

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



209113



การศึกษาความหลากหลายและเปรียบเทียบโครงสร้างทางพันธุกรรมระหว่างไก่ป่าและ
ไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้ไมโครแซเทลไลต์

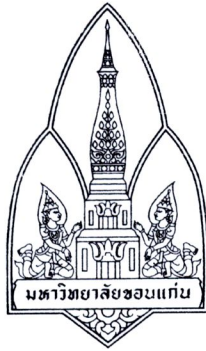
THE STUDY OF GENETIC DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE
COMPARISON BETWEEN RED JUNGLE FOWLS AND THAI NATIVE
CHICKENS BY MICROSATELLITES

นางสาวเกศรา อำพากรณ์

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2553



การศึกษาความหลากหลายและเปรียบเทียบโครงสร้างทางพันธุกรรมระหว่างไก่ป่าและ
ไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้ไมโครแซทเทลไลต์

THE STUDY OF GENETIC DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE
COMPARISON BETWEEN RED JUNGLE FOWLS AND THAI NATIVE
CHICKENS BY MICROSATELLITES



นางสาวเกศรา อำพากรณ์

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2553

การศึกษาความหลากหลายและเปรียบเทียบโครงสร้างทางพันธุกรรมระหว่างไก่ป่าและ
ไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้ไมโครแซทเทลไลต์

นางสาวเกศรา อำพากรณ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

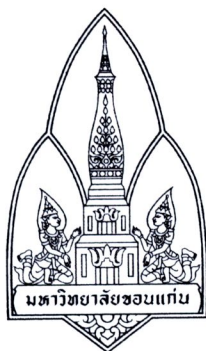
พ.ศ. 2553

**THE STUDY OF GENETIC DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE
COMPARISON BETWEEN RED JUNGLE FOWLS AND THAI NATIVE
CHICKENS BY MICROSATELLITