Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคของสุกรพื้นเมืองไทย

The study of disease resistance associated gene of Thai indigenous pigs

กมล ฉวีวรรณ[1]*, ประภาส มหินชัย[2], ศศิพร ช่อลำไย[3], นฐิณี รัตนมหาวิชัย[4], ศุภมิตร เมฆฉาย[5] และ จันทร์พร เจ้าทรัพย์[6]

Kamon Chaweewan[1]*, Prapas Mahinchai[2], Sasiporn Cholumyai[3], Natinee Rattanamahavichai[4], Supamit Mekchay[5] and Chanporn Chaosap[6]

[1] *ศูนย์วิจัยและพัฒนาสุกร อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา 30450*
Swine Research and Development Center, Pakchong, Nakornratchasima, 30450
[2] *สำนักพัฒนาพันธุ์สัตว์ อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000*
Bureau of Animal Husbandry and Genetic Improvement, Pathumthani, 12000
[3] *สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000*
Bureau of Animal Nutrition Development, Pathumthani, 12000
[4] *ศูนย์ทดสอบและวิจัยคุณภาพชีววัตถุสำหรับสัตว์ อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา 30130*
Veterinary Biologics Assay and Research Center, Pakchong, Nakornratchasima, 30130
[5] *คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50002*
Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang-Mai, 50002
[6] *คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ 10520*
Faculty of Industrial Education and Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

บทคัดย่อ: การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคในสุกรพื้นเมืองไทย คือยีน alpha (1)-fucosyltransferase gene (*FUT1*), natural resistance-associated macrophage protein 1 (*NRAMP1*), F4 Receptor (*F4R*) และ *C3* ทำการศึกษาในสุกรพื้นเมืองจากภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ โดยการศึกษาความถี่ของจีโนไทป์ และความถี่ของอัลลีลด้วยเทคนิค PCR-RFLP จากการศึกษาพบว่าเทคนิค PCR-RFLP สามารถจำแนกจีโนไทป์ของสุกรพื้นเมือง โดยสุกรพื้นเมืองภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ มีความหลากหลายจีโนไทป์ของยีน *NRAMP1* ในขณะที่พบความหลากหลายจีโนไทป์ของยีน *FUT1* เฉพาะในสุกรพื้นเมืองภาคเหนือ และความหลากหลายของยีน *F4R* พบในสุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ ในขณะที่พบความหลากหลายจีโนไทป์ของยีน *C3* พบเฉพาะในสุกรพื้นเมืองภาคเหนือ ความถี่จีโนไทป์ของยีน *F4R* และ *FUT1* ในสุกรพื้นเมืองจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ ยีน *NRAMP1* จากสุกรพื้นเมืองภาคใต้ และยีน *C3* จากสุกรพื้นเมืองภาคเหนืออยู่ในสมดุลของ Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) ยกเว้นความถี่จีโนไทป์ของยีน *FUT1* ในสุกรพื้นเมืองภาคเหนือ และความถี่จีโนไทป์ของยีน *NRAMP1* ในสุกรพื้นเมืองภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ไม่อยู่ในสมดุลของ HWE ($P<0.05$) ในการศึกษาครั้งนี้พบความถี่จีโนไทป์หรือความถี่อัลลีลของยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคต่างๆ ในสุกรพื้นเมืองค่อนข้างต่ำ แต่หากมีการศึกษาเพิ่มเติมอาจสามารถนำพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคหรือระบบภูมิคุ้มกันมาพัฒนาปรับปรุงพันธุ์สุกรในอนาคต

คำสำคัญ: ยีนต้านทานโรค; สุกรพื้นเมืองไทย

ABSTRACT: This study aimed to investigate genotype and allele frequencies of disease resistance genes, alpha (1)-fucosyltransferase gene (*FUT1*), natural resistance-associated macrophage protein 1 (*NRAMP1*), F4 Receptor (*F4R*) and *C3* were studied using PCR-RFLP technique in Thai indigenous pigs from Northern, North-Eastern and Southern region of Thailand. The results found that the PCR-RFLP was suitable technique for genotyping the disease resistance gene in

* Corresponding author: kamonc@dld.go.th

Thai indigenous pigs. The *NRAMP1* gene in indigenous pigs was found diverse in all regions. The diversity of *FUT1* gene presented only in Northern region pigs. The *F4R* genotype diversity was found in North-Eastern and Southern region pigs. While genotypic diversity of the *C3* gene was found only in Northern indigenous pigs. Genotypic frequency of the *F4R* and *FUT1* genes of indigenous pigs from North-eastern and Southern, *NRAMP1* gene from Southern and *C3* gene from Southern showed equilibrium to Hardy-Weinberg equilibrium (HWE). However, the genotypic frequency of *FUT1* gene in Northern indigenous pigs and *NRAMP1* gene in Northern and North-Eastern indigenous pigs were different from HWE ($P<0.05$). The genotypic frequency or allele frequency of disease resistance genes of Thai indigenous pigs in this study are relatively low but further research should be performed to investigate the disease resistance genes of Thai indigenous pigs. The further findings might be useful for improving pig genetics related to disease resistance or immune system in pig breeding programs.
Keywords: disease resistance gene; Thai indigenous pig

บทนำ

สุกรพื้นเมืองเป็นสัตว์ที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทยอีกชนิดหนึ่ง เพราะปัจจุบันจะพบเห็นสุกรพื้นเมืองได้ในพื้นที่จังหวัดที่อยู่ตามแนวชายแดนบางแห่งเท่านั้น และไม่มีการส่งเสริมให้เลี้ยงสุกรพื้นเมืองด้วยเหตุผลในด้านการตลาดและการให้ผลผลิต ทั้งที่สุกรพื้นเมืองเป็นทรัพยากรพันธุกรรมสัตว์ของประเทศไทยทั้งในด้านวัฒนธรรม ความมั่นคงด้านอาหาร และสุกรพื้นเมืองยังมีจุดเด่นเป็นสัตว์ที่มีความสามารถในการใช้อาหารคุณภาพต่ำได้ดี ให้เนื้อคุณภาพดี รสชาติอร่อย มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม ทนทานต่อโรค และเลี้ยงลูกเก่ง ซึ่งลักษณะเหล่านี้เป็นความหลากหลายทางพันธุกรรมที่สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาพันธุ์สัตว์ในอนาคตที่ควรรักษาไว้ ปัจจุบันความรู้ทางด้านเทคนิคชีวภาพก้าวหน้าอย่างมาก มีการค้นพบตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรม (genetic marker) ที่จำเพาะกับยีนของสุกรซึ่งส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางเศรษฐกิจ เช่น ยีนที่เกี่ยวข้องกับการให้ลูกดก การเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และความต้านทานโรค เป็นต้น ลักษณะความหลากหลาย (polymorphism) ของยีนเหล่านี้สามารถใช้ในการจำแนกพันธุกรรมและคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์สุกรได้

ลักษณะความต้านทานโรคเป็นลักษณะที่เมื่อสัตว์ได้รับเชื้อจะไม่ติดโรคหรือเชื้อไม่สามารถเพิ่มจำนวนในตัวสัตว์ได้ หรือร่างกายมีกลไกเฉพาะในการกำจัดเชื้อออกจากร่างกาย ในขณะที่สัตว์ที่อมโรคคือสัตว์ที่ติดเชื้อโรคแต่ไม่แสดงอาการโดยเชื้ออาจจะหลบอยู่ในร่างกาย เช่น หลบในไขสันหลัง หลบใน Macrophage แต่จะสามารถแพร่กระจายออกมาได้เมื่อได้รับสิ่งเร้าหรือการกระตุ้น การคัดเลือกลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคทำได้ยากเนื่องจากเป็นลักษณะที่วัดได้ยาก จึงต้องใช้เทคโนโลยีด้านอณูพันธุศาสตร์มาใช้ในการศึกษาลักษณะหรือยีนเหล่านี้ ยีนที่มีการค้นพบว่ามีความเกี่ยวข้องความต้านทานโรค เช่น ยีน alpha (1)-fucosyltransferase gene (*FUT1*) มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 6 เกี่ยวข้องกับโรคบวมน้ำหรือโรคท้องเสียหลังหย่านมที่มีสาเหตุจากการติดเชื้ออีโคไล (*Escherichia coli*) ยีน *FUT1* เกี่ยวข้องกับการยึดจับของเชื้อ *E.coli* บน Receptor ที่ผนังลำไส้เล็ก (F18 receptors) (Meijerink et al., 1997; Peng et al., 2007; Bao et al., 2012) ยีน natural resistance-associated macrophage protein 1 (*NRAMP1*) เป็นยีนบนโครโมโซมที่ 15 ควบคุมความต้านทานหรือความไวต่อ parasites ภายในเซลล์ เช่น เชื้อ Salmonella (Sun et al., 1998; Yan et al., 2004) ยีน F4 Receptor (*F4R*) หรือยีน MUC4 ซึ่งอยู่บนโครโมโซมที่ 13 (Fontanesi et al., 2012) มีความเกี่ยวข้องกับความต้านทานหรือไวต่อการติดเชื้อ Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) ชนิด F4ab/ac ในขณะที่ยีน *C3* เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบคอมพลีเมนท์ (Complement system) โดยระบบคอมพลีเมนท์เป็นภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด (Innate immunity) หรือภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Non-specific immunity) ในสุกรทั้งในส่วนของ alternative complement pathway (ACP) และ classical complement pathways (CCP) เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคตามธรรมชาติ (Wimmers et al., 2001; Mekchay et al., 2003) การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาความหลากหลายของยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคของสุกรพื้นเมืองไทย ได้แก่ ยีน *FUT1, NRAMP1, F4R* และ *C3* เพื่อใช้ในการกำหนดแผนในการอนุรักษ์ และการใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคในการพัฒนาพันธุ์สุกรต่อไป

วิธีการศึกษา

การเก็บตัวอย่างเลือดและดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างเลือดสุกรพื้นเมืองจากแต่ละภูมิภาค ประกอบด้วย สุกรพื้นเมืองภาคเหนือ จำนวน 141 ตัว สุกรพื้นเมืองภาคใต้ จำนวน 76 ตัว สุกรพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 72 ตัว โดยใช้สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ แลนด์เรซ ดูร็อค ปากช่อง 5 เหมยซาน และสุกรป่า เป็นกลุ่มอ้างอิง กลุ่มละ 10 ตัว โดยเป็นสุกรที่ไม่เป็นพี่น้องกันหรือเกิดจากครอกเดียวกัน รวมทั้งสิ้น 349 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดปริมาตร 5 ซีซี ใส่หลอดที่มีสาร EDTA เพื่อป้องกันไม่ให้เลือดแข็งตัว จากนั้นเก็บหลอดตัวอย่างเลือดไว้ในตู้ -80 °ซ

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดสุกรด้วย Silica gel ตามวิธี Myakishev (n.d.) โดยเริ่มจากการผสมตัวอย่างเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัว (EDTA) ปริมาณ 200 ไมโครลิตร กับ 4% Bind mix (Silica gel ในสารละลาย Guanidine Solution) ปริมาณ 400 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงที่ 8000xg นาน 1 นาที เพื่อแยก Silica gel จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง ล้างส่วนตกตะกอนที่มี Silica gel ด้วยสารละลาย Guanidine Solution ปริมาณ 400 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 8000xg นาน 1 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้งและล้าง Silica gel ด้วยสารละลาย Propanol Wash ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และ 95% Ethanol ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ตามด้วยการกำจัด Ethanol ออกให้หมดโดยการอบ Silica gel ให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 °ซ นาน 30 นาที และขั้นตอนสุดท้ายใช้ TE buffer ปริมาณ 150 ไมโครลิตร ละลายดีเอ็นเอออกจาก Silica gel โดยนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 65 °ซ นาน 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000xg นาน 1 นาที และดึงส่วนใสที่เป็น DNA ใส่ในหลอดใหม่ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจสอบคุณภาพและปริมาณ เพื่อนำไปเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนยีนด้วยการทำ PCR ต่อไป

การตรวจสอบจีโนไทป์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค

นำเครื่องหมายโมเลกุลของยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความต้านทานโรค จำนวน 4 เครื่องหมาย ประกอบด้วย ยีน *FUT1, NRAMP1, F4R* และ *C3* มาใช้ตรวจสอบจีโนไทป์ในสุกร โดยใช้เทคนิค Polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) เพื่อเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนของยีนเป้าหมายด้วยไพรเมอร์ (Primer) ตรวจสอบจีโนไทป์โดยนำผลผลิต PCR ไปตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction enzyme) ดังรายละเอียดตาม **Table 1** จากนั้นนำไปตรวจสอบด้วย 2% Agarose gel ด้วยวิธีเจลอิเล็คโตรโฟเรซีส (Gel electrophoresis)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูล Genotype ของสุกรแต่ละกลุ่มพันธุ์มาวิเคราะห์ข้อมูลความถี่จีโนไทป์ (Genotype frequency) และความถี่อัลลีล (Allele frequency) ตามวิธีของ Falconer (1982) และทดสอบสมดุลของแต่ละยีนในประชากรที่ศึกษาตามกฎของ Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) ด้วยการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test, χ^2)

Table 1 PCR primers, PCR products, restriction enzymes and genotypes used to study the disease resistance genes in pigs

Gene	Primer	PCR product	Restriction Enzyme	Genotype	Reference
FUT1	F: CTGCCTGAACGTCTATCAAGATC R: CTTCAGCCAGGGCTCCTTTAAG	*421 bp*	*Hha*I	AA: 328, 93 GG: 241, 93, 87 AG: 328, 241, 93, 87	Meijerink et al. (1997)
NRAMP1	F: ACCCAGCACACCACTCACAC R: CAGCTTTCGGAGACTGAATG	*1.6 kb*	*Hinf*I	AA: 600 BB: 440 AB: 600, 440 BC: 440, 230	Yan et al. (2004)
F4R	F: GTGCCTTGGGTGAGAGGTTA R: CACTCTGCCGTTCTCTTTCC	*367 bp*	*Xba*I	RR: 367 SS: 216, 151 SR: 367, 216, 151	Daudelin et al. (2011)
C3	F: TGAGAATGTGGATGGACCAG R: GGACTTGAATGCCCAAGATC	*383 bp*	*Taq*I	AA: 383 CC: 237, 146 AC: 383, 237, 146	Wimmers et al. (2001)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การตรวจสอบจีโนไทป์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค

จากการเพิ่มจำนวนยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค *FUT1*, *NRAMP1, F4R* และ *C3* ด้วยเทคนิค PCR และตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะเพื่อจำแนกลักษณะทางพันธุกรรม ผลการตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยเจลอิเล็คโตรโฟเรซีส พบว่ายีน *FUT1* มี PCR product ขนาด 421 bp เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hha*I จะได้เป็นจีโนไทป์ AA: 328, 93 bp GG: 241, 93, 87 bp และ AG: 328, 241, 93, 87 bp โดยจีโนไทป์ AA มีความต้านทานต่อเชื้อ *E.coli* และจีโนไทป์ GG มีความไวต่อเชื้อ *E.coli* (Meijerink et al., 2000) ยีน *NRAMP1* มี PCR product ขนาด 1.6 kb เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Hinf*I จะได้เป็นจีโนไทป์ AA: 600 bp BB: 440 bp AB: 600, 440 bp และ BC: 440, 230 bp โดยจีโนไทป์ AA มีความสัมพันธ์กับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ลดการท้องเสีย และเพิ่มการทำงานของ Macrophage (Wu et al., 2008; Zhao et al., 2013; Kadkhodazadeh et al., 2016) ยีน *F4R* มี PCR product ขนาด 367 bp เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Xba*I จะได้เป็นจีโนไทป์ RR: 367 bp SS: 216, 151 bp และ SR: 367, 216, 151 bp โดยจีโนไทป์ RR มีความต้านทานต่อเชื้อ *E.coli* และจีโนไทป์ SS ไวต่อเชื้อ *E.coli* (Roubos-van den Hil et al., 2017) และยีน *C3* มี PCR product ขนาด 383 bp เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Taq*I จะได้เป็นจีโนไทป์ AA: 383 bp CC: 237, 146 bp และ AC: 383, 237, 146 bp ซึ่งจีโนไทป์ AA มีความสัมพันธ์กับการทำงานของระบบ Complement (Wimmers et al., 2001) ผลการตรวจสอบจีโนไทป์ของยีนต่างๆแสดงใน **Figure 1-4**

