

ยงไข ชู : ผลของสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารต่อการทำงานและสุขภาพลำไส้ในไก่แม่พันธุ์ที่เครียดจากความร้อน (EFFICACY OF DIETARY ANTIOXIDANTS ON GUT FUNCTION AND HEALTH IN HEAT-STRESSED BREEDER HENS). อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร. สุทิดา เข้มพะกา, 173 หน้า.

คำสำคัญ: ความเครียดจากความร้อน/ไก่แม่พันธุ์/ทรานสคริปโตม/สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร/สุขภาพลำไส้

ความเครียดจากความร้อน ส่งผลกระทบต่อความแข็งแรงของเยื่อลำไส้และการดูดซึมสารอาหารของไก่แม่พันธุ์โดยเฉพาะในไก่แม่พันธุ์ที่ไวต่อความร้อน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองระดับโมเลกุลของลำไส้เล็กในไก่แม่พันธุ์ที่ทนและไวต่อความร้อนด้วยเทคนิคทรานสคริปโตมิกส์ และประเมินประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (ประกอบด้วยวิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม และแอลคาร์นิทีน) และสารไฟโตเจนิค (ประกอบด้วยกานพลู กากชาเขียว และผักแพว) ในการลดผลกระทบจากความร้อน ประกอบด้วย 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย การทดลองย่อยที่ 1 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองระดับโมเลกุลของลำไส้เล็กต่อความร้อนแบบเฉียบพลันในไก่แม่พันธุ์ที่ไวต่อความร้อนใช้ไก่อายุ 28 สัปดาห์ จำนวน 50 ตัว แบ่งเป็นกลุ่มควบคุม (23°C) และกลุ่มที่ได้รับความเครียดจากความร้อน (อุณหภูมิ 36°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง) กลุ่มละ 25 ตัว เลี้ยงแยกเดี่ยวในกรง ผลการศึกษาพบยีนที่มีการแสดงออกแตกต่างกันทั้งหมด 138 ยีน แบ่งเป็นยีนที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น 75 ยีน และลดลง 63 ยีน การวิเคราะห์หน้าที่ของยีนด้วยการจัดจำแนกตาม gene ontology (GO) การวิเคราะห์ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) และการวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน (protein interaction, PPI) พบยีนสำคัญหลายกลุ่ม ได้แก่ ยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความร้อน (HSPA8 และ HSPA2) การรักษาสมดุลของพลังงานและเมแทบอลิซึมของไขมัน (PDK4 PPARA และ CD36) โดยยีน HSPA2 HSPB9 IL-18BP และ CD36 อาจใช้เป็นยีนเครื่องหมายของการตอบสนองต่อความเครียดจากความร้อนในเยื่อลำไส้เล็กส่วนกลางได้ งานทดลองย่อยที่ 2 เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนเครื่องหมาย (HSPA2 HSPB9 IL-18BP และ CD36) ในไก่แม่พันธุ์ที่ไวต่อความร้อนที่ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์หรือไฟโตเจนิค ใช้ไก่แม่พันธุ์อายุ 33 สัปดาห์ จำนวน 100 ตัว สุ่มเลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิปกติ (23 °C) และสภาวะเครียดจากความร้อน (36°C 4 ชั่วโมง/วัน) แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม คือ 1) อาหารพื้นฐานเลี้ยงภายใต้สภาวะปกติ กลุ่ม 2) อาหารพื้นฐาน เลี้ยงภายใต้สภาวะเครียดจากความร้อน 3) อาหารพื้นฐานเสริมสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ ภายใต้สภาวะเครียดจากความร้อน และ 4) อาหารพื้นฐานเสริมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระไฟโตเจนิค ภายใต้สภาวะเครียดจากความร้อน ผลการทดลองพบว่า การ

เสริมสารต้านอนุมูลอิสระทั้งสองแหล่ง ส่งผลให้การแสดงออกของยีน CD36 ในลำไส้เล็กส่วนกลางเพิ่มขึ้น ขณะที่การแสดงออกของยีน HSPB9 HSPA2 และ IL18BP ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับความเครียดจากความร้อนโดยไม่เสริมสารต้านอนุมูลอิสระ

