0. สวัสดี

This site uses cookies. By continuing to use this site you agree to our use of cookies. To find out more, see our Privacy and Cookies policy.

Table of contents

Volume 207

2018

◂ Previous issue Next issue ▸

1st International Conference on Food and Agriculture 2018
20–21 October 2018, Bali, Indonesia

View all abstracts

Accepted papers received: 12 November 2018
Published online: 7 December 2018

Preface

OPEN ACCESS 011001

1st International Conference on Food and Agriculture 2018

+ View abstract View article PDF

OPEN ACCESS 011002

Peer review statement

+ View abstract View article PDF

Papers

Agriculture Engineering and Biotechnology

OPEN ACCESS 012001

Potential of *Beauveria bassiana* Lowland Isolates against *Spodoptera litura* in Tobacco Plant

D N Erawati, I Wardati and S Humaida

+ View abstract View article PDF

OPEN ACCESS

Effect of Supplementing Tamarind Seed Husk in Ration on Productive Performance of Fattening Dairy Steer

Somjit Thanomwongwatatana
Department of Animal Production Technology and Animal Health Science, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathumthani12110, Thailand

Corresponding author: Email: somjit_t@rmutt.com

Abstact. This study aimed to investigate nutrient composition and effects of tamarind seed husk (TSH) in rations onproductive performance of fattening dairy steers.The TSH samples from tamarind starch factory were examinednutritional compositions by the proximate analysis and detergent method while the bomb calorimeter was used to determine gross energy. The results showed crude protein(CP), fat, crude fibers(CF), nitrogen free extract (NFE), ash, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and gross energy(GE) at 7.23, 0.74, 20.87, 57.44, 1.35, 29.15, 34.74% dry matter and 4,200 Kcal/kg, respectively. For astudy on effects of TSH in rations on productive performance of fattening dairy steers, 20 at least 87.5% of crossbred Holstein-Friesian steers were divided into 5 groups (block). Steers in each group were fed with rations supplemented with 4 various levels of TSH: 0,2,5, 5.0 and 7.5% at the ratio of 2% of body weight. Steers were allowed straw and water ad libitum. The data were analyzed by the randomizedcomplete block design. No significant differences were found among treatments (P>0.05). The growth rates were averaged at 1.16, 1.10, 1.09 and 1.20 kg/steer/day. The feed conversion rates were 6.93, 7.48, 7.76 and 7.47, and the average feed costs per 1 kg of weight gain were 61.02, 61.54, 64.64, and 59.53 baht, respectively. It can be concluded that the supplementation of TSH at 0-7.5% in steer rations seems to be practical at the farm.
KeyWords: Tamarind seed husk, Productive performance, Dairy steer

1. Introduction

At present, dairy farmers in Thailand play more and more attention in fattening dairy steers. This is because the beef produced cannot cope with the demand of the local market that is necessary to import from overseas with the value of about 2,316 million baht in 2016 (Office of Agricultural Economics Research, 2017). Ralf Pfuhl *et al.* (2007) reported that German Holstein dairy steers had high marbling scores in the carcass compared to Charolaisbeef cattle, while the growth rates and feed conversion efficiency were lower. Warinthorn (2008) reported that when fattening 50% and 75% crossbred Holstein-Friesian dairy steers, the marbling scores were higher than those of 50% crossbred Charolaisbeef cattle.Chauwalit *et al.* (2016) concluded that under management, feedings, and climate conditions in Thailand, Charolais crossbred steers showed higher production and quality of carcass than those of Holstein crossbred steers. However, Holstein crossbred steers produced more than 55% of marbling meat at scores of 2 and 3, which was comparable to the high quality of beef. It is possible that if this kind of steers is raised under good management, the quality of their meat will be higher. For these reasons, developing high quality of meat from dairy steers is necessary. However, the problem in fattening dairy steers is high feed costs. The alternatives of feed ingredients or the residues from agriculture and industry may be the answer. One of the residues having potential for feeding

cattle is TSH. This waste from the tamarind starch factory consists of 30-40% of total kernel (Bhatta *et al.*, 2001). It contains tannin at about 20% of whole dry husk (Williams *et al.*, 2000), which is useful for fermentation and digestion of ruminants(Bhatta *et al.*, 2000). Moreover, TSH is rich of phenolic compounds and flavonoids, which are good for health such as anti-bacteria, anti-inflammation and anti-diabetes (Maiti *et al.*, 2004). Bhatta *et al.* (2000) reported that there were no significant differences on milk production and milk compositions among the dairy cows fed with rations supplemented with 2.5% and 7.5% TSHused as tannin source when compared to the control, but the protein in milk was likely to be higher ($P<0.07$). Nitrogen in urine of dairy cows was considerably decreased when fed with the rations supplemented with higher levels of TSH. This indicates that TSH promotes the utilizations of protein in the feed, making the higher efficiency of digestion in rumen.However, there is no literature involving the uses of this waste in terms of animal feeds. The study was conducted to investigate the nutritional compositions of TSH and to compare the effects of various levels of TSH in rations on productive performances of fattening dairy steers.

2. Materials and Methods

2.1 Investigation of nutritional compositions of TSH

TSHwas randomly sampled from the tamarind starch factory. The samples were anlayzed including dry matter, Crude protein, Crude fibers, fat, and ash (AOAC, 2005), NDF and ADF by the method cited by Angkana and Duangsamorn (1989), gross energy by the bomb calorimeter IKAC5001, and total phenol by Folin-Ciocalteu Method cited byBenjamas et al. (2014).

2.2. Effect of various levels of TSHin rations on productive performances of fattening dairy steers

Twenty 87.5% crossbred Holstein Friesian steers were allocated in the experimental groups. They were fed with the rations supplemented with TSHat 4 levels (table 1): 0, 2.5, 5.0, and 7.5% at the ratio of 2% of body weight per day during 6.30 – 7.30 a.m. and 4.30 – 5.30 p.m. Rice straw as well as water were allowed ad libitum. The amount of the given concentrates and roughages and the leftover were recorded daily 2 times/day before giving the next feeding. The steers were weighed every two weeks to adjust the amount of rations. The data were collected for 7 months and were analyzed by General Linear method as there were two observed values that could not be included in the analysis. The variations among treatments adjusted from the inequal experimental repetitions were compared by LSD (Monchai, 2001).

Table 1. Feedingredient in the experimental rations

Feed ingridients	(%)			
Tamarind seed husk	0	2.5	5.0	7.5
Ground corn	18	18	18	18
Cassava chip	30.8	28.5	26.3	24.1
Rice bran	10	10	10	10
Soybean meal	15	14.8	14.5	14.2
Palm kernel cake	20	20	20	20
Molasses	3	3	3	3
Dicalciumphosphate	1	1	1	1
Salt	1	1	1	1
Urea	1	1	1	1
Premix	0.2	0.2	0.2	0.2
Total	**100**	**100**	**100**	**100**
Nutritions from the analysis(%)				
Dry matter	88.96	88.72	88.64	89.06
Crude protein	17.57	17.46	17.05	17.75
Crude Fat	3.94	4.17	4.38	4.24
Crudefiber	7.48	8.67	7.68	8.95
Neutral detergent fiber	23.73	21.43	23.47	21.57
Acid detergent fiber	9.59	9.78	8.81	10.62
Ash	6.12	5.82	5.68	5.75
Gross energy (Kcal/kg)	3,741	3,824	3,809	4,051

3. Results and Discussions

3.1. Nutritional compositions of tamarind seed husk

TSH was found to contain CP, fat, and ash at the low concentration (Table 2) similar to the study of Bhatta et al. (2001). However, the TSH in this study had lower levels of NDF, ADF and phenol, possibly resulting from the variations of the analysis, particularly the sample screening technique after boiling in the solution, which always caused gel, leading to the difficulty in sifting the samples. Additional to this, TSH in this study was the residue obtained from the industrial factory; therefore, some kernels were present in the husk, resulting to the low analytical values.

Table 2. Nutritional compositions of tamarind seedhusk

Nutritional compositions (% dry matter)	1/	2/
Crude protein (CP)	7.23	7.19
Ether extract (EE)	0.74	0.30
Crude fiber (CF)	20.87	-
Nitrogen free extract (NFE)	57.44	-
Ash	1.35	-
Neutral detergent fiber (NDF)	29.15	75.52
Acid detergent fiber (ADF)	34.74	72.54
Acid detergent lignin (ADL)	-	42.19
Total phenol	12.06	14.5-15.5
Gross energy (GE) (Kcal/g)	4,200	-

1/ analyzed at the laboratory of Animal Science Department, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi
2/ adapted fromBhatta *et al.* (2001)

3.2. Effect of various levels of TSH in rations on productive performance of fattening dairy steers

Feed intake and growth rates

Steers fed with the ration supplemented with T SH took dry roughages slightly higher than the control. This may be because T SH contains high tannin, affecting the inhibition of degradation of rumen microorganisms. As a result, the volatile fatty acids, especially propionic acid which is the important energy source of ruminant (Somjit, 2001), were produced at the lower levels. This causes nutritional deficiency; and then the steers have to eat more roughages to replace the deficiency. No significant differences of the growth rates were observed among treatments($P>0.05$), but steers fed with the ration supplemented with 5.0% of TSHappeared to have slower growth rate than others. This is because some steers in this group took smaller amount of feeds. Bunglavan and Dutta (2013) reported that tannin caused the reduction of protein degraded in rumen, leading to the better degradation in the small intestine. As a result, the beneficial amino acids depending on the types of the feed the animals consumed were produced and the feeds performed more efficiently. Bhatta *et al.* (2000) revealed that supplementing TSH at 2.5 and 7.5% did not affect products and compositions of milk when compared to the control; however, the protein in milk was likely to be higher ($P<0.07$). Nitrogen in urine of cows was significantly decreased when fed with rations supplemented with high TSH. This advantage is probably stemmed from the reduction of protein fermentation in rumen due to the higher effectiveness of nitrogen later. Similarly, Barry et al (1986) noticed that when the animals fed with high tannin plants, the amount of non-ammonia nitrogen in the initial part of small intestines was higher, indicating the decrease of nitrogen in urine and the increase of protein in milk, which was partly caused by the effective utilization of nitrogen.

Table 3. Effects of various levels of TSHin rations on productive performance of fattening dairy steers

Items Studied	levels of tamarind husk in rations (%)				Pr >F	C.V. (%)
	0	2.5	5.0	7.5		
Initial weight (kg/steer)	225.59	224.00	249.68	238.20	0.3019	8.6765
Final weight (kg/steer)	492.04	477.20	531.31	514.00	0.4852	7.3854
Weight gain (kg/steer)	266.45	253.20	251.63	275.80	0.4005	9.0464
Growth rate (kg/steer/day)	1.16	1.10	1.09	1.20	0.4006	9.0459
DM intake(kg/steer)						
concentrate	1315.18	1373.67	1402.51	1474.62	0.5322	11.2199
roughage	498.52	537.45	494.44	588.60	0.1905	12.3961
FCR	6.93	7.48	7.76	7.47	0.3362	7.8229
Feed cost per 1 kg weight gain(baht)	61.02	61.54	64.64	59.53	0.3901	6.6480

notes:

1/ concentrates supplemented with tamarind husk at 0, 2.5, 5.0, and 7.5% at the cost of 9.41, 9.3, 9.2, and 9.04 baht, respectively.

2/ roughages cost at 2.30 baht/kg

3.3. Efficiency of feed conversions and feed costs

Steers fed with rations supplemented with T SH showed higher efficiency of feed conversions than the control but no statistical significances were observed (P>0.05). These steers had high feed intake but the weight gains were rather low. This was contrary to Bhatta et al. (2000) who reportedthe increases of weight gains and milk production of crossbred Holstein-Friesian cows fed with low tannin T SH . This may be because the rations used in this study consisted of the inappropriate levels of utilizable energy to the protein levels. However, feed costs of this group were lower than any other groups. Since this group of steers consumed high amount of roughages which were low costs, the feed costs per 1kg weight gain were lower than any other groups but not statistically significances (P>0.05).

Conclusions

1. Tamarind husk consists of low concentrations of nutritional compositions including total protein, fat, ash, and soluble carbohydrates, but has high grossenergy.
2. Supplementing tamarind husk in the rations did not affect productive performance of fattening dairy steers compared to the control. Nevertheless, it is likely that feed cost per 1 kg weight gain is decreased when supplementing tamarind husk in rations at the level of 7.5%.

Recommendations

The study revealed that TSH can be supplemented in rations of fattening dairy steers up to 7.5%. Simultaneously, there are several studies supporting the mechanical benefits of tannin in tamarind husk in terms of promoting and inhibiting degradable nutritions, particularly high quality of feeds or feedstuffs of ruminal animals. For this reason, the strong support and further intensive studies to examine the benefits and utilizations of high quality feedstuffs with TSHas supplementation in rations should be extensively conducted. It is also noticed that the longer time the TSHis stored, the stronger nice sweet odor exists. Since this ingredient contains high anti-oxidative substances, it should be more beneficial to conduct further studies in view of animal nutrition.

Acknowledgement

The researchers would like to express our sincere thanks to the committee of National Research Council and Rajamangala University of Technology Thanyaburi (RMUTT) for granting the funds for this study. Our thanks also go to the students at Aninmal Scince Department, Faculty of Agricultural Technology, support as asistant researchers until the results of the study were published and provide benefits for all involving parties.

References

[1]. Angkana Hanbanjong and Duangsamorn Sinjermsiri. 1989. Analysis and Quality of Animal Feeds. Department of Animal Science, Kasetsart University, Bangkok. 235p.

[2]. AOAC. 2005. Official Method of Analysis (18th Ed.). Association of Official Analytical Chemists International, Maryland, USA.

[3]. Barry, T. N., T. R. Manley and S. J. Duncan. 1986. The role of condensed tannins in the nutritional value of Lotus pedunculatus for sheep. 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. British Journal of Nutrition 55: 123–137

[4]. Benjamas, J., Maitree, S., Piyanit, Ch., Prapairat, S., and Sujint, A.,nguravirutt . 2014. Biochemical characterization of antioxidants in tamarind seeds and products. Research Report. Pharmacology School of Science Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, 93 p

[5]. Bhatta, R.., U. Krishnamoorthy., F. Mohammed., R. Bhattaa., U. Krishnamoorthy and F. Mohammed. 2000. Effect of feeding tamarind (Tamarindus indica) seed husk as a source of tannin on dry matter intake, digestibility of nutrients and production performance of crossbred dairy cows in mid-lactation. Anim. Feed Sci. Technol. 83: 67-74

[6]. Bhatta R., U. Krishnamoorthyand F. Mohammed. 2001. Effect of feeding tamarind (Tamarindusindica) seedhusk tann inoninvitrorumen fermentation. Animal Feed Science and technology. 143-152.