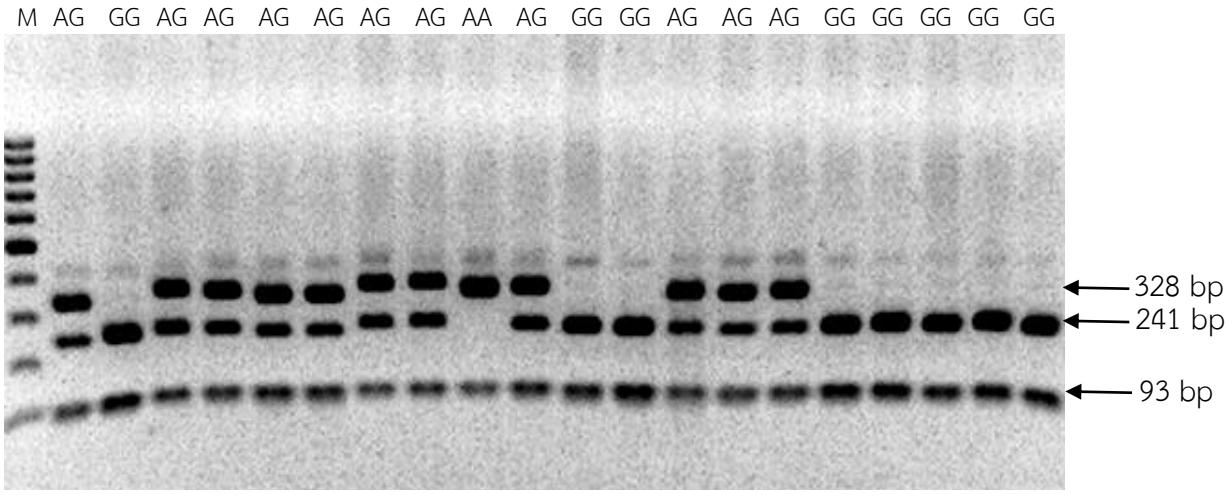

Figure 1 *FUT*1 gene was genotyped with *Hha*I restriction enzyme

M=DNA 100 ladder, AA: 328, 93, GG: 241, 93, 87 and AG: 328, 241, 93, 87 bp

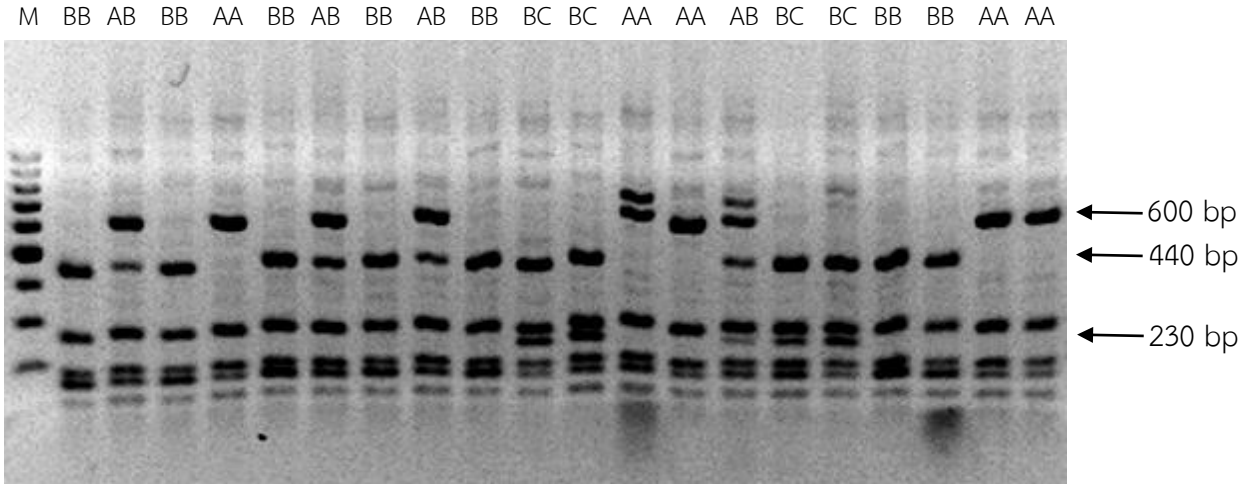

Figure 2 *NRAMP1* gene was genotyped with *Hinf*I restriction enzyme

M=DNA 100 ladder, AA: 600 bp BB: 440 bp AB: 600, 440 bp และ BC: 440, 230 bp

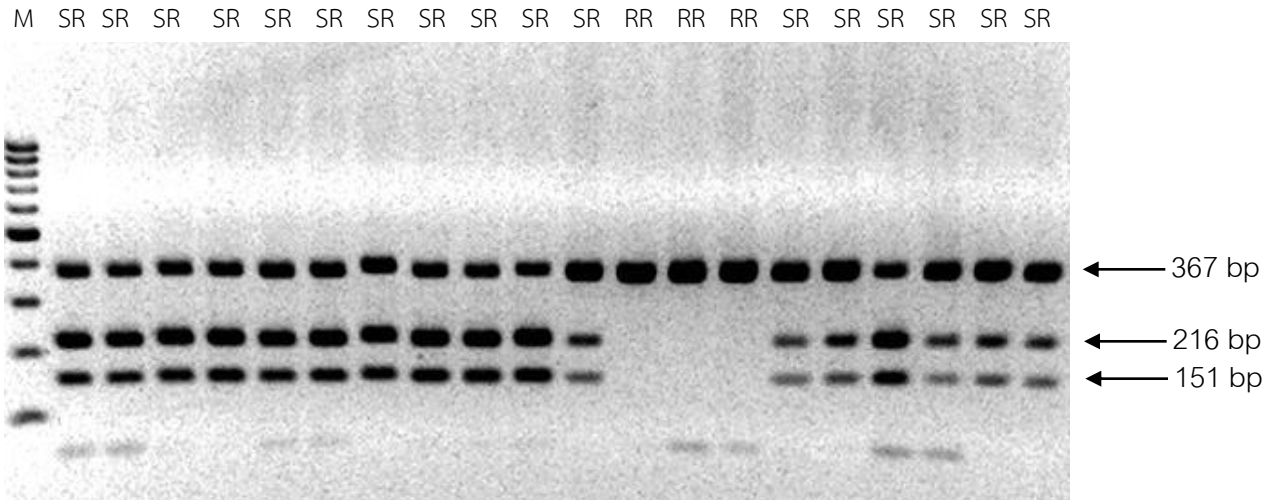

Figure 3 *F4R* gene was genotyped with *Xba*I restriction enzyme

M=DNA ladder, RR: 367 SS: 216, 151 and SR: 367, 216, 151 bp

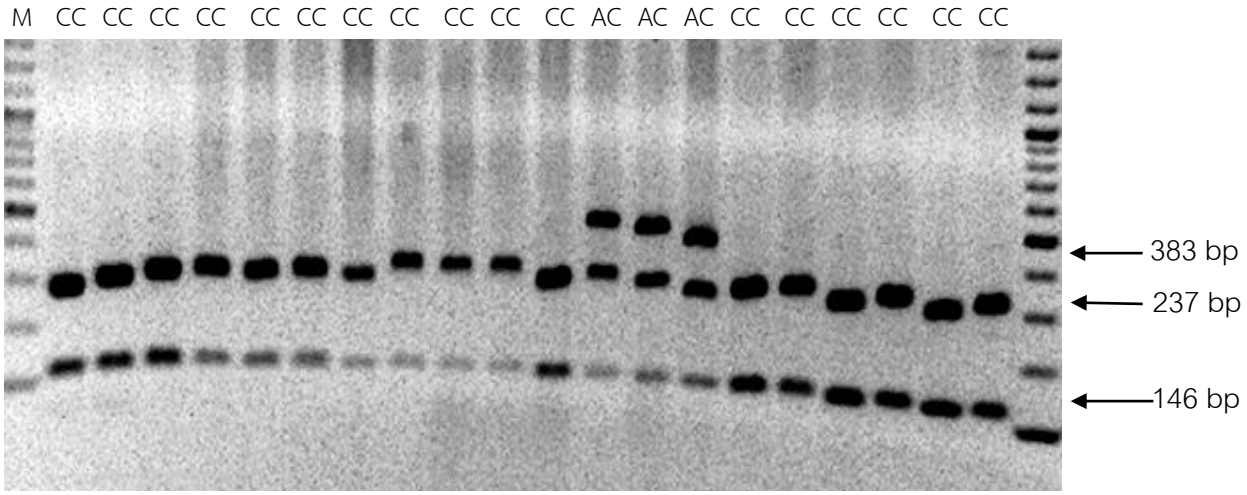

Figure 4 *C3* gene was genotyped with *Taq*I restriction enzyme

M=DNA ladder, AA: 383 CC: 237, 146 and AC: 383, 237, 146 bp

การวิเคราะห์ความถี่จีโนไทป์ และความถี่อัลลีล

จากการศึกษาความถี่จีโนไทป์ของยีน *FUT1* พบว่าสุกรป่า สุกรพันธุ์เหมยซาน และสุกรพื้นเมืองส่วนใหญ่มีจีโนไทป์ GG สูงกว่าจีโนไทป์ AA และ AG ในขณะที่ในสุกรพันธุ์ทางการค้า (Exotic breed) พบจีโนไทป์ AA สูงกว่าสุกรกลุ่มอื่น ดังแสดงใน **Table 2** ทั้งนี้ความถี่จีโนไทป์ของยีน *FUT1* ในสุกรพื้นเมืองจากภาคตะวันเฉียงเหนือ และภาคใต้ รวมถึงสุกรป่า และสุกรพันธุ์เหมยซาน อยู่ในสมดุลของ HWE ในขณะที่ความถี่จีโนไทป์ของยีน *FUT1* ในสุกรพื้นเมืองจากภาคเหนือ และสุกรสายพันธุ์ทางการค้าไม่อยู่ในสมดุลของ HWE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อาจเกิดจากการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์ในสุกรทางการค้าที่มีการปรับปรุงเพื่อให้ตอบสนองต่อความต้องการของตลาด หรือในสุกรพื้นเมืองภาคเหนือที่มีการคัดเลือกผสมพันธุ์กันภายในกลุ่มประชากร เนื่องจากสุกรพื้นเมืองในภาคเหนือเป็นสุกรที่เลี้ยงโดยชนเผ่าที่

นิยมเลี้ยงสุกรพื้นเมืองในพื้นที่ห่างไกล ไม่สะดวกในด้านการคมนาคมและการสื่อสาร การเคลื่อนย้ายหรือใช้ประโยชน์จะเน้นเฉพาะในชนเผ่าเดียวกัน สืบเนื่องจากความเชื่อหรือประเพณีที่สืบทอดกันมา การคัดเลือกผสมพันธุ์ไม่ได้เป็นไปตามธรรมชาติ จากสาเหตุเหล่านี้อาจส่งผลให้ลักษณะพันธุกรรมบางลักษณะถูกคัดเลือกออกจากประชากรได้ ขณะที่ในภาคเหนือบางพื้นที่มีการเปลี่ยนแปลงประชากรสุกรพื้นเมืองอย่างรวดเร็วเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางเศรษฐกิจและสังคม คนรุ่นใหม่เดินทางออกจากชุมชนทำให้แคลนแรงงาน จำนวนประชากรและกลุ่มพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองจึงลดลงอย่างรวดเร็ว จึงอาจส่งผลให้พันธุกรรมของลักษณะที่สำคัญสูญหายหรือลดลง ในการศึกษาครั้งนี้เมื่อจำแนกกลุ่มสุกรพันธุ์ทางการค้าออกจากกัน จะพบว่าสุกรพันธุ์ดูร็อค (DR) มีโอกาสพบจีโนไทป์ AA สูงกว่าสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ และแลนด์เรซ (ข้อมูลไม่ได้เผยแพร่) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ruan et al. (2013) ที่พบว่าสุกรพันธุ์ดูร็อคมีโอกาสที่มีความต้านทานต่อเชื้อ *E.coli* F18 สูงกว่าสุกรพันธุ์อื่นๆ ซึ่งยีน *FUT1* เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับความไวหรือต้านทานต่อการติดเชื้อ *E.coli* ชนิดที่สร้างสารพิษในระบบทางเดินอาหาร ETEC ชนิด F4ac และ F18 และก่อให้เกิดอาการท้องเสียในลูกสุกร ซึ่งสุกรที่มีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสจาก G เป็น A (G>A) จะส่งผลให้สุกรมีความต้านทานต่อเชื้อ *E.coli* ในการทำให้เกิดท้องเสีย (Meijerink et al., 2000) การพบอัลลีล A ในสุกรที่นำมาศึกษาจึงเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกเพื่อให้ได้สุกรที่มีพันธุกรรมที่ต้านทานเชื้อ *E.coli* ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการท้องเสียในลูกสุกร ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในฝูงสุกรพันธุ์ดูร็อค และสุกรพื้นเมืองของไทยภาคเหนือ และการศึกษาวิจัยในเชิงลึก เช่น การศึกษาลำดับเบสของยีน *FUT1* ในสุกรพื้นเมืองไทย การศึกษาความต้านทานหรือความไวต่อเชื้อ *E.coli* จึงเป็นประเด็นที่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมสุกรพื้นเมืองในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์สุกรต่อไป

Table 2 Genotype frequencies and allele frequencies of *FUT1* gene in pig

Group of pig	Number of pigs	Genotype frequency			Allele frequency		Chi-square
		AA	AG	GG	A	G	
Exotic pig	40	0.12	0.58	0.30	0.41	0.59	72.68*
Meishan pig	10	0	0	1.00	0	1.00	MM
Wild pig	10	0	0.20	0.80	0.10	0.90	0.22
North indigenous pig	141	0.01	0.08	0.91	0.05	0.95	11.74*
Northeast indigenous pig	72	0	0.14	0.86	0.07	0.93	2.31
South indigenous pig	76	0	0.24	0.76	0.12	0.88	2.64

Exotic pig= 10 Large White, 10 Landrace, 10 Duroc and 10 Pakchong5 synthetic breed

Chi-square value means the test values of difference genotypes to Hardy-Weinberg equilibrium,

$\chi^2_{0.05}$ (1) = 3.841, * P<0.05, MM = monomorphic

ยีน *NRAMP1* เป็นยีนที่อยู่ในกลุ่ม *NRAMP* ซึ่งยีน *NRAMP1* เป็นยีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับ autoimmune และความต้านทานต่อเชื้อ Salmonella และเชื้อก่อโรคภายในเซลล์ชนิดอื่นๆ ซึ่งในสุกรมีรายงานถึงความเกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อเชื้อ Salmonella (Sun et al., 1998) เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Wu et al., 2008) และการเกิดท้องเสียในลูกสุกร (Zhao et al., 2013) ยีน *NRAMP1* จึงเป็นยีนที่เป็นเป้าหมายที่น่าสนใจเกี่ยวกับบทบาทในความต้านทานต่อเชื้อโรค จากการศึกษาครั้งนี้พบความหลากหลายของจีโนไทป์ของยีน *NRAMP1* ในสุกรทุกกลุ่ม ยกเว้นในสุกรพันธุ์เหมยซานและสุกรป่าที่ไม่พบความหลากหลาย พบเพียงจีโนไทป์ BB เท่านั้น อาจเกิดจากสุกรป่าที่ไม่มีความหลากหลายเพราะเป็นสุกรป่าที่นำมาเลี้ยงเพื่อวัตถุประสงค์ทางการค้า ในขณะที่ประชากรสุกรพันธุ์เหมยซานมีจำนวนน้อย และ

เกิดอัตราเลือดชิดภายในฝูง พบความถี่ของจีโนไทป์ AA ในสุกรกลุ่มพันธุ์ทางการค้า สุกรพื้นเมืองภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ และพบความถี่ของจีโนไทป์ BB สูงในสุกรพันธุ์เหมยซาน สุกรป่า ทั้งนี้ความถี่จีโนไทป์ของยีน *NRAMP1* ในสุกรกลุ่มพันธุ์ทางการค้าและสุกรพื้นเมืองภาคใต้ อยู่ในสมดุลของ HWE ในขณะที่ความถี่จีโนไทป์ของยีน *NRAMP1* ในสุกรพื้นเมืองจากภาคเหนือ และภาคตะวันเฉียงเหนือ ไม่อยู่ในสมดุลของ HWE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงใน **Table 3** ซึ่งอาจเกิดจากการนำพันธุกรรมจากสุกรภายนอกเข้ามาผสมพันธุ์ภายในฝูง ซึ่งสุกรพื้นเมืองภาคเหนือปกติจะมีการเลี้ยงเป็นประชากรกลุ่มใหญ่ในหมู่บ้านชนเผ่าที่อยู่ห่างไกลชุมชน มีการเคลื่อนย้ายประชากรสุกรพื้นเมืองเฉพาะในชนเผ่าเดียวกัน แต่จากนโยบายที่นำสุกรพันธุ์เหมยซานและสุกรพันธุ์ทางการค้าเข้าไปส่งเสริมเพื่อเพิ่มผลผลิต อาจส่งผลให้มีพันธุกรรมจากภายนอกเข้าไปในฝูงประชากรสุกรพื้นเมือง ในกรณีของการเลี้ยงสุกรพื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นการเลี้ยงโดยเกษตรกรรายย่อยที่อยู่ใกล้เคียงแนวชายแดน ซื้อมาขายไป และนิยมผสมข้ามกับสุกรป่าเนื่องจากตลาดในพื้นที่นิยมบริโภคสุกรลูกผสมสุกรป่าที่ให้เนื้อมากกว่าสุกรพื้นเมือง นอกจากนี้ สุกรพื้นเมืองส่วนหนึ่งยังมีการนำข้ามมาจากประเทศข้างเคียงผ่านทางช่องทางธรรมชาติ ซึ่งมีรายงานว่าอัลลีล A มีความสัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกัน (Wu et al., 2008) การเกิดท้องเสียในลูกสุกร (Zhao et al., 2013) และการเพิ่มการทำงานของ Macrophage (Kadkhodazadeh et al., 2016) ในขณะที่ณัฐริกา และคณะ (2562) ได้รายงานการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันพบอัลลีล A ในสุกรสายพันธุ์ทางการค้า (แลนด์เรซ ลาร์จไวท์ ดูร็อค) สุกรลูกผสม และสุกรพื้นเมืองในระดับสูง แต่ยังต่ำกว่าอัลลีล B เช่นเดียวกับ Miguel และ Mingala (2019) ที่ศึกษาในสุกรทางการค้าในประเทศฟิลิปปินส์ พบสุกรส่วนใหญ่มีความถี่จีโนไทป์ของยีน *NRAMP1* ที่มีความต้านทานต่อเชื้อ Salmonella ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้เนื่องจากสุกรพันธุ์ทางการค้าในการศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการใช้อ้างอิง นำมาศึกษาจำนวนน้อย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษายีน *NRAMP1* เพิ่มเติมในสุกรพันธุ์ทางการค้า และสุกรพื้นเมืองที่อยู่ในแต่ละภูมิภาค เพื่อนำไปสู่การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์สุกรที่มีความต้านทานโรค

จากการกระจายความถี่ของยีน *NRAMP1* ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ยังไม่สามารถบ่งชี้ถึงความต้านทานโรคต่างๆได้ชัดเจน จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความหลากหลายในระดับลำดับเบส และอิทธิพลของความหลากหลายต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และบทบาทหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคต่างๆ การศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน ดังเช่นการศึกษาของ Dai et al. (2017) ที่ศึกษาการแสดงออกของยีน NRAMP1 ในลูกสุกรพันธุ์เหมยซานช่วงอายุต่างๆ พบว่ามีการแสดงออกของยีน *NRAMP1* สูงในม้าม ปอด ไต และไธมัส ซึ่งแสดงบทบาทหน้าที่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบ Innate immunity

Table 3 Genotype frequencies and allele frequencies of *NRAMP1* gene in pig

Group of pig	Number of pigs	Genotype frequency				Allele frequency			Chi-square
		AA	AB	BB	BC	A	B	C	
Exotic pig	40	0.20	0.10	0.65	0.05	0.25	0.73	0.03	4.53
Meishan pig	10	0	0	1.00	0	0	1.00	0	MM
Wild pig	10	0	0	1.00	0	0	1.00	0	MM
North indigenous pig	141	0.26	0.26	0.35	0.13	0.39	0.54	0.06	13.37*
Northeast indigenous pig	72	0.10	0.21	0.61	0.08	0.20	0.76	0.04	6.38*
South indigenous pig	76	0.28	0.25	0.46	0.01	0.40	0.59	0.01	5.61

Exotic pig = 10 Large White, 10 Landrace, 10 Duroc and 10 Pakchong5 synthetic breed

Chi-square value means the test values of difference genotypes to Hardy-Weinberg equilibrium,

$\chi^2_{0.05}$ (2) = 5.991, * P<0.05, MM = monomorphic

จากการศึกษายีน *F4R* ในตัวอย่างสุกรพื้นเมืองในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสุกรพื้นเมืองของไทยจากภูมิภาคต่างๆ ส่วนใหญ่มีพันธุกรรมที่ต้านทานต่อเชื้อ *E.coli* โดยมีจีโนไทป์ RR ในขณะที่สุกรพื้นเมืองจากภาคใต้พบสุกรที่มีจีโนไทป์ SS ซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่ต้านทานต่อเชื้อ *E.coli* อยู่บ้างเล็กน้อย กลุ่มสุกรพันธุ์ทางการค้าที่นำมาเปรียบเทียบเป็นกลุ่มอ้างอิงพบปริมาณที่มีจีโนไทป์เป็น Heterozygous ค่อนข้างสูง ทั้งนี้ความถี่จีโนไทป์ของยีน *F4R* ในสุกรพื้นเมืองจากภาคตะวันเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคใต้ รวมถึงสุกรป่า และสุกรพันธุ์เหมยซาน อยู่ในสมดุลของ HWE ในขณะที่ความถี่จีโนไทป์ของยีน *F4R* ในสุกรสายพันธุ์ทางการค้า ไม่อยู่ในสมดุลของ HWE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงใน **Table 4** ซึ่งสุกรกลุ่มนี้ประกอบด้วยสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ แลนด์เรซ ดูร็อค และปากช่อง 5 เมื่อแยกกลุ่มจะพบว่าลักษณะ Heterozygous พบในกลุ่มพันธุ์ลาร์จไวท์ และแลนด์เรซ ในขณะที่สุกรพันธุ์ดูร็อคและปากช่อง 5 พบเฉพาะจีโนไทป์ RR เท่านั้น (ข้อมูลไม่ได้ตีพิมพ์) ซึ่งแสดงถึงอิทธิพลจากการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์สุกรในกลุ่มที่เป็นสายแม่พันธุ์ (Dam line) ที่อาจคัดเลือกโดยเน้นลักษณะการให้ผลผลิตลูกทำให้ลักษณะความต้านทานโรคดังกล่าวถูกคัดออกไป จึงควรศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในกลุ่มสุกรสายแม่พันธุ์

ยีน *F4R* หรือยีน *MUC4* เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านต่อเชื้อ *E.coli* กลุ่มที่สร้างสารพิษ ETEC ชนิด K88 ที่ก่อให้เกิดปัญหาท้องเสียในสุกรหลังหย่านม โดยเชื้อกลุ่มนี้จะไปเกาะยึดติดกับวิลไลในลำไส้ที่ตำแหน่ง F4 receptor สุกรที่ไม่มี Receptor ต่อเชื้อนี้เชื้อ *E.coli* กลุ่มนี้จะไม่สามารถยึดเกาะ และก่อให้เกิดโรคได้ ยีนในกลุ่มนี้จึงมีการศึกษากันมากในสุกรพันธุ์ต่างๆ แต่ในสุกรพื้นเมืองของไทยยังไม่มีการศึกษา นอกจากยีน F4R จะบ่งชี้เกี่ยวกับความต้านทานโรคแล้ว ยังมีการนำไปใช้ในการคัดเลือกสุกรทางอ้อมเกี่ยวกับลักษณะทางเศรษฐกิจ ดังรายงานของ Fontanesi et al. (2012) ที่ศึกษาสุกรในประเทศอิตาลีพบว่าอัลลีลที่ไวต่อการติดเชื้อ *E.coli* มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับลักษณะอัตราการเจริญเติบโต และความหนาไขมันสันหลังในสุกร การศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับการยึดเกาะของเชื้อ *E.coli* กับ Receptor ที่ลำไส้นอกจากยีน F4R แล้ว ยังมีการศึกษาในยีน *MUC13*, *MUC20* และ Transferrin receptor gene (*TFRC*) (Schroyen et al., 2012) เพื่อพยายามหาทางลดปัญหาของเชื้อ *E.coli* ในสุกร

Table 4 Genotype frequencies and allele frequencies of *F4R* gene in pig

Group of pig	Number of pigs	Genotype frequency			Allele frequency		Chi-square
		SS	SR	RR	S	R	
Exotic pig	40	0	0.43	0.57	0.21	0.79	54.85*
Meishan pig	10	0	0	1.00	0	1.00	MM
Wild pig	10	0	0	1.00	0	1.00	MM
North indigenous pig	141	0	0	1.00	0	1.00	MM
Northeast indigenous pig	72	0	0.08	0.92	0.04	0.96	0.23
South indigenous pig	76	0.01	0.11	0.88	0.07	0.93	3.47

Exotic pig = 10 Large White, 10 Landrace, 10 Duroc and 10 Pakchong5 synthetic breed

Chi-square value means the test values of difference genotypes to Hardy-Weinberg equilibrium,

$\chi^2_{0.05}$ (1) = 3.841, * P<0.05, MM = monomorphic

ยีน *C3* ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแปรปรวนในสุกรกลุ่มพันธุ์ต่างๆ ที่พบเพียงอัลลีล C ยกเว้นสุกรพื้นเมืองภาคเหนือ และสุกรป่าที่พบมีความถี่ของอัลลีล A (0.02 และ 0.15 ตามลำดับ) ทั้งนี้ความถี่จีโนไทป์ของยีน *C3* ในสุกรป่า ไม่อยู่ในสมดุลของ HWE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงใน **Table 5** ซึ่งแสดงถึงมีการผสมข้ามกลุ่มของสุกรป่า หรือเป็นสุกรป่าที่นำมาจากแหล่งที่ต่างกัน ซึ่ง

Mekchay et al. (2003) พบอัลลีล A ของยีน *C3* ในสุกรพื้นเมืองของไทย แต่ไม่พบอัลลีล A ในสุกรพันธุ์ทางการค้าที่ใช้ในการศึกษา ซึ่งยีน *C3* นี้มีความเกี่ยวข้องกับการมีบทบาทเกี่ยวกับ Hemolytic complement ของ alternative complement pathways (ACP) และ classical complement pathway (CCP) ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคตามธรรมชาติต่อเชื้อจุลินทรีย์ เช่น การจับกินเชื้อโรค (Phagocytosis) หรือการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในการทำลายเชื้อโรค จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในประชากรสุกรพื้นเมืองและสุกรป่าของไทย โดยเฉพาะสุกรพื้นเมืองทางภาคเหนือที่พบอัลลีล A ในประชากร ซึ่งอาจนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมสุกรที่มีบทบาทสำคัญในกลไกของระบบ Complement ต่อความต้านทานโรคของสุกร

Table 5 Genotype frequencies and allele frequencies of *C3* gene in pig

Group of pig	Number of pigs	Genotype frequency			Allele frequency		Chi-square
		AA	AC	CC	A	C	
Exotic pig	40	0	0	1.00	0	1.00	MM
Meishan pig	10	0	0	1.00	0	1.00	MM
Wild pig	10	0	0.30	0.70	0.15	0.85	40*
North indigenous pig	141	0	0.04	0.96	0.02	0.98	1.04
Northeast indigenous pig	72	0	0	1.00	0	1.00	MM
South indigenous pig	76	0	0	1.00	0	1.00	MM

Exotic pig = 10 Large White, 10 Landrace, 10 Duroc and 10 Pakchong5 synthetic breed

Chi-square value means the test values of difference genotypes to Hardy-Weinberg equilibrium,

$\chi^2_{0.05}$ (1) = 3.841, * P<0.05, MM = monomorphic

สรุป

จากการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคในสุกรพื้นเมืองไทย ได้แก่ยีน *FUT1, NRAMP1, F4R* และ *C3* พบความหลากหลายจีโนไทป์ของยีน *NRAMP1* ในสุกรพื้นเมืองภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ในขณะที่พบความหลากหลายจีโนไทป์บางส่วนของยีน *FUT1, F4R* และ *C3* ในสุกรพื้นเมืองแต่ละภูมิภาค ความถี่จีโนไทป์ของยีน *F4R* และ *FUT1* ในสุกรพื้นเมืองจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ ของยีน *NRAMP1* จากสุกรพื้นเมืองภาคใต้ และยีน *C3* จากสุกรพื้นเมืองภาคเหนืออยู่ในสมดุลของ HWE ยกเว้นความถี่จีโนไทป์ของยีน *NRAMP1* ในสุกรพื้นเมืองจากภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และของยีน *FUT1* ในสุกรพื้นเมืองภาคเหนือที่ไม่อยู่ในสมดุลของ HWE

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาในเชิงลึกของยีน *FUT1*, *NRAMP1*, *F4R* และ *C3* ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคในสุกรพื้นเมืองไทย เช่น การศึกษาลำดับเบส การศึกษาการแสดงออกของยีน การศึกษาในระดับจีโนม เพื่อเป็นแนวทางที่นำไปสู่การพัฒนาพันธุ์สุกรที่มีความสามารถการต้านทานโรค ซึ่งนอกจากจะลดความสูญเสียที่เกิดจากเชื้อโรคต่างๆ ลดการใช้วัคซีน ลดต้นทุนการผลิตได้แล้ว ยังลดปัญหาด้านสุขภาพที่ส่งต่อไปผู้บริโภค ลดการใช้ยาปฏิชีวนะที่นำไปสู่การลดปัญหาการเกิดเชื้อดื้อยา (Antimicrobial resistance, AMR)

คำขอบคุณ

การวิจัยนี้ดำเนินการภายใต้แผนงานวิจัยการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์สุกรพื้นเมืองไทย ที่สนับสนุนงบประมาณโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และขอขอบคุณ รศ.ดร.พรรณิภา ศิวะพิรุฬห์เทพ ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

ณัฐริกา สุวรรณวงศ์ นเรศน์ อินทรักษ์ พีรญา ทิพย์เดช และ พิชญานิภา พงษ์พานิช. 2562. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในสุกร. วารสารแก่นเกษตร. 47: 781–786.

Bao, W.-B., L. Ye, J. Zhu, Z.-Y. Pan, G.-Q. Zhu, X.-G. Huang, and S.-L. Wu. 2012. Evaluation of M307 of FUT1 gene as a genetic marker for disease resistance breeding of Sutai pigs. Molecular Biology Reports. 39: 4223–4228.

Dai, C. H., J. Y. Wu, C. X. Zhao, L. H. Yu, W. B. Bao, and S. L. Wu. 2017. NRAMP1 gene expression in different tissues of meishan piglets from newborn to weaning. Genetics and Molecular Research. 16(1). gmr16019288.

Daudelin, J.-F., M. Lessard, F. Beaudoin, E. Nadeau, N. Bissonnette, Y. Boutin, J.-P. Brousseau, K. Lauzon, and J. M. Fairbrother. 2011. Administration of probiotics influences F4 (K88)-positive enterotoxigenic Escherichia coli attachment and intestinal cytokine expression in weaned pigs. Veternay Research. 42: 69.

Falconer, D. S. 1982. Introduction to Quantitative Genetics. 2nd ed. Longman, New York.

Fontanesi, L., F. Bertolini, S. Dall'Olio, L. Buttazzoni, M. Gallo, and V. Russo. 2012. Analysis of association between the MUC4 g.8227C>G polymorphism and production traits in italian heavy pigs using a selective genotyping approach. Animal Biotechnoly 23: 147–155.

Kadkhodazadeh, M., A. R. Ebadian, R. Amid, P. Zarnegarnia, F. Mollaverdi, and N. Aghamohammadi. 2016. Natural resistance associated macrophage protein 1 gene polymorphism is associated with chronic periodontitis not peri-Implantitis in an Iranian population: A cross sectional study. Acta Medica Iranica. 54: 323–329.

Myakishev, M.V., G.I. Kapanadze, G.O. Shaikhayev, P.G. Georgiev and, and D.R. Beritashvili. n.d. Extraction of DNA from the whole blood by silica gel. Moscow.

Meijerink, E., R. Fries, P. Vögeli, J. Masabanda, G. Wigger, C. Stricker, S. Neuenschwander, H. U. Bertschinger, and G. F. Stranzinger. 1997. Two alpha(1,2) fucosyltransferase genes on porcine Chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and Escherichia coli F18 receptor (ECF18R) loci. Mammalian Genome. 8: 736–741.

Meijerink, E., S. Neuenschwander, R. Fries, A. Dinter, H. Bertschinger, G. F. Stranzinger, and P. Vögeli. 2000. A DNA polymorphism influencing alpha(1,2)fucosyltransferase activity of the pig FUT1 enzyme determines susceptibility of small intestinal epithelium to Escherichia coli F18 adhesion. Immunogenetics. 52: 129–136.

Mekchay, S., S. Ponsuksili, K. Schellander, and K. Wimmers. 2003. Association of the porcine C3 gene with haemolytic complement activity in the pig. Genetics Selection Evolution. 35: S83.

Miguel, M. A., and C. N. Mingala. 2019. Screening of Pig (Sus scrofa) Bactericidal Permeability-Increasing Protein (BPI) Gene as Marker for Disease Resistance. Animal Biotechnoly. 30: 146–150.

Peng, Q.-L., J. Ren, X.-M. Yan, X. Huang, H. Tang, Y.-Z. Wang, B. Zhang, and L.-S. Huang. 2007. The g.243A>G mutation in intron 17 of MUC4 is significantly associated with susceptibility/resistance to ETEC F4ab/ac infection in pigs. Animal Genetics 38: 397–400.

Roubos-van den Hil, P. J., R. Litjens, A.-K. Oudshoorn, J. W. Resink, and C. H. M. Smits. 2017. New perspectives to the enterotoxigenic E. coli F4 porcine infection model: Susceptibility genotypes in relation to performance, diarrhoea and bacterial shedding. Veterinary Microbiology. 202: 58–63.

Ruan, G., Y. Y. Xing, Y. Fan, R. Qiao, X. F. He, B. Yang, N. S. Ding, J. F. Ren, L. S. Huang, and S. J. Xiao. 2013. Genetic variation at RYR1, IGF2, FUT1, MUC13, and KPL2 mutations affecting production traits in Chinese commercial pig breeds. Czech Journal of Animal Science. 58: 65–70.

Schroyen, M., A. Stinckens, R. Verhelst, T. Niewold, and N. Buys. 2012. The search for the gene mutations underlying enterotoxigenic Escherichia coli F4ab/ac susceptibility in pigs: a review. Veterinary Research. 43: 70.

Sun, H. S., L. Wang, M. F. Rothschild, and C. K. Tuggle. 1998. Mapping of the natural resistance-associated macrophage protein 1 (NRAMP1) gene to pig chromosome 15. Animal Genetics. 29: 138–140.

Wimmers, K., S. Mekchay, S. Ponsuksili, T. Hardge, M. Yerle, and K. Schellander. 2001. Polymorphic sites in exon 15 and 30 of the porcine C3 gene. Animal Genetics. 32: 46–47.

Wu, H., D. Cheng, and L. Wang. 2008. Association of polymorphisms of Nramp1 gene with immune function and production performance of Large White pig. Journal of Genetics and Genomics. 35: 91–95.

Yan, X. M., J. Ren, H. S. Ai, N. S. Ding, J. Gao, Y. M. Guo, C. Y. Chen, J. W. Ma, Q. L. Shu, and L. S. Huang. 2004. Genetic variations analysis and characterization of the fifth intron of porcine NRAMP1 gene. Asian-Australas Journal of Animal Science. 17: 1183–1187.

Zhao, S., Y. Cai, S. Gun, Q. Yang, and L. Liu. 2013. Genetic polymorphisms in the swine (Sus scrofa) natural-resistance-associated marophage protein 1 gene(Nramp1) and their relationships with piglet diarrhea. Journal of Agriculture Biotechnology. 21: 1351.