

ศัญญาภัทร์ กองร้อย : ความสัมพันธ์ของค่าโลหิตวิทยาและรูปแบบยีน Major Histocompatibility Complex (MHC) กับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์เหลืองหางขาว (THE RELATIONSHIP OF HEMATOLOGICAL VALUES AND MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX GENE PATTERNS WITH NEWCASTLE DISEASE ANTIBODY IN THAI INDIGENOUS CHICKEN : LEUNG HANG KHOW) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายสัตวแพทย์ ดร. บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์, 84 หน้า.

การเลี้ยงไก่พื้นเมืองไทยทั่วไปยังพบว่ามักจะประสบปัญหาโรคนิวคาสเซิลถึงแม้ว่าจะมีการใช้วัคซีนป้องกันเนื่องจากไก่แต่ละตัวจะมีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคแตกต่างกันจึงทำการศึกษาความสัมพันธ์ของค่าโลหิตวิทยาและรูปแบบยีน Major Histocompatibility complex (MHC) กับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์เหลืองหางขาว เพื่อเป็นแนวทางการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยให้ต้านทานโรคนิวคาสเซิลดีขึ้น ได้ทำการศึกษาหาค่าทางลักษณะทางโลหิตวิทยาในไก่พื้นเมืองไทยเฉพาะจำนวน 153 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดและซีรัมของไก่ที่อายุ 4 และ 7 เดือน นำมาตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยาได้ค่าเฉลี่ยพื้นฐานดังนี้ ปริมาณเม็ดเลือดแดง $1.4-4.2 \times 10^6$ cells/ml ปริมาณเม็ดเลือดขาว $5.8-37.9 \times 10^3$ cells/ml ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น 21.0-51.8 %ml/dL ปริมาณฮีโมโกลบิน 7.4-18.8 %g/dL ปริมาตรเม็ดเลือดแดงเฉลี่ย 110.2-146.5 fl ปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดเฉลี่ย 33.0-59.1 pg และความเข้มข้นฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดเฉลี่ย 29.9-43.0 %g/dL และตรวจพบว่าค่า titer มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับค่าโลหิตวิทยา ในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 4 เดือน จะมีค่า titer ในไก่กลุ่มที่มีภูมิคุ้มกัน ต่ำ กลาง และ สูง (63.15 ± 23.47 421.77 ± 28.04 และ 1525 ± 131.92 ตามลำดับ) มีความสัมพันธ์กับจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte (71.00 ± 2.46 69.79 ± 0.81 และ 67.72 ± 1.29 เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว ตามลำดับ) ไปในทางลบ แต่ความสัมพันธ์ของค่า titer ที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด heterophil (25.17 ± 2.34 27.76 ± 0.86 และ 29.41 ± 1.05 เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ ดังนั้นจำนวน lymphocyte และ heterophils มีความสัมพันธ์กับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิล คือ ไก่ในกลุ่มที่มี titer สูงจะมีความสัมพันธ์ทางลบกับปริมาณ lymphocytes แต่จะมีความสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณ heterophil

ศึกษาถึงอิทธิพลของยีน MHC class II และ microsatellite ในตำแหน่งที่ 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 ตามลำดับ ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาคือ น้ำหนักตัวและค่า titer ของไก่ที่อายุ 4 และ 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 ส่วนผลการศึกษาความสัมพันธ์ของยีนกับการเจริญเติบโตและค่า titer พบว่า genotype BD DE และ CD มีความสัมพันธ์กับค่า titer ต่อการต้านทานโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่อายุ 7 เดือน ส่วนยีน MHC พบความสัมพันธ์ของ SNP ตำแหน่งที่ 3 (C128T) กับน้ำหนักตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความสัมพันธ์ของตำแหน่ง SNPs กับลักษณะของระดับ titer พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ตำแหน่งที่ 6 (C209G) 11 (A254T) และ 12 (A274G) ผลการศึกษารูปได้ว่า ยีนดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกัน โรคจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นยีนเครื่องหมายในประชากรไก่พื้นเมือง



สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

KEYAPAT KONGROI : THE RELATIONSHIP OF HEMATOLOGICAL
VALUES AND MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX GENE
PATTERNS WITH NEWCASTLE DISEASE ANTIBODIES IN THAI
INDIGENOUS CHICKENS : LEUNG HANG KHAO. THESIS ADVISOR :
ASST.PROF. BANCHORN LIKITDECHAROTE, Ph.D., 84 PP.

MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX/NEWCASTLE DISEASE/THAI
INDIGENOUS CHICKEN/

Newcastle disease is the most important disease causing great loss of life in Thai indigenous chicken farming even with the regular vaccination practices due to varying individual capability in immune response. A study of the relationship of the hematological values and the Major Histocompatibility Complex (MHC) gene with Newcastle disease will give more information to help with the approach to selection and breeding for disease resistance in the future. The hematological values and antibodies titer were tested from blood and sera of 153 chickens at 4 and 7 month of age and analyzed. The average hematological results were: total RBC $1.4-4.2 \times 10^6$ cells/ml, total WBC $5.8-37.9 \times 10^3$ cells/ml, pack cell volume or hematocrit 21.0-51.8 %ml/dL, hemoglobin 7.4-18.8 %g/dL, mean corpuscular volume 110.2-146.5 fL, mean corpuscular hemoglobin 33.0-59.1 pg and mean corpuscular hemoglobin concentration 29.9-43.0 %g/dL. It was found that chickens at 4 months of age with low, medium and high antibodies (63.15 ± 23.47 , 421.77 ± 28.04 and 1525 ± 131.92) showed a significant negative relationship to the lymphocyte (71.00 ± 2.46 , 69.79 ± 0.81 and $67.72 \pm 1.29\%$ WBC respectively) and a significant positive relationship to the

heterophil (25.17 ± 2.34 , 27.76 ± 0.86 and $29.41 \pm 1.05\%$ WBC respectively) at $P \leq 0.05$.

A study of the effects of Major Histocompatibility Complex (MHC) class II, and microsatellite LEI0258 on the ability of disease resistance and bodyweight of Thai Indigenous chickens, and the pattern of both loci in 125 chickens was conducted. Blood samples were collected for Microsatellite-based and SNP analyses. PCR and PCR sequencing were used to classify the allele of LEI0258, and the SNPs of MHC class II gene, respectively. Bodyweight was recorded at the age of 4 and 7 months. Titers of Newcastle disease at the age of 4 and 7 months were tested using ELISA. Six alleles of LEI0258 were classified as A (205 bp), B (249 bp), C (307 bp), D (321 bp), E (345 bp) and F (420 bp). Sixteen SNPs were identified at C125T, A126T, C128T, A131G, G136T, C209G, C242T, A243T, C244T, C250T, A254T, A274G, A282T, C360T, A361G and G720T. A significant relationship between genotype and growth as well as the titer was detected for the BD, DE and CD against Newcastle disease at the age of 7 months. A significant association between SNP and bodyweight was found at the SNP 3 (C128T). An association between SNP and titer was found at the SNP 6 (C209G), 11 (A254T) and 12 (A274G). These results suggest that these loci have significant relationship with bodyweight and disease resistance and that the loci may be used as gene markers for the future selection of Thai indigenous chickens.

School of Animal Production Technology

Academic Year 2013

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____