานโรค แต่ถ้าสามารถใช้เครื่องหมายทางพันธุศาสตร์เพื่อบ่งชี้ความสามารถในการต้านทานโรคในไก่แต่ละตัวได้ จะทำให้การปรับปรุงลักษณะสมรรถนะการผลิตสามารถทำได้ควบคู่ไปกับการคงลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองเพื่อให้มีสมรรถนะการผลิตที่ดีขึ้น และยังคงลักษณะที่ดีเด่น คือ ความสามารถในการต้านทานโรคได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) เพื่อศึกษาอิทธิพลของยีน MHC class II รูปแบบต่างๆต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านทานโรคและการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมือง
2) เพื่อศึกษาความถี่ของแต่ละรูปแบบของยีน major histocompatabilit complex class II (MHC class II) ในประชากรไก่พื้นเมือง

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาในไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวจำนวน 153 ตัว จากประชากรไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี โดยเน้นที่จะศึกษาลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านทานโรค ซึ่งในการศึกษานี้จะใช้ลักษณะของระดับภูมิคุ้มกันของโรคนิวคลาสเซิล เนื่องจากการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านทานโรคในแต่ละโรคนั้นต้องใช้ระยะเวลาในการศึกษานานและใช้ค่าใช้จ่ายที่สูงมาก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาเฉพาะระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคลาสเซิลซึ่งเป็นโรคที่มีความสำคัญต่อระบบการผลิตไก่เป็นอย่างมาก โดยใช้โรคดังกล่าวเป็นโมเดลในการประยุกต์หรืออธิบายถึงความสามารถในการสร้างภูมิต้านทานโรคโดยรวม

ประชากรเป้าหมายของผลงานวิจัยนี้คือ ประชากรไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์พันธุ์จากกรมปศุสัตว์

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

☑ เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป
กลุ่มเป้าหมาย *นักวิชาการทางด้านการปรับปรุงพันธุ์ โดยองค์ความรู้นี้นักวิชาการในสาขาดังกล่าวสามารถนำไปขยายผลการศึกษาในประชากรไก่พื้นเมืองในวงกว้างขึ้น เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการปรับปรุงพันธุ์ไก่ในลักษณะอื่นๆ แต่ยังคงความสามารถเรื่องการต้านทานโรคซึ่งเป็นลักษณะเด่นของไก่พื้นเมืองนี้ไว้ได้*

☑ นำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์
กลุ่มเป้าหมาย *องค์กรทั้งภาครัฐและเอกชนที่มีเป้าหมายผลิตพันธุ์ไก่พื้นเมืองเพื่อจำหน่ายโดยสามารถนำความรู้จากผลงานวิจัยนี้ในการเก็บพันธุกรรมของความสามารถในการต้านทานโรคของไก่พื้นเมืองให้คงอยู่ต่อไปและสามารถใช้ในการเพิ่มมูลค่าพันธุ์ไก่พื้นเมืองที่ปรับปรุงขึ้นมาได้*

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การตรวจเอกสาร

ความสามารถในการต้านทานโรคในไก่พื้นเมือง

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการต้านทานโรคในไก่พื้นเมืองไทยนั้น แม้ว่ายังมีค่อนข้างน้อย แต่ก็สามารถชี้ให้เห็นได้ว่า ไก่พื้นเมืองมีความสามารถในการต้านทานโรคได้ดีกว่าไก่สายพันธุ์ทางการค้าที่เลี้ยงอยู่ทั่วไป เช่นในรายงานของ Boonyanuwat et al. (2006) ระบุว่าในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2003 ถึง เดือนมีนาคม 2004 เป็นช่วงที่มีการระบาดของโรคไข้หวัดนกในหลายประเทศของทวีปเอเชีย ซึ่งรวมถึงประเทศไทยด้วย ซึ่งพบว่ามีการตายของไก่สายพันธุ์ทางการค้าเป็นจำนวนมาก แต่ไก่พื้นเมืองสามารถรอดพ้นจากการระบาดของโรคนี้ได้ นอกจากนี้ยังมีผลงานวิจัยที่ยังไม่ตีพิมพ์ได้ทำการเปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันระหว่างไก่พื้นเมืองและไก่สายพันธุ์ทางการค้า พบว่า ระดับภูมิคุ้มกันของไก่พื้นเมืองนั้นสูงกว่าไก่สายพันธุ์ทางการค้า จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นได้ว่าความสามารถในการต้านทานโรคนั้นเป็นลักษณะที่ดีเด่นของไก่พื้นเมืองและมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคงความดีเด่นของลักษณะนี้ไว้

กลไกการพัฒนาเชิงโมเลกุลเพื่อการต้านทานโรคในไก่ (B-cell และยีนที่ควบคุมการทำงานในการสร้างอิมมูโนโกลบูลิน : Immunoglobulin (Ig))

B-cell ที่ถูกสร้างและพัฒนาจากไขกระดูก เพื่อการพัฒนาเกิดจากการกระตุ้นจากปัจจัยภายนอก เช่น แอนติเจน หรือ ไซโตคายน์ ซึ่งจะส่งผลให้ยีนที่ควบคุมการสร้าง Ig เปลี่ยนแปลงการทำงานของยีนอย่างเป็นระบบ ในการพัฒนาของ B-cell เกิดมาจากเซลล์ต้นกำเนิดของ lymphocyte คือ stem cell ที่สร้างจากไขกระดูก ส่วนหนึ่งไปแสดงผลยังต่อมไธมัส เพื่อพัฒนาไปเป็น T-cell อีกส่วนหนึ่งยังคงอยู่ในไขกระดูก เพื่อพัฒนาไปเป็น B-cell (Antibody) เนื่องจาก Ig เป็นโปรตีนซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็ก จึงสามารถตรวจสอบได้โดยวิธีการทางชีวเคมีทั้งปริมาณและคุณภาพ แต่ความสามารถพิเศษของ Ig คือ การทำปฏิกิริยาจับเกาะ อย่างจำเพาะเจาะจงต่อแอนติเจน ซึ่งนำไปสู่ความแข็งแรงที่ยึดระหว่างกันและกัน เรียกว่า “Ab affinity” และพบว่าการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง Ab จาก Ag เดิมหลายๆ ครั้ง ทำให้ Ab มี affinity สูงขึ้นเนื่องจาก lymphocyte ที่ถูกกระตุ้นให้แบ่งตัวอย่างมากในครั้งแรก ส่วนหนึ่งได้เปลี่ยนแปลงไปเป็น memory cell แล้วถูกกระตุ้นให้แบ่งเซลล์และสร้าง Ab ที่มี affinity สูงมากขึ้นในครั้งต่อไป ในกระบวนการพัฒนา B-cell เพื่อให้เกิด antibody-secreting cell และ memory cell พบว่ากลุ่มเซลล์ดังกล่าวถูกกระตุ้นโดยแอนติเจนเดิมเป็นครั้งที่ 2 หรือ 3 เซลล์จะสามารถสร้าง Ig ที่มี affinity maturation ในรูปแบบของ somatic maturation ที่ v-region ใน memory cell ทำให้ประสิทธิภาพในการจับเกาะกับแอนติเจนเดิมได้ดีขึ้น ได้มีการยืนยันมากมายว่ายีน MHC เป็นยีนหลักที่ใช้ในการควบคุมการต้านทานโรค ไวรัส แบคทีเรีย และปาราสิต โดย MHC จะมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางการเจริญเติบโต ระบบสืบพันธุ์ และการต้านทานโรค ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ จากการศึกษายีน MHC ในไก่สามารถยืนยันได้ว่าถูกควบคุมจากยีนต้านทานโรค เช่น โรคมาเร็ก โรคนิวคาสเซิล และโรคหลอดลมอักเสบ เป็นต้น

ยีนของระบบ MHC เป็นแบบ polymorphism นั้นคืออยู่ในลักษณะ “multiple alleles” ในแต่ละตำแหน่งของยีน และยังมีลักษณะเป็น “multiple genes” คือมีหลายยีนร่วมกันแสดงลักษณะ ได้มีการนำเอาเทคโนโลยีทางด้านโมเลกุลระดับยีนมาศึกษายีน MHC ของไก่ สามารถจำแนกได้ 3 class ด้วยกันคือ class I, II และ IV พบว่าใน class II มีความคล้ายคลึงกันระหว่างไก่และมนุษย์สูงถึง 55-65% แต่ความคล้ายคลึงกันของ class I มีแค่เพียง 35% ซึ่งความคล้ายคลึงกันของ MHC class I และ class II บนโครโมโซมอาจจะพบว่ามีความถี่ในการรวมกันของยีนระหว่าง B-F และ B-L น้อยมาก (Lamont, 1989) จากความคล้ายคลึงกันในส่วนของ MHC class II ระหว่างไก่กับมนุษย์ว่ามีความสัมพันธ์กับการต้านทานโรค รวมทั้งได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย เพราะ MHC class II มีรูปแบบที่ครอบคลุมและมีบทบาทสำคัญในการนำเสนอแอนติเจนต่อ

T helper cell ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย โดยมีรูปแบบของ exon 2 ของ MHC class II gene เป็นส่วนที่เปลี่ยนรหัสเริ่มต้นภายนอกเซลล์ของ บริเวณ antigen binding site (ABS) พบว่ามีการตรวจสอบในส่วนนี้กันอย่างแพร่หลายเพราะมี alleles จำนวนมากมีความแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิด จึงเหมาะที่จะใช้เป็นส่วนศึกษาในการจำแนกเบส MHC class II ในไก่ได้ (Rifu et al., 2007) เพื่อให้มองเห็นภาพของยีนในระบบ MHC ในไก่ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น จึงอธิบายลักษณะยีนตามตำแหน่งและหน้าที่การทำงานดังนี้

1. MHC genes ของไก่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 16 ซึ่งเป็น microchromosome (Li et al., 1997) กลุ่มยีนนี้ประกอบด้วยยีนอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง คือ BF, BL, และ BG ยีนทั้ง 3 ตำแหน่งนี้จะทำหน้าที่ในการผลิต antigen ที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ในตำแหน่ง BF จะผลิต antigen class I พบได้ในเนื้อเยื่อทั่วไป และ erythrocytes ส่วน ตำแหน่ง BL จะผลิต antigen class II gene สามารถจำแนกได้จากบนเซลล์ที่เป็น non-lymphoid cell ซึ่งอยู่ที่ Bursa of Frabricius ใน Thymus cell, B-lymphocytes, Activated T-lymphocytes, Macrophages และ Dendritic cells ส่วน BG นั้นจะผลิต antigen class IV พบได้ใน erythrocyte, platelets, intestinal cell และ arguablg lymphocytes (Pink et al., 1977) สำหรับยีน MHC class II นั้น เป็นยีนที่มีหน้าที่ encode โปรตีนที่มีหน้าที่ในการนำ antigen ไปยัง helper T cell เพื่อใช้ในการต่อต้านเชื้อโรคที่จะเข้าสู่เซลล์ ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญสำหรับระบบการต้านทานโรคในสัตว์ (Chen et al., 1997) การแสดงออกของ MHC antigen เกิดขึ้นในเซลล์เม็ดเลือดแดง พบว่า B-complex เป็นตัวควบคุมการทำงาน โดยจะเข้าไปกำหนดระดับซีรัมและ histocompatibility antigen ซึ่งจะเกิดทั้งในส่วนของ B-F และ B-L alleles สาเหตุที่มีความเหมาะสมที่จะบรรจุอยู่ในซีรัมทั้ง anti-F และ anti-G antibodies เพราะพบว่ามีความชัดเจนในระบบภูมิคุ้มกันของไก่จากเซลล์เม็ดเลือดในการผลิตแอนติบอดี โดยสิ่งที่เกิดขึ้นระหว่าง B-L และ B-F ในการรวมและเชื่อมต่อกัน (linkage) ให้เกิดการคงอยู่ของ B complex antigen ในเม็ดเลือด จึงเป็นไปได้ที่จะมีการสรุปว่าเป็นการ crossing over โดยเกิดขึ้นระหว่างโลกัส B-L, B-F และ B-G sequence ของทั้ง 3 loci ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 โครงสร้างและการทำงานของ MHC ในไก่ (B complex)

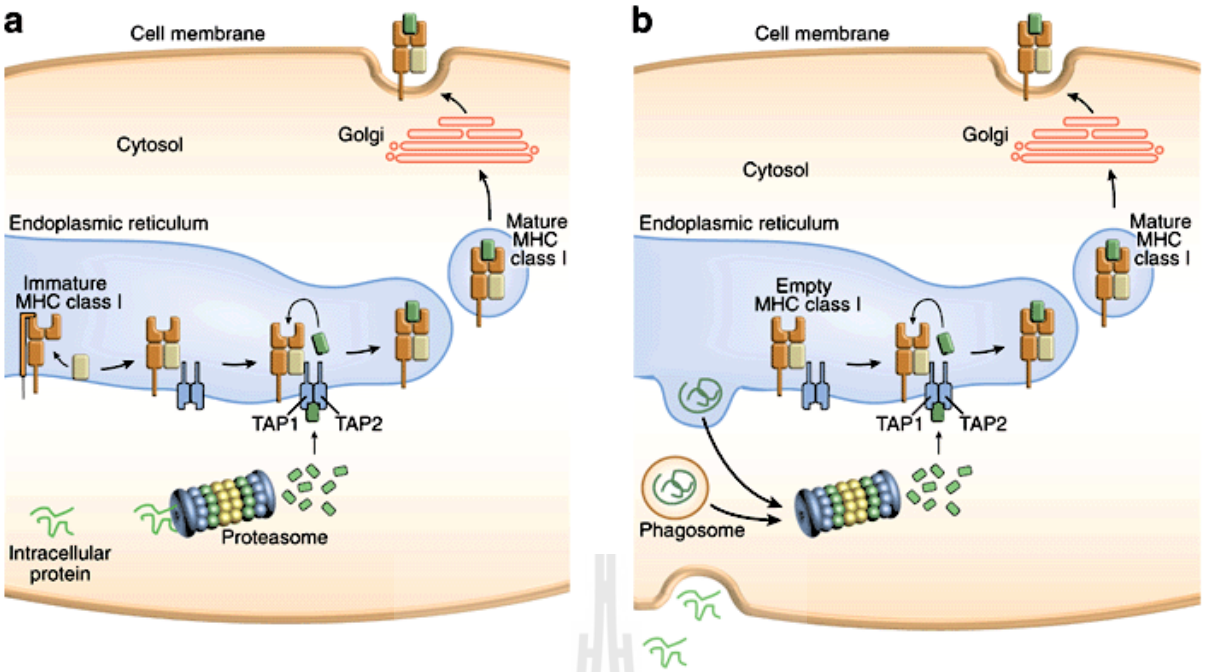
Function	Regions		
Region determined by crossing over	B-L (class II)	B-F (class I)	B-G (class IV)
Presence of antigen on RBC	-	+	+
Rejection of allograft	?	+	-
GvH reaction	+	++	-
Immune response	+	?	-
Erythropoiesis	-	-	+
Adjuvant activity	-	-	+

หมายเหตุ: -, +, ++ คือ การกำหนดระดับความสำคัญ;? คือ ไม่ทราบความสำคัญ

ที่มา: Hala et al. (1981)