การทดลองที่ 2 ใช้การวิเคราะห์ทรานสคริปโตมิกส์เพื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในลำไส้เล็กส่วนกลางของไก่แม่พันธุ์ที่ปรับตัวได้ดีต่อความร้อนและไก่แม่พันธุ์ที่ไวต่อความร้อนภายใต้สภาวะเครียดจากความร้อนแบบเฉียบพลัน (36°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง) ใช้ไก่อายุ 28 สัปดาห์ จำนวน 50 ตัว (25 ตัวต่อสายพันธุ์) พบยีนที่แสดงออกแตกต่างกัน 284 ยีน (เพิ่มขึ้น 155 ยีน และลด 129 ยีน) การวิเคราะห์ GO พบการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญใน 555 หมวดหมู่ ขณะที่การวิเคราะห์ KEGG พบยีนที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณ VEGF และ MAPK การสังเคราะห์สเตียรอยด์ การปฏิสัมพันธ์ระหว่างลิแกนด์และตัวรับในระบบประสาท และวัฏจักรของเซลล์ ส่วนยีนที่ลดการแสดงออกเกี่ยวข้องกับโมเลกุลการยึดเกาะระหว่างเซลล์ จากการวิเคราะห์ PI พบว่า PLK1 CDC7 CDC20 HSPA2 IL6 SLC22A19A LBFABP และ SLC2A2 เป็นยีนหลักที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมผลกระทบจากความเครียดจากความร้อนต่อการแบ่งเซลล์ การทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน กระบวนการเมแทบอลิซึมของพลังงานและไขมัน และการขนส่งสารอาหาร

การทดลองที่ 3 ใช้ไก่แม่พันธุ์ที่ไวต่อความร้อน จำนวน 100 ตัว อายุ 38-52 สัปดาห์ (ใช้ไก่ชุดเดียวกันกับการทดลองย่อยที่ 2) พบว่าในสภาวะเครียดจากความร้อน สารต้านอนุมูลอิสระทั้งสองแหล่งช่วยเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับสารต้านอนุมูลอิสระ (SOD and GSH-Px) โปรตีนไทด์จิงชัน (CLDN1) และไซโตไคน์ต้านการอักเสบ (IL-10) ในลำไส้เล็กส่วนกลาง รวมทั้งเพิ่มความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นรวม และลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนฮีทช็อก (HSP70 และ HSP90) ภูมิคุ้มกัน (IL-6, TNF- α , NF-KB และ TLR4) และการผลิตแอมโมเนีย นอกจากนี้ยังพบการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระทำให้แบคทีเรียที่ผลิตกรดไขมันสายสั้น เช่น *Firmicutes* *Lachnospiraceae* *Ruminococcaceae* และ *Megamonas* เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม

โดยสรุป การศึกษาครั้งนี้ให้ข้อมูลเชิงลึกที่มีคุณค่าเกี่ยวกับการตอบสนองระดับโมเลกุลของไก่แม่พันธุ์ต่อความเครียดจากความร้อน และแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารต้านอนุมูลอิสระทั้งชนิดสังเคราะห์และไฟโตจีนิกในการลดผลกระทบจากความเครียดจากความร้อนในสัตว์ปีก

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์
ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา Yongcai Zhu
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Shiyu
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม S. Thida

YONGCAI ZHU : EFFICACY OF DIETARY ANTIOXIDANTS ON GUT FUNCTION AND HEALTH IN HEAT-STRESSED BREEDER HENS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SUTISA KHEMPAKA, Ph. D., 173 PP.