[7]. Bunglavan, S. J. and N. Dutta. 2013. Use of Tannins as Organic Protectants of Proteins in Digestion of Ruminants. Journalof Livestock Science 4:67-77

[8]. Chauwalit P., S. Koonawootrittriron, T. Suwanasopee , M. A. Elzo, J. Khemsawatand D. Jattawa. 2016. A comparative study of carcass yields and quality between fattening Charolais crossbred and Holstein crossbred steers. KHON KAEN AGR. J. SUPPL. 44 (2): 311-318

[9]. Maiti, R., J. D., U. Das and D, Ghosh. 2004. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of Tamarindus indica in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethanopharmacology.92: 85–91

[10]. Monchai Duangjinda. 2001.SAS Application for Animal Research Analysis. Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen. 313 p.

[11]. Office of Agricultural Economics Research. 2017. Situations of Agricultural Commodities and Their Trends in B.E. 2560. Office of Agricultural Economics Research. Ministry of Agriculture and Cooperative, Bangkok.

[12]. RALF, P., O. Bellmann., C. Kuhn., F. Teuscher., K. Ender and J. Wegner. 2007. Beef versus dairy cattle: a comparison of feed conversion, carcass composition, and meat quality. ArchivTierzucht Dummerstorf 50 (1): 59-70.

[13]. Somjit Th. 2001. Dairy Production. Rajamangala Institute of Technology, Nakorn Srithammarat Campus, Nakorn Srithammarat. 435 p.

[14]. Warinthorn Maneerat. 2008. Influences of Breeds on Productive Performance, Carcass Quality and Economics Returns in Fatting Cattle. Master Degree Thesis in Science, Kasetsart University, Bangkok.

[15]. Williams, J.T., R.W. Smith., N.Haq. and Z.Dunsiger. 2000. Tamarind Tamarindus indica L. RPM Print and Design. W. Sussex. 188 p.

This site uses cookies. By continuing to use this site you agree to our use of cookies. To find out more, see our Privacy and Cookies policy.

Table of contents

Volume 207

2018

‹ Previous issue Next issue ›

1st International Conference on Food and Agriculture 2018
20–21 October 2018, Bali, Indonesia

View all abstracts

Accepted papers received: 12 November 2018
Published online: 7 December 2018

Preface

OPEN ACCESS 011001
1st International Conference on Food and Agriculture 2018
+ View abstract View article PDF

OPEN ACCESS 011002
Peer review statement
+ View abstract View article PDF

Papers

Agriculture Engineering and Biotechnology

OPEN ACCESS 012001
Potential of *Beauveria bassiana* Lowland Isolates against *Spodoptera litura* in Tobacco Plant
D N Erawati, I Wardati and S Humaida
+ View abstract View article PDF

OPEN ACCESS

Applications of Phenolic Extracts from Tamarind Seed Husk to Inhibit the Formation of Antioxidants in Animal Feeds

Sasinidtha Thanomwongwatana
Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Technology
Ramajamangala University of Technology Thanyaburi, Thailand.

Abstract. The study aimed to investigate the effects of tamarind seed huskextracts on the inhibition of oxidation (IP) in soybean oil. The substances from the tamarind seed husk were extracted by soaking and heating technology (Soxhtech) using methanol, acetone, and hexane. The tamarind seed huskextracts obtained are crimson glossy solid powder with the average weight about 26.88%. The total phenol examined by Folin-Ciocaleu method revealed the quantity at about 120.63 mg/g dry matter of tamarind seed husk, accounted for 12.06%. The oxidation inhibition of tamarind seed huskextracts in soybean oil was determined by Oxitest, VELP Scientifica model 148. The oxidation formations during the induction period (IP) were used as the indicators. In other words, the higher IP, the higher potentials of the antioxidants. The 5x7 factorial in completely randomized design was used in this study. The first Factor was five types of antioxidants comprised of soybean oil (control), soybean oil supplemented with BHA+ethoxyquin0.2%, soybean oil supplemented with 0.5% ascorbic acid, soybean oil supplemented with 0.5% tamarind seed husk extract, and soybean oil supplemented with 1.0% of tamarind seed husk extract. The second Factor was 6 various storage durations including 0, 10, 20, 30, 40, 50, and 60 days. The results showed no synergic effects between the two factors (P>0.05). However, the significant differences (P<0.05) were obviously noticed. The best oxidation inhibitions were found in both 0.5% and 1.0% tamarind seed huskextracts with the average IP readings at 5.42 and 5.33 hours, respectively. The IP readings from soybean oil supplemented with BHA + etoxyquin, and with ascorbic acid were 5.06 and 5.05 hours, respectively. The lowest IP was found in the control (4.21 hours). The longer the storage durations, the lower the oxidation inhibition potentials (P<0.05). At the storage times at 0 and 10 days, the highest IP were obtained (5.97 and 6.06 hours, respectively), while the storage times at 20, 30, 40, 50, and 60 days showed the IP values at 5.29, 5.01, 4.71, 4.24, and 4.14 hours, respectively.
Keywords: phenolic, tamarind seed husk, antioxidants, free radicals, animal feeds

1. Introduction

Fat is the main constituent in the raw ingredients of various animal feeds. When stored at room temperatures, fat undergoes reactions with oxygen leading to oxidation, and eventually free radicals. This causes the deterioration of feed quality regarding odors, colors, and tastes. The palatability is decreased,and the essential fats and fat-soluble vitamins are destroyed. Moreover, in severe cases, this can be toxic to animals. In animal feed industry, the synthesized antioxidants such as BHA, BHT and ethoxiquin are commonly used to inhibit oxidation in animal feeds. However, these antioxidants have safety concerns of consumptions (Pokorny *et al.*, 2001) . The European Union reported the prohibitions of using ethoxiquin in all kinds of animal feeds to WTO (WTO, 2017). As a result, based

on the agricultural food safety and consumer acceptance, more interests have been paid upon the uses of natural antioxidants such as vitamin E and vitamin C. The main problems of these substances lie on their instability and easy damages when exposed to heat, light and moisture. Tril *et al* (2014) reported that seeds and seed coats of many tropical fruits are abundant with phenolic constituents, flavonoids and anthocyanidin that have antioxidation features. Paksiri and Maitree (B.E. 2554) found polyphenols including flavonoidsand polymericproanthocyanidins or condensed tannin or phlobatannin in tamarind seed coat. The structure of these substances were flavonoids formed in long chains of flavan-3-ol or flavan-3,4-diol (Sudjareon *et al.*, 2005), which have higher potential in inhibiting oxidations than any single phenols (Hagerman *et al.*, 1998). Gu *et al.* (2003) found medium chains of procyanidin at 29.32 g/kg and tannin chains at 101.89 g/kg in tamarindseed coat. The concentration of phenols and flavonoids are considerably associated with free radical discharge activities and preventions of oxidation stresses (Xu and Chang, 2007). Tsuda *et al.* (1995) stated that tamarind seed coat consisted of 2-hydroxy-3' , 4' dihydroxyacetophenone, methyl 3,4 di hydroxybenzoate, 3,4 dihydroxyphenylacetate, and (-) – epicatechin, while epicatechin was claimed as high potential antioxidant (Luengthanaphol *et al.*, 2004). The quantities of the antioxidants were heavily depended on extraction techniques and chemicals used in the techniques. Siddhuraju and Becker (2007) indicated that fresh tamarind seed coat and heat-dried tamarind seed coat extracted by methanol showed the best potentials in inhibiting DPPH with the lowest IC_{50} at 39.0 and 38.7 mg/ml, respectively. This purpose of this study was to investigate the potentials of the antioxidants in tamarind seed coat extracts in order to replace the imported synthesized antioxidants.

Objectives. To investigate the effects of tamarind seed husk extracts on the oxidation inhabitation (IP) in soybean oil.

2. Materials and Methods

First, 100 grams of tamarind seed husk were ground and soaked in 800 ml methanol and acetone mixture (1:1) for 24 hours, then sieved with cheesecloth to extract from residues and kept in dark bottles. The residues were once again soaked in 800 ml methanol and acetone mixture (1:1) for 24 hours. The extracts obtained were kept in dark bottles. The residues were dried by dehydration in the hood at the room temperature overnight. Then, 10 grams of residues were randomly sampled to be further extracted with 80 ml hexane at 180°C by Soxhtech for 60 minutes, followed by washing for 60 minutes. The extracts were weighed and kept in dark bottles for further dehydration at 45°C to obtain coarse extracts of hexane. The rest was extracted with 80 ml methanol and acetone mixture (1:1) at 180°C for 60 minutes and then washed for 60 minutes. The extracts were then weighed and kept in dark bottles before mixing with the methanol-acetone extracts obtained at the first stage. After that, they were dehydrated at 45°C by the rotary vacuum evaporator. The resultants, which were coarse methanol-acetone extracts were analyzed for phenolic concentrations based on the Folin-Ciocalteu method (Singleton and Rossi, 1965 and Meda *et al.*, 2005). Then, they were used to examine oxidation inhibitions in soybean oil by Oxiterst, VELP Scientifica model SER 148 equipped with a computer and oxygen. The experimental steps were as followed. First, 105 10-ml vials was filled with 10 ml soybean oil (experimental units). They were divided into 35 groups, 3 vials in each group for each treatment (types of antioxidants and storage times). The 5x7 factorial in completely randomized design was applied. Five types of antioxidants were treated as the first Factor including soybean oil (control), soybean supplemented with BHA+ethoxyquin0.2%, soybean oil supplemented with 0.5% ascorbic acid, soybean oil supplemented with 0.5% tamarind seed husk extracts, and soybean oil supplemented with 1.0% tamarind seed husk extracts. The second Factor was 6 storage times comprised of 0, 10, 20, 30, 40, 50, and 60 days. The experimental units were mixed with antioxidants with vortex instruments and kept at room temperatures at the certain times. After that, the induction periods (IP) of each experimental unit were measured by Oxitest, VELP at 100°C under 6-bar compressed air (99.9% oxygen). The data were collected and the different means of factors and treatment combinations were compared according to Duncan's New Multiple Range Test (Monchai, B.E. 2544).

3. Results and Discussions

3.1 Characteristics and Amount of Tamarind Seed Coat Extracts

The sticky substances obtained from tamarind seed husk extraction were formed into crimson glossy solid powder with the average weight at 26.88% (Table 1) and containing 9.12% (figures 1 and 2) after left to dry and kept at room temperatures for 3 days.

Figure 1. Tamarind seed husk extracts after drying with the rotary vacuum evaporator

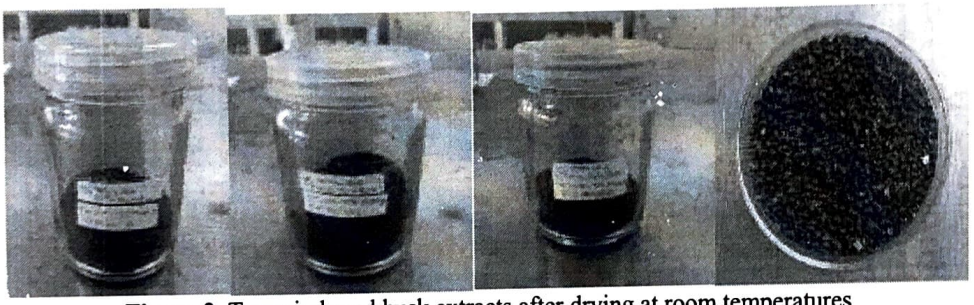


Figure 2. Tamarind seed husk extracts after drying at room temperatures

Table 1. Descriptions of Tamarind Seed Husk Extracts

Sample No.	Weight of tamarind seed husk (grams)	Weight of extracts (grams)	Extracts (%)
1	100.98	25.27	25.03
2	100.89	30.90	30.62
3	100.88	25.00	25.00
means	100.92	27.06	26.88

3.2 Total Phenols of Tamarind Seed Husk Extracts

The estimates of total phenols in tamarind seed husk extracts were averaged at 120.63 mg/g dry matter of tamarind seed husk or accounted for 12.06% (Table 2), which was lowered than those of Benjamas et al. (B.E. 2557) who found at 221.74 mg/g. This may result from the differences of tamarind types and varieties. The influences of other factors, for instance, types of processing in the industry eg. roasting tamarind seeds for easily peeling can also play the important roles. In this study, the tamarind seed husk were obtained from the factory using high heat for processing. It is possible that protein combined with tannin or carbohydrate combined with tannin affects the solubility (Siddhyraju and Becker, 2007). Thus, to extract tannin from tamarind seed husk is likely more difficult.

Table 2. Quantities of Total Phenols from Tamarind Seed husk Extracts

tamarind seed husk extracts	Total Phenols (mg/g dry matter of tamarind seed husk) ±SD	Total Phenols (%)
1	105.82±2.09	10.58
2	139.47±0.56	13.95
3	116.61±0.31	11.66
Means	120.63±0.99	12.06

3.3 Oxidation Inhibition of Tamarind Seed Husk Exrtacts in Soybean Oil

Principles of Oxitest, VELP Function

In this study, Oxitest, VELP were used to measure oxidation inhibition potentials. The results are based on the induction periods of oxidations (IP). When placing the samples in the chambers, and close the lids, the instrument will increase the temperatures inside the chambers to the fixed temperatures and then releases oxygen into the chambers under the designated pressures. After that, the instrument starts to record the pressure of oxygen. When the oxidations take place, the pressure of oxygen will be rapidly decreased and the IP readings from axis x and y in the graphs will be recorded as shown in Table 3. The antioxidants with high potentials in inhibiting oxidations will have high IP readings.

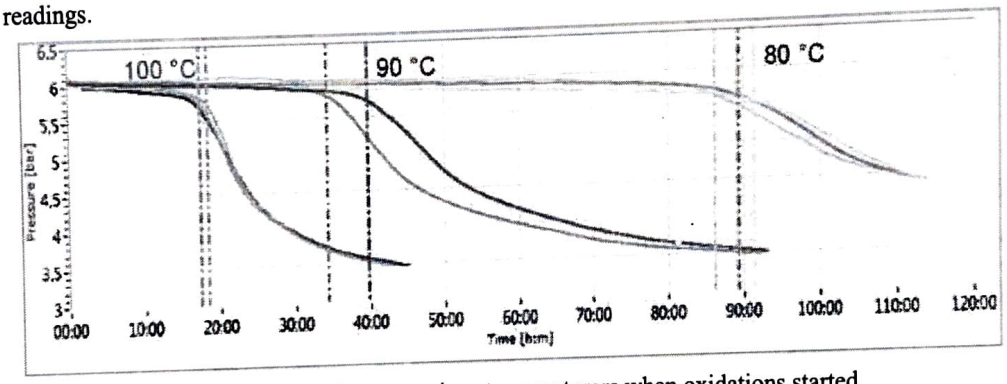


Figure 3. IP readings at various temperaturers when oxidations started

Source: Eurachem guidelines (2015)

The effect of types of antioxidants and storage times on oxidations in soybean oil revealed that tamarind seed husk extractsat 0.5% and 1.0% had the highest antioxidation potentials with the average IP readings at 5.42 and 5.43 hours, respectively. It is obvious that the longer the storage times, the lower the antioxidant potentials ($P<0.05$). However, no synergic effects of types of antioxidants and storage times were noticed ($P>0.05$) as shown in Table 3.

The higher antioxidant potentials of tamarind seed huskextracts at 0.5% and 1.0% compared to other antioxidants in this study can be explained by the high concentration of phenolic constituentspresenting in tamarind extracts. Various kinds of phenolic constituents including flavonoids and polymericproanthocyanidins or condensed tannin in tamarind seed coat(Paksiri and Maitree, B.E. 2554) work together, increasing the antioxidant potentials (Xu and Chnang, 2007 and Zhang *et at.*, 2006). Alternatively, they inhibit oxidation of fats (Claus et al., 2015) and have higher antioxidant potentials than single phenol (Hagerman et al., 1998).

Table 3 Effeccts of types of extracts and storage times on Induction Periods in oxidations of soybean oil

storage times	Antioxidants					Means
	control	BHA + ethoxyquin 0.2%	ascorbic acid 0.5 %	TSH extract 0.5 %	TSH extract 0.5 %	
0	5.19	6.37	6.04	6.18	6.14	5.97^{A}
10	5.12	6.33	5.90	6.55	6.40	6.06^{A}
20	4.29	5.62	5.37	6.05	5.66	5.29^{B}
30	4.05	5.19	5.12	5.28	5.37	5.01^{C}
40	4.45	4.20	4.61	5.30	4.97	4.71^{D}
50	3.40	4.45	4.31	4.70	4.34	4.24^{E}
60	3.24	4.08	4.28	4.54	4.47	4.14^{E}
เฉลี่ย	4.21^{C}	5.05^{B}	5.06^{B}	5.42^{A}	5.33^{A}	

Letters in different rows or columns indicate significant diferences (P<0.05) C.V. = 6.20 %

Conclusions

The effects of types and storage times on inhibiting oxidations in soybean oil can be concluded:

1. Extracts obtained from tamarind seed husk was characterized as crimson glossy solid powder and the average extracted quantity was 26.88%.
2. The average concentration of Total Phenols examined by Folin-Ciocaleu method was 120.63 mg/g dry matter of tamarind seed husk, accounted for 12.06%.
3. Supplementing soybean oil with 0.5% and 1.0% of tamarind seed husk extracts showed the highest IP readings, indicating the highest inhabitation of oxidations in soybean oil.
4. The storage times between 0–60 days revealed that the IP readings were gradually decreased when the storage times were prolonged (P<0.05).

Recommendations

Since the tamarind seed husk extracts showed the high potential in inhibiting antioxidants in animal feeds, alternative extraction methods are suggested to avoid the toxic residues from the solvents and to reduce the production costs.

References

[1]. Benjamas Jitsomboon, Maitree Sutajit, Piyanate Chantiratikul, Prapairat Sipolkrai, and Sujin Angurawirut. B.E. 2557. *Examination of Biochemistry Properties of Antioxidants in Tamarind Kernel and Products*. Research Paper. Pharmacology Department, University of Technology Suranaree, Nakhon Rajaseema. 90p.

[2]. Paksiri Sinchaikij and Maitree Sutajit. B.E. 2554. Biochemistry Properties and Applications of Tamarind Kernel. *Journal of Naraesuan Payao*. 4(2): 5-16.

[3]. Monachai Duangdara. B.E. 2544. *SAS Applications for Animal Science Research Analysis*. 2ed. Department of Animal Science. Faculty of Agriculture. Khon Khaen University. 318p.

[4]. Claus, T., S.V. Palombini, F. Carbonera, I. Figueirebo, M. Matsushita, J.V. Visentainer. 2015. Response Surface Methodology Applied in the Study of Emulsion Formulations in the Presence

of Leaves of Rosemary (Rosmarinus officinalis I.) as a Source of Natural .Antioxidants. *J. Braz. Chem. Soc.*, 26(10): 2097-2104.

[5]. Eurachem guidelines. 2015. *Oxidation Stability of Breadsticks*. Sited by VELP Scientifica.4p.

[6]. Gu, l., M.A. Kelm, J.F. Hammerstone, Ze, Zhang, G. Beecher, J. Holden, D. Haytowitz R.L. Prior. 2003. Liquid chromatographic/electrospray ionization. mass spectrometric studies of procyanidins in foods. *J.of MASS Spectrometry*. 38: 1272-1280.

[7]. Hagerman, Ann E., K.M. Riedl, G.A. Johes, K.N. Sovik, N.T. Ritchard, P.W. Hartzheld, T.L. Riechel. 1998. High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *J. Agric. Food Chem*. 46: 188-1892.

[8]. Luengthanaphol, S., D. Mongkholkhajornsilp, S. Douglas, P. L. Douglas, La-ied Pengsopa, S. Pongamphai. 2004. Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat preliminary experiments. J. of Food Engineering. 63: 247-252.

[9]. Meda, A., C.E. Lamien, M. Romito, J. Millogo and O.G. Nacoulma. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 91: 571-577.

[10]. Pokorny, J., N. Yanishlieva and M. Gordon. 2001. *Antioxidants in food: practical applications*. New York: CRC Press. 380 pp.

[11]. Siddhuraju, P. and K. Becker. 2007. The antioxidant and freeradical scavenging activities of processed cowpea (*Vignaunguiculata* (*L.*) *Walp.*) see extracts. *Food Chemistry*. 101: 10-19.

[12]. Singleton, V.l. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolies with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16(3): 144-158.

[13]. Sudjaroen Y, R. Haubner, G. Wurtele, W.E. Hull, G. Erben, B. Spiegllhalder, S. Changbumrung, H. Bartsch and R.W. Owen. 2005. Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica L.*) seeds and pericarp. *Food and Chemicel Toxicology*. 43: 1673-1682.

[14]. Tril, U., J., Fernandez-Lopez, J.A.P., Alvarez, M. Viuda-Martos. 2014. Chemical, physicochemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of rich-fibre powder extract obtained from tamarind (Tamarindus indica L.).*Industrial Crops and Products*. 55'155-162

[15]. Tsuda, T., K. Ohshima, A. Yamamoto, S. Kawakishi, T. Osawa. 1995. Antioxidative activity of tamarind extract prepared from the seed coat (Japanese). *J Japan SocforFood Sci Tech*. 42(6): 430-435.

[16]. WTO, Notification: G/SPS/N/EU/190/Add.1. 2017. *Proposed maximum residue limits (MRLs) for the following agricultural chemicals: Pesticide/feed additive: Etoxyquin*. 13 July 2017: http"//members.Wto.org/crnattachments/2017/SPS/EEC/17_2662_00_e.pdf

[17]. Xu, B. and S.K. Chang. 2007. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *J. Food Sci*. 72: 159-166.

[18]. Zhang, G.W., X.Q. Ma, J.Y. Su, K. Zhang, H. Kurihara, X.S. Yao and L.M. Zeng. 2006. Two newbioactive sesqutierpenes from the soft coral *Sinularia sp*. *J. of Natural Products*. 20: 659-664.

TASP 2019

TASP ICONC 2019

Certificate of Appreciation
Presented to

Pattanapong Thadtha

As
Presenter

The Best Oral Presentation

The 2nd International Conference on Tropical Animal Science and Production 2019
and
The 2nd International Conference on Native Chicken 2019

July 9-12, 2019
Surasammanakhan Hotel,
Nakhon Ratchasima, Thailand

Assoc. Prof. Dr. Pramote Paengkoum
Chairman of TASP 2019

Assoc. Prof. Dr. Amonrat Molee
Chairman of ICONC 2019

ด.ญ.พัฒนาพงษ์ ธัทธา

Volume II

TASP 2019

KORAT CHICKEN

ICONC 2019

ICONC 2019 TASP AND

"Integrated Approach in Advanced Animal Technology and Innovation in the Tropics"

"New Technology for Innovation and Synchrotron Applications"

The 2nd International Conference on Tropical Animal Science and Production (TASP 2019)

The 2nd International Conference on Native Chicken (ICONC 2019)

July 9-12, 2019
Surasammanakhan Hotel
Nakhon Ratchasima, Thailand

Jointly organized by

ISBN: 978-974-533-745-9

KORAT CHICKEN

ICONC 2019

Volume II

Proceedings

The 2nd International Conference on Tropical Animal Science and Production (TASP 2019)
&
The 2nd International Conference on Native Chicken (ICONC 2019)

"Integrated Approach in Advanced Animal Science and Innovation Technology"

July 9-12, 2019
Surasammanakhan Hotel, Thailand

Jointly organized by:

- Suranaree University of Technology
- Synchrotron Light Research Institute
- Rajamangala University of Technology Isan
- Khon Kaen University
- Research and Development Network Center for Animal Breeding (Native Chicken)
- Thailand Science Research and Innovation
- Department of Livestock Development
- Shinshu University
- Vietnam National University of Agriculture
- Hue University

List of Reviewers

Assoc. Prof. Dr. Surintorn Boonanuntanasarn	Suranaree University of Technology
Assoc. Prof. Dr. Amonrat Molee	Suranaree University of Technology
Asst. Prof. Dr. Sutisa Khempaka	Suranaree University of Technology
Asst. Prof. Dr. Wittawat Molee	Suranaree University of Technology
Asst. Prof. Dr. Samorn Ponchunchoovong	Suranaree University of Technology
Asst. Prof. Dr. Pipat Lounglawan	Suranaree University of Technology
Asst. Prof. Dr. Pakanit Kupittayanant	Suranaree University of Technology
Dr. Satoshi Kubota	Suranaree University of Technology
Dr. Chatsirin Nakharuthai	Suranaree University of Technology
Dr. Jaksuma Pongsetkul	Suranaree University of Technology
Assoc. Prof. Dr. Songsak Chumpawadee	Mahasarakham University
Asst. Prof. Dr. Chalermpon Yuangklang	Rajamangala University of Technology Isan
Asst. Prof. Dr. Kraisit Vasupen	Rajamangala University of Technology Isan
Dr. Siwaporn Paengkoum	Nakhon Ratchasima Rajabhat University
Assoc. Prof. Dr. Anut Chantiratikul	Mahasarakham University
Assoc. Prof. Dr. Wanwisa Ngampongsai	Prince of Songkla University
Dr. Nattiya Chumnanka	Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus
Asst. Prof. Dr. Boontarika Thongdonphum	Rajamangala University of Technology Thanyaburi (Ragsit Center)
Asst. Prof. Dr. Kednapat Sriphairoj	Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Camus
Asst. Prof. Sittichai Hatachote	Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Camus
Asst. Prof. Dr. Chanathip Thammakarn	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Asst. Prof. Dr. Jamlong Mitchaothai	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Asst. Prof. Dr. Chaiyapas Thamrongyoswittayakul	Khon Kaen University
Asst. Prof. Dr. Jatsada Jiwaganon	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Dr. Woraphon Angvanich	Mahasarakham University
Dr. Pascal Mermillod	National Institute of Agronomical Research, France

Proceeding of The 2nd International Conference on Tropical Animal Science and Production 2019 (TASP 2019) & The 2nd International Conference on Native Chicken 2019 (ICONC 2019): Volume II: 119 pages.

First Edition: 200 books

ISBN: 978-974-533-745-9

Year 2019

LERDSILP PRINTING

336 Suranaree Sub-district, Muang Nakhon Ratchasima District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

PUBLISHED BY

Suranaree University of Technology, 111 University Avenue, Sub-district, Muang Nakhon Ratchasima District, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

The individual contributions in this publication and any liabilities arising from them remain the responsibility of the authors.

The publisher is not responsible for possible damages, which could be a result of content derived from this publication.

Polymorphism in promoter of prolactin gene in Luenghangkhaokabin chickens

P. Thadtha[1,*], D. Boonmak[1], S. Phukhae[1], S. Karuhadej[2], and T. Chormai[2]

[1]Division of Animal Science, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12130, Thailand
[2]Poultry Research and Development Center, Department of Livestock Development, Prachinburi 25110, Thailand

Abstract

Luenghangkhaokabin is one of four established indigenous chicken breeds of Thailand. It was developed by the Poultry Research and Development Center, Department of Livestock Development, located in Kabinburi district, Prachinburi province, Thailand. Luenghangkhaokabin plays an important role in rural areas of Thailand both economic and cultural aspects. The aim of this study was to apply genotyping techniques in selection of economically important traits of Luenghangkhaokabin. The breeding stock was raised at the Poultry Research and Development Center. Productive performances were recorded and blood samples were collected in EDTA tubes. Genomic DNA was extracted using organic extraction method. The selected DNA markers were genotyped and analyzed. The genotyping results will be applied in the breeding stock in order to increase productive performances.

Keywords: Luenghangkhaokabin chickens, polymorphism, prolactin gene promoter

*Corresponding author: pattanapong_t@exchange.rmutt.ac.th

- IFO00216 -

Polymorphism in promoter of prolactin gene in Luenghangkhaokabin chickens

P. Thadtha[1*], D. Boonmak[1], S. Phukhae[1], S. Karuhadej[2], and T. Chormai[2]

[1]Division of Animal Science, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12130, Thailand
[2]Poultry Research and Development Center, Department of Livestock Development, Prachinburi 25110, Thailand

Abstract

Luenghangkhaokabin is one of four established indigenous chicken breeds of Thailand. It was developed by the Poultry Research and Development Center, Department of Livestock Development, located in Kabinburi district, Prachinburi province, Thailand. Luenghangkhaokabin plays an important role in rural areas of Thailand both economic and cultural aspects. The aim of this study was to apply genotyping techniques in selection of economically important traits of Luenghangkhaokabin. The breeding stock was raised at the Poultry Research and Development Center. Productive performances were recorded and blood samples were collected in EDTA tubes. Genomic DNA was extracted using organic extraction method. The selected DNA markers were genotyped and analyzed. The genotyping results will be applied in the breeding stock in order to increase productive performances.

Keywords: Luenghangkhaokabin chickens, polymorphism, prolactin gene promoter

*Corresponding author: pattanapong_t@exchange.rmutt.ac.th

Introduction

Indigenous chickens play an important role in rural areas of Thailand both economic and cultural aspects (Choprakarn and Wongpichet, 2007). There are several native chicken varieties known to Thai folklores. However, there are limited numbers of characterized indigenous breeds. Luenghangkhaokabin is one of four established indigenous chicken breeds of Thailand. It was developed by the Poultry Research and Development Center, Department of Livestock Development, located in Kabinburi district, Prachinburi province, Thailand. The aim was to conserve breed standards and genetic diversity.

Recently, several genetic studies of Thai native chikens have been reported (Mekchay *et al.*, 2006; Dorji *et al.*, 2011). These reports state the importance of genetic diversity and sustainable uses of these indigenous breeds. However, there are limited genetic studies in Luenghangkhaokabin, especially economically important traits. Egg production traits are heritable with many candidate genes concerned. Cui *et al.* (2006) reported the association of polymorphism

in promoter of prolactin gene with egg production traits. They identified the insertion of 24-bp sequence in the prolactin promoter. Chickens with 24-bp insertion are associated with higher egg production than the deletion allele (Jiang *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2006). The objective of this work was to genotype the insertion/deletion allele at the promoter of prolactin gene in the Luenghangkhaokabin population.