เนื่องจากาการแสดงออกของโมเลกุล MHC ที่ปรากฏบนผิวของเซลล์ต่างๆ คือตัวกำหนดว่า T-cell จะทำปฏิกิริยาเพื่อเข้าทำลายแอนติเจน พบว่าโมเลกุล CD8 บน T-cyl คือโมเลกุลที่ทำหน้าที่จับเกาะได้กับโมเลกุล MHC class I ในขณะที่ CD4 บน T-helper จะเกาะได้กับ MHC class II เท่านั้น การควบคุมการแสดงออกของยีน MHC และการสร้างโมเลกุล จึงเป็นขั้นตอนเพื่อทำให้ระบบภูมิคุ้มกันผ่าน T-cell ให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. การสร้างโมเลกุลของ MHC ถูกสร้างขึ้นมาในลักษณะเดียวกับการสร้างโปรตีนโดยทั่วๆ ไปที่มีการนำส่งออกมาที่พื้นผิวเซลล์ นั้นคือ mRNA จะถูก translated ที่ ribosome ที่เกาะติดกับ endoplasmic reticulum (ER) ทำให้ MHC ที่ถูกสร้างเคลื่อนตัวเข้าสู่ ER เพื่อรวมตัวเข้ากับ N-linked high mannose oligosaccharide หลังจากนั้นจะถูกส่งเข้าไปที่ Golgi เพื่อเปลี่ยน mannose ไปเป็นโมเลกุลที่มีความซับซ้อนมากขึ้น ในที่สุด MHC ในสภาพของโปรตีนก็จะย้ายตัวเองไปยัง plasma membrane ผ่าน vesicular ต่อไป สรุปได้ดังนี้ (แผนภาพที่ 1a และ 1b)



รูปที่ 1 การสร้างโมเลกุล MHC class I และ class II
ที่มา Abbas et al. (2000)

การควบคุมการสร้างอิมมูโนโกลบูลินในระดับ Transcription และTranslation

1. การควบคุมในระดับ transcription โดย promoter และ enhancer ในกรณีของ promoter ก็คือ ตำแหน่ง 5’ อยู่ติดกับยีนที่ถูก transcribed ซึ่งอยู่หน้า V genes จุดเริ่มต้นการเกิด transcription โดย RNA-polymerase ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของ DNA sequence ส่วนนี้คือ “conserved octanucleotide” ซึ่งเป็นตำแหน่งของ DNA-binding protein ส่วน enhancer คือ DNA sequence ที่ทำหน้าที่เพิ่มอัตราการเกิด transcription ของ linked gene โดย enhancer มักจะเป็น tissue-specific นั้นคือมีความเฉพาะต่อเนื้อเยื่อชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นพิเศษ ในเรื่องของยีนที่สร้างภูมิคุ้มกัน หรือ อิมมูโนโกลบูลินนั้นเอง
2. อัตราการเกิด turnover ของ mRNA มีผลโดยตรงต่อการ translation และ จำนวนอิมมูโนโกลบูลิน (Ig)ที่สร้างขึ้นมา พบว่า B-cell ที่ถูกกระตุ้นจากแอนติเจนให้เกิดการสร้างอิมมูโนโกลบูลิน โดยกระบวนการเติมแต่งอิมมูโนโกลบูลินให้สมบูรณ์ จากการสร้างโมเลกุลของ Ig เกิดขึ้นที่ไรโบโซม ซึ่งเกาะติดอยู่กับ endoplasmic reticulum (ER) กลายเป็น rough ER เมื่อโมเลกุลสร้างสำเร็จแล้วก็จะตัด peptide ทางด้าน 5’ ออกไป การรวมตัวของ heavy chain และ light chain รวมถึง N-linked glycosylation ก็เกิดขึ้นใน ER นี้ทั้งหมด เมื่อตัดแต่งเพิ่งเติมแล้วก็จะถูกนำส่งเข้าที่ Golgi vesicles เพื่อนำเสนอในรูปของ bound-Ig หรือ secreted-Ig ผ่านกระบวนการ pinocytosis แบบย้อนกลับ นอกจากนี้การนำเอา J-chain ซึ่งใช้ในการเชื่อม Ig ของ IgA และ IgM เป็น dimer และ pentamer ที่ถูกดำเนินการในระดับ post-translation ด้วย
3. อิมมูโนโกลบูลิน โมเลกุลถูกควบคุมโดยโปรตีนในแต่ละช่วงของการพัฒนาเซลล์ ส่วนประกอบของ Ig ที่ถูกสร้างในไซโทพลาสถูกควบคุมโดยโปรตีนหลายรูปแบบขึ้นอยู่กับระดับการพัฒนาของ B-

cell อย่างไรก็ตาม B-cell ยังมีโมเลกุลเครื่องหมายบนผิวเซลล์ (surface markers) อีกมากมาย สร้างขึ้นมาในแต่ละช่วงการพัฒนาเซลล์เพื่อทำหน้าที่ให้สมบูรณ์ ส่วนใหญ่จะทำหน้าที่กระตุ้นหรือควบคุมการทำงานของเซลล์ในช่วงการพัฒนาดังกล่าว

การนำเสนอแอนติเจนของ MHC class I และ class II ให้กับ T-cell เนื่องจาก T-cell ทำงานเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมอย่างมรข้อจำกัด กล่าวคือ สิ่งแปลกปลอมนั้นๆจะต้องเป็นโมเลกุล peptide สายสั้นๆ ซึ่งนำเสนอโดยเซลล์ผ่านทางระบบ MHC ดังนั้นเซลล์ซึ่งทำหน้าที่ในการนำเสนอแอนติเจน เรียกว่า antigen presenting cell (APC) หรือ accessory cells จึงมีหน้าที่ดำเนินการปรับรูปแบบของแอนติเจนให้อยู่ในสภาพพร้อมที่จะนำเสนอให้กับ T-cell พบว่าการนำเสนอดังกล่าวขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ที่สามารถสร้าง MHC class I หรือ class II ซึ่งจะทำการเปลี่ยนแปลงแอนติเจนให้เข้าไปในเซลล์ 2 รูปแบบ

1. Endogenous synthesis of antigen คือ แอนติเจนที่สร้างจากยีนของสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปอยู่ภายในเซลล์ เช่น ไวรัส หรือ microbe อื่นๆ ซึ่งถูกนำเสนอผ่านทาง MHC class I ให้กับ T-cyl มีโมเลกุลรับรู้คือ CD8 โปรตีนจากแอนติเจนเหล่านี้จะถูกส่งต่อมาให้ proteasome ซึ่งทำหน้าที่ปรับโครงสร้างให้กลายเป็น peptide สายสั้นและนำเข้าสู่ ER ที่ตำแหน่งนี้เอง α-chain และ β2-microglobulin ถูกสร้างมารวมตัวกัน นำ peptide แอนติเจนออกสู่ภายนอกเซลล์ทาง exocytotic ผ่าน golgi เข้าสู่ vesicle และนำเสนอให้กับ T-cyl (CD8+) ในที่สุด
2. Endocytosis of extracellular antigen คือ แอนติเจนที่เป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่อยู่ภายนอกเซลล์ แต่ได้เคลื่อนเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ และถูกตัดแต่งแปลงสภาพให้มีขนาดพอเหมาะที่จะนำเสนอผ่าน MHC class II ให้กับ T-helper ซึ่งมีโมเลกุล CD4 รับรู้ โดยเซลล์ในกลุ่มนี้ค่อนข้างมีจำนวนจำกัดและทำงานเพิ่มจำนวนโดยการตอบสนองจากการกระตุ้นของ cytokine หรือปัจจัยอื่นๆ เพื่อที่จะสร้าง MHC และโมเลกุลอื่นๆ ออกมาจำนวนมาก ทำให้สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ APC ในกลุ่มนี้ทำงานแตกต่างกันตามชนิดของเซลล์
    - Mononuclear phagocytes phagocytosis จะทำหน้าที่แปรรูปแอนติเจนจากแบคทีเรียหรือพยาธิต่างๆ โดยตัวของมันเองจะปล่อย IFN-γ ออกมากระตุ้นเซลล์ในกลุ่มเดียวกันทำงานได้อย่างดีขึ้น
    - B-lymphocyte เป็นเซลล์ที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนสูง เพราะมี Ig อยู่บนผิวเซลล์อยู่แล้ว จึงมักทำหน้าที่เป็น APC มีการจับเกาะกับแอนติเจนสูง ทำให้เกิด endocytosis เพื่อเปลี่ยนมาเป็น peptide เพื่อนำเสนอให้กับ T-helper ต่อไป
    - Dendritic cell ทำหน้าที่เป็น APC ทางผิวหนังหรือเยื่อบุอวัยวะต่าง

MHC และยีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรคต่อการป้องกันโรคในสัตว์ปีก

MHC มีอิทธิพลอย่างมากต่อการควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรค (Dorf, 1981) ตัวอย่างของ MHC ในการตอบสนองภูมิคุ้มกันในไก่ประกอบไปด้วยการตอบสนองทางด้านสารน้ำ (Humoral immune response) โดยการใช้สารเคมีในการป้องกันแอนติเจน (Antigen) และส่วนประกอบ

ของแอนติเจนตามธรรมชาติ ในการศึกษาเรื่องนี้เพื่อยืนยันว่ายีน MHC มีอิทธิพลในการต้านทานโรค รวมทั้งภูมิคุ้มกันอัตโนมัติ ไวรัส แบคทีเรีย และปาราสิต จึงสามารถเชื่อมั่นได้ว่าโครโมโซมของ MHC มีความสัมพันธ์ในการต้านทานโรคในไก่ เช่น โรคมาเร็ก โรคนิวคาสเซิล โรคหลอดลมอักเสบ โรค Lymphoid leukosis และ autoimmune thyroiditis เป็นต้น

- B locus ในไก่เป็นส่วนสำคัญในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย พบว่า MHC ในไก่มีขนาด 92 kb ซึ่ง B locus มี 19 ยีน และ MHC sequence ทั้งหมดพบว่ามีความสำคัญในการใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุวิศวกรรมเพื่อใช้ในการต้านทานเชื้อโรค พบว่า 2 ตำแหน่งของยีน class I และ class II โดยถือว่าส่วนของ B-F/B-L ของ B locus และ Rfp-Y locus ใช้เป็นเครื่องหมายของ MHC
- วิธีการที่นิยม คือ SNP (single nucleotide polymorphism) ด้วยเทคนิค Single Strand Conformation (SSCP) และ PCR-RFLP ซึ่งเทคนิคSingle Strand Conformation (SSCP) เป็นการตรวจหาโพลีมอร์ฟิซึมจากดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ที่มีความแตกต่างกันเฉพาะเบสตัวใดตัวหนึ่งภายในชิ้นดีเอ็นเอ (point mutation) โดยอาศัยหลักที่ว่าดีเอ็นเอสายเดี่ยวในสภาพธรรมชาติ (nondenaturing condition) จะมีการขดหรือพันกันภายโมเลกุลเกิดเป็นโครงสร้างจำเพาะหรือมี conformation ที่จำเพาะขึ้นอยู่กับลำดับเบสของดีเอ็นเอสายนั้น ซึ่งจัดเป็นโครงสร้างขั้นทุติยภูมิ (secondary structure) ซึ่งจะมีผลต่อการเคลื่อนที่ในระหว่างการทำอีเล็กโตรโฟรีซิส ในสภาพ non denaturing polyacrylaminde gel ต่างกัน

ตำแหน่งและหน้าที่ของยีน major histocompatability complex (MHC)

กลุ่มยีน MHC ในไก่ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 16 ซึ่งเป็น microchromosome (Li et al., 1997) กลุ่มยีนนี้ประกอบด้วยยีนอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง คือ BF, BL, และ BG ยีนทั้ง 3 ตำแหน่งนี้จะทำหน้าที่ในการผลิต antigen ที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ในตำแหน่ง BF จะผลิต antigen class I ส่วน ตำแหน่ง BL และ BG นั้นจะผลิต antigen class II และ IV ตามลำดับ (Pink et al., 1977) สำหรับยีน MHC class II นั้น เป็นยีนที่มีหน้าที่ encode โปรตีนที่มีหน้าที่ในการนำ antigen ไปยัง helper T cell เพื่อใช้ในการต่อต้านเชื้อโรคที่จะเข้าสู่เซลล์ ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญสำหรับระบบการต้านทานโรคในสัตว์ (Chen et al., 1997)

ยีน MHC class II เป็นยีนหนึ่งที่มีความหลากหลายของรูปแบบ (Haeri et al., 2005; และ Livant et al., 2001) และรูปแบบที่แตกต่างกันนี้ก็มีบทบาทต่อลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคได้แตกต่างกัน (Lamont, 1998) ซึ่งลักษณะเช่นนี้ จึงทำให้ ยีน MHC class II จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะในการนำมาประยุกต์เป็นเครื่องหมายทางพันธุศาสตร์ที่ใช้ในการบ่งชี้ว่าสัตว์ที่มีความสามารถในการต้านทานโรคที่ดี อย่างไรก็ตาม ดังที่กล่าวมาแล้วว่า ยีนดังกล่าวมีรูปแบบที่หลากหลาย จึงจำเป็นต้องศึกษาว่ารูปแบบใดที่จะมีผลทำให้สัตว์มีความสามารถในการต้านทานโรคดีที่สุด

อิทธิพลของยีน MHC ต่อลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคและลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจอื่นๆ

มีการศึกษาถึงอิทธิพลของยีน MHC class II ที่มีผลต่อความสามารถในการต้านทาน อยู่จำนวนหนึ่ง ซึ่งผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2

จากตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่า มีการศึกษาของ Weigend et al. (2001) เท่านั้นที่พบว่า ยีน MHC class II ไม่มีผลต่อความสามารถในการต้านทานโรคในไก่ นอกจากนั้นทุกการศึกษา (Lakshmanan et al., 1997; Weigend and Lamont, 1999; และ Boonyanuwat et al.,2006) พบว่า ยีนดังกล่าวนั้นมีผลต่อการต้านทานโรคต่างๆ นอกจากนั้น จากแสดงยังแสดงให้เห็นอีกว่า ยีนนี้มีรูปแบบที่แตกต่างกันไป บางรูปแบบมีผลต่อการต้านทานโรคที่ชัดเจน

นอกจากนั้น จากการศึกษาของ Lakshmanan et al. (1997) ได้แสดงให้เห็นว่า ยีน MHC class II บางรูปแบบยังมีผลต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตไข่ด้วย ซึ่งเป็นประเด็นที่น่าสนใจว่า ยีนดังกล่าวนอกจากจะมีผลต่อความสามารถในการต้านทานโรคในไก่แล้วยังมีผลต่อการผลผลิตของไก่อีกด้วย

จากการศึกษาทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า ยีน MHC class II นั้นเป็นยีนที่มีศักยภาพในการที่จะนำมาประยุกต์เป็น candidate gene marker ที่ใช้ในการช่วยคัดเลือกลักษณะความสามารถในการต้านทานโรคในไก่พื้นเมืองได้ และยังอาจจะมีผลต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตอีกด้วย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษา อิทธิพลของยีนดังกล่าว เพื่อเป็นแนวทางในการนำมาช่วยบ่งชี้ไก่พื้นเมืองในลักษณะความสามารถในการต้านทานโรค เพื่อใช้ควบคู่ไปกลับการคัดเลือกและปรับปรุงลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตอื่นๆ เช่น ผลผลิตไข่ อัตราการเจริญเติบโตเป็นต้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2 สรุปผลการศึกษาอิทธิพลของยีน MHC class II ที่มีต่อความสามารถในการต้านทานโรค และลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