Keyword: HEAT STRESS/BREEDER HEN/TRANSCRIPTOME/DIETARY ANTIOXIDANT/GUT HEALTH

Heat stress (HS) negatively affects intestinal integrity and nutrient absorption in breeder hens. This study aimed to explore the molecular response of the small intestine in heat-adapted and heat-sensitive breeder hens using transcriptomic techniques, and to evaluate the efficacy of synthetic (a combination of vitamin E, vitamin C, Se, and L-carnitine) and phytogetic (a combination of clove, green tea pomace, and Vietnamese coriander) antioxidants in mitigating the adverse effects of HS. This study was comprised of three experiments as follows:

Experiment 1 consisted of two trials. Trial 1: This trial aimed to explore the molecular response of the small intestine to acute HS in heat-sensitive breeder hens. A total of fifty hens, aged 28 weeks, were used and divided into two groups: a control group (maintained at 23°C) and a heat-treated group (exposed to 36°C for a 6-hour), with 25 birds each. A total of 138 differentially expressed genes (DEGs) were identified, comprising 75 upregulated and 63 downregulated genes. Functional analysis through gene ontology (GO) classification, pathway mapping via the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), and protein interaction (PPI) networks revealed several key regulatory genes involved in thermal response (HSPA8 and HSPA2), and energy homeostasis and fat metabolism (PDK4, PPARA, and CD36). The following genes were identified as candidate biomarker genes in the jejunum for HS response: HSPA2, HSPB9, IL-18BP, and CD36. Trial 2 aimed to investigate the expression of candidate genes (HSPA2, HSPB9, CD36, and IL18BP) in heat-sensitive hens supplemented with synthetic or phytogetic antioxidants. One hundred hens, aged 33 weeks, were randomly housed under thermoneutral (TN; 23°C) or HS conditions (36°C, 4 h/d). The experiment was divided into four groups: 1) basal diet under TN; 2) basal diet under HS; 3) basal diet supplemented with synthetic antioxidants under HS; and 4) basal diet supplemented with phytogetic antioxidants under HS. Results showed that supplementation with

either antioxidant sources increased the expression of the CD36 gene in the jejunum, while the expression of the HSPB9, HSPA2, and IL18BP genes decreased compared to the HS group without supplementation.

Experiment 2, this study used transcriptomic analysis to compare gene expression jejunum of heat-adapted and heat-sensitive hens under acute HS (36°C for 6 hours). Fifty hens (28 week-old, 25 of each breed) were used. A total of 284 DEGs (155 upregulated and 129 downregulated genes) were identified. GO analysis revealed significant enrichment in 555 categories, while KEGG pathway revealed that upregulated genes were involved in VEGF signaling, MAPK signaling, steroid biosynthesis, neuroactive ligand-receptor interaction, and cell cycle pathways. Downregulated genes were related to cell adhesion molecules. The PPI analysis identified PLK1, CDC7, CDC20, HSPA2, IL6, SLC22A19A, LBFABP, and SLC2A2 as key core nodes, which may play crucial roles in regulating the effects of HS on cell division, immune function, energy and lipid metabolism, and nutrient transport.

Experiment 3: One hundred heat-sensitive hens aged 38 to 52 weeks (the same hens used in trial 2). The results showed that under HS condition, , both antioxidant sources increased the expression of genes related to antioxidants (SOD and GSH-Px), tight-junction protein (CLDN1), and anti-inflammatory cytokine (IL-10) in the jejunum. In addition, the total concentration of SCFAs increased, while the expression of HSPs (HSP70 and HSP90), immunity-related genes (IL-6, TNF- α , NF- κ B, and TLR4), and ammonia production were reduced. Furthermore, antioxidant supplementation led to an increase in SCFA-producing bacteria, such as *Firmicutes*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, and *Megamonas*, compared to the non-supplemented group.

In conclusion, this study provides valuable insights into the distinct molecular responses of breeder hens to HS. Both synthetic and phytogetic antioxidants demonstrate potential as strategic interventions to mitigate heat-induced damage in poultry.

School of Animal Technology and Innovation

Academic Year 2024

Student's Signature

Yongcai Zhu

Advisor's Signature

Sutisa Khompaka

Co-advisor's Signature

S. Kuba