บทนำ

หลักการและเหตุผลของโครงการวิจัย

ระบบทางเดินอาหารของสัตว์ปีก (Gastrointestinal system) ประกอบด้วย ท่อทางเดินอาหาร ตับ ตับอ่อน gut-associated lymphoid tissue และจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Resident microflora) เนื้อเยื่อและอวัยวะเหล่านี้มีผลต่อ ประสิทธิภาพการใช้อาหารของสัตว์ปีก (Dibnex and Richards, 2004) ถึงแม้ว่า จุลินทรีย์จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันลำไส้ของสัตว์ปีกก็ตาม แต่ว่าความรู้เกี่ยวกับจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ปีก ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ประชากรจุลินทรีย์จะมีขนาดที่แตกต่างกัน และมีความสลับซับซ้อนตลอดท่อทางเดินอาหาร ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ตลอดจนการสันดาปอาหารจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ชนิดของสัตว์ปีก อายุ สภาพการเลี้ยง และอาหาร จุลินทรีย์สามารถสร้างสารที่หลากหลาย ทั้งที่เป็นประโยชน์และเป็นโทษต่อร่างกายของสัตว์ นอกจากนั้นปฏิกิริยาระหว่างจุลินทรีย์และเยื่อบุทางเดินอาหารของสัตว์ อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ที่เป็นโทษสามารถส่งผลกระทบต่อ ระบบการย่อยอาหาร การเจริญเติบโต การให้ผลผลิต และสุขภาพของสัตว์ปีก ส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (Beneficial microbes) สามารถป้องกันการเกิดโรคในสัตว์ด้วยกระบวนการ competitive exclusion (Gabriel *et al.*, 2006) นอกจากนั้นเอ็นไซม์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ สามารถเสริมลงในอาหาร และเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้และการดูดซึมโภชนะของสัตว์ด้วย ß – glucanase จาก *Aspergillus niger* และ GPB – glucanase จาก *Trichoderma longibrachiatum* (Mottaghitalab and Ebrahimiyan, 2007)

การจำแนกชนิดและความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียในระบบลำไส้ของไก่ จึงเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญ และจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการศึกษา เพื่อการเข้าใจถึงความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียในแต่ละกลุ่ม รวมทั้งการค้นพบเชื้อแบคทีเรียชนิดใหม่ โดยเดิมทีการตรวจสอบจุลินทรีย์ที่ใช้กันอยู่โดยทั่วปี จะอาศัยเทคนิคการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่เทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัด เนื่องจากจุลินทรีย์บางกลุ่ม ยังไม่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ ทำให้จุลินทรีย์ดังกล่าว

ไม่เคยมีการตรวจพบ และไม่มีการศึกษามาก่อน นอกจากนี้ระยะเวลาในการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อต้องใช้เวลานานในการตรวจสอบ

ในช่วง 10-20 ปี ที่ผ่านมาการวิเคราะห์ในระดับชีวโมเลกุลได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในการตรวจสอบความหลากหลายของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความจำเพาะสูง ถูกต้องแม่นยำและรวดเร็วกว่าวิธีการดั้งเดิม รวมทั้งยังสามารถจำแนก ชนิดของจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อม ที่ยากต่อการเพาะเลี้ยงได้ โดยการใช้ยีน16S rDNA เป็นดีเอ็นเอเครื่องหมายในการศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต เนื่องจากยีน16S rDNA เป็นชีวโมเลกุลที่ไม่ค่อยเกิดการกลายพันธุ์ภายในสิ่งมีชีวิตสปีชีย์เดียวกัน จึงถูกเลือกนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ (Madigan and Martinco, 2006)

การศึกษาความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียในระบบลำไส้ไก่โดยวิธีทางชีวโมเลกุลนั้นยังมีข้อมูลที่ค่อนข้างจำกัด งานวิจัยครั้งนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อจำแนกชนิดและความหลากหลายของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในระบบลำไส้ของไก่โดยใช้การตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสบนยีน 16S rDNA ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลร่วมกับการวิเคราะห์ฐานข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์ (Bioinformatics) เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและคัดแยกแบคทีเรียที่มีประโยชน์ออกมาใช้ในงานปศุสัตว์และงานด้านอื่นๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อจำแนกชนิดและจัดกลุ่มของประชากรแบคทีเรียในระบบลำไส้ของไก่โดยใช้ข้อมูลลำดับเบสของ ยีน 16S rDNA
2) เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ และสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการ ของกลุ่มประชากรแบคทีเรียในระบบลำไส้ของไก่

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1) การเตรียมและสกัดจีโนมของแบคทีเรียจากลำไส้ของไก่
2) การเพิ่มจำนวนยีน 16S rDNA ด้วยเทคนิคพีซีอาร์
3) การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rDNAและจัดกลุ่มความหลากหลายของยีน
4) การวิเคราะห์ความเหมือนของยีนจากฐานข้อมูลชีวภาพด้วยคอมพิวเตอร์

5) การสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการของแบคทีเรียในระบบลำไส้ของไก่

6) การขึ้นทะเบียนยีนใหม่

ระยะเวลาดำเนินโครงการ

12 เดือน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับของโครงการวิจัย

ทำให้ทราบถึงชนิด และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ แบคทีเรียในระบบลำไส้ของไก่ ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาความแตกต่างของประชากรแบคทีเรียในลำไส้ของไก่ ที่เลี้ยงในระบบการเลี้ยงและการให้สูตรอาหารที่แตกต่างกัน เพื่อนำไปใช้ในการจัดการระบบการเลี้ยงไก่ในกรณีที่ต้องการกลุ่มแบคทีเรียบางชนิดที่มีประโยชน์เฉพาะด้านได้ เช่น แลคติกแบคทีเรียเป็นต้น นอกจากนี้งานวิจัยครั้งนี้ยังอาจเกิดการค้นพบแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ และนำไปขึ้นทะเบียนในระบบฐานข้อมูล

สถานที่ทำการวิจัย

1) ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