ลำดับที่[1/]	พันธุ์/สายพันธุ์ไก่	ผลการศึกษา
1	White Leghorn สายพันธุ์ที่ต้านทานและไม่ต้านทาน Marek,s Disease	**จำนวน band :** 9 band จากเทคนิค RFLP hybridization **ผล :** ไก่สายพันธุ์ที่ต้านทานโรคมีความถี่ของ band ที่ 6, 7 สูงกว่า P<0.05 **ลักษณะ :** อายุเมื่อให้ไข่ครั้งแรก, จำนวนไข่เมื่ออายุ 497 วัน และ น้ำหนักไข่ **ผล :** ไก่สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงมีความถี่ของ band ที่ 2, 6 สูงกว่า P<0.05
2	Ottawa strain 7 สายพันธุ์ที่ต้านทานและไม่ต้านทานต่อ เชื้อ *Mycoplasma gallisepticum* และ *Pasteurella multocida*	**จำนวน band :** 8 band จากเทคนิค RFLP hybridization คือ CC1 – CC8 **ผล :** ไก่สายพันธุ์ที่ต้านทานโรคมีความถี่ของ CC6 และ CC7 สูงกว่าที่ P<0.01 และ 0.05 ตามลำดับ และความถี่ของ CC1 จะสูงในกลุ่มที่มีความต้านทานโรคต่ำ ที่ P<0.05
3	White Leghorn ที่ต้านทานและไม่ต้านทาน Marek's Disease	**จำนวน band :** 8 band จากเทคนิค RFLP hybridization คือ CC1 – CC8 **ผล :** เมื่อเปรียบความถี่ในสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการต้านทานโรคที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
4	ไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์เหลืองหางขาว และประดู่หางดำ ในเขตภาคกลางในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคไข้หวัดนก	**จำนวน haplotype:** 10 haplotype คือ A9, B12, B13, B14, B19, B21, B2, B4, B5, และ B6 **ผล ในไก่สายพันธุ์เหลืองหางขาว :** กลุ่มที่มี haplotype แบบ homozygous B14, B21 และ B14B2 เป็นกลุ่มที่มีอัตราการรอด 100% โดยพบไก่ที่มี homozygous B21 มีจำนวนมากที่สุดคือ 74 ตัว ส่วน B14B14 และ B14B2 มีจำนวน 8 และ 3 ตัว ตามลำดับ **ผล ในไก่สายพันธุ์ประดู่หางดำ :** กลุ่มที่มี haplotype แบบ homozygous B14, B21 และ B14B2 เป็นกลุ่มที่มีอัตราการรอด 100% โดยพบไก่ที่มี homozygous B21 มีจำนวนมากที่สุดคือ 103 ตัว ส่วน B14B14 และ B14B2 มีจำนวน 2 และ 3 ตัว ตามลำดับ

[1/] เอกสารอ้างอิง: 1 Lakshmanan et al. (1997), 2 Weigend and Lamont (1999), 3 Weigend et al. (2001), 4 Boonyanuwat et al. (2006)

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

1. สัตว์ทดลอง การจัดการอาหาร, และข้อมูล

สัตว์ทดลอง เลี้ยงไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์เหลืองหางขาวคละเพศจำนวน 153 ตัว (เพศเมีย 83 ตัว และ เพศผู้ 70 ตัว) ตั้งแต่อายุ 1 วันจนถึง 7 เดือนในสภาพเลี้ยงปล่อย คือ มีโรงเรือนนอนและมีพื้นที่ให้ทำกิจกรรมต่างๆ ให้วัคซีนป้องกันโรคตามโปรแกรมของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี แสดงในตารางที่ 3 และมีการจัดการการให้อาหาร คือ

- ไก่อายุ 0-3 สัปดาห์ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 21 %
- ไก่อายุ 4-6 สัปดาห์ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 19 %
- ไก่อายุ 6 สัปดาห์ขึ้นไป โปรตีนไม่ต่ำกว่า 17 %

ตารางที่ 3 โปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อายุไก่	ชนิดวัคซีน	วิธีการให้วัคซีน
7 วัน	นิวคาสเซิลลาโซตา (เชื้อเป็น) หลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน H120	หยอดตา/หยอดจมูก 1-2 หยด
28 วัน	นิวคาสเซิลลาโซตา (เชื้อเป็น)	หยอดตา 1-2 หยด
5 สัปดาห์	ฝีดาษ/อหิวาต์ไก่	ฉีดกล้ามขา/แทงปีก
8 สัปดาห์	นิวคาสเซิลลาโซตา (เชื้อเป็น) หลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน H120	หยอดตา/หยอดจมูก 1-2 หยด
12 สัปดาห์	นิวคาสเซิลลาโซตา (เชื้อเป็น) หลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน H120	หยอดตา/หยอดจมูก 1-2 หยด

หมายเหตุ หลังจากการทำวัคซีน ND, IB+ND, ฝีดาษ และอหิวาต์ สลับกันทุก 8 สัปดาห์ ในไก่พ่อแม่พันธุ์

ที่มา : โครงการสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ข้อมูล ทำการติดรหัสประจำตัวไก่ เพื่อใช้ในการเก็บข้อมูลรายตัว โดยข้อมูลรายตัวที่จะใช้ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบยีน MHC ได้แก่ ข้อมูลน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักที่ 4, 6, 8, 10, 12, 14, และ 16 สัปดาห์ ข้อมูลระดับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลที่อายุ 4 เดือน และ 7 เดือน

2. การเก็บตัวอย่างเลือด ใช้วิธีเก็บตัวอย่างเลือด 2 วิธี ดังนี้

การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อเก็บซีรั่ม สำหรับตรวจหาระดับ titer ด้วยวิธี ELISA เก็บเลือดใส่หลอดบรรจุ (micro tube) ทิ้งระยะเวลาไว้ให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1-2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำการดูดเก็บซีรัมที่ได้ใส่ในหลอด micro tube เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์หาค่าแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิล

การเก็บตัวอย่าง**เลือดเพื่อศึกษารูปแบบยีน** เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือด (EDTA) ที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดผสมอยู่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์

3. การตรวจวิเคราะห์ระดับภูมิคุ้มกัน (Titer)

การวิเคราะห์ระดับภูมิคุ้มกัน จากการทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ด้วยวิธี ELISA (Biochick, 2008) ดังนี้ เป็นวิธีการตรวจหา antibody ต่างๆ มีหลักการคือ ให้ antibody ที่ต้องการตรวจทำปฏิกิริยากับ antigen ซึ่งทราบชนิดแล้วและติดอยู่บนผิวของ solid phase และใช้ anti-immunoglobulin ซึ่งติดฉลากด้วยเอ็นไซม์ทำปฏิกิริยาอีกชั้นหนึ่ง การย่อย substrate จะมากหรือน้อยขึ้นกับปริมาณ antibody ในสิ่งส่งตรวจ โดยมีขั้นตอนดังนี้

- เพลททดสอบ (Test Plate Antigen) ที่ถูกหุ้มด้วย Newcastle Antigen ทำปฏิกิริยากับ Chicken Antibody (Serum) ได้เป็น Antigen-Antibody Complex
- เติม anti-chicken IgG peroxidase conjugate เพื่อให้ Antigen-Antibody Complex คงอยู่
- เติมซับสเตท (Chromagen) เกิดการทำปฏิกิริยากับ peroxidase enzyme ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี เป็นสัดส่วนโดยตรงกับระดับของแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิล ในซีรัม
- เติม Stop Solution เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วอ่านค่าไตเตอร์ด้วย ELISA plate reader ที่ 405-410 nm.

4. การสกัดดีเอ็นเอ

Red Blood cell lysis

วิธีการสกัดดีเอ็นเอ จากตัวอย่างเลือดโดยใช้น้ำยาสกัดสำเร็จรูป (Genomic DNA Mini Kit) โดยนำตัวอย่างเลือดที่เก็บในหลอด EDTA tube ใช้ปริมาตร 150 µl ใส่ในหลอด micro centrifuge tube เติม 600 µl ของ Lysis Buffer ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5 นาที นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm 7 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ใช้ Micropipette ดึงของเหลวส่วนบนทิ้งไป เติม 100 µl ของ Lysis Buffer อีกครั้งหนึ่ง นำไป vortexให้ตะกอนแตกตัวจนหมด ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ3,000 rpm 5 นาทีเทส่วนใสทิ้ง

Cell Lysis

เติม Proteinase K 20 µl นำไป vortex ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เติม GB buffer 200 µl นำไป vortex ให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60°c เป็นเวลา 15 นาที (เตรียม Elution buffer 100 µl ต่อตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 60°c)

DNA Binding

เติม Ethanol 96-100% 250 µl นำไป vortex เป็นเวลา 10 วินาที เตรียม GD colume collection tube นำสารผสมในหลอดตัวอย่างใส่ลงไปใน GD colume collection tube ปิดฝาให้สนิทนำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทของเหลวส่วนล่างออก

Wash

เติม W1 buffer ปริมาณ 400 µl นำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที เทของเหลวด้านล่างทิ้ง เติม Wash buffer 600 µl นำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เทของเหลวด้านล่างทิ้ง นำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที ให้ GD colume collection tube แห้ง จากนั้นย้าย GD colume collection tube มาใส่ใน microtube ขนาด 1.5 µl อันใหม่ เติม 100 µl Elition

buffer ที่เตรียมไว้ใส่ลงใน GD colume collection tube ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที ดึงส่วนใส่ที่เป็น DNA ใส่หลอด 1.5 ml หลอดใหม่ นำ DNA ไปตรวจสอบคุณภาพและปริมาณ

5. การตรวจปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอ

การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยวิธี Agarose Gel Electrophoresis ตรวจสอบผลการสกัดดีเอ็น โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ที่ทราบขนาดโดยในที่นี้เราจะใช้ Gene Ruler 100 bp DNA ladder โดยใช้ DNA จากจำนวน 2 ไมโครลิตร ผสมกับ tracking dye 1 ไมโครลิตร ใช้ 1% agarose gel เป็นตัวกลางสำหรับแยกดีเอ็นเอ ใน 2% TBE buffer ผ่านสนามไฟฟ้าขนาด 100 โวลต์ นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำ gel ไปย้อมด้วยสารละลาย EtBr 0.5 µg/ml ประมาณ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้องแล้วล้างสีของ EtBr ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำ gel ไปส่องด้วย UV-Source เพื่อดูแถบ DNA ใน gel

6. การศึกษารูปแบบของยีน MHC class II

ศึกษารูปแบบของยีน MHC class II ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ primer จำนวน 2 คู่ คือ

primer microsatellite LEI0258 (Boonyanuwat et al., 2006, Fulton et al., 2006, Lwelamira et al., 2008 และ Suzuki et al., 2010)

LEI0258 forward and reverse primers

(5′-CACGCAGCAGAACTTGGTAAGG- 3′) และ (5′ -AGCTGTGCTCAGTCCTCAGTGC- 3′)

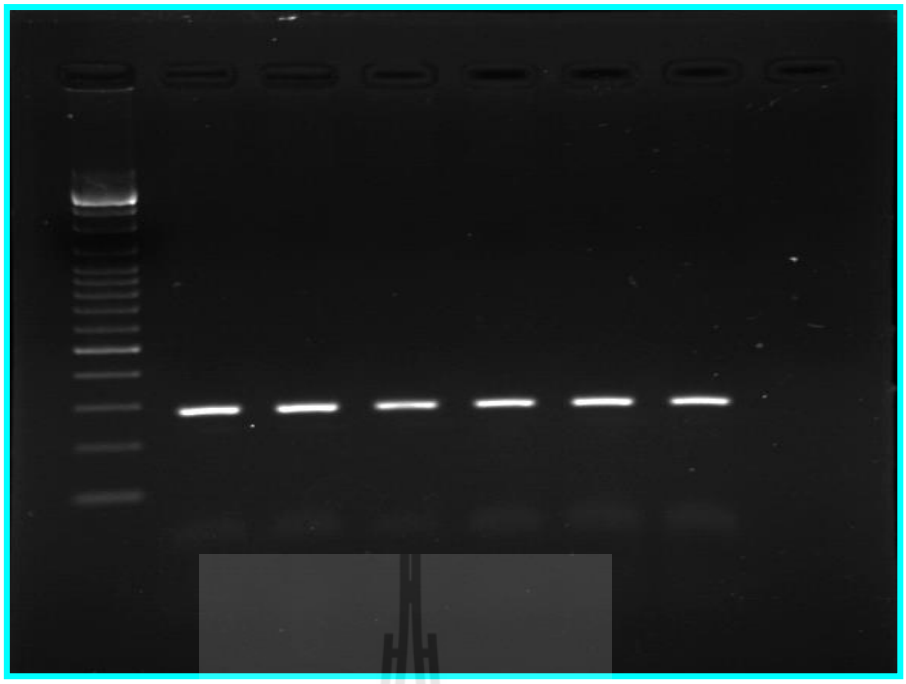
MHC class II exon 2 (Boonyanuwat et al., 2006 และ Liu et al., 2009)

BLβI exon 2 PCR forward and reverse primers

(5′ -GTGCCCGCAGCGTTCTTC- 3′) และ (5′ -TCCTCTGCACCGTGAAGG- 3′)

การตรวจสอบการเพิ่มปริมาณยีน MHC class II จากวิธี PCR โดย agarose gel electrophoresis

PCR ที่ได้มีขนาด 275 bp และทำการการตรวจสอบ โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ที่ทราบขนาดโดยในที่นี้เราจะใช้ Gene Ruler 100 bp DNA ladder โดยใช้ DNA จากวิธี PCR จำนวน 2 ไมโครลิตร ผสมกับ tracking dye 1 ไมโครลิตร ใช้ 2% agarose gel เป็นตัวกลางสำหรับแยกดีเอ็นเอ ใน 1% TBE buffer ผ่านสนามไฟฟ้าขนาด 100 โวลต์ นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำ gel ไปย้อมด้วยสารละลาย Ethidium bromide 0.5 µg/ml ประมาณ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้องแล้วล้างสีของ Ethidium bromide (EtBr) ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำ gel ไปส่องด้วย UV-Source โดยใช้เครื่อง Genedoc เพื่อดูแถบ PCR produce ใน gel มีขนาด 275 bp



รูปที่ 2 ขนาด PCR product BLB exon2, 275 bp

การศึกษา SNP ของยีน MHC class II ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว

การศึกษาความหลากหลายจีโนไทป์ของยีน MHC class II ในกลุ่มตัวอย่างไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว 153 ตัว โดยวิธี PCR (Qian et al. 2008) และ นำ PCR product ไปทำให้บริสุทธิ์(DNA Technology Laboratory) และส่งตรวจหาลำดับเบส (1st BASE) ทุกตัวอย่าง แล้วหาความแตกต่างของลำดับเบสด้วยโปรแกรมBLAST2.2.22 (National Center for Biotechnology Information) BLAST หรือ Basic Local Alignment Search Tool โดยในการทำวิจัยนี้ใช้ blastn สำหรับค้นหาข้อมูลของ nucleotide จากฐานข้อมูล โดยเปรียบเทียบระหว่างลำดับเบสมาตรฐาน (Gene Bank accession NM-001044679.1) ใช้ข้อมูลของ nucleotide ที่ต้องการเปรียบเทียบลงไป เพื่อศึกษา polymorphism ของ single nucleotide polymorphisms โดยได้เลือกตัวอย่างที่มีค่า Similarity ตั้งแต่ 85% ขึ้นไปกับลำดับเบสมาตรฐาน แล้วหาความถี่ของจีโนไทป์ ใน SNPs ตำแหน่งต่างๆ โดยเริ่มจากผลการวิเคราะห์ ด้วยโปรแกรม BLAST2.2.22 ที่เปรียบเทียบระหว่างลำดับเบสมาตรฐาน (Gene Bank accession EU591737) กับลำดับเบสของตัวอย่าง แล้วจัดรูปแบบให้เหมือนกับผลการเปรียบเทียบระหว่างลำดับเบสมาตรฐาน กับลำดับเบสของตัวอย่างให้อยู่รูปของไฟล์ Fasta นำเข้าโปรแกรม Clustal W2 เพื่อหาตำแหน่งของ SNPs ทำการ code sequence แล้วนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์และอิทธิพลของยีน MHC class II ต่อค่าไตเตอร์ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว

ก่อนที่จะมีการทำ Multiple alignment เพื่อดูตำแหน่ง SNPs เนื่องจากการส่งตรวจ PCR produce sequence แบบสองสายทั้ง Forward และ Reverse primers ต้องมีการเชื่อมต่อ sequence ทั้งสองสาย ดังขั้นตอนนี้

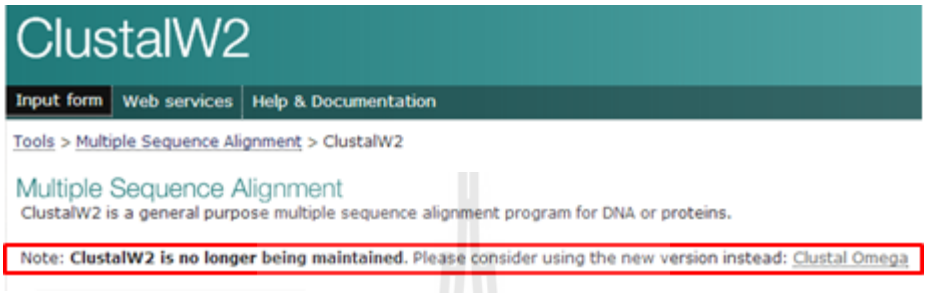
- Edit sequence โดยการตัด N (Noncoding) ลำดับดีเอ็นเอนี้อาจบรรจุข้อมูล ดีเอ็นเอขยะ (junk DNA) ของทั้งเส้น Forward และ Reverse primers ออก

- ทำการ BLAST เส้น Forward DNA sequence และ Reverse DNA sequence ที่ทำ complement แล้ว โดยเลือกเส้นหลักที่มี Similarity สูงที่สุด

- ทำ Multiple alignment ด้วยโปรแกรม Clustal W2 เพื่อหาตำแหน่งของ SNPs

ขั้นตอนการทำ Clustal W2 คือ

Step 1 เข้าไปที่โปรแกรม Clustal W2 เลือก DNA sequences แล้ว คัดลอก fasta fine sequence ไปวางไว้



Step 2 กด Submit รอผล

Step 3 กด result summary

Step 4 กด Start JalView ทำ Multiple alignment ดูตำแหน่ง SNPs

```
1st_BASE_689626_L136_BLBR          GTGGGGAAATTTGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCC-GCAAG----- 169
1st_BASE_695734_L19_BLBR.ab1       GTGGGGAAATTTGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCG-GCAAG----- 167
1st_BASE_664412_L137_BLBF          GTGGGGAAATTTGTGGCTGATACACC-GCTGGGTGAGCC-GCAAG----- 170
1st_BASE_695770_L74_BLBR           GTGGGGAAATTTGTGGCTGATACACC-GCTGGGTGAGCG-TCAAG----- 170
1st_BASE_664372_L87_BLBR.ab1       GTGGGGAAACTCGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCC-GCAAG----- 165
1st_BASE_689619_L119_BLBR.ab1      GTGGGGAAATTTGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCC-GCAAG----- 165
1st_BASE_695730_L10_BLBR           GTGGGGAAATACGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCC-TCAAG----- 164
1st_BASE_695785_L96_BLBR           GTGGGGAAATACGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCC-TCAAG----- 169
1st_BASE_664304_L11_BLBR.ab1       GTGGGGAAATATGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCG-GCAGG----- 169
1st_BASE_695738_L23_BLBR           GTGGGGAAATTTGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCC-GCAAG----- 169
1st_BASE_689645_L165_BLBR.ab1      GTGGGGAAATACGTGGCCGATACACC-GCTGGGTGAGCC-GCAAG----- 169
gi|113206149|ref|NM_001044679.     GTGGGGAAATACGTGGCTGATACACC-GCTGGGTGAGCC-GCAAG----- 192
1st_BASE_664408_L133_BLBF          CTGTCGAAGTGCGCG-----TACTCCTGCCGGTTG------TAGA----- 174
                                     **  ***     * *     * * ** ** ** **       *
```

- ทำการ code sequence ตรงตำแหน่งที่คาดว่าเป็นตำแหน่ง SNPs

ศึกษารูปแบบของ microsatellite ตำแหน่งที่ LEI0258

ศึกษารูปแบบ **microsatellite LEI0258 ด้วย primer** (5′-CACGCAGCAGAACTTGGTAAGG- 3′) และ (5′ -AGCTGTGCTCAGTCCTCAGTGC- 3′) โดยวงรอบการทำ PCR ดังนี้ เริ่ม initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C 5 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 25 รอบ มีรายละเอียดดังนี้ denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C 1 นาที, annealing ที่อุณหภูมิ 71°C 1 นาที, extension ที่อุณหภูมิ 72°C 2 นาที และจบด้วย final extension ที่อุณหภูมิ 72°C 10 นาที (Juul-Madsen et al., 2006) PCR ที่ได้มีขนาด 205 bp และทำการการตรวจสอบ โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ที่ทราบขนาดโดยในที่นี้เราจะใช้ Gene Ruler 100 bp DNA ladder โดยใช้ DNA จากวิธี PCR จำนวน 2 ไมโครลิตร ผสมกับ tracking dye 1 ไมโครลิตร ใช้ 2% agarose gel เป็นตัวกลางสำหรับแยกดีเอ็นเอ ใน 1% TBE buffer ผ่านสนามไฟฟ้าขนาด 100 โวลต์ นาน 30 นาที หลังจากนั้นนำ gel ไปย้อมด้วยสารละลาย Ethidium bromide 0.5 µg/ml ประมาณ 15 นาที ที่

อุณหภูมิห้องแล้วล้างสีของ Ethidium bromide (EtBr) ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำ gel ไปส่องด้วย UV-Source โดยใช้เครื่อง Genedoc เพื่อดูแถบ PCR produce ใน gel มีขนาด 205 bp

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ศึกษาความถี่ของ allele และ genotype ของ microsatellite LEI0258 และ SNPs ของยีน MHC class II

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS โดย genotype และ SNPs ใด มีความถี่ต่ำกว่า 3% ในกลุ่มตัวอย่างจะไม่นำไปใช้ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ ในขั้นตอนต่อไป

ศึกษาความสัมพันธ์และอิทธิพลของ microsatellite LEI0258 และ ยีน MHC class II ต่อการเจริญเติบโตและค่าไตเตอร์

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ **microsatellite LEI0258 และ**ยีน MHC class II ต่อ น้ำหนักตัวไก่ที่อายุต่างๆ ตามที่ระบุข้างต้น และค่าไตเตอร์ ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวเมื่ออายุ 3-7เดือน ด้วยตัวแบบ general linear model ประมาณค่าอิทธิพลของ genotype ของ LEI0258 และ SNPs ด้วยวิธี Ordinary least square โดยมีตัวแบบดังนี้

$$y = X_1\beta_1 + X_2\beta_2 + \varepsilon$$

โดย y คือ ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ทำการศึกษาซึ่งได้แก่ ค่าน้ำหนักตัวไก่ที่อายุต่างๆ ค่าไตเตอร์เมื่ออายุ 4 และ 7 เดือน (ที่ทำการแปลงข้อมูลด้วย log เรียบร้อยแล้ว) β_1 คือ อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ ได้แก่ เพศ β_2 เป็นอิทธิพลเนื่องจาก genotype *ของ* microsatellite LEI0258 และ *SNPs* ของยีน *MHC class II* , ε คือ อิทธิพลของความคลาดเคลื่อนอื่นๆ X_1, X_2 คือ incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพลคงที่ และแสดงการปรากฏของรูปแบบ genotype *หรือ* SNP ในแต่ละค่าสังเกต (โดยเลือก genotype และ *SNP* ที่มีความถี่มากกว่า 0.05) ตามลำดับ

ทดสอบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ด้วยวิธี Analysis of variance และตัวสถิติ F ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Release 10) (SPSS, Inc., Chicago, IL)

บทที่ 3
ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

เพื่อให้ได้ข้อสรุปว่า microsatellite LEI0258 และยีน MHC class II มีศักยภาพในการประยุกต์เป็น gene marker สำหรับการช่วยในการคัดเลือกไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวฝูงของมหาวิทยาลัยให้มีความสามารถในการต้านทานโรคและการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น ได้หรือไม่นั้น การศึกษานี้ จึงได้ ศึกษาประเด็นที่สำคัญ คือ จำนวนรูปแบบของยีนที่พบในฝูงไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาว การศึกษาความถี่ของ genotype ของยีนนี้ เพื่อบอกถึงความสามารถในการเพิ่มความถี่ของยีนในบางรูปแบบที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับลักษณะที่สนใจ และการศึกษาถึงความสัมพันธ์และระดับของอิทธิพลของยีนดังกล่าวกับ ลักษณะที่สนใจ เพื่อระบุว่ายีนดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็น gene marker ได้หรือไม่ และ ดังนั้นในการรายงานผลการศึกษาจึงรายงานตามประเด็นที่กล่าวมา ดังนี้

ข้อมูลสมมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวที่ใช้ในการศึกษา

ฝูงไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีค่าเฉลี่ย และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของน้ำหนักตัว และค่า titer ที่อายุต่างๆ แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของน้ำหนักตัว และค่า titer ที่อายุต่างๆ ของไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

Age (month)	Titer	Bodyweight (g.)
3	897.58 (1119.08)	901.830 (153.04)
4	815.32 (725.84)	1220.72 (269.29)
5	534.14 (584.96)	1765.92 (455.93)
6	5751.88 (4551.30)	2012.09 (463.59)
7	5426.76 (4242.16)	2089.15 (875.07)

Allele และ genotype ของ microsatellite LEI0258 ของไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว

ผลจากการศึกษา allele **และ genotype ของ microsatellite LEI0258** พบ allele 6 allele คือ A (205 bp), B (249 bp), C (307 bp), D (321 bp), E (345 bp) และ F (420 bp) ดังแสดงในตารางที่ 5 สอดคล้องกับการศึกษาของ Lwelamira et al. (2008) ที่พบ allele 5 allele คือ allele ที่มีขนาดของ DNA 205, 215, 234, 307, 321 และ 345 bp การศึกษาของ Han et al. (2013) พบ allele 205, 249, 307, 321, 345 และ 420 bp การศึกษาของ Gholamreza et al. (2013) ที่พบallele 5 allele คือ allele ที่ 205, 307, 321, 345 และ 420 bp และการศึกษาของ Fariba Izadi (2011) ที่พบ allele 5 allele คือ alleleที่ 205, 249, 307, 321 และ 420 bp ส่วน genotype พบ genotype ทั้งหมด 11 genotype ดังแสดงในตารางที่ 6 ความเหมือนและต่างของ allele ที่พบในการศึกษานี้และการศึกษาก่อนหน้านี้ แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่สายพันธุ์ หรือ พันธุ์ต่างๆ ที่มีอยู่

ตารางที่ 5 ความถี่alleleจาก LEI0258 ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว

Allele	Frequencies	Individual (n = 128)
A (205 bp)	0.070	21
B (249 bp)	0.101	30
C (307 bp)	0.399	119
D (321 bp)	0.188	56
E (345 bp)	0.174	52
F (420 bp)	0.067	20

ตารางที่ 6 ความถี่ genotype จาก LEI0258 ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว

Genotypes	Frequency	Individual (n = 128)
AB	0.033	5
AC	0.040	6
BC	0.047	7
BD	0.040	6
CC	0.201	30
CD	0.094	14
CE	0.134	20
CF	0.080	12
DD	0.067	10
DE	0.074	11
EF	0.047	7

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่าง allele LEI0258 microsatellite กับค่า titer และน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 4 และ 7 เดือน

Trait	Allele (bp)	4 m			7 m		
		β	SE	Significant	β	SE	Significant
Titer	A (205 bp)	0.319	0.194	0.103	-0.013	0.138	0.926
	B (249 bp)	-0.144	0.158	0.363	-0.085	0.110	0.444
	C (307 bp)	0.122	0.156	0.434	-0.156	0.105	0.142
	D (321 bp)	0.226	0.149	0.791	-0.237	0.105	**0.026***
	E (345 bp)	-0.032	0.122	0.791	0.033	0.083	0.691
	F (420 bp)	0.083	0.148	0.577	-0.058	0.102	0.575
Body weight	A (205 bp)	-55.060	64.218	0.393	-251.668	124.906	**0.047***
	B (249 bp)	13.500	52.338	0.797	-27.374	101.477	0.788
	C (307 bp)	12.325	51.484	0.811	-100.354	94.908	0.293
	D (321 bp)	5.230	49.282	0.916	-116.582	94.905	0.222
	E (345 bp)	12.389	40.362	0.759	-63.656	74.620	0.396
	F (420 bp)	-38.874	48.959	0.429	-158.999	92.044	0.087

หมายเหตุ : * แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P ≤ 0.05

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จากความสัมพันธ์ระหว่าง allele กับการตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิลและน้ำหนักตัวที่อายุ 4 และ 7 เดือน ผลการศึกษาพบว่า allele D มีความสัมพันธ์กับค่า titer ในการต้านทานโรคนิวคาสเซิล และalleleที่ A มีอิทธิพลต่อน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 7 เดือน ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 7 ผลการศึกษานี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Lwelamira et al. (2008) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของ allele LEI0258 ต่อการตอบสนองต่อค่าแอนติบอดีและน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมือง พบความถี่allele 6 ตำแหน่ง พบว่า allele A และ C bp มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อค่าแอนติบอดีในการต้านทานโรคนิวคาสเซิล ($P \leq 0.001$) และที่allele C มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัว ($P \leq 0.007$) ที่อายุ 16 สัปดาห์ ความถี่ของ alleleแบบ homozygous และ heterozygous ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ Kuchi เท่ากับ 0.118 และ 0.882 ตามลำดับ ซึ่งในการศึกษาในส่วนของความถี่alleleและความถี่จีโนไทป์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อที่ต้องการประเมินโอกาสในการคัดเลือกลักษณะในการต้านทานโรคและความสามารถในการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวว่ามีมากน้อยเพียงใด จากผลที่ได้นี้มีโอกาสในการเป็นไปได้ในการคัดเลือกไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวในลักษณะการต้านทานโรค แต่ในการคัดเลือกลักษณะนี้ไปมีผลกระทบในทางลบต่อการเจริญเติบโตในไก่ด้วยเช่นกัน ดังนั้นในการวางแผนผสมพันธุ์สัตว์จึงมีความจำเป็นในการคัดเลือกไก่กลุ่มนี้เพื่อให้ไก่ยังคงสามารถต้านทานโรคจากสิ่งแวดล้อมได้ดีควบคู่ไปกับการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับช่วงอายุไก่ด้วย

ผลจากการศึกษาความสัมพันธ์ของ genotype ต่อค่า titer และน้ำหนักตัว โดยพบว่า genotype ตำแหน่งที่ BD, DE ($P \leq 0.05$) และ CD ($P \leq 0.01$) มีความสัมพันธ์กับค่า titer ต่อการต้านทานโรคนิวคาส-เซิลในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 7 เดือน ผลดังแสดงในตารางที่ 8

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 8 **อิทธิพลของ genotype ต่อค่า titer และ น้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 4 และ 7 เดือน**

Genotype	4 m		7 m	
	Titer	Body weight	Titer	Body weight
AB	2.721±0.237	1.220±78.194	3.724±0.166	2.259±151.616
β	0.199±0.309	-7.546±101.873	-0.174±0.207	1.396±189.416
AC	0.013±0.214	1.176±70.686	3.721±0.149	2.194±136.288
β	0.491±0.291	-51.678±96.105	-0.178±0.194	-63.604±177.385
BC	2.526±0.196	1.282±64.740	3.740±0.133	2.441±121.707
β	0.005±0.278	54.114±91.613	-0.158±0.182	183.498±165.916
BD	2.663±0.212	1.220±70.086	**3.429±0.147***	2.372±149.318
β	0.141±0.289	-81.144±95.538	-0.470±0.192	114.223±187.230
CC	2.643±0.095	1.265±31.325	3.751±0.065	2.472±59.727
β	0.121±0.218	37.470±71.853	-0.148±0.139	213.580±127.052
CD	2.859±0.139	1.273±45.976	**3.491±0.095****	2.288±86.357
β	0.337±0.241	44.742±79.935	-0.408±0.156	30.165±142.032
CE	2.699±0.117	1.235±38.574	3.652±0.075	2.346±68.624
β	0.178±0.229	7.376±75.505	-0.247±0.145	88.456±131.932
CF	2.820±0.150	1.251±49.478	3.618±0.099	2.334±89.958
β	0.299±0.247	-12.843±81.413	-0.280±0.157	76.319±143.694
DD	2.891±0.164	1.209±54.132	3.529±0.103	2.376±93.948
β	0.369±0.256	-18.943±84.389	-0.370±0.160	118.049±146.471
DE	2.712±0.156	1.289±51.633	**3.825±0.115***	2.515±105.037
β	0.190±0.251	60.748±82.769	-0.074±0.169	257.049±153.819
EF	2.522±0.196	1.228±64.740	3.899±0.123	2.258±112.373
β	0	0	0	0