Materials and Methods

The pedigree Luenghangkhaokabin chickens were kept at the Poultry Research and Development Center, Kabinburi district, Prachinburi province. The productive performances were recorded and blood samples were collected in blood collection tubes containg EDTA as anticoagulant. Genomic DNA was extracted from blood samples using standard organic extraction method. DNA quantity and quality were determined using spectrophotometer. PCR amplification of 130-bp/154-bp fragment of prolactin gene was carried out in 50 µl reactions containing 100 ng genomic DNA, 0.2 µM of each primer, 1.5 mM $MgCl_2$, 200 µM of each dNTP (dATP, dTTP, dCTP, and dGTP), and 2.5 units HotStarTaq DNA polymerase (Cat. No. 203443, Qiagen). PCR cycling programs were as follows: 15 min at 95 °C (initial activation step to activate HotStarTaq DNA Polymerase); 35 cycles of 94 °C for 30 s (denaturation), 54 °C for 30 s (annealing), and 72 °C for 30 s (extension), and a final extension at 72 °C for 5 min (Cui *et al.*, 2006). The sequences of primers were as follows: forward 5'-TTTAATATTGGTGGGTGAAGAGACA-3' and reverse 5'-ATGCCACTGATCCTCGAAAACTC-3' (Cui *et al.*, 2006). The PCR products were separated in 3% agarose gel staining with ethidium bromide (0.5 µg/ml). DNA bands were observed using UV transiluminator. The allele and genotype frequencies were calculated by direct counting.

Results and Discussion

The summary of phenotypic records of Luenghangkhaokabin is presented in Table 1. This flock represented the 14th generation of pedigree breeding population. The average values of phenotypic records were as follows: birth weight was 32 g; body weight at 8, 16, and 24 weeks were 715, 1,301, and 1,884 g, respectively; age at first egg was 29 weeks; body weight at first egg was 1,952 g; weight of first egg was 38 g; and total egg number was 84 eggs.

The genotypes of Luenghangkhaokabin were determined using PCR method. The alleles were also sequenced (data not shown). Twenty pedigree Luenghangkhaokabin were analyzed and the frequency of insertion allele was 0.15. The genotype frequencies of insertion/insertion, insertion/deletion, and deletion/deletion were 0.05, 0.2, and 0.75, respectively. The DNA bands of these geneotypes are shown in figure 1.

Table 1. Summary of phenotypic records of Luenghangkhaokabin

Performance	Minimum	Maximum	Average
Birth weight (g)	25	36	32 ± 2.8
Body weight at 8 weeks (g)	518	906	715 ± 78.1
Body weight at 16 weeks (g)	1,010	1,600	1,301 ± 129.6
Body weight at 24 weeks (g)	1,500	2,300	1,884 ± 154.9
Age at first egg (weeks)	27	31	29 ± 1.0
Body weight at first egg (g)	1,500	2,500	1,952 ± 203.1
Weight of first egg (g)	27	49	38 ± 3.9
Egg number	15	179	84 ± 34.3

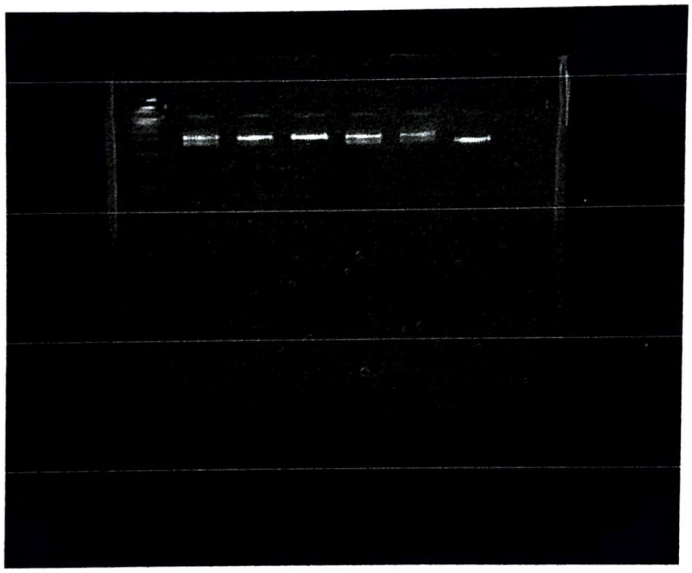


Figure 1. Gel picture of PCR products. Lane 1: 50bp DNA ladder; Lane 2, 3, 5, 6: insertion/deletion genotypes (154 bp/130 bp); Lane 4: insertion/insertion genotype (154 bp); and Lane 7: deletion/deletion genotype (130 bp).

The frequency of insertion allele that associated with higher egg production in this population was quite low. This finding was similar to other reports in native chickens (Jiang *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2006) and Silkie fowl (Rahman *et al.*, 2014). The strategies that can increase the frequency of insertion allele in Luenghangkhaokabin population may benefit the improvement of egg production traits.

Acknowledgments

This project was financially supported by a grant from the National Research Council of Thailand (Project No. 220416).

References

Choprakarn, K., and K. Wongpichet. 2007. Village chicken production systems in Thailand. International Conference on Poultry in the 21th century: Avian influenza and beyond. http://www.fao.org/AG/AGAInfo/home/events/bangkok2007/docs/part3/3_5.pdf Accessed 9 May 2019.

Cui, J. X., H. L. Du, Y. Liang, X. M. Deng, N. Li, and X. Q. Zhang. 2006. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production. Poult. Sci. 85: 26-31.

Dorji N, Daungjinda M, Phasuk Y. 2011. Genetic characterization of Thai indigenous chickens compared with commercial lines. Trop. Anim. Health Prod. 43(4): 779-785.

Jiang, R., Xu, G., Zhang, X. & Yang, N. 2005. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. Poult. Sci. 84, 839-845.

Mekchay, S., P. Pongpaichan, A. Leotaragul, and P. Krutmuang. 2006. Identification of differentially expressed genes in Thai native and broiler chicken muscles. Bull. Facul. Agric. Niigata Univ. 58(2):147-150.

Rahman, MD. M., R. Matsuda, T. Matsuda, Y. Nishiyama, K. Jozaki, K. Anann, and Y. Wada. 2014. Relationship between the production traits and three candidate genes in the prolactin's In/Del x In/Del population of Silkie fowl. J. Poult. Sci. 5:138-143.

CIOD 2020

Conference of Industrial Operations Development

CIOD 2020

บทความฉบับสมบูรณ์

การประชุมวิชาการด้านการดำเนินงานทางอุตสาหกรรมแห่งชาติ ครั้งที่ 11

The 11th National Conference of Industrial Operations Development 2020

วันศุกร์ที่ 1 พฤษภาคม 2563

ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ คณะวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

อ. ชาติชาย

ผลของการให้ความร้อนไข่ฟักก่อนการเก็บรักษาต่อการฟักออกและคุณภาพของลูกไก่

Effect of Heat Treatment of Hatching Eggs before Storage on Hatchability and Chick Quality

ชาติชาย โยเหลา[1] กิตติพร สังข์ศร[1] ธัญญาเรศ ม้าแก้ว[1]
สุจิตรา เชษฐาพรรณรังสี[1] และสมจิตร ถนอมวงศ์วัฒนะ[1]*
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี 12130
E-mail: somjit_t@rmutt.ac.th*

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบวิธีให้ความร้อนไข่ฟักก่อนการเก็บรักษาต่อการฟักออกและคุณภาพลูกไก่ โดยแบ่งไข่ฟักออกเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 4,800 ฟอง กลุ่มที่หนึ่งเก็บรักษาที่อุณภูมิ18 °C (กลุ่มควบคุม) ส่วนกลุ่มที่ 2 ให้ความร้อนที่ 37.8 °C; 90%RH นาน 6 ชั่วโมง แล้วเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนที่จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ18-21°C ทำการกลับไข่ฟักวันละ 2 ครั้ง (เช้า/เย็น) เป็นเวลา10 วัน จากนั้นนำไข่เข้าฟักในตู้ฟักชนิด Single stage ผลการทดลองพบว่า ไข่ฟักที่ให้ความร้อนก่อนการเก็บรักษามีเปอร์เซ็นต์ไข่ตายโคม การฟักออก และคุณภาพลูกไก่ดีกว่าไข่ฟักที่เก็บรักษาแบบปรกติ มีค่าเท่ากับ 4.42 84.29 และ 81.54 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับ 4.47 82.04 และ 76.85 เปอร์เซ็นต์ในไข่ฟักกลุ่มควบคุมตามลำดับ การเก็บรักษาไข่ฟักโดยให้ความร้อน ความชื้น และระยะเวลาที่เหมาะสมจึงเป็นวิธีที่น่าสนใจในการนำไปประยุกต์ในการฟักไข่ระดับอุตสาหกรรม

คำสำคัญ : การให้ความร้อนไข่ฟัก อัตราการฟักออก คุณภาพลูกไก่

Abstract

This experiment aim to compare heat treatment of hatching eggs prior to storage on hatchability and quality of chicks. Nine thousand six hundred hatching eggs from COBB 500 were divided into two groups. Each group was 4,800 hatching eggs. The first group was placed at a temperature at 18 oC (control group). Another group of hatching eggs was kept at a temperature at 37.8 °C with 90% humidity for 6 hours before transfer to cool down at the room temperature for 3 hours prior moved to storage room at 18-21 °C for 10 days. Both groups of eggs were turned in the setter trolley twice each day. Then, the experimental eggs were set in a single stage machine for hatching. The results showed that eggs incubated for preheating, egg spoiled while being incubated, hatching and chicks quality were better than those of conventional hatching eggs with 4.42, 84.29 and 81.54 percent, respectively, compared to 4.47, 82.04 and 76.85 percent in control group, respectively. Storage of eggs hatched by heating, moisture, and the right timing is an interesting way to apply hatching eggs to the industry.

Keywords: heat treatment, hatchability, chick quality

1. บทนำ

การฟักเป็นกิจกรรมต้นน้ำที่มีความสำคัญและมีผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกของประเทศเป็นอย่างยิ่ง วิธีปฏิบัติของสถานประกอบการโรงฟักไข่ทั่วไปจะมีการรับไข่ฟักมาจากฟาร์มไก่พ่อ-แม่พันธุ์เป็นประจำทุกวัน โดยไข่ฟักที่รับมาจะต้องได้รับการตรวจสอบคุณภาพก่อนนำไปเก็บรักษาภายในห้องเย็นเก็บไข่ก่อนนำเข้าฟัก แต่ปัญหาที่พบในทางปฏิบัติคือไข่ฟักที่รับมาจากฟาร์มมีปริมาณมาก จึงต้องถูกเก็บรักษาไว้ภายในห้องเย็นก่อน จากนั้นจึงจะนำเข้าฟักตามโปรแกรมการฟักไข่ ทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักออกต่ำลงตามระยะเวลาที่เก็บรักษาที่นานขึ้น [1] การนำไข่ฟักที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิของตู้ฟักมาก ๆ เข้าฟักทันทีจะทำให้การฟักออกของลูกไก่ช้าและมีผลต่อคุณภาพของลูกไก่ ดังนั้น การปรับอุณหภูมิไข่ฟักจากอุณหภูมิในห้องเก็บไข่ที่ 18 °C สู่อุณหภูมิตู้ฟักควรทำการอุ่นไข่ให้อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 23-28 °C เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมงก่อน เพื่อไข่ฟักคลายความเย็นและทำให้อุณหภูมิที่ผิวฟองไข่ฟักเพิ่มขึ้นเท่า ๆ กับอุณหภูมิห้องที่ทำการอุ่นไข่ [2] รายงานว่าไข่ฟักที่เก็บรักษาไว้นานขึ้นจะทำให้อัตราการฟักออกต่ำลง อัตราการตายของตัวอ่อนทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 10.7 เปอร์เซ็นต์ ในไข่ที่เก็บรักษาไว้ 4 วัน เป็น 27.7 เปอร์เซ็นต์ในไข่ฟักที่ถูกเก็บรักษาไว้ 14 วัน [3] การให้ความร้อนและความชื้นสัมพัทธ์ไข่ฟักที่ 32°C และ 55-60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นเวลา 6 ชั่วโมงก่อนการเก็บรักษาภายในห้องเย็นเก็บไข่จะช่วยลดอัตราการตายของตัวอ่อนระยะแรกได้ ทำให้ไข่ฟักมีอัตราการฟักออกดีขึ้น และทำให้ลูกไก่มีความสมบูรณ์ของร่างกายดีกว่าลูกไก่จากไข่ฟักที่ไม่มีการให้ความร้อนก่อนการเก็บรักษา [4] กล่าวว่า เมื่อตัวอ่อนมีการพัฒนาจนถึงระยะ gastrula จะเกิดเนื้อเยื่อต่าง ๆ ขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การฟักออกสูงขึ้น แต่ข้อมูลผลการศึกษายังไม่ถูกนำมาใช้ในภาคปฏิบัติในการฟักไข่ระดับอุตสาหกรรม ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของวิธีการจัดการไข่ฟักก่อนการเก็บรักษาต่อการฟักออกและคุณภาพของลูกไก่เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความมั่นใจยิ่งขึ้นต่อการนำไปปรับใช้ในภาคอุตสาหกรรมต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 อุปกรณ์

2.1.1 ไข่ฟักน้ำหนัก 58-80 กรัม จากฝูงพ่อ-แม่ไก่สายพันธุ์ COBB 500 อายุ 53 สัปดาห์ จำนวน 9,600 ฟอง

2.1.2 ตู้ฟักไข่แบบ Single – stage (Petersime รุ่น Bio-streamer 24 S)

2.1.3 รถบรรจุไข่ฟักจำนวน 2 คัน ขนาด 32 ชั้น บรรจุไข่ฟักคันละ 4,800 ฟอง

2.1.4 ถาดบรรจุไข่ฟักจำนวน 64 ถาด บรรจุไข่ฟักถาดละ 150 ฟอง

2.1.5 เครื่องย้ายไข่ฟักระบบสูญากาศ ความสามารถในการย้ายไข่ครั้งละ 150 ฟอง

2.1.6 รถบรรจุไข่เกิดจำนวน 2 คัน ขนาด 32 ชั้น บรรจุไข่ฟักคันละ 4,800 ฟอง

2.1.7 ถาดบรรจุไข่เกิดจำนวน 64 ถาด บรรจุไข่ฟักถาดละ 150 ฟอง

2.1.8 ตู้เกิดแบบ Single–stage (Petersime รุ่น Bio-streamer 8 H. ขนาดความจุไข่ฟักจำนวน 19,200 ฟอง/ตู้

2.2 วิธีการ

2.2.1 การเตรียมไข่ฟัก

2.2.1.1 นำไข่ฟักจากฟาร์มพ่อ-แม่พันธุ์ จำนวน 3 โรงเรือน มาคัดเลือกคุณภาพทางกายภาพตามมาตรฐานที่บริษัทกำหนด

2.2.1.2 แบ่งไข่ฟักที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 9,600 ฟองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่จะให้ความร้อน(อุ่น)ก่อนการเก็บรักษา และกลุ่มที่จะเก็บรักษาแบบปรกติ (กลุ่มควบคุม)

2.2.1.3 บรรจุไข่ฟักแต่ละกลุ่มลงในถาดบรรจุไข่ฟักกลุ่มละ 32 ถาด จากนั้นนำไปเรียงบนชั้นของรถไข่ฟักเพื่อรอการอุ่นไข่และเก็บเก็บรักษาตามวิธีที่กำหนด การจัดเรียงไข่ฟักบนชั้นวางถาดไข่ของรถไข่ฟักแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การจัดเรียงไข่ฟักบนชั้นวางถาดไข่ของรถไข่ฟัก

โรงเรือน	จำนวนถาดไข่ฟักบนรถฟักไข่ (ถาด		
	อุ่นก่อนเก็บรักษา	เก็บรักษาปรกติ	จำนวนไข่ฟัก (ฟอง/คัน)
1	10	10	1500
2	11	11	1650
3	11	11	1650

2.2.1.4 นำรถไข่ฟักกลุ่มที่ 1 เข้าตู้ฟักเพื่อให้ความร้อนที่ 37.8 องศาเซลเซียส และความชื้น 94 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในขณะที่ไข่ฟักกลุ่มที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องปรกติ

2.2.1.5 นำรถไข่ฟักทั้ง 2 กลุ่มเข้าเก็บรักษาภายในห้องเก็บไข่ฟักที่อุณหภูมิ 18-21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน โดยในระหว่างการเก็บรักษานี้ทำการกลับไข่ทุกวัน ๆ ละ 2 ครั้ง (เช้า/เย็น)

2.2.2 การนำไข่ฟักเข้าตู้ฟัก

นำรถไข่ฟักออกจากห้องเก็บรักษา พักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าตู้ฟักและปิดประตูตู้ฟัก ระบบเครื่องฟักไข่จะทำงานและมีการกลับไข่โดยอัตโนมัติ ตรวจสอบการทำงานของตู้ฟักทุก ๆ 1 ชั่วโมง เป็นเวลา 19 วัน จากนั้นย้ายไข่ฟักออกจากตู้ฟักไปยังห้องตรวจการเจริญของตัวอ่อนในไข่ฟัก (ห้องส่องไข่) เพื่อคัดเลือกไข่ที่ไม่มีเชื้อออก ก่อนการนำไข่ฟักเข้าตู้เกิดต่อไป

2.2.3 การตรวจสอบการเจริญของตัวอ่อนในไข่ฟัก

2.2.3.1 ปิดสัญญาณระบบแจ้งเตือน (ALARM) ของตู้ฟัก และเปิดไฟแสงสว่างภายในตู้ฟักพร้อมทั้งเปิดประตูตู้ฟักเพื่อให้ระบบการทำงานของตู้หยุดการทำงาน จากนั้นย้ายรถไข่ฟักออกจากตู้ฟักไปยังห้องย้ายไข่ฟัก

2.2.3.2 เปิดเครื่องย้ายไข่ฟักสูญากาศ เปลี่ยนถาดไข่และเปิดเครื่องส่องไข่ พร้อมพร้อมทั้งปิดไฟแสงสว่างภายในห้องย้ายไข่

2.2.3.3 ตรวจการเจริญของเชื้อไข่ฟัก (ส่องไข่) โดยนำถาดบรรจุไข่ฟักวางลงบนเครื่องส่องไข่ ให้ไข่ฟักทุกฟองอยู่ตรงกับช่องของเครื่องที่มีแสงสว่างส่องผ่าน ทำการคัดทิ้งไข่ฟักที่แสงสว่างส่องผ่านได้ทั่วฟองและมองเห็นเป็นสีแดงโปร่งแสง ซึ่งแสดงถึงไข่ไม่มีเชื้อ

2.2.4 การนำไข่เข้าตู้เกิด

ไข่ฟักที่ผ่านการตรวจสอบการเจริญของตัวอ่อนถูกนำไปเรียงบนถาดเกิดลูกไก่ด้วยระบบการเปลี่ยนถาดอัตโนมัติ จากนั้นนำถาดไข่เกิดลูกไก่ไปจัดวางลงในรถตู้เกิดก่อนนำเข้าตู้เกิดซึ่งควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นอยู่ระหว่าง 36.5-36.7 องศาเซลเซียส และ 82-89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ควบคุมการระบายอากาศที่ 10-100 เปอร์เซ็นต์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 0.35 เปอร์เซ็นต์ รมควันฆ่าเชื้อไข่ฟักอีกครั้งในวันที่ 20 ของการฟักไข่ เพื่อฆ่าเชื้อลูกไก่แรกเกิด

2.2.5 การจัดการลูกไก่แรกเกิด

ย้ายลูกไก่แรกเกิดออกจากตู้เกิด จากนั้นคัดแยกลูกไก่ที่มีคุณภาพและลูกไก่คัดทิ้งออกจากกัน เพื่อจัดการ และรอการส่งจำหน่ายต่อไป

2.3 การบันทึกข้อมูล

2.3.1 ความสามารถในการฟักออกของไข่ฟัก ได้แก่ จำนวนไข่ลม ไข่เสียหาย ไข่ตายโคม และไข่เน่า

2.3.2 จำนวนลูกไก่ที่มีคุณภาพ ได้แก่ ลูกไก่ที่มีร่างกายสมบูรณ์ แข็งแรง ร่าเริงแจ่มใส กระตือรือร้น สนใจสิ่งแวดล้อม และ แข้งมีสีชมพูอ่อน

2.3.3 จำนวนลูกไก่คัดทิ้ง ได้แก่ ลูกไก่ไม่ร่าเริง แข้งเหี่ยว ข้อแดง สะดือดำ สะดืออักเสบ ท้องป่อง และร่างกายพิการ เช่น คอบิด คอแหงน ปากเบี้ยว ตาบอด เป็นต้น

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ค่าร้อยละของค่าบ่งชี้ความสามารถในการฟักออกของไข่ฟักและคุณภาพของลูกไก่

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

การเปรียบเทียบการให้ความร้อนไข่ฟักก่อนการเก็บรักษา และการเก็บรักษาไข่ฟักแบบปรกติต่อการฟักออกและคุณภาพของลูกไก่ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 3 จะเห็นว่าไข่ฟักที่ให้ความร้อนก่อนการเก็บรักษาจะมีเปอร์เซ็นต์ของลักษณะที่ศึกษาดีกว่าไข่ฟักที่เก็บรักษาแบบปรกติทุกลักษณะ [5] รายงานว่าการให้ความร้อนไข่ฟักเป็นเวล 6 ชั่วโมง ก่อนการเก็บรักษาไข่ฟักจะช่วยลดระยะเวลาการฟักและช่วยลดอัตาการตายของตัวอ่อนระยะท้ายได้ ซึ่งเหมาะสมต่อการปรับใช้ในการฟักไข่ระดับอุตสาหกรรม ผลการทดลองครั้งนี้พบว่าการให้ความร้อนก่อนการเก็บรักษาไข่ฟัก ส่งผลให้ไข่ฟักมีเปอร์เซ็นต์เสียหายมากกว่าการเก็บรักษาแบบปรกติ ซึ่งเป็นผลมาจากขั้นตอนการย้ายไข่หรือการทำการส่องไข่ลมก่อนย้ายไข่ฟักไปยังตู้เกิด อย่างไรก็ตาม ไข่ฟักที่ให้ความร้อนก่อนการเก็บรักษามีเปอร์เซ็นต์การฟักออกและเปอร์เซ็นต์ลูกไก่ที่ได้คุณภาพใกล้เคียงกับค่ามาตรฐาน (COBB 500, 2013)

ตารางที่ 3 ผลของวิธีเก็บรักษาต่อคุณภาพไข่ฟักและลูกไก่

ลักษณะที่ศึกษา (%)	วิธีการเก็บรักษาไข่ฟัก			
	มาตรฐาน[1]	ปรกติ	ให้ความร้อน	ผลต่าง
ไข่ลม	8.85	9.22	8.39	0.83
ไข่เสียหาย	1.15	1.62	1.85	0.23
ไข่ตายโคม	4.47	5.47	4.42	1.05
ไข่เน่า	0.50	1.62	1.04	0.58
การฟักออก	85.04	82.04	84.29	2.25
ลูกไก่คัดทิ้ง	2.10	5.19	2.75	2.44
ลูกไก่คุณภาพ	82.94	76.85	81.54	4.69

[1] มาตรฐานสายพันธุ์ COBB 500 (2013)

[6] รายงานว่าเมื่อตัวอ่อนพัฒนาถึงระยะ hypoblast ที่สมบูรณ์ไข่ฟักจะมีความต้านต่อการเก็บรักษามากที่สุด แต่ปัญหาที่มักพบเสมอคือแม่ไก่ที่อายุน้อยจะให้ไข่จำนวนมากและไข่จะพัฒนาถึงช่วง Pre-gastrula ซึ่งเป็นระยะที่อ่อนเกินไปที่จะเก็บรักษาเพื่อรอการเข้าฟัก การให้ความร้อนในระยะเวลาที่เหมาะสมแก่ไข่ฟักก่อนการเก็บรักษาจะช่วยพัฒนาตัวอ่อนของไข่ฟักเข้าสู่ระยะ hypoblast ดังนั้น การให้ความร้อนแก่ไข่ฟักในช่วงที่แม่ไก่ให้ไข่จำนวนมากซึ่งไม่สามารถเข้าตู้ฟักได้ทันทีจึงทำให้การฟักออกดีขึ้นและทำให้ได้ลูกไก่ที่คุณภาพดีขึ้นเมื่อเทียบกับการเก็บรักษาแบบปรกติ [7] หลังจากการวางไข่ ตัวอ่อนจะพัฒนาต่อไปอีกเล็กน้อย เพื่อทำตัวเองมีชีวิตรอดหลังจากการเก็บรักษานานขึ้น จากการศึกษาการอุ่นไข่ฟักเป็นเวลา 6 ชั่วโมงก่อนการเก็บรักษาจะช่วยปรับปรุงการฟักของไข่ที่เก็บไว้ 14 วันได้ดีกว่าไข่ฟักที่เก็บรักษาแบบปรกติ ในขณะที่มีบางรางานแนะนำว่าการอุ่นไข่น้อยกว่า 6 ชั่วโมง จะทำให้ตัวอ่อนซ่อมแซมเซลล์และลดอัตราการตายของเซลล์ได้เมื่อมีระยะการเก็บรักษาที่ยาวนานออกไป จากรายงานผลการศึกษาในครั้งนี้และรายงานอื่น ๆ ที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า การให้ความร้อนไข่ฟักที่อุณหภูมิความชื้นและระยะเวลาที่เหมาะสม สามารถเพิ่มการฟักออกของไข่ฟักและเพิ่มคุณภาพลูกไก่ได้

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุป

4.1.1 การให้ความร้อนก่อนการเก็บรักษาไข่ฟัก ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ไข่ลม ไข่ตายโคม ไข่เน่า และลูกไก่คัดทิ้งต่ำกว่าการเก็บรักษาไข่ฟักแบบปรกติ

4.1.2 การให้ความร้อนไข่ฟักก่อนการเก็บรักษาทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักออกทั้งหมดของไข่ฟักและลูกไก่ที่มีคุณภาพสูงกว่าไข่ฟักที่เก็บรักษาแบบปรกติ2.25 และ 4.69 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

4.2 ข้อเสนอแนะ

การให้ความร้อนไข่ฟักก่อนนำไปเก็บรักษาในห้องเย็นเก็บไข่ฟักช่วยให้การฟักออกของไข่ฟักและคุณภาพลูกไก่ดีกว่าการเก็บรักษาแบบปกติ ดังนั้น รูปแบบการให้ความร้อนที่สะดวกและเหมาะสมในทางปฏิบัติควรจึงควรได้รับการศึกษาต่อไป

5. เอกสารอ้างอิง

1 มานิตย์ เทวรักษ์พิทักษ์. 2538. การฟักไข่และการจัดการโรงฟัก. ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

2 M. A. Elmenawey. 2019. Effect of Heat Treatment During Hatching Eggs Storage on Hatchability Traits and Chick Quality. Egypt. Poult. Sci. Vol. 39, No. 4, pp.791-808.

3 G.M Fasenko,., V.L. Christensen, M.J. Wineland, and J.N. Petitte. 2001. Examining the Effects of Prestorage Incubation of Turkey Breeder Eggs on Embryonic Development and Hatchability of Eggs Stored for Four or Fourteen Days. Poult. Sci. 80:132–138.

4 สุชาดา บุญพิทักษ์. 2012. การเจริญเติบโตในระยะเอ็มบริโอของสัตว์ (ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก:
https://sites.google.com/site/bio411rnd/time-tracker

5 FHA, Silva. Faria, DE. Torres, KAA. Faria Filho, DE. Coelho, AAD. and Savino VJM. Influence of Egg Pre-storage Heating Period and Storage Length on Incubation Results. Brazilian Journal of Poultry Science. Vol.10, No.1, Jan - Mar 2008, pp 17-22.

6 L, JanikoviČová. DemČišáková, Z. Luptáková, L and Petrovová, E. Pre-incubation and It's Effect on the Development and Malinformation of the Chick Embryo FOLIA VETERINARIA, Vol. 63, No.1, 2019. pp 24-31.

7 Dinah Nicholson, Nick French, Steve Tullett, Eddy van Lierde and Guo Jun. Short Periods of Incubation During Egg Storage – SPIDES. Lohmann Information. Vol. 48, No, 2. Oct. 2013, pp. 51-61

อ. เชียงอุทัย

Proceedings

Academic Science & Technology Conference

ASTC 2017

การประชุมวิชาการระดับชาติ
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ ๕

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0

การใช้สารแซนโทนจากเปลือกมังคุดร่วมกับว่านชักมดลูกเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคมดลูกอักเสบในสุกร

Using the Extract Xanthones from Mangosteen with Extracts from Comosa for Inhibit Pathogenic Metritis Bacteria in Swines

เธียรอุทัย ศิริประเสริฐ, อชิรา ผดุงฤกษ์*, กชกร ฤทธาพรม, น้ำตาล บุญเทียม และรติพร สิงหะหล้า
Thianuthai S., Achira P.*, Kotchakorn R., Namtan B. and Ratiporn S.
คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
*ผู้ประสานงานหลัก อีเมล: achi184@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้แบ่งเป็น 2 การทดลอง โดยที่การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด จำนวน 6 ระดับ คือ 0, 5, 7.5, 10, 12.5 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดสอบการประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ เชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบในสุกร พบว่าระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทน จากเปลือกมังคุดระดับที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ เชื้อ *Escherichia coli* ได้ดีกว่าระดับอื่นเมื่อเทียบกับขนาดการเกิดเคลียร์โซนของระดับอื่น คือมีขนาดเคลียโซเท่ากับของเชื้อทั้งสองเท่ากับ 16.70 มิลิเมตร และ 13.10 มิลิเมตร ตามลำดับ ($P > 0.05$) การทดลองที่ 2 เป็นการศึกษากาใช้สารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดร่วมกับว่านชักมดลูกในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อทำการทดสอบการยับยั้ง เชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบในสุกร เมื่อนำระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด ระดับที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ร่วมกับสารสกัดว่านชักมดลูกโดยมีว่านชักมดลูก จำนวน 5 ระดับ คือ 0, 25, 50, 75, และ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมียาปฏิชีวนะ Amoxicillin เป็นกลุ่มควบคุม อัตราส่วนว่านชักมดลูกในอัตราส่วนที่ 25 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริมว่านชักมดลูก และกลุ่มควบคุม คือมีขนาดเคลียโซนในเชื้อ *Staphylococcus aureus* 18.5 มิลิเมตร 18.65 มิลิเมตร และ 25.75 มิลิเมตร ตามลำดับ และมีขนาดเคลียโซนในเชื้อ *Escherichia coli* 12.00 มิลิเมตร 12.25 มิลิเมตร และ 22.10 มิลิเมตร ตามลำดับ ($P > 0.05$) จึงสรุปได้ว่าระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด ระดับที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีสารสกัดว่านชักมดลูกเป็นส่วนผสม 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่ลดประสิทธิภาพการยับยั้งชื้อ และไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ใช้ยาปฏิชีวนะ

คำสำคัญ: สารแซนโทน ว่านชักมดลูก โรคมดลูกอักเสบ

Abstract

This study was consisted of 2 experiments. Experiments 1 studied the concentrations of xanthones from mangosteen extract of 6 levels are 0, 5, 7.5, 10, 12.5 and 15 milligrams per milliliter respectively. Used to test the performance inhibitors *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* which causes Metritis in swine. Found that concentrations of an extract xanthones from mangosteen at 15 milligrams per milliliter can inhibit *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* which is better than the other levels when compared with size of clear zone. There is no different value statistically significant ($P > 0.05$). The experiment 2 studied the best concentration of extract xanthones from eeperiment 1 combined with Comasa in different proportions. Used to test inhibition *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* which causes Metritis in swine. The extract xanthones from mangosteen at 15 milligrams per milliliter mixed with comosa in a ratio levels 25 percent can inhibit *Staphylococcus aureus* is better than the other levels when compared with size of clear zone. There is no different value statistically significant ($P > 0.05$). Ratio of Comosa 100 percent can inhibition of *Escherichia coli* is better

than the other levels when compared with size of clear zone. There is no different value statistically significant (P > 0.05).

Keywords : Xanthone Comasa Metritis

บทนำ

มดลูกอักเสบเป็นปัญหาที่สำคัญในการผลิตสุกร เนื่องจากโรคมดลูกอักเสบเกิดขึ้นได้ง่ายและพบได้เป็นจำนวนมาก วิธีการรักษาสามารถรักษาให้หายได้ในระยะเวลาสั้น แต่ไม่ สามารถรักษาให้หายขาดได้เพราะมักจะกลับมาเป็นอีก ผลกระทบที่ตามมาคือสุกรไม่เป็นสัด ผสมติดยาก ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ ผู้เลี้ยงต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มในการรักษา ทำให้ต้องเพิ่มต้นทุนการผลิต ทั้งยังเสียเวลาในการรอให้แม่สุกรกลับสัดอีกรอบ โดยมีสาเหตุส่วนหนึ่งมาจากการติดเชื้อภายในมดลูกซึ่งเชื้อที่ พบในมดลูกอักเสบ ส่วนมากจะเป็นแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Staphylococcus mutans* และ *Escherichia coil* โดยเชื้อแบคทีเรียจะเข้าไปเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ทำให้มีการอักเสบของเยื่อบุผนังมดลูกหลังคลอด (Endometritis) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดปัญหาที่สำคัญอย่างยิ่งซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุกรโดยตรงทำให้สูญเสียการผลิตและส่งผลต่อคุณภาพเนื้อสัตว์ เนื่องจากมีสารตกค้างจากยาปฏิชีวนะวะที่ใช้ในการรักษา เช่น เพนิซิลิน (Penicillin) เป็นต้น เพื่อเป็นการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อในมดลูก การใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาจะส่งผลทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียเกษตรจึงต้องเสียค่าใช่จ่ายในการรักษาจำนวนมาก จากการศึกษาข้อมูลสมุนไพรบางชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น เปลือกมังคุด ซึ่งมีความสำคัญที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและยังเป็นการใช้ประโยชน์จากเศษเหลือด้วย และสมุนไพรอีกหนึ่งชนิด คือ ว่านชักมดลูก ซึ่งมีคุณสมบัติ ออกฤทธิ์ทำลายฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งจะเป็นประโยชน์เมื่อใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด การทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาประสิทธิภาพการใช้สมุนไพรเพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถรักษามดลูกอักเสบได้ การนำมาใช้ในการเปรียบเทียบการเกิด clear zone ระหว่างยาปฏิชีวนะกับสมุน ไพรว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียก่อโรคมดลูกอักเสบ

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด ทั้งหมด 6 ระดับ เพื่อใช้ในการทดสอบการประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการศึกษาสกัดสารแซนโทนในเปลือกมังคุด เพื่อหาระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด 6 ระดับที่ 0, 5, 7.5, 10, 12.5 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบ โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อใช้ทดสอบความไวของสารสกัดแซนโทนและการวัดเคลียร์โซน จากนั้นบันทึกข้อมูลขนาดของเคลียร์โซนที่เกิดขึ้นใน *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ในระดับที่แตกต่างกันของสารแซนโทนในเปลือกมังคุดที่แตกต่างกันทั้ง 6 ระดับ

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดที่ดีที่สุดใช้ร่วมกับว่านชักมดลูกในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ เชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบ

ใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดในระดับที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 ร่วมกับสารสกัดว่านชักมดลูกในอัตราส่วน 5 ระดับ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) เพื่อใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบในสุกร โดยการเลี้ยงเชื้อ *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อระยะเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำมาวัดเคลียร์โซนด้วยการวัดโดยวิธีการวัด 4 ทิศทางผ่านจุดกึ่งกลางของกระดาษกรองแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยวิเคราะห์ผลระดับอัตราส่วนของการยับยั้งเชื้อ *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ในระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดและสารสกัดว่านชักมดลูกทั้ง 5 ระดับ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด ทั้งหมด 6 ระดับ เพื่อใช้ในการทดสอบการประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบ

การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด ทั้งหมด 6 ระดับ เพื่อใช้ในการทดสอบการประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *Staptococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบพบว่าการใช้สารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ เช่นเดียวกับ Mahabusarakam (1986) รายงานว่าสาร mangostin (แซนโทน) มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ปกติและ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่ต่อต้าน penicillin โดยค่า MIC 7.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองจะเห็นว่า (ตารางที่ 1) การเกิดขนาดเคลียโซนระดับความเข้มข้นสารสกัดแซนโทนที่ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (14.15 มิลลิเมตร) และ *Escherichia coli* (11.50 มิลลิเมตร) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการรายงานของ (Mahabusarakam, 1986) แต่ถ้าหากใช้ระดับความเข้มข้นสารสกัดแซนโทนที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (16.70 มิลลิเมตร) และ *Escherichia coli* (≈ 13 มิลลิเมตร) ได้ดีมากกว่าระดับอื่นเมื่อเปรียบเทียบขนาดการเกิดเคลียโซน

โดยระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (16.70 มิลลิกรัม) และ เชื้อ *Escherichia coli* (≈ 13 มิลลิเมตร)ได้ดีมากกว่าระดับอื่นเมื่อเปรียบเทียบการเกิดขนาดเคลียโซนซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) และระดับความเข้มข้นสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดระดับที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถใช้ร่วมกับว่าซักมดลูก ในการทดลองที่ 2 เพื่อดูการออกฤทธิ์เสริมเมื่อใส่ว่านซักมดลูกในอัตราส่วนต่างๆ สามารถยับยั้ง เชื้อ *Staphylococcus aureus* และ เชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบในสุกร

ตารางที่ 1 การเกิดเคลียโซนในเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ของความเข้มข้นของสารสกัดมังคุดในระดับความเข้มข้น 6 ระดับ

ขนาดเคลียโซน (mm)	ระดับความเข้มข้น (mg/ml)						CV	Pr > F
	0	5	7.5	10	12.5	15		
Staphylococcus ureus	0.00	14.15	12.50	13.10	16.60	16.70	40.30	0.094
Escherichia coli	10.55	11.50	13.40	11.80	9.20	13.10	24.80	0.287

การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดที่ดีที่สุด มาใช้ร่วมกับว่านซักมดลูกในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ เชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบ

จากการศึกษาการทดลองพบว่าการใช้สารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดในระดับที่ดีที่สุดใช้ร่วมกับว่านซักมดลูกในอัตราส่วนต่างๆ โดยระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดในระดับที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ใช้ร่วมกับว่าซักมดลูกเพื่อดูการออกฤทธิ์เสริมเมื่อใส่ว่านซักมดลูกในอัตราส่วน 5 ระดับสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ เชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอัก พบว่าระดับอัตราส่วนว่านซักมดลูกที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ สามารถยังยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (24.00 มิลลิเมตร)ได้ดีมากกว่าระดับอื่นเมื่อเปรียบเทียบการเกิดขนาดของเคลียโซน และอัตราส่วนของว่านซักมดลูกที่ ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถยังยั้งเชื้อ *Escherichia coli* (14.25 มิลลิเมตร) ได้ดีมากว่าระดับอื่น เมื่อเปรียบเทียบการเกิดขนาดของเคลียโซน แต่ไม่สามารถยับยั้งการเกิดขนาดเคลียโซนของ เชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้

โดยจากตารางที่ 2 พบว่าระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดระดับที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาใช้ร่วมกับว่านซักมดลูกในระดับอัตราส่วนต่างๆ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ พบว่าระดับอัตราส่วนว่านซักมดลูกที่ 25 เปอร์เซ็นต์ สามารถยังยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (26.40 มิลลิเมตร) ได้มากกว่าระดับอื่นเมื่อเปรียบเทียบขนาดการเกิดของเคลียโซน ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับระดับอัตราส่วนว่านซักมดลูกที่ 50 เปอร์เซ็นต์ 75 เปอร์เซ็นต์ และ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่มีอัตราส่วนของว่านซักมดลูกเพิ่มขึ้นเรื่อยๆส่งผลท้าให้แปลผกผันกับขนาดเคลียโซนของ *Staphylococcus aureus* ลดลงตามลำดับ โดยอัตราส่วนว่านซักมดลูกที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถยับยังเชื้อ *Staphylococcus aureus* (0.00 มิลลิเมตร) แต่สามารถยังยั้งเชื้อ *Escherichia coli* (14.25 มิลลิลิตร) ได้ดีสุดเมื่อเทียบกับระดับอื่น เมื่อเปรียบเทียบขนาดการเกิดของเคลียโซน ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อใช้อัตราส่วนที่ดีที่สุดมาเทียบกับยาปฏิชีวนะ พบว่าอัตราส่วนว่านซักมดลูกที่ ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีเท่ายาปฏิชีวนะ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนอัตราส่วนว่านซัก

มดลูกที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง เชื้อ *Staphylococcus aureus* และ เชื้อ *Escherichia coli* ได้ดีเท่ายาปฏิชีวนะ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 การเกิดเคลียโซนในเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ของระดับความเข้มข้นสารสกัดมังคุดที่ดีที่สุด (15 mg/ml) ใช้ร่วมกับว่านชักมดลูกในอัตราส่วน 5 ระดับและยาปฏิชีวนะ (Amoxicillin)

ขนาดเคลียโซน (mm)	ความเข้มข้นของอัตราส่วนระหว่างสารแซนโทน/ว่านชักมดลูก (%)						CV	Pr>F
	Control	0	25	50	75	100		
Staphylococcus aureus	25.75	18.65	18.55	13.25	10.75	9.75	84.40	0.9114
Escherichia coli	22.10	12.25	12.00	12.65	15.10	21.85	63.05	0.8087

^{A,B,C} = ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$)
Control = ยาปฏิชีวนะ (Amoxicillin)

สรุป

การใช้สารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดร่วมกับว่านชักมดลูกเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคมดลูกอักเสบในสุกร ครั้งนี้สรุปได้ว่าระดับความเข้มข้น ของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุดที่ระดับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยังยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ เชื้อ *Escherichia coli* ได้แต่ยังมีขนาดเคลียโซนเกิดเพียงเล็กน้อย ระดับที่ยังยั้งได้ดีที่สุดและเกิดขนาดเคลียโซนมากกว่าระดับอื่น คือ ระดับความเข้มข้นที่ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดแซนโทนจากมังคุ ดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Escherichia coli* ที่ก่อให้เกิดมดลูกอักเสบได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบขนาดการเกิดของเคลียโซน และเมื่อน้าระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดของสารสกัดแซนโทนจากเปลือกมังคุด (15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)ไปใช้ร่วมกับว่านชักมดลูก พบว่าในอัตราส่วนที่ 25 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับระดับอื่น และอัตราส่วนที่ 25 เปอร์เซ็นต์ก็สามารถยับยั้ง *Escherichia coli* ได้ดีแต่ ไม่ดีเท่าระดับอัตราส่วนที่ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ สามารถยับยั้ง *Escherichia coli* ที่สุดแต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ เมื่อนำระดับอัตราส่วน ว่านชักมดลูกที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ดีที่สุดไปเทียบกับยาปฏิชีวนะไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เทียบเท่ากับยาปฏิชีวนะ

เอกสารอ้างอิง

กชามาศ ทิพย์สุบรรณ์ ปาริชาติ ไชยสุ พิขญา สาระรักษ์ อลงกรณ์ จอมทอง และอัญชลี อนันทศาลา . 2556. การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคมดลูกอักเสบในสัตว์ของสมุนไพร 5 ชนิด. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี , ปทุมธานี .

จิราพร โรจน์ทินกร และ ฐิติพร หลาวประเสริฐ . 2557. สารสกัดสมุนไพรไทยยับยั้งเชื้อราสำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ , เชียงใหม่ . 27.

ชุติรัตน์ อัศวเทพ. 2546. การตรวจสอบเชื้อ Escherichia coli จากตัวอย่างอาหารพร้อมบริโภค ผักสดและผลไม้ ภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตก้าแพงแสน โดยวิธี MPN Technique และ ปฏิกิริยาลูกโซ่ โพลิเมอเรส . สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตก้าแพงแสน, นครปฐม.

ณิชานันท์ ทองงอก. 2552. การพัฒนาผลิตภัณฑ์บ้ารุงผิวยับยั้งแบคทีเรียผสมสารสกัดเปลือกมังคุด . ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

สุชาดา ชุติมาวรพันธ์ ชัยโต ชัยชาญทิพยุทธ์ อารีรัตน์ ลออปักษา วรทัย ตัน และนิตยา รวมกิจกรรม . 2548. รายงานวิจัยเรื่ องการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมของสารสกัดเปลือกมังคุด . จุฬาลงกรณ์มหาวิทยา, กรุงเทพฯ.

สมนึก อู่ อรุณ. 2550. การแยกสารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อใช้ในการยับ ยั้งเชื้อ Propionibacterium acnes. ส า ย วิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปะศาสตร์และวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ.

Chairungsrilerd N., K. Takeuchi, Y. Ohizumi, S. Nozue and T. Ohta. 1996. Mangostanol,APrenyl Xanthone from Garcinia mangostana. Phytochemistry. 43: 1099-1102.

Chaiyasut, Y. and Y. Pimainog. 2001. Anti-oxidantive activity f dichlorometane extract from the medicinal plant Garcinia mangostana. Bull. Health, Sci & Tech. 4: 55-58.Mahabusarakam W, Wiriyachitra P,

Phongpaichit S. Antimicrobial activities of chemicalconstituents from Garcinia mangostana Linn. J Sci Soc Thailand 1986;12(4):239-43.

Nakatani K., N. Nakahata, T. Arakawa, H. Yasuda and y. Ohizumi. 2002. Inhibition of cyclooxygenase and prostaglandin E2 synthesis by γ-mangostin, a xanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cell. Biochemical Pharmacology. 63: 73-79.

Peres V., T. J. Nagem and F. F. Oliveira. 2000. Tetraoxygenated naturally occurring xanthones. Phytochemistry. 55: 683-710.

Williams P., M. Ongsakul, J. Proudfoot, K. Croft and L. Bellin. 1995. Mangostin inhibits the oxidative modification of human low density lipoprotein. Free Radical Research. 23: 175-184.

ผศ.ดร. พัชนพงษ์ ทัวทา

Proceedings of the National Conference

The 12th MUT Veterinary Annual Conference 2020

รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 12 ประจำปี 2563

WEBINAR
2020
24 December

The Thai Veterinarian in New Normal Era

Change For Opportunity

"สัตวแพทย์ไทยในยุควิถีใหม่
กับการปรับตัวและการสร้างโอกาส"

The relationship between 24-bp indel of prolactin gene and production traits in Thai Rhode

Pattanapong Thadtha[1,*], Reawat Saelim[1] and Theerachai Choimai[2]

[1]Division of Animal Science, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani 12130

[2]Poultry Research and Development Center, Department of Livestock Development, Prachinburi 25110

* Corresponding author, E-mail address: pattanapong_t@rmutt.ac.th

Abstract

Rhode Island Red (RIR) chickens were imported from USA to Thailand in 1955. It was kept and developed by the Poultry Research and Development Center, Department of Livestock Development, located in Kabinburi district, Prachinburi province, Thailand. RIR is a dual purpose breed that excellent in both meat and egg productions. The aim of this study was to apply genotyping techniques in selection of economically important traits of RIR. The breeding stock was raised at the Poultry Research and Development Center. Productive performances were recorded, and blood samples were collected in EDTA tubes. Genomic DNA was extracted using organic extraction method. The 24-bp indel markers were genotyped and analyzed. Thirty samples were successfully genotyped and the allele frequencies of In and Del were 3.3% and 96.7%, respectively. The genotyping results will be applied in the breeding stock in order to increase productive performances.

Keywords: Thai Rhode, 24-bp indel, Prolactin gene, Production traits

บทนำ

ไก่พันธุ์โรดไอส์แลนด์เรด (Rhode Island Red, RIR) เป็นไก่กึ่งเนื้อกึ่งไข่ที่ได้รับการพัฒนาพันธุ์ที่รัฐ Rhode Island และ Massachusetts ของประเทศสหรัฐอเมริกา ไก่โรดไอส์แลนด์เรดเกิดจากการผสมระหว่างไก่พันธุ์โคชิน (Cochin) ไก่พันธุ์มาเลย์ (Red Malay Game) และไก่พื้นเมืองของอเมริกา ไก่โรดไอส์แลนด์เรดได้รับการรับรองพันธุ์จาก American Standard of Perfection ในปี ค.ศ. 1905 ลักษณะประจำพันธุ์ของไก่โรดไอส์แลนด์เรดคือ มีผิวหนังสีเหลือง ตุ้มหูสีแดง นิสัยนิ่งไม่ตกใจง่าย และให้ไข่สีน้ำตาล นอกจากนี้ยังถึงวัยเจริญพันธุ์เร็ว ไม่มีนิสัยการฟักไข่ (Cole, 1966) กรมปศุสัตว์นำไก่พันธุ์โรดไอส์แลนด์เรดเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย ตั้งแต่ประมาณปี พ.ศ. 2492 โดยฝูงไก่ที่เลี้ยงของกรมปศุสัตว์ เป็นฝูงที่เลี้ยงและรักษาพันธุ์มานานกว่า 50 ปี จนถือได้ว่าเป็นไก่โรดไทย ไก่โรดไทยเป็นไก่ทวิประสงค์ที่สามารถให้เนื้อและไข่ได้ดี สามารถให้ไข่ได้สูงสุด 241 ฟอง/ปี นอกจากนี้ไก่โรดไทยมีน้ำหนักตัวเมื่อให้ไข่ฟองแรก 1,930 กรัม อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรกที่ 172 วัน น้ำหนักไข่ฟองแรก 36 กรัม และมีน้ำหนักไข่เฉลี่ย 55 กรัม ลักษณะประจำพันธุ์ไก่โรดไทยคือ มีขนลำตัวสีน้ำตาลแดง ปลายของขนสร้อยคอ ปีก และหาง มีสีดำ แข้ง และปาก สีเหลือง ใบหน้า สีแดง หงอนจักร (สำนักพัฒนาพันธุ์สัตว์, 2558)

ลักษณะการให้ไข่เป็นลักษณะเศรษฐกิจที่สำคัญทั้งในไก่เนื้อและไก่ไข่ การปรับปรุงลักษณะการให้ไข่สามารถทำได้ทั้งการปรับปรุงสิ่งแวดล้อม และการปรับปรุงพันธุกรรม การปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีการคัดเลือกและการผสมพันธุ์ ทำให้ได้ไก่ที่มีประสิทธิภาพสูงในลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูง ดังจะเห็นได้จากสมรรถนะการผลิตของไก่พันธุ์ต่าง ๆ ที่เลี้ยงกันอยู่ในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำ ลักษณะที่ถูกจำกัดโดยเพศ และลักษณะที่แสดงออกในช่วงหลังของชีวิตสัตว์ ไม่สามารถทำได้อย่างรวดเร็วด้วยวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน ผลจากความก้าวหน้าทางด้านยีนเทคโนโลยี ทำให้สามารถศึกษาในระดับพันธุกรรมในสัตว์ได้ (มนต์ชัย และ ยุพิน, 2551; ศุภมิตร และคณะ, 2553; Mekchay *et al.*, 2006) ในสัตว์ปีกมีการประยุกต์ใช้เทคนิคทางด้านยีนในการศึกษาวิวัฒนาการของสัตว์ปีก ความหลากหลายทางพันธุกรรมในไก่โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลไมโครแซทเทลไลต์ (เฉลิมชัย, 2546; Dorji *et al.*, 2011) และการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเศรษฐกิจกับเครื่องหมายดีเอ็นเอ (Marker-trait association analysis) (Emara and Kim, 2003; Dekkers, 2004; Burt, 2005)

ยีนโปรแลคติน (Prolactin, *PRL*) เป็นรหัสพันธุกรรมของกรดอะมิโนตั้งต้นสำหรับฮอร์โมนโปรแลคติน มีตำแหน่งบนโครโมโซมหมายเลข 2 ของไก่ตำแหน่ง 58,571,228 - 58,577,382 (NC_006089.5; Gallus gallus:GRCg6a (GCF_000002315.5)) ประกอบด้วยเบสจำนวน 6,155 คู่เบส (NCBI Genome Data Viewer, 2020) เมื่อทำการถอดรหัสจะได้ mRNA ขนาด 964 คู่เบส และแปลรหัสได้กรดอะมิโนจำนวน 229 กรดอะมิโน (NP_990797.2) โครงสร้างของยีนโปรแลคตินประกอบด้วย 5 เอ็กซอน และ 4 อินทรอน ฮอร์โมนโปรแลคตินเป็นโปรตีนฮอร์โมนที่มีหน้าที่เกี่ยวกับการสืบพันธุ์ พฤติกรรม และการเจริญเติบโต (Jiang *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2006; Wada *et al.*, 2008; Rahman *et al.*, 2014) ในไก่พบว่าโปรแลคตินควบคุมพฤติกรรมการฟักไข่ (Jiang *et al.*, 2005) พบความหลายรูปแบบชนิดอินเดล (Insertion/Deletion) ในส่วนโปรโมเตอร์ของยีนโปรแลคตินโดยมีเบสจำนวน 24 เบส เข้าไปในจีโนมที่ตำแหน่ง chr2:58772587-58772586 (UCSC Genome Browser on Chicken Dec 2015 (Gallus_gallus-5.0/galGal5) Assembly) ลำดับเบสดังกล่าวคือ ACAAGAAGAGACAAGACAAGGAAG เรียกความหลายรูปแบบของดีเอ็นเอแบบนี้ว่า Insertion (In) ในทำนองเดียวกันหากมีเบส 24 เบสดังกล่าวหายไปจากจีโนมในตำแหน่งดังกล่าวจะเรียกความแตกต่างของลำดับเบสนี้ว่า Deletion (Del) ดังนั้นที่ตำแหน่งนี้จะมียีโนไทป์ที่เป็นไปได้ 3 แบบคือ Insertion-Insertion (In/In) Insertion-Deletion (In/Del) และ Deletion-Deletion (Del/Del) ในฐานข้อมูล dbSNP build 147 หมายเลขอ้างอิงของโลคัสนี้คือ rs734774286 (UCSC Genome Browser, 2020) การศึกษาความหลายรูปแบบของดีเอ็นเอในยีนโปรแลคตินพบว่าการหายไปของเบสจำนวน 24 เบส (Insertion/Deletion, Indel) ในโปรโมเตอร์มีความสัมพันธ์กับปริมาณการให้ไข่และพฤติกรรมการฟักไข่ในไก่พื้นเมืองของจีน (Jiang *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2006) และเป็นที่ทราบกันดีว่าระดับของโปรแลคตินในเลือด

สัมพันธ์กับปริมาณการให้ไข่ วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อทำการยีโนไทปิงเครื่องหมายพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ไข่ด้วยเทคนิค PCR ในยีนโปรแลคติน

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

การจัดการสัตว์ทดลองได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการสัตว์ทดลองของกรมปศุสัตว์ (U1-07015-2560) เก็บตัวอย่างเลือดจากฝูงผสมพันธุ์ไก่โรดไทยของศูนย์วิจัยและพัฒนาสัตว์ปีกในหลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (Vacutainer Plus K2 EDTA, Cat. No. 367856, BD, Franklin Lakes, NJ, USA) จำนวน 31 ตัว ตัวอย่างเลือดเก็บในตู้เย็น -20°C จนกระทั่งทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ

การสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอ

สกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดไก่ด้วยวิธีตัวทำละลายอินทรีย์ (Green and Sambrook, 2012) นำเลือดออกมาจากตู้แช่แข็ง -20°C ปล่อยให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง เติมบัฟเฟอร์ PBS (Cat. No. 6506, Calbiochem, Gibbstown, NJ, USA) เก็บเซลล์เม็ดเลือดด้วยการปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ 3500 rpm นาน 10 นาที ใช้ไลซิสบัฟเฟอร์ (10 mM Tris-HCl, 25 mM EDTA, 0.5% SDS) ในการเปิดเซลล์ ผสมให้เข้ากันดี เติม RNase A (Cat. No. 19101, Qiagen, Hilden, Germany) ความเข้มข้น 25 µg/ml บ่มที่ 37°C นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม Proteinase K (Cat. No. 70663-4, EMD Millipore Corp., Billerica, MA, USA) ความเข้มข้น 0.1 mg/ml แล้วนำไปบ่มที่ 50 °C ข้ามคืน เติม 3 M Sodium acetate pH 5.5 (Cat. No. AM9740, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) ย้ายตัวอย่างลงในหลอด MaXtract hight density (Cat. No. 129065, Qiagen, H'lden, Germany) เติม Phenol: Chloroform: Isoamyl Alcohol 25:24:1 (Cat. No. P2069-400ML, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ผสมให้เข้ากันดี ปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ 3500 rpm นาน 5 นาที ย้ายสารละลายไปยังหลอดทดลองใหม่ เติม 2-propanol (Cat. No. I9516-500ML, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ผสมให้เข้ากันดี ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70 % ethanol (Ethanol for molecular biology, 1.08543.0250, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งประมาณ 20-60 นาที ละลายดีเอ็นเอด้วยบัฟเฟอร์ทีอี (Tris-EDTA buffer solution, 93283-500ML, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) บ่มที่ 37°C นาน 1-3 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างดีเอ็นเอที่ -20°C วัดความเข้มข้นดีเอ็นเอด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Nanodrop one spectrophotometer, Thermo Scientific) ดีเอ็นเอสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยค่า A_{260}/A_{280} และ A_{260}/A_{230} ดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์จะมีค่า A_{260}/A_{280} เท่ากับ 1.8 ถ้ามีการปนเปื้อนของโปรตีนจะทำให้ค่า A_{260}/A_{280} ต่ำ เกลือและสารประกอบอินทรีย์สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร ดีเอ็นเอที่ไม่มีการปนเปื้อนของเกลือจะมีค่า $A_{260}/A_{230} \geq A_{260}/A_{280}$ (ช่วงที่ยอมรับคือ 1.5 - 1.8) ถ้ามีการปนเปื้อนของเกลือหรือฟีนอลจะทำให้ค่า A_{260}/A_{230} ต่ำ

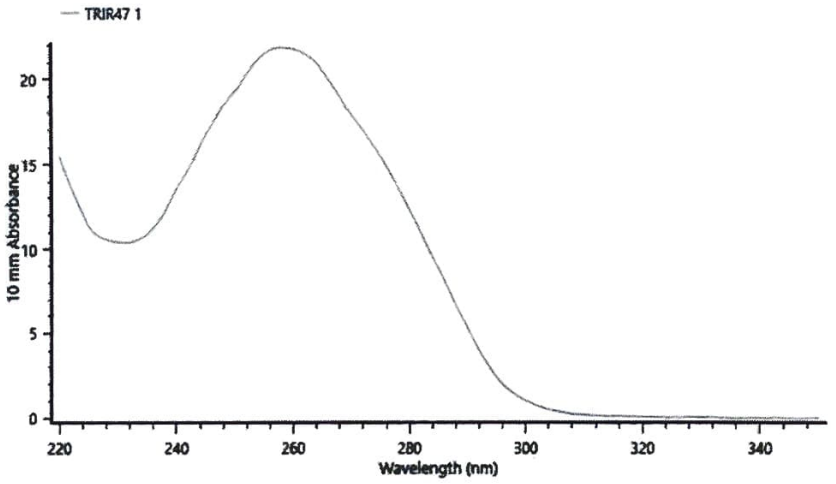
การตรวจสอบยีโนไทป์ 24-bp indel

พีซีอาร์เพื่อตรวจสอบยีโนไทป์ของยีนโปรแลคตินในไก่โรดไทยจำนวน 31 ตัวอย่าง ปฏิกิริยาพีซีอาร์ 25 µl ประกอบด้วย น้ำกลั่น (Nuclease-free water, Cat. No. 129114, Qiagen GmbH, Hilden, Germany) จำนวน 17.4 µl พีซีอาร์บัฟเฟอร์ (10X PCR buffer, 15 mM $MgCl_2$) จำนวน 2.5 µl ดีเอ็นทีพี (dNTP mixture, 2.5 mM each) จำนวน 2 µl ฟอร์วาร์ดไพร์เมอร์ (10 pmoles) จำนวน 1 µl รีเวิร์สไพร์เมอร์ (10 pmoles) จำนวน 1 µl เอนไซม์แทคดีเอ็นเอพอลิเมอร์เรส (TaKaRa TaqHS, 5U/µl, Cat. No. R007A, TaKaRa, Shiga, Japan) จำนวน 0.1 µl และจีโนมิกดีเอ็นเอ (100 ng/µl) จำนวน 1 µl ลำดับนิวคลีโอไทด์เบสของไพร์เมอร์ที่ใช้คือฟอร์วาร์ดไพร์เมอร์ 5'-GGTGGGTGAAGAGACAAGGA-3' และรีเวิร์สไพร์เมอร์ 5'-TGCTGAGTATGGCTGGATGT-3' (Rahman *et al.*, 2014) สภาพของปฏิกิริยาพีซีอาร์ประกอบด้วยการแยกดีเอ็นเอสายคู่ที่ 95°C นาน 4 นาที การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมจำนวน 40 รอบที่ประกอบด้วยการแยกสายดีเอ็นเอที่ 95°C

นาน 30 วินาที การเบสคู่สมระหว่างไพร์เมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบที่ 60°C นาน 30 วินาที และการต่อสายดีเอ็นเอที่ 72°C นาน 1 นาที และการต่อสายดีเอ็นเอที่ 72°C นาน 10 นาที ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยเครื่อง TProfessional Thermocycler (Biometra GmbH, Germany) ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วย 3% วุ้นอะการ์โรส (SeaKem LE Agarose, Cat. No. 50004, Cambrex Bio Science Rockland Inc., Rockland, ME, USA) ใน 1X TBE buffer (UltraPure 10X TBE, Cat. No. 15581-044, Invitrogen, Grand Islands, NY, USA) ด้วยเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้า Mupid eXu submarine electrophoresis system (Advance, Japan) ใช้กระแสไฟฟ้า 135 โวล์ท นาน 25-30 นาที ถ่ายภาพแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล WSE-5200 Printgraph 2M (ATTO, Tokyo, Japan) ด้วยแหล่งแสงยูวี 312nm ฟิลเตอร์ 595nm ย้อมสีดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบร์ไมด์ความเข้มข้น 0.5 µg/ml (Cat. No. X328, Amresco, Solon, OH, USA)

ผลการทดลองและวิจารณ์การทดลอง

สกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากเลือดไก่โรดไทยด้วยวิธีตัวทำละลายอินทรีย์จำนวน 31 ตัวอย่าง ได้ความเข้มข้นเฉลี่ย 1,713.14 ng/µl คุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้อยู่ในระดับดี โดยมีค่า A_{260}/A_{280} เฉลี่ยเท่ากับ 1.81 และมีค่า A_{260}/A_{230} เฉลี่ยเท่ากับ 2.01 ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างจีโนมิกดีเอ็นเอที่สกัดได้

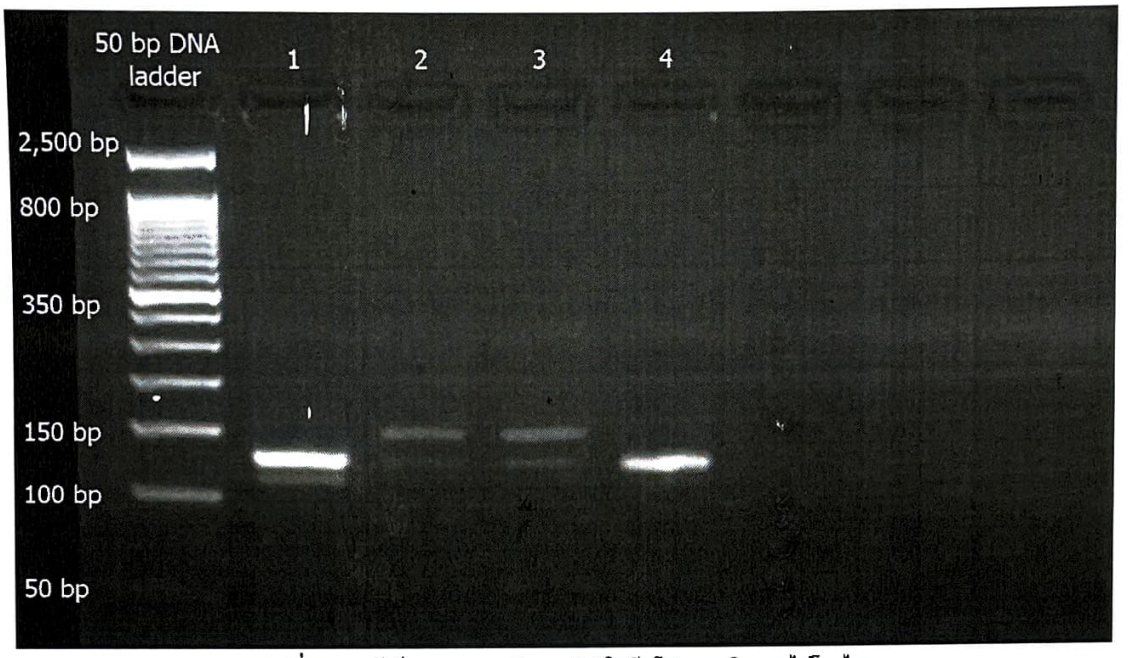


Sample table

Sample Name	ng/µL	A260/280	A260/230
TRIR47 1	1090.80	1.77	2.09

ภาพที่ 1 กราฟแสดงการดูดกลืนแสงยูวีของตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่โรดไทย

กำหนดยีโนไทป์ของ 24-bp indel ของยีนโปรแลคตินในไก่โรดไทยด้วยเทคนิคพีซีอาร์ จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 31 ตัวอย่าง สามารถกำหนดยีโนไทป์ได้ 30 ตัวอย่าง ในขณะที่อีก 1 ตัวอย่างไม่ประสบความสำเร็จในการทำพีซีอาร์ (ไม่สามารถกำหนดยีโนไทป์ได้) ในการทดลองนี้ไม่พบยีโนไทป์ In/In (154/154 bp) ความถี่ของยีโนไทป์ In/Del (154/130 bp) เท่ากับ 6.7% และความถี่ของยีโนไทป์ Del/Del (130/130 bp) เท่ากับ 93.3% (ภาพที่ 2) ดังนั้นในประชากรนี้มีความถี่อัลลีล In และ Del เท่ากับ 3.3% และ 96.7% ตามลำดับ



ภาพที่ 2 แถบดีเอ็นเอของ 24-bp indel ในยีนโปรแลคตินของไก่โรดไทย

ในประชากรไก่โรดไทยที่ทำการศึกษาครั้งนี้มีความถี่ของอัลลีล In ต่ำ การมีความถี่อัลลีล In ที่ต่ำในไก่โรดไทยนี้สอดคล้องกับรายงานในไก่ของจีน (Jiang *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2006) และไก่ Silkie fowl ของญี่ปุ่น (Wada *et al.*, 2008; Rahman *et al.*, 2014) รวมทั้งไก่ของไทย (สจี และคณะ, 2555) โดยในไก่ของจีนพันธุ์ Shou-guang (71 ตัว) และพันธุ์ Beijing-you (48 ตัว) และไก่ Silkie (222 ตัว) มีความถี่ของอัลลีล In เท่ากับ 3% และ 0% ตามลำดับ (Jiang *et al.*, 2005) ในขณะที่ Cui *et al.* (2006) พบว่าไก่ Yangshan (30 ตัว) ไก่ Nongdahe (30 ตัว) และไก่ Taihe Silkies (27 ตัว) มีความถี่ของอัลลีล In เท่ากับ 5% 17% และ 2% ตามลำดับ ในไก่ของญี่ปุ่น Wada *et al.* (2008) รายงานการยีโนไทปิง 24-bp Indel ในฝูงปรับปรุงพันธุ์ไก่ Silkie รุ่นที่ 4 จำนวน 311 ตัว พบว่ามีความถี่อัลลีล In เท่ากับ 5% อย่างไรก็ตามเมื่อสร้างฝูงผสมพันธุ์ระหว่างยีโนไทป์ In/Del × In/Del ขึ้นมาแล้วทำการยีโนไทปิงในรุ่นลูกพบว่าสามารถเพิ่มความถี่ของอัลลีล In ขึ้นมาได้ โดยในฝูงนี้มีความถี่อัลลีล In เท่ากับ 49% (Rahman *et al.*, 2014) ในไทย สจี และคณะ (2555) รายงานว่าในไก่ประดู่หางดำ (665 ตัว) มีความถี่อัลลีล In เท่ากับ 37% และในไก่ชี (282 ตัว) มีความถี่อัลลีล In เท่ากับ 9% อัลลีล In คือการมีเบส 24 คู่เบสเพิ่มขึ้นมาในตำแหน่งโปรโมเตอร์ของยีนโปรแลคตินทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะเป็นตำแหน่งเบสสำหรับการจับ (binding site) ของทรานสคริปชันแฟคเตอร์ ecotropic viral integration site-1 encoded factor (Evi-1) (Cui *et al.*, 2006) มีรายงานว่าโปรตีนควบคุมการถอดรหัส Evi-1 ควบคุมการถอดรหัสของยีนหลาย ๆ ยีน โดยไปยับยั้งการถอดรหัสของยีน ดังนั้นการมีเบสตำแหน่งการจับของ Evi-1 ในโปรโมเตอร์ของยีนโปรแลคตินอาจเป็นไปได้ว่าการแสดงออกของยีนโปรแลคตินถูกยับยั้งโดยโปรตีน Evi-1 (Jiang *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2006) การที่ไก่ไม่มีอัลลีล In ทำให้การแสดงออกของยีนโปรแลคตินเป็นไปตามปกติและหลั่งฮอร์โมนโปรแลคตินออกมาทำให้ไก่แสดงออกพฤติกรรมการฟักไข่ซึ่งนำไปสู่การไม่ให้ไข่ในช่วงที่ไก่แสดงพฤติกรรมการฟักไข่ ในขณะที่ไก่พันธุ์เล็กฮอร์นขาวซึ่งเป็นไก่ไข่ที่ให้ไข่ดกโดยให้ไข่มากกว่า 300 ฟองต่อปีและไม่มีพฤติกรรมการฟักไข่ มีความถี่อัลลีล In เท่ากับ 100% (Cui *et al.*, 2006) เนื่องจากอัลลีล In สัมพันธ์กับการให้ไข่ดก ดังนั้นกลยุทธ์ในการเพิ่มความถี่อัลลีล In ในประชากรไก่โรดไทยอาจจะมีศักยภาพในการปรับปรุงลักษณะการให้ไข่ในไก่โรดไทย

สรุปผลการทดลอง

ทำการยีโนไทปิงเครื่องหมายพันธุกรรม 24-bp indel ของยีนโปรแลคตินที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ไข่ด้วยเทคนิค PCR ในไก่โรดไทย พบว่าในประชากรนี้มีความถี่อัลลีล In ต่ำ (3.3%) มีรายงานการวิจัยความสัมพันธ์ระหว่างอัลลีล In กับการให้ไข่ดกในไก่ ดังนั้นการเพิ่มความถี่อัลลีลดังกล่าวอาจจะเป็นแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงลักษณะการให้ไข่ในไก่โรดไทย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนทุนงบประมาณแผ่นดิน (รหัสโครงการ 51189) ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เฉลิมชัย หอมตา. 2546. การจำแนกสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือด้วยไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 90 หน้า

มนต์ชัย ดวงจินดา ยุพิน ผาสุข. 2551. การศึกษาความหลากหลายและการจำแนกกลุ่มพันธุกรรมของโคพื้นเมืองไทยจากข้อมูลไมโครแซทเทิลไลท์และไมโตคอนเดรีย. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

ศุภมิตร เมฆฉาย พัชรินทร์ ครุฑเมือง อำนวย เลี้ยวธารากุล ธีระชัย ช่อไม้ ชูศักดิ์ ประภาสวัสดิ์ ทวีศิลป์ จีนด้วง. 2553. การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อบ่งชี้ลักษณะของไก่ประดู่หางดำ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

สจี กัณหาเรียง มนต์ชัย ดวงจินดา บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ วุฒิไกร บุญคุ้ม และ สุกัญญา เจริญศิลป์. 2555. การตรวจหารูปแบบยีน 24BP-*PRL* และ *VIPR-1* ที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทย. แก่นเกษตร 40 ฉบับพิเศษ 2 : 351-356.

สำนักพัฒนาพันธุ์สัตว์. 2558. คู่มือการเลี้ยงไก่โรดไทย. กรมปศุสัตว์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 12 หน้า.

Burt, D. W. 2005. Chicken genome: Current status and future opportunities. Genome Research, 15, 1692-1698.

Cole, H. H. 1966. Introduction to livestock production. 2nd ed. W. H. Freeman and Company, CA, USA.

Cui, J. X., H. L. Du, Y. Liang, X. M. Deng, N. Li, and X. Q. Zhang. 2006. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production. Poult. Sci. 85: 26-31.

Dekkers, J. C. M. 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. Journal of Animal Science, 82, E313-E328.

Dorji N, Daungjinda M, Phasuk Y. 2011. Genetic characterization of Thai indigenous chickens compared with commercial lines. Trop. Anim. Health Prod. 43(4): 779-785.

Emara, M. & Kim, H. 2003. Genetic markers and their application in poultry breeding. Poultry Science, 82, 952-957.

Green, M. R., and J. Sambrook. 2012. Molecular cloning: A laboratory manual (4th ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA. pp630.

Jiang, R., Xu, G., Zhang, X. & Yang, N. 2005. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. Poult. Sci. 84, 839-845.

Mekchay, S., P. Pongpaichan, A. Leotaragul, and P. Krutmuang. 2006. Identification of differentially expressed genes in Thai native and broiler chicken muscles. Bull. Facul. Agric. Niigata Univ. 58(2):147-150.

NCBI Genome Data Viewer. 2020. NC_006089.5; Gallus gallus:GRCg6a (GCF_000002315.5). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/?org=gallus-gallus (Accessed 26 November 2020.)

Rahman, MD. M., R. Matsuda, T. Matsuda, Y. Nishiyama, K. Jozaki, K. Anann, and Y. Wada. 2014. Relationship between the production traits and three candidate genes in the prolactin's In/Del x In/Del population of Silkie fowl. J. Poult. Sci. 5:138-143.

UCSC Genome Browser. 2020. UCSC Genome Browser on Chicken Dec 2015 (Gallus_gallus-5.0/galGal5) Assembly). http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway (Accessed 26 November 2020.)

Wada Y, Nakamuta Y, Jiang Y, Matsuda R, Abe S and Anan K. Relationship between 24-bp insertion of prolactin promoter region and performance traits in the selected population of Silkie chicken. Japanese Journal of Poultry Science, 45: 82-86.