หมายเหตุ : * แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P ≤ 0.05

** แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P ≤ 0.01

B = 0 แสดงการไม่มีอิทธิพลร่วม

จำนวน SNPs ความถี่ allele และ genotype และสมดุล Hardy – Weinberg ของยีน MHC

เพื่อนำไปสู่ข้อสรุปที่ว่า ยีน MHC จะมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็น marker assisted selection (MAS) ให้กับไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีได้หรือไม่นั้น ในเบื้องต้นการศึกษาในเรื่องจำนวน SNPs ที่พบ รูปแบบ และความถี่ของ SNP ดังกล่าวมีความสำคัญในแง่การประเมิน polymorphism อันเป็นคุณสมบัติสำคัญประการหนึ่งของการเป็น gene marker ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ยีน MHC มีศักยภาพที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็น MAS ได้ ทั้งนี้เนื่องจากฝูงไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวที่ใช้ในการศึกษานี้ พบว่ายีน MHC มี SNP จำนวน 16 ตำแหน่ง (แสดงในตารางที่ 5) คือ C125T, A126T, C128T, A131G, G136T, C209G, C242T, A243T, C244T, C250T, A254T, A274G, A282T, C360T, A361G และ G720T โดยบางตำแหน่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่ทำก่อนหน้าที่ เช่น ตำแหน่งที่ A126T และ C128T ในงานของ Li *et al.* (2012), Liu *et al.* (2009) ซึ่งศึกษายีนดังกล่าวในประชากรไก่พื้นเมืองจีน ก็พบ SNP ตำแหน่งดังกล่าวเช่นกัน การพบ SNP ของยีนดังกล่าวในตำแหน่งที่เหมือน หรือแตกต่างกัน ในประชากรไก่สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน บ่งชี้ถึงความหลากหลาย ที่มีจุดร่วม ของพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทยและจีน

นอกจากนี้ จากตารางที่ 5 จะเห็นว่าทุกตำแหน่งมีความแตกต่างกันของความถี่allele และความถี่จีโนไทป์มาก เมื่อมีการทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium ก็พบว่าตำแหน่งจีโนไทป์ทุกตำแหน่งเบี่ยงเบนออกจากสมดุล โดยทฤษฎี การเบี่ยงเบนออกจาก Hardy-Weinberg Equilibrium นั้นมีสาเหตุมาจาก การคัดเลือก การอพยพ และการผสมพันธุ์แบบไม่สุ่ม เมื่อพิจารณาปัจจัยดังกล่าว ในประชากรไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาว ที่ใช้ในการศึกษา พบว่า ประชากรนี้ เป็นประชากรที่ไม่มีการคัดเลือก เจตนาของการรวบรวมฝูงไก่พื้นเมืองเหลืองหางขาวของกรมปศุสัตว์และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย คือเพื่อเก็บเป็นแหล่งพันธุกรรม ดังนั้นการที่ ทุกตำแหน่งมีการเบี่ยงเบนออกจาก Hardy-Weinberg Equilibrium นั้นอาจเกิดจากการคัดเลือกโดยธรรมชาติที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง และ เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไก่พื้นเมืองมีความสามารถในการต้านทานโรค และความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 9 จำนวน SNP ที่พบ ความถี่ของ SNP และ genotype และสมดุล Hardy – Weinberg ของยีน MHC จากจำนวนไก่ทั้งหมด 125 ตัว

SNPs	Allele/ Genotype	frequency	SNPs	Allele Genotype	Frequency	SNPs	Allele Genotype	frequency	SNPs	Allele Genotype	frequency
SNPs1	T	0.932	SNPs2	T	0.972	SNP3	T	0.944	SNP4	G	0.968
C125T	C	0.068	A126T	A	0.028	C128T	C	0.056	A131G	A	0.032
	TT	0.904		TT	0.968		TT	0.944		GG	0.960
	TC	0.056		TA	0.008		TC	0.000		GA	0.016
	CC	0.040		AA	0.024		CC	0.056		AA	0.024
SNPs5	G	0.952	SNP6	C	0.884	SNP7	T	0.920	SNP8	A	0.684
G136T	T	0.048	C209G	G	0.116	C242T	C	0.080	A243T	T	0.316
(n=125)	GG	0.944		CC	0.864		TT	0.880		AA	0.592
	GT	0.016		CG	0.040		TC	0.080		AT	0.184
	TT	0.040		GG	0.096		CC	0.040		TT	0.224
SNPs9	C	0.712	SNP10	C	0.536	SNP11	A	0.840	SNP12	A	0.508
C244T	T	0.288	C250T	T	0.464	A254T	T	0.160	A274G	G	0.492
(n=125)	CC	0.672		CC	0.488		AA	0.784		AA	0.496
	CT	0.080		CT	0.096		AT	0.112		AG	0.024
	TT	0.248		TT	0.416		TT	0.104		GG	0.480

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 9 จำนวน SNP ที่พบ ความถี่ของ SNP และ genotype และสมดุล Hardy – Weinberg ของยีน MHC จากจำนวนไก่ทั้งหมด 125 ตัว (ต่อ)

SNPs	Allele/ Genotype	frequency	SNPs	Allele Genotype	Frequency	SNPs	Allele Genotype	frequency	SNPs	Allele Genotype	frequency
SNPs13	A	0.940	SNP14	T	0.968	SNP15	G	0.948	SNP16	T	0.936
A282T	T	0.060	C360T	C	0.032	A361G	A	0.052	G720T	G	0.064
	AA	0.928		TT	0.952		GG	0.928		TT	0.936
	AT	0.024		TC	0.032		GA	0.040		TG	0.000
	TT	0.048		CC	0.016		AA	0.032		GG	0.064

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลการศึกษาอิทธิพลของ MHC gene ต่อลักษณะการเจริญเติบโต

การศึกษาอิทธิพลของ SNPs แต่ละตำแหน่ง ต่อลักษณะการเจริญเติบโต พบว่า SNPs ที่พบทั้ง 16 ตำแหน่งนั้น มีเพียงตำแหน่งที่ 3 (C128T), 6 (C209G), และ ตำแหน่งที่ 16 (G720T) เท่านั้นที่พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ *P<0.1* กับลักษณะน้ำหนักที่ 3, 4, 5, 6 และ7 เดือน (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE) ของน้ำหนักตัว ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือน

Genotype (n=125)		Bodyweight (month)				
		3	4	5	6	7
SNP1 (C125T)	C42C	930.69 (60.37)	1235 (76.71)	1562 (140.25)	2066 (121.90)	2534 (360.26)
	T42C	900.49 (51.01)	1251 (64.82)	1806 (118.51)	2004 (103.00)	1987 (304.40)
	T42T	917.58 (12.69)	1269 (16.13)	1861 (29.47)	2085 (25.62)	2215 (75.72)
SNP2 (A126T)	A43A	952.52 (7781)	1269 (98.67)	1997 (153.56)	2137 (157.38)	2611 (466.50)
	T43A	822.46 (135.13)	1074 (171.37)	-85.93 (266.69)	1869 (273.30)	2207 (810.18)
	T43T	917.05 (12.24)	1268 (15.52)	1858 (24.15)	2080 (24.75)	2205 (73.36)
SNP3 (C128T)	C45C	**911.52 (12.22)***	**1260 (15.54)***	1837 (29.06)	2074 (24.93)	2213 (74.21)
	T45T	1004 (50.19)	1375 (63.85)	1997 (119.35)	2183 (102.38)	2244 (304.82)
SNP4 (A131G)	A48A	924.52 (77.99)	1232 (99.10)	1868 (184.40)	2064 (157.58)	2457 (467.00)
	G48A	885 (95.39)	1235 (121.22)	1780 (225.54)	1960 (192.74)	2460 (571.20)
	G48G	917.50 (12.32)	1268 (15.65)	1846 (29.12)	2082 (24.88)	2205 (73.74)
SNP5 (G136T)	G53G	915.28 (12.40)	1265 (15.79)	1841 (29.31)	2076 (25.11)	2216 (73.46)
	G53T	911.85 (95.97)	1265 (122.20)	1846 (226.80)	2110 (194.33)	1288 (568.50)
	T53T	963.37 (60.26)	1301 (76.72)	1963 (142.40)	2150 (122.01)	1564 (356.94)
SNP6 (C209G)	C126C	925.40 (12.85)	1276 (16.35)	1871 (30.12)	2093 (26.09)	2212 (77.97)
	C126G	874.40 (60.85)	1187 (77.45)	1713 (142.68)	1951 (123.59)	2301 (369.36)
	G126G	860.83 (38.48)	1210 (48.98)	1676 (90.23)*	2014 (78.16)	2208 (233.59)
SNP7 (C242T)	C159C	898.48 (60.28)	1213 (76.53)	1793 (142.73)	1982 (121.70)	2332 (359.16)
	T159C	890.96 (42.87)	1239 (54.42)	1840 (101.50)	2037 (86.54)	1866 (255.40)
	T159T	920.37 (12.85)	1271 (16.31)	1849 (30.42)	2088 (25.94)	2241 (76.56)
SNP8 (A243T)	A160A	907.57 (15.62)	1259 (19.94)	1845 (37.10)	2079 (31.77)	2176 (93.84)
	A160T	917.61 (27.99)	1281 (35.73)	1869 (66.49)	2084 (56.94)	2189 (168.20)
	T160T	942.14 (25.50)	1272 (32.55)	1828 (60.57)	2079 (51.86)	2340 (153.21)

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE) ของน้ำหนักตัว ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือน (ต่อ)

Genotype (n=125)		Bodyweight (month)				
		3	4	5	6	7
SNP9 (C244T)	C161C	917.29 (14.77)	1266 (18.76)	1853 (34.90)	2086 (29.87)	2206 (88.00)
	C161T	915.69 (42.75)	1246 (54.30)	1855 (100.99)	2057 (86.43)	1957 (254.68)
	T161T	917.24 (24.40)	1274 (30.99)	1824 (57.64)	2071 (49.32)	2324 (145.34)
SNP10 (C250T)	C167C	914.09 (17.26)	1273 (21.89)	1828 (40.78)	2077 (34.95)	2213 (103.56)
	C167T	941.67 (38.89)	1299 (49.33)	1902 (91.89)	2113 (78.75)	2098 (233.34)
	T167T	915.08 (18.71)	1251 (23.73)	1853 (44.20)	2075 (37.88)	2245 (112.23)
SNP11 (A254T)	A171A	921.02 (13.57)	1276 (17.21)	1853 (32.05)	2088 (27.31)	2270 (81.05)
	A171T	925.56 (35.94)	1251 (45.58)	1881 (84.89)	2123 (72.33)	2000 (214.69)
	T171T	878.93 (37.27)	1212 (47.26)	1750 (88.02)	1974 (74.99)	2035 (222.61)
SNP12 (A274G)	A191A	936.51 (17.00)	1291 (21.57)	1865 (40.43)	2092 (34.69)	2308 (102.09)
	A191G	912.24 (78.06)	1303 (99.06)	1984 (185.62)	2148 (159.25)	2502 (468.70)
	G191G	897.42 (17.32)	1239 (21.98)	1819 (41.18)	2064 (35.33)	2106 (103.98)
SNP13 (A282T)	A199A	915.22 (12.46)	1259 (15.73)	1833 (29.28)	2074 (25.05)	2179 (74.16)
	A199T	1009 (77.57)	1389 (97.96)	2066 (182.29)	2344 (155.94)	2765 (461.67)
	T199T	908.30 (54.78)	1345 (69.17)	1990 (128.73)	2052 (110.11)	2633 (326.02)
SNP14 (C360T)	C277C	1015 (94.92)	1340 (120.65)	2050 (224.82)	2280 (191.87)	2740 (570.16)
	T277C	881.47 (67.39)	1182 (85.66)	1812 (159.61)	1992 (136.20)	2301 (404.79)
	T277T	916.70 (12.30)	1268 (15.64)	1843 (29.15)	2079 (24.88)	2203 (73.92)
SNP5 (A361G)	A278A	1012 (66.90)	1382 (85.09)	2055 (158.19)	2275 (135.26)	2790 (399.70)
	A278G	903.29 (59.89)	1249 (76.18)	1911 (141.61)	2110 (121.08)	2527 (357.81)
	G278G	914.46 (12.43)	1263 (15.81)	1836 (29.38)	2072 (25.12)	2182 (74.24)
SNP16 (G720T)	G637G	945.99 (47.54)	1334 (60.20)	2017 (111.43)	2243 (95.10)	2223 (285.55)
	T637T	915.18 (12.41)	1262 (15.71)	1834 (29.08)	**2069 (24.82)***	2215 (74.52)

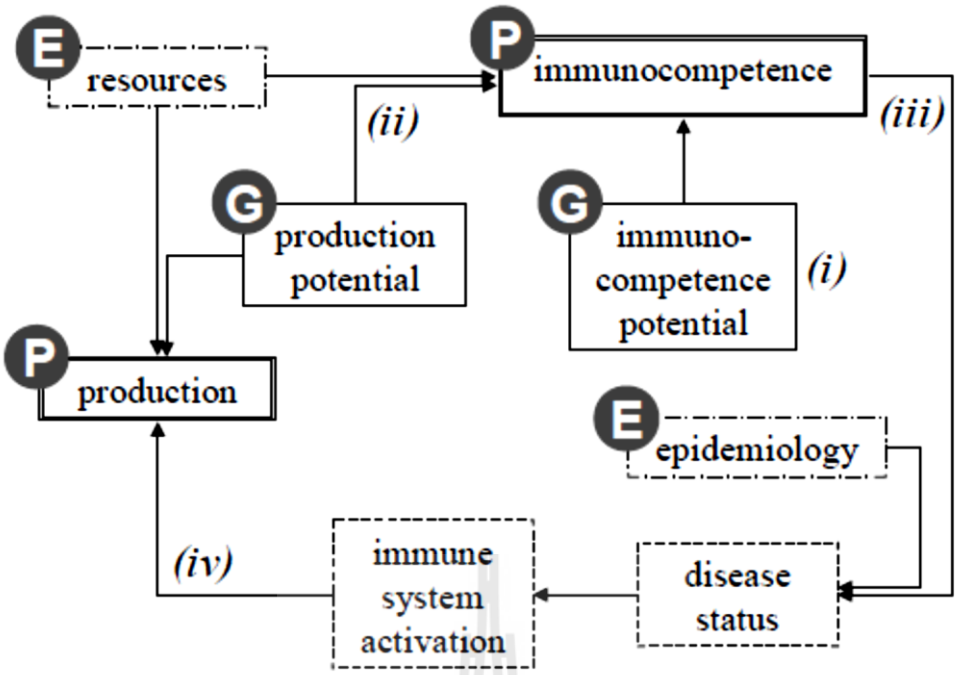
หมายเหตุ * หมายถึง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความแตกต่าง *P<0.1*

การศึกษาในครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Pinard – van der Laan (2002) โดยศึกษาถึงผลของการคัดเลือกการตอบสนองในระบบภูมิคุ้มกันต่อน้ำหนักตัว ในไก่ White Leghorn ในรุ่นที่ 4 จำนวน 200 ตัว พบว่าผลการคัดเลือกไก่จากการตอบสนองต่อการต้านทานโรคนิวคาสเซิลต่อน้ำหนักตัว ในไก่ที่อายุ 9 และ 17 สัปดาห์ คือ 1042.4±11 และ 1661.5±18.7 กรัม (*P<0.01*) ตามลำดับ และในขณะเดียวกัน ผลการศึกษาในครั้งนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Lamont (1998) ซึ่งพบว่า MHC genotype ซึ่งควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันนั้นมีผลเกี่ยวเนื่องต่อลักษณะทางการผลิต เช่น น้ำหนักตัว อัตราการผสมติด อัตราการฟัก และผลผลิตไข่ เป็นต้น ด้วย นอกจากนี้ การศึกษาของ Rauw et al. (1998) และ Twinkle

Jasmine Masilamani (2003) พบว่า การคัดเลือกให้มีลักษณะการผลิตสูง เช่น การคัดเลือกไก่ให้มีน้ำหนักตัวสูง มีผลกับความสัมพันธ์ในทางลบกับประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกัน จากที่กล่าวมาทั้งหมดเป็นงานวิจัยที่สนับสนุนผลการศึกษาในครั้งนี้ และเป็นประเด็นที่ชี้ให้เห็นว่า ยีน MHC นั้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของไก่ด้วย

อนึ่งสำหรับเหตุผลที่ยีน MHC มีผลต่อการเจริญเติบโตของไก่นั้น พบว่า Non-MHC linked resistance มีบทบาทในการควบคุมลักษณะการเจริญเติบโต เช่น Growth hormone (GH) (Kuhnlein et al., 1997) ซึ่ง GH เป็นฮอร์โมนที่สร้างมาจาก somatroph cell จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (pituitary gland) โดยฮอร์โมนนี้มีการทำงานทางกายภาพ เช่น การเจริญเติบโต, ซ่อมแซมเนื้อเยื่อของร่างกาย, การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน และระบบสืบพันธุ์ เป็นต้น ในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน พบว่า GH มีผลต่อการควบคุมระบบภูมิคุ้มกันทั้งในด้านเซลล์และสารน้ำ โดยมีการนำเสนอที่จำเพาะเจาะจงบนผิวเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน แม้ว่า GH จะไม่ได้เกี่ยวเนื่องกับการพัฒนา T-cell และเซลล์ของระบบคุ้มกันโดยปกติ แต่มันสามารถไปเพิ่มความสามารถของ T-cell และ Thymic ในช่วงที่เกิดความเครียดได้ (Welniak et al., 2002) ในไก่พบว่า GH มีผลต่อการเจริญเติบโต และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน แต่ในหน้าที่หลัก GH มีบทบาทต่อการเจริญเติบโต และการเผาผลาญอาหาร มีการแสดงออกที่เด่นชัดที่ยีน IGF-I ในไก่ที่โตเต็มที่จะไปเพิ่มการแสดงออกของ GHR mRNA (Kuhn et al., 2002) โดยหลักฐานของความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการของระบบภูมิคุ้มกันต่อระดับการผลิตในสัตว์ที่มีอิทธิพลมาจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ดังแสดงในแผนภาพที่ 1 นอกจากนี้โดยทฤษฎีแล้วพบว่า การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันสามารถเชื่อมต่อกับระบบประสาทส่วนกลาง โดยอาจกระตุ้นการพัฒนาพฤติกรรม หรือการปลดปล่อยฮอร์โมนมาจาก Hypothalamus และ Pituitary hormonesโดยการหลั่งฮอร์โมน เช่น Adrenocorticotropic hormone (ACTH) และ Thyrotropin จากเซลล์ที่เกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน มีความสำคัญ ในการเพิ่มการควบคุมการสังเคราะห์ Gluconeogenesis จาก glycogen, fatty acid และ amino acid ในการไปลดการสะสมโปรตีนในกล้ามเนื้อ และไปสนับสนุน gluconeogenesis และ การสังเคราะห์ acute-phase glycoprotein เป็นต้น (Pieter and Stephen, 2000)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการของระบบภูมิคุ้มกันต่อระดับการผลิตในสัตว์ที่มีอิทธิพลมาจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

หมายเหตุ : ยีนหลัก **(G)**, สิ่งแวดล้อม **(E)**, ลักษณะปรากฏ **(P)**, ภูมิต้านทานปกติที่มีอิทธิพลมาจากศักยภาพในการผลิต ***(ii)*** และ ภาวการณ์ต้านทานโรคในสัตว์มีอิทธิพลมาจากภูมิต้านทานปกติ ***(iii)*** กลไกความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมในทางปศุสัตว์จากกระบวนการทางศักยภาพในการพัฒนาพันธุกรรมจากภูมิคุ้มกัน ***(i)*** ต่อ ความสามารถในลักษณะทางการผลิตจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ***(iv)***

ที่มา : Pieter and Stephen (2000)

ผลการศึกษาอิทธิพลของ MHC gene ต่อลักษณะการต้านทานโรค

การศึกษาอิทธิพลของ SNPs แต่ละตำแหน่ง ต่อลักษณะการต้านทานโรค พบว่า SNPs ที่พบทั้ง 16 ตำแหน่งนั้น มีตำแหน่งที่ 3 (C128T), 5 (G136T), 6 (C209G), 10 (C250T), 11 (A254T) และ ตำแหน่งที่ 12 (A274G) ที่พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลักษณะในการต้านทานโรคที่ 3, 4, 5, 6 และ7 เดือน ตามรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 11

ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Li *et al.* (2012) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางภูมิคุ้มกัน และ MHC B-F gene ในไก่พื้นเมือง Shadong สายพันธุ์ Wenshang Barred (LH), Laiwu Black (LWH) และ Jining Bairi chicken (BR) สายพันธุ์ละ 100 ตัว พบตำแหน่ง SNPs 65 ตำแหน่ง โดย SNPs มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางภูมิคุ้มกันทั้งสามสายพันธุ์ พบว่ามีตำแหน่งที่เหมือนกับการศึกษาของ Li *et al.* (2012) คือ 126 (T, G, A) และ 128 (C, T) สรุปผลการศึกษาพบว่าลักษณะภูมิคุ้มกันต่อแอนติบอดีไตเตอร์ ต่อการต้านทานโรคนิวคาสเซิล (ND) ที่ตำแหน่ง 48, 69, 127, 149, 192, 196, 220 และ 232 ($P<0.05$) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Liu *et al.* (2009) ศึกษาความสัมพันธ์ของ SNPs ใน exon 2 ของ MHC B-F gene ต่อลักษณะการต้านทานโรคในไก่ Chinese Beijing-You และ White Leghorn จำนวน 250 ตัว ในไก่แต่ละสายพันธุ์ พบตำแหน่ง SNPs 55 ตำแหน่ง โดย SNPs ที่มีตำแหน่งที่เหมือนกับการศึกษา

ของ Liu *et al.* (2009) คือตำแหน่งที่ 126 (G,T) และ 128 (C,T) ในไก่ทั้งสองสายพันธุ์ สรุปผลจากการศึกษาของ Liu *et al.* (2009) พบ SNPs 6 ตำแหน่งที่ loci 69, 218, 220, 221, 223 และ 235 มีความสัมพันธ์กับการต้านทานโรคนิว-คาสเซิล และพบ SNPs 3 ตำแหน่งที่ loci 214, 217 และ 232 มีความสัมพันธ์กับการต้านทานต่อโรค ไข้หวัด-นก ($P<0.05$) การศึกษาของ Guo *et al.* (2012) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ MHC BLB2 gene exon 2 ในไก่พื้นเมืองพันธุ์ Hebei จำนวน 2000 ตัว (ตัวผู้ 200 ตัว และตัวเมีย 1800 ตัว) พบตำแหน่ง SNPs 69 ตำแหน่ง สรุปผลจากการศึกษาของ Guo *et al.* (2012) พบว่าในส่วนของตำแหน่งที่ 4-20, 30-37, 51-64, 84-96, 104-114, 117-129, 170-189, 224-242, 253-261 และ 263-273 เป็นส่วนที่มีความสัมพันธ์กับการทำงานในกระบวนการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน และ MHC class IIB gene ยังได้มีการศึกษาในปลา *Cynoglossus semilaevis* ต่อการต้านทานโรค *vibrio anguillarum* เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ที่มีลักษณะอาการเกิดเป็นแผลหลุมบนผิวหนัง จำนวน 200 ตัว ซึ่งเป็นการศึกษาของ Du *et al.* (2011) พบตำแหน่ง SNPs 72 ตำแหน่ง มีตำแหน่งที่เหมือนกับการศึกษาของ Du *et al.* (2011) คือตำแหน่งที่ 124-126 (GGA, AGA, GAG), 242-243 (TG, TT, GG), 250-253 (ACCA, ACGC, AGCC, GGAC, ACGG), 254-256 (TGC, TGG, GTT) แต่ก็มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมบน Exon2 ของยีน TLR4 กับลักษณะการต้านทานโรคในไก่ 15 สายพันธุ์ พบตำแหน่ง SNPs 2 ตำแหน่ง คือ G114A และ G142 A แต่พบว่า SNPs ที่พบบน TLR4 gene ไม่ได้มีความสัมพันธ์กับตำแหน่งหรือผลกระทบต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรคในไก่ (Liu et al., 2011)

จากที่กล่าวมาจะสังเกตได้ว่าตำแหน่ง SNP ที่พบความสัมพันธ์กับค่า titer ในงานต่างๆนั้นอาจมีความแตกต่างกัน ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า เมื่อพิจารณาจากตำแหน่ง SNP ที่พบในแต่ละงานก็มีความแตกต่างกัน (ดังได้กล่าวไว้ในหัวข้อเรื่อง จำนวน SNPs ความถี่ allele และ genotype และสมดุล Hardy – Weinberg ของยีน MHC class II) ซึ่งเกิดจากความแตกต่างในระดับพันธุกรรมของยีน MHC ของไก่ที่มีพันธุ์หรือสายพันธุ์ที่แตกต่างกันอันเกิดเนื่องจากกระบวนการ crossing over เกิด DNA recombination และมีผลทำให้เกิดความแตกต่างกันในระดับเบส อันเป็นสาเหตุที่ทำให้พบ SNP ในตำแหน่งที่แตกต่างกัน และทำให้พบนัยสำคัญในตำแหน่งที่แตกต่างกันด้วย

ผลการศึกษานี้เป็นการยืนยันว่ายีน MHC class II มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายของไก่ และสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาพันธุกรรมของไก่ให้มีความสามารถในการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันให้มากขึ้น อย่างไรก็ตามในกรณีของการศึกษาในครั้งนี้ มิได้มีเจตนาเพื่อนำผลการศึกษาไปใช้ในการคัดเลือกไก่พื้นเมืองให้มีความสามารถในการต้านทานโรคให้มากขึ้น เพราะไก่พื้นเมืองมีความสามารถดังกกล่าวในเกณฑ์ที่น่าพอใจอยู่แล้ว หากแต่ต้องการมุ่งเน้นว่า ในอนาคตถ้าต้องการพัฒนาพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองให้มีความสามารถในด้านการเจริญเติบโตให้มากขึ้น ให้พึงระวังว่าจะทำให้ความสามารถในด้านการต้านทานโรคลดน้อยลง หรือสูญเสียไปในที่สุด

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE) ของค่า log (10) Titer ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือน

Genotype (n=125)		Titer Log (10) (month)				
		3	4	5	6	7
SNP1 (C125T)	C42C	2.20 (0.41)	2.46 (0.22)	2.84 (0.58)	3.80 (0.17)	3.77 (0.14)
	T42C	2.26 (0.35)	2.77 (0.19)	2.70 (0.13)	3.77 (0.14)	3.72 (0.12)
	T42T	2.40 (0.09)	2.72 (0.05)	2.59 (0.03)	3.61 (0.04)	3.62 (0.03)
SNP2 (A126T)	A43A	2.58 (0.53)	2.56 (0.29)	2.90 (0.21)	3.75 (0.22)	3.77 (0.14)
	T43A	1.42 (0.92)	1.98 (0.50)	2.73 (0.36)	4.01 (0.37)	3.72 (0.12)
	T43T	2.39 (0.08)	2.72 (0.05)	2.60 (0.03)	3.62 (0.03)	3.62 (0.03)
SNP3 (C128T)	C45C	2.16 (0.34)	2.66 (0.19)	**2.72 (0.07)****	3.76 (0.14)	3.73 (0.12)
	T45T	2.40 (0.08)	2.71 (0.05)	2.74 (0.08)	3.62 (0.03)	3.62 (0.03)
SNP4 (A131G)	A48A	2.43 (0.53)	2.55 (0.29)	2.99 (0.20)	3.81 (0.22)	3.77 (0.18)
	G48A	2.43 (0.65)	2.66 (0.35)	2.50 (2.25)	3.42 (0.26)	3.42 (0.22)
	G48G	2.39 (0.08)	2.71 (0.05)	2.59 (0.03)	3.63 (0.03)	3.63 (0.03)
SNP5 (G136T)	G53G	2.37 (0.08)	2.71 (0.05)	**2.59 (0.03)***	3.63 (0.03)	3.62 (0.03)
	G53T	2.82 (0.65)	2.92 (0.35)	2.56 (0.25)	3.66 (0.27)	3.67 (0.23)
	T53T	2.61 (0.41)	2.65 (0.22)	2.96 (0.16)	3.76 (0.17)	3.72 (0.14)
SNP6 (C209G)	C126C	2.40 (0.09)	2.74 (0.05)	2.59 (0.03)	3.62 (0.04)	3.62 (0.03)
	C126G	2.53 (0.42)	2.84 (0.22)	2.77 (0.16)	3.67 (0.17)	3.65 (0.15)
	G126G	2.28 (0.26)	**2.41 (0.14)***	2.61 (0.10)	3.71 (0.11)	3.71 (0.09)
SNP7 (C242T)	C159C	2.57 (0.41)	2.69 (0.22)	2.75 (0.16)	3.78 (0.17)	3.74 (0.14)
	T159C	2.00 (0.29)	2.92 (0.15)	2.51 (0.11)	3.58 (0.12)	3.65 (0.10)
	T159T	2.41 (0.09)	2.69 (0.05)	2.60 (0.03)	3.63 (0.04)	3.62 (0.03)
SNP8 (A243T)	A160A	2.41 (0.11)	2.73 (0.06)	2.60 (0.04)	3.60 (0.04)	3.61 (0.04)
	A160T	2.24 (0.19)	2.63 (0.10)	2.58 (0.07)	3.65 (0.08)	3.65 (0.07)
	T160T	2.46 (0.17)	2.72 (0.09)	2.61 (0.07)	3.68 (0.07)	3.67 (0.06)

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (± SE) ของค่า log (10) Titer ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 3, 4, 5, 6 และ 7 เดือน (ต่อ)

Genotype (n=125)		Titer Log (10) (month)				
		3	4	5	6	7
SNP9 (C244T)	C161C	2.41 (0.10)	2.72 (0.05)	2.60 (0.04)	3.63 (0.04)	3.62 (0.04)
	C161T	2.55 (0.29)	2.76 (0.16)	2.63 (0.11)	3.76 (0.12)	3.73 (0.10)
	T161T	2.27 (0.17)	2.66 (0.09)	2.58 (0.06)	3.59 (0.07)	3.60 (0.06)
SNP10 (C250T)	C167C	2.30 (0.12)	2.12 (0.06)	**2.59 (0.05)***	3.66 (0.05)	3.66 (0.04)
	C167T	2.47 (0.26)	2.76 (0.14)	2.82 (0.10)	3.65 (0.11)	3.64 (0.09)
	T167T	2.47 (0.13)	2.68 (0.07)	2.57 (0.05)	3.59 (0.05)	3.59 (0.04)
SNP11 (A254T)	A171A	2.34 (0.09)	2.72 (0.05)	2.61 (0.04)	3.60 (0.04)	3.60 (0.03)
	A171T	2.73 (0.24)	2.80 (0.13)	2.61 (0.10)	3.66 (0.10)	3.65 (0.08)
	T171T	2.35 (0.25)	2.50 (0.14)	2.56 (0.10)	**3.84 (0.10)***	**3.80 (0.08)***
SNP12 (A274G)	A191A	2.29 (0.12)	**2.70 (0.06)*****	2.63 (0.05)	3.61 (0.05)	3.61 (0.04)
	A191G	2.94 (0.53)	1.53 (0.27)	2.56 (0.21)	3.62 (0.22)	3.67 (0.19)
	G191G	2.47 (0.12)	2.77 (0.06)	2.58 (0.05)	3.65 (0.05)	3.64 (0.04)
SNP13 (A282T)	A199A	2.40 (0.09)	2.72 (0.05)	2.60 (0.03)	3.62 (0.03)	3.62 (0.03)
	A199T	2.41 (0.53)	2.12 (0.28)	2.44 (0.21)	3.87 (0.22)	3.83 (0.18)
	T199T	2.52 (0.37)	2.73 (0.20)	2.70 (0.15)	3.75 (0.15)	3.72 (0.13)
SNP14 (T360C)	C277C	2.39 (0.65)	2.94 (0.35)	2.67 (0.25)	3.70 (0.26)	3.65 (0.23)
	T277C	2.40 (0.46)	2.78 (0.25)	2.80 (0.18)	3.76 (0.19)	3.72 (0.16)
	T277T	2.39 (0.08)	2.70 (0.05)	2.60 (0.03)	3.63 (0.03)	3.62 (0.03)
SNP15 (A361G)	A278A	2.33 (0.46)	2.83 (0.25)	2.52 (0.18)	3.62 (0.19)	3.59 (0.16)
	A278G	2.24 (0.41)	2.78 (0.22)	2.80 (0.59)	3.76 (0.17)	3.72 (0.14)
	G278G	2.40 (0.09)	2.70 (0.05)	2.60 (0.03)	3.63 (0.04)	3.62 (0.03)
SNP16 (G720T)	G637G	2.17 (0.32)	2.62 (0.18)	2.61 (0.13)	3.74 (0.13)	3.74 (0.11)
	T637T	2.40 (0.08)	2.71 (0.05)	2.60 (0.03)	3.62 (0.03)	3.62 (0.03)

หมายเหตุ * หมายถึง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความแตกต่าง *P<0.1*

** หมายถึง มีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความแตกต่าง *P<0.05*

*** หมายถึง มีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความแตกต่าง *P<0.0*

บทที่ 4
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาที่ได้กล่าวมา microsatellite LEI0258 และ MHC gene class II มีผลต่อลักษณะการต้านทานโรคและน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาว จึงคาดว่ามีความสามารถในการนำยีนดังกล่าวมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่ช่วยในการคัดเลือกในประชากรไก่พื้นเมือง ดังนั้นในการศึกษาหรือพัฒนาเครื่องมือช่วยในการคัดเลือกทางพันธุกรรมในการต้านทานโรค เพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ลดค่าใช้จ่ายจากการใช้วัคซีนและลดการตกค้างของยาในผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปต่างๆ และยังทำให้ไก่มีความสามารถในการต้านทานโรคได้ดียิ่งขึ้น สิ่งที่คาดหวังในอนาคตคือ ได้มีการศึกษาเพิ่มเติมในไก่หลายๆ สายพันธุ์ในประเทศไทย เช่นไก่สายพันธุ์การค้าหรือไก่ลูกผสมพื้นเมือง เพื่อให้มีประโยชน์สูงสุดในการใช้ microsatellite และ SNPs เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกไก่ในลักษณะของการต้านทานโรคกับลักษณะทางการผลิต

การประยุกต์ประโยชน์จากงานวิจัย

ในการศึกษาเรื่องนี้นักวิจัยมีความคาดหวังว่า กรณีที่พบความสัมพันธ์ระหว่าง microsatellite LEI0258 และ ยีน MHC class II กับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและการต้านทานโรค จะใช้ genotype ของยีนนี้ในการร่วมประเมินค่าทางพันธุกรรม เพื่อใช้ในการคัดเลือกไก่พื้นเมือง ทั้งนี้มีแผนการใช้ประโยชน์คือ มุ่งที่การประเมินพันธุ์ไก่พื้นเมืองให้มีความสามารถในลักษณะที่กล่าวมาข้างต้นที่ดี และเป็นกลไกหนึ่งที่จะทำให้ไก่พื้นเมืองของประเทศมีลักษณะเหล่านี้ดีขึ้น อันเป็นการช่วย และพัฒนาอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ในประเทศให้ดีขึ้นได้ในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารอ้างอิง

Abbas, A. K., Lichtman A. H. and Pober, J. S. (2000). Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: WB Saunders.

Boonyanuwat K., Thummabutra S., Sookmanee N., Vatchavalkhu V., Siripholvat V. and Mitsuhashi T. 2006. Influences of MHC Class II haplotypes on Avian influenza traits in Thai indigenous chicken. Journal of Poultry Science, 43: 120-125

Chen Y., Lillehoj H.S., Hsu C.-H., Carpenter S.L. and Lamont S.J. (1997). - Functional characterization of a chicken major histocompatibility complex class II |3 gene promoter. Immunogenetics, 45, 242-248.

Du M., Chen S., Liu Y. and Yang J. 2011. MHC polymorphism and disease resistance to vibrio anguillarum in 8 families of half-smooth tongue sole (Cynoglossus semilaevis). BMC Genetics 12:78.

Fariba Izadi Shavakand. 2011. A molecular genetic survey of immune response genes and biodiversity of industrial and non-industrial chicken. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of doctor of Philosophy in the faculty of Graduate studies (Animal Science). The University of British Columbia.

Gholamreza N., Atefeh E. and Neda B. 2013. LEI0258 Microsatellite Variability in Khorasan, Marandi, and Arian Chickens. Biochem Genet , 51:341–349

Guo X. L., Zheng H., Li X., Ying L., Gu Z., Zheng C., Wei Z., Wang J., Zhou R. and Li L. 2012. Genetic variation of major histocompatibility complex BLB2 gene exon 2 in Hebei domestic chicken. Veterinary Science 92: 76–79.

Hala K., Boyd R. and Wick G. 1981. Chicken Major Histocompatibility Complex and Disease. J. Immunol. 14: 607-61.

Haeri M., Read L. R., Wikie B. N. and Sharif S. 2005. Identification of peptides associated with chicken major histocompatibility complex class II molecules of B21 and B19 haplotypes. Immunogenetics 56, 854–859.

Juul-Madsen H. R., Dalgaard T. S., Røntved C. M., Jensen K. H., and Bumstead N. 2006. Immune Response to a killed Infectious Bursal Disease Virus Vaccine in Inbred Chicken Lines with different Major Histocompatibility Complex Haplotypes. Poultry Science 85:986–998.

Kuhn, E. R., Vleurick, L., Edery, M., Decuypere, E. and Darras, V. M. 2002. Internalisation of the chicken growth hormone receptor complex and its effect on biological functions. Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry and molecular biology, 132: 299-308.

Kuhnlein, U., Ni, L., Weigend, S., Gavora, J. S., Fairfull, R. W. and Zadwomy, D. 1997. DNA polymorphisms in the chicken growth hormone gene: Response to selection for

disease resistance and association with egg production. Animal Genetics. 28: 1161-1167.

Lakshmanan N., Gavora J.S. and Lamont S.J. 1997. Major histocompatibility complex class II DNA polymorphisms in chicken strains selected for Marek's disease resistance and egg production or for egg production alone. Poult. Sci. 76:1517-1523

Lamont S. J. 1989. The chicken Major Histocompatibility Complex in disease resistance and poultry breeding. J. Dairy Sci. 72: 1328-1333.

Lamont S. J. 1998. The chicken major histocompatibility complex and disease. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.17 (1), 128-142

Li L, Johnson LW and Ewald SJ. Molecular characterization of major histocompatibility complex (B) haplotypes in broiler chicken. 1997. Animal Genetics. 28: 258-267.

Li F. W., LU Y., Lei Q. X., Zhou Y.,Han H. X., Li G. M., Wu B., Cao D. G. and Wang S. B. 2012.Association between Immune Trait and MHC B-F Gene in Shandong Indigenous Chickens. Journal of Animal and Veterinary Advances 11 (19): 3481-5593.

Liu Y., Guo B. C., Guo Shun H., Qin L., Qi X. and Guo H. C. 2011. Genetic variation at Exon2 of TLR4 gene and its association with resistant traits in chicken. African Journal of Biotechnology Vol. 10(42): 8260-8266

Liu L. B., Wu C. M., Wen J., Chen J. L., Zheng M. Q. and Zhao G. P., 2009. Association of SNPs in exon 2 of the MHC B-F gene with immune traits in two distinct chicken populations: Chinese Beijing-You and White Leghorn. Acta Agriculturae Scand Section A, 2009; 59: 4-11.

Livant EJ, Zheng D, Johnson LW, Shi W, Ewald SJ. 2001. Three new MHC haplotypes in broiler breeder chickens. Animal Genetics **32,** 123–131.

Lwelamira J., Kifaro G. C., Gwakisa P. S. and Msoffe P. L. M. 2008. Association of LEI0258 microsatellite alleles with antibody response against newcastle disease virus vaccine and body weight in two Tanzania chicken ecotypes. African Journal of Biotechnology Vol. 7 (6), pp. 714-720.

Pieter W. K. and Stephen C. B. 2000. Relationships between genetic change and infectious disease in domestic livestock. BSAS occasional publication. birdflubook.com.

Pinard-van der Laan. 2002. Immune modulation: the genetic approach. Veterinary Immunology and Immunopathology 87: 199-205.

Pink J.R.L., Droege W., Hala K., Miggiano V.C. & Ziegler A. 1977. A three-locus model for the chicken major

histocompatibility complex. *Immunogenetics,* 5, 203-216.

Qian-Fu Gan, Lu-Pei Zhang, Jun-Ya Li, Guan-Yu Hou, Heng-De Li, xue Gao, Hong-Yan Ren, Jin-Bao Chen and Shang-Zhong xu . 2008. Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle, J Appl Genet. 49: 251-255.

Rauw, W.M., Kanis, E., Noordhuizen-Stassen, E.N. and Grommers, F.J. 1998. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livestock Production Science* 56:15-33.

Rifu X., Kui L., Guohong C., Hui X., Bayangzong Q., Changchun L. and Bang L. 2007. Characterization of Genetic Polymorphism of Novel MHC B-LB II Alleles in Chinese Indigenous Chickens. Journal of Genetics and Genomics 34(2): 109-118.

Twinkle Jasmine Masilamani. 2003. IDENTIFICATION OF GENETIC MARKERS ASSOCIATED WITH MAREK'S DISEASE RESISTANCE IN CHICKENS. A thesis submitted to McGill University in partial fulfillment of the requirements of the degree of Master of Science. Department of Animal Science McGill University Montreal Canada.

Weigend S., Matthes S., Solkner J. and Lamont, S. J. 2001. Resistance to Marek's disease virus in white leghorn chickens: effects of avian leukosis virus infection genotype, reciprocal mating and major histocompatibility complex. Poultry Science, 80: 1064-1072.

Welniak L. A., Sun R. and Murphy W. J. 2002. The role of growth hormone in T-cell development and reconstitution. Journal of Leukocyte Biology, 71; 381-387.

Weigend S. and Lamont S. J. 1999. Analysis of MHC Class II and Class IV Restriction Fragment Length Polymorphism in Chicken Lines Divergently Selected for Multitrait Immune Response. Poultry Science 78:973–982

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัตินักวิจัย

1. **ชื่อ – นามสกุล** **(ภาษาไทย)** นางอมรรัตน์ โมพี
   (ภาษาอังกฤษ) Ms.Amonrat Molee
2. **คุณสมบัติทางวิชาการ มีรายละเอียดดังนี้**
   1. **ประเภทงาน** เป็นอาจารย์มหาวิทยาลัย
   2. **ตำแหน่ง** อาจารย์
3. **หน่วยงานและที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวกพร้อมหมายเลขโทรศัพท์, โทรสาร, มือถือ และ e-mail**

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
โทรศัพท์ 0897446440 e-mail amonrat2369@yahoo.com

4. **ประวัติการศึกษา**

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สัตวศาสตร์)	2533	มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สัตวศาสตร์)	2538	มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย
ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปรับปรุงพันธุ์สัตว์)	2548	มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย

5. **สาขาวิชาการที่ชำนาญที่สุด (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ (ถ้ามี)**
   ด้านการปรับปรุงพันธุ์ ทั้งด้าน conventional และ Molecular breeding และการจัดการฐานข้อมูล
6. **ผลงานวิจัย**
   1. **ผลงานที่ตีพิมพ์ โปรดเขียนแยกเป็นรายหัวข้อ**

ผลงานตีพิมพ์วารสารภายในประเทศและนานาชาติ

อมรรัตน์ โมพี, และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2549. ผลตอบสนองการคัดเลือกเมื่อใช้โมเดลที่มี อิทธิพลของยีนหลักโดยการจำลองข้อมูลในโคนม. วารสารแก่นเกษตร.4(33).

Molee A., B. Bundasak, P. Kuadantiat, and P. Mernkrathoke. 2011. Suitable Precentage of Holstein in Crossbred Dairy Cattle in Climate Change Situation. Journal of Animal and Veterinary Advances. 10(7): 828 – 831.

Molee A., L. Boonek, and N. Rungsakinnin. 2011. The effect of beta and kappa casein genes on milk yield and milk composition in different percentages of Holstein in crossbred dairy cattle. Anim. Sci. J. 82:512 – 516.

Molee A., N. Duanghaklang, and P. Na-Lampang. 2012. Effects of Acyl-CoA:diacylglycerol acyl transferase 1 (DGAT1) gene on milk production traits in crossbred Holstein dairy cattle. Trop. Anim. Health Prod. 44:751 - 755.

ผลงานตีพิมพ์ในรายงานการประชุมและนานาชาติ

อมรรัตน์ โมฬี, มนต์ชัย ดวงจินดา, วิโรจน์ ภัทรจินดา, สุภร กตเวทิน, จิรวัฒน์ สนิทชน, กนก ผลารักษ์, และ พงษ์ชาญ ณ ลำปาง. 2547. การตรวจหา quantitative trait loci ต่อลักษณะปริมาณน้ำนมบนโครโมโซมคู่ที่ 3 ในประชากรโคนมลูกผสม. งานประชุมประจำปีเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 16. มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.

อมรรัตน์ โมฬี, และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2548. ผลตอบสนองการคัดเลือกเมื่อใช้โมเดลที่มีอิทธิพลของยีนหลักโดยการจำลองข้อมูลในโคนม. งานประชุมสัมมนา วิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 1. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อมรรัตน์ โมฬี, และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2549. ขนาดประชากรที่เหมาะสมในการ วิเคราะห์หายีนควบคุมลักษณะเชิงปริมาณน้ำนมในโคนโดยการจำลองข้อมูล.งานประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 1. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นพนันต์ รังสะกินนิน, เลอชาติ บุญเอก และ **อมรรัตน์ โมฬี**. 2552. รูปแบบยีนเบต้าและแคปป้าเคซีนในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีระดับสายเลือดแตกต่างกัน. การประชุมวิชาการครั้งที่ 5, ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บดินทร์ วงศ์พรหม, วาณี ชัยวัฒนสิน, **อมรรัตน์ โมฬี**. 2553. การศึกษา single nucleotide polymorphism ของยีนไทโรโกบูลินในโคเนื้อลูกผสม. ประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 11 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

กนก เชาวภาษี อมรรัตน์ โมฬี และ วาณี ชัยวัฒนสิน. 2551. การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมและคุณค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะทางเศรษฐกิจบางลักษณะในโคกำแพงแสน. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Molee A., M. Duangjinda, V. Pattarajinda, S. Katawatin, J. Sanitchon, K Phalaraksh, and P. Na-Lampang. 2005. Detection of putative quantitative trait loci affecting milk yield on chromosome 3 in Thai crossbred Holstein. Annaul conference for 2nd graduate agriculture biotechnology, Juraporn research centre. Bangkok. (Poster)

Molee A., N. Rungsakinnin, and L. Boonek. 2010. Beta and Kappa Casein Gene's Effect on binary data of Milk Composition in Crossbred Holstein in Thailand. 14th Asian-Australasian Association of Animal Production Societies (AAAP), Pingtung, Taiwan, ROC.

Molee A., N. Duanghaklang, and P. Mernkrathoke.2011. Interaction Effect of DGAT1 and Composite Genotype of Beta-Kappa Casein On Economic Milk Production Traits in Crossbred Holstein. World Academy of Science, Engineering and Technology 80. Paris, France.

บทความทางวิชาการ

อมรรัตน์ โมฬี, และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2549. ยีนเครื่องหมายที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์. วารสารสัตวบาล.16(77).

มนวิไล เสรีบุตร, และ อมรรัตน์ โมฬี. 2551. การใช้ยีน MC4R และยีน IGF2 เป็นเครื่องทางพันธุศาสตร์เพื่อช่วยในการคัดเลือกสุกร. วารสารสัตวบาล. 18(82)

7. บทบาทความรับผิดชอบในโครงการ เช่น เป็นหัวหน้าโครงการ/ นักวิจัยหลักในโครงการ / นักวิจัยที่สนับสนุนเพียงบางกิจกรรม

7.1 ***โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น*** โครงการการสำรวจเพื่อศึกษาสถานภาพการเลี้ยงกวางในประเทศไทย
หน้าที่รับผิดชอบ ผู้วิจัยและเลขานุการโครงการ
แหล่งให้ทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

7.2 ***โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น*** การศึกษาความสัมพันธ์ของยีนไทโรโกลบูลินต่อลักษณะคุณภาพเนื้อของโคกำแพงแสน
หน้าที่รับผิดชอบ ผู้ร่วมวิจัย
แหล่งให้ทุน สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7.3 ***โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น*** ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนเคซีนกับระดับสายเลือดโฮลสไตล์ในโคนมลูกผสม
หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย
แหล่งให้ทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

7.4 ***โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น*** รูปแบบของยีน Luteinizing Hormone Receptor ต่อลักษณะความ สมบูรณ์พันธุ์ในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ลูกผสม
หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย
แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.5 ***โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น*** การสร้างสายพันธุ์ “ไก่เนื้อโคราช” เพื่อการผลิตเป็นอาชีพวิสาหกิจชุมชน **(ระยะที่ 1)**
หน้าที่รับผิดชอบ ผู้ร่วมวิจัย
แหล่งให้ทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

7.6 ***โครงการวิจัยที่เสร็จสิ้น*** ยีน Insulin – like growth factor I, II เพื่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่พื้นเมืองไทย
หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย
แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.7 *โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ* การใช้รูปแบบยีนที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตน้ำนมและความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์เป็นปัจจัยในการประมาณค่าการผสมพันธุ์

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.8 *โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ* ความสัมพันธ์ของอิทธิพลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การต้านทานโรค และคุณภาพเนื้อในไก่พื้นเมือง

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.9 *โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ* การเปรียบเทียบรูปแบบยีนที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตไข่ในไก่ไข่สายพันธุ์การค้าและไก่พื้นเมือง

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการวิจัย

แหล่งให้ทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.10 *โครงการวิจัยที่อยู่ระหว่างการดำเนินการ* การสร้างสายพันธุ์ “ไก่เนื้อโคราช” เพื่อการผลิตเป็นอาชีพวิสาหกิจชุมชน **(ระยะที่ 2)**

หน้าที่รับผิดชอบ หัวหน้าโครงการ

แหล่งให้ทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้ร่วมงานวิจัย

1. ชื่อ(ภาษาไทย) นายบัญชร นามสกุล ลิขิตเดชาโรจน์
   (ภาษาอังกฤษ) Mr. Banchorn Likitdecharote
2. **เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน** 3 1002 00496 54 2
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail
   สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
   สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
   มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
   111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี
   อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000
   โทรศัพท์ 044-224378 โทรสาร 044-224150
   E-mail: Banchorn@sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

วุฒิการศึกษา	**ปีที่สำเร็จการศึกษา**	**สถาบัน**
วิทยาศาสตร์บัณฑิต(สัตวศาสตร์)	พ.ศ. 2523	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
สัตวแพทยศาสตร์บัณฑิต	พ.ศ. 2525	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Dr. med. vet.	พ.ศ. 2530	Tierarztliche Hochschule, Hannover, Germany

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   จุลชีววิทยาทางสัตวแพทย์ (Veterinary Microbiology)
   ภูมิคุ้มกันวิทยาทางสัตวแพทย์(Veterinary Immunology)
   แบคทีเรียวิทยา(Bacteriology)
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ : ระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอโครงการวิจัย เป็นต้น
   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย -
   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

      1. การเตรียมแอนติเจน มัยโคพลาสม่า แกลลิเซพติคกุ้ม สำหรับการตรวจโรคโดยวิธีฮีมแอกกลูติเนชั่น-อินฮิบิชั่น
      2. รายงานการระบาดของโรคซัลโมเนลล่า ที่จังหวัดอุดรธานี เนื่องจาการบริโภคเนื้อกระบือป่วย
      3. มัยโคพลาสมาในสุกร และการชันสูตรโรค

   7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อแผนงานวิจัย และ/หรือ โครงการวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และสถานภาพในการทำวิจัย

   - โรคมาแร็กซ์มในไก่พื้นเมือง(2526)
     นิยมศักดิ์ อุปทุม, สมใจ ศรีหาดิม, บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์, ปิยะวรรณ ทัศนศร, วิมลพล

ฐิติศักดิ์, รื่นฤดี บุณยะโหตระ. วารสารสัตวแพทย์ ปีที่ 4 ฉบับที่ 2 ,หน้า 92-102.

- โรคหลอดลมอักเสบติดต่อในไก่กระทงซึ่งพบวิการที่ไต(2526) นิยมศักดิ์ อุปทุม, วิมลพร จระวัฒนพงศ์, วิมล จิระธนะวัฒน์, รื่นฤดี บุณยะโหตระ, สมใจ ศรีหาคิม, บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์, นิมิต ลีสิริกุล, พรทิพย์ ศิริวรรณ. เวชชสารสัตว แพทย์ ปีที่ 13 ฉบับที่ 1, หน้า 36-43.

- Bovine Meliolodosis : A case Report.(2527) NiyomsaK Upatoom, Wimolporn Thitisak, Nimit Leesirikul, Banchorn Likitdecharote. เวชชสารสัตวแพทย์ ปีที่14 ฉบับที่ 1, หน้า 65-69.

- รายงานการระบาดของโรคซิลโมเนลล่าที่จังหวัดอุดรธานีเนื่องจาการบริโภคเนื้อกระบือป่วย(2527) บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์, เกษม จงเสถียร, นิมิต ลีสิริกุล, วิมลพร ฐิติศักดิ์, สมใจ ศรีหาคิม เวชชสารสัตวแพทย์ ปีที่ 14 ฉบับที่ 4, หน้า 321-334.

- การเตรียมแอนติเจนมัยโคพลาสม่า แกลลิเซพติกุ้ม สำหรับการตรวจโรคโดยวิธี ฮีมแอกกลูติเนชั่น-อินฮิบิชั่น(2528) บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์, รัชนี อัตถิ ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตว แพทย์สมาคม ครั้งที่ 12.

- Mykoplasmen als Erreger von Arthritiden bei Schweinen.(1998) Binder A., B. Likitdecharote, H. Kirchhoff Der Praktische Tierarzt 8, หน้า 12-14.

- มัยโคพลาสมาในสุกร และการชันสูตรโรค(2533) ทบัญชร ลิขิตเดชาโรจน์ ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตวแพทย์สมาคม ครั้งที่ 17.

- การควบคุมเพื่อกำจัดโรคออเจสกี้ในฟาร์มสุกรและผลทางซีรั่มวิทยา(2537) บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์, วิวัฒน์ ชวนะนิกุล, สมศักดิ์ ศรีหิรัญพิลลภ ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์สมาคม ครั้งที่ 21, โรงแรมดิเอมมอร์ล กรุงเทพ ฯ, หน้า 188-194.

- การเตรียมโอ-โพลีซัคคาไรด์แอนติเจนเชื้อบรูเซลลา อะบอร์ตัส เพื่อใช้ตรวจแยกโคที่ติด เชื้อโดยธรรมชาติ และโคที่ได้รับการฉีดวัคซีน(2537) สุดารัตน์ ฉายโฉมเลิศ, บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์, วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา, สุนีจิต คงทน สัตวแพทย์สาร ปีที่ 45 เล่มที่ 1, หน้า 51-58.

7.4 ปัจจุบันกำลังดำเนินการวิจัย

การสร้างสายพันธุ์ “ไก่เนื้อโคราช” เพื่อการผลิตเป็นอาชีพวิสาหกิจชุมชน **(ระยะที่ 2)**

ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นายธีระชัย ช่อไม้
(ภาษาอังกฤษ) Mr.THEERACHAI CHORMAI
2. หมายเลขประจำตัวประชาชน 3-1014-00087-67-1
3. ตำแหน่ง นักวิชาการสัตวบาล 8 ว.
4. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญาตรี โท เอก	อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม	สาขาวิชา	วิชาเอก	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2525	ปริญญาตรี	วท.บ.วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สัตวศาสตร์	-	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย
2540	ปริญญาโท	วท.ม.วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	การปรับปรุงพันธุ์สัตว์	-	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย

5. สาขาที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา
การปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อ และสัตว์ปีก
6.ประวัติการทำงาน

ปี	ตำแหน่ง	หน่วยงาน
2526-2541	นักวิชาการสัตวบาล	สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์ปราจีนบุรี
2542-2545	นักวิชาการสัตวบาล	สถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์สระแก้ว
2546-ปัจจุบัน	นักวิชาการสัตวบาล	ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7.ประสบการณ์ที่สำเร็จแล้ว: ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์ และสถานภาพการทำงานวิจัย เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัย

ชื่อ	ปีที่เผยแพร่	สถานภาพในการวิจัย
1. ดัชนีคัดเลือกโครุ่นพันธุ์บราห์มัน	2539	หัวหน้าโครงการวิจัย
2. สถานภาพงานวิจัยโคเนื้อในประเทศไทย.	2539	หัวหน้าโครงการวิจัย
3. ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุศาสตร์ของโคบราห์มัน	2540	หัวหน้าโครงการวิจัย
4. สถานภาพการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในหมู่บ้านรอบสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สระแก้ว	2541	หัวหน้าโครงการวิจัย
5. สมรรถภาพการเจริญเติบโตและลักษณะซากของโคป่าลูกผสม พ่อวัวกระทิงและวัวแดงกับแม่โค บราห์มันและเรดซินดี	2544	หัวหน้าโครงการวิจัย
6. ผลของการใช้มันสำปะหลังต่อผลผลิตของไก่พื้นเมือง ช่วงอายุ 0-16 สัปดาห์	2544	หัวหน้าโครงการวิจัย
7. สมรรถภาพการเจริญเติบโต และลักษณะซากของโคป่าลูกผสม พ่อวัวกระทิง และวัวแดง กับแม่พันธุ์บราห์มันและเรดซินดี	2544	หัวหน้าโครงการวิจัย
8. อัตราพันธุกรรมของลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจของโคกบินทร์บุรีระยะแรกเกิดถึงอายุ 1 ปี	2545	หัวหน้าโครงการวิจัย
9. สมการทำนายน้ำหนักตัวโคกบินทร์บุรีชั่วอายุที่ 1	2545	ผู้ร่วมโครงการวิจัย
10. สมรรถภาพการเจริญเติบโตของเป็ดบาร์บารี่ 2 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงด้วยสำปะหลังระดับต่างๆ	2545	ผู้ร่วมโครงการวิจัย
11. การเปรียบเทียบสมรรถภาพการขุน และลักษณะซากระหว่างโคลูกผสมทาเรนเทส-บราห์มันและโคลูกผสมซิมเมนทอล-บราห์มัน	2546	หัวหน้าโครงการวิจัย
12. การเลี้ยงโคกบินทร์บุรีโดยใช้พื้นที่แปลงหญ้าแบบจำกัด	2546	หัวหน้าโครงการวิจัย
13. การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว	2548	หัวหน้าโครงการวิจัย
14. สมรรภาพการผลิตไก่พื้นเมืองที่ระดับโปรตีนในอาหารต่างๆกัน	2548	ผู้ร่วมโครงการวิจัย
15. การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองจำนวน 4 พันธุ์	2549	ผู้ร่วมโครงการวิจัย
16. ประสิทธิภาพการใช้กล่องรักษาอุณหภูมิเป็นภาชนะขนส่งน้ำเชื้อแช่เย็น สำหรับผสมเทียมไก่พื้นเมืองในภาคสนาม	2549	ผู้ร่วมโครงการวิจัย
17. การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว สมรรถภาพการผลิตและค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะน้ำหนักตัวของไก่	2550	หัวหน้าโครงการวิจัย
18. สมรรถภาพการเจริญเติบโตของโคกบินทร์บุรีเพศผู้ในระยะทดสอบ	2550	ผู้ร่วมโครงการวิจัย
19. สมรรรถภาพการผลิตของไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ, พันธุ์เหลืองหางขาว, พันธุ์แดง และพันธุ์ชี.	2550	ผู้ร่วมโครงการวิจัย

8. ผลงานวิจัยเผยแพร่

อาทิตย์ ใหญ่ลา, เนรมิต สุขมณี, ธีระชัย ช่อไม้ และวรวิทย์ สิริพลวัฒน์. 2551. การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของสีแข้งในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์เหลืองหางขาว. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 46. กรุงเทพฯ. น. 107-114.

อาทิตย์ ใหญ่ลา, เนรมิต สุขมณี, ธีระชัย ช่อไม้ และวรวิทย์ สิริพลวัฒน์. 2551. การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของสีขนในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์เหลืองหางขาว. วารวารวิทยาศาสตร์เกษตร. กรุงเทพฯ.

ปัจจุบันกำลังดำเนินการวิจัย

1. โครงการย่อยที่ 4. การเลี้ยงโคกบินทร์บุรีของกรมปศุสัตว์ภายใต้การเลี้ยงของเกษตรกร
   4.1 สมรรถภาพการผลิตโคกบินทร์บุรีในสภาพฟาร์มเกษตรกรเครือข่าย (2550-2554) (เลขทะเบียนวิจัย (50)(1)-(50:4.1)-0206-006)
   4.2 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจและสังคม ของการผลิตโคกบินทร์บุรีของเกษตรกรฟาร์มเครือข่าย (2550-2554)
2. โครงการทดสอบสมรรถภาพโคเนื้อกรมปศุสัตว์และเกษตรกรฟาร์มเครือข่าย (51(1)- 0206-003)
   2.1 การทดสอบสมรรถภาพโคพันธุ์กบินทร์บุรีของกรมปศุสัตว์และเกษตรกรฟาร์มเครือข่าย (เลขทะเบียนวิจัย 51(1)-(51.3)- 0206-003)
   2.2 การสร้างสายพันธุ์ไก่เนื้อโคราชเพื่อเป็นอาชีพวิสาหกิจชุมชน ระยะที่ 2 (2555 – 2558)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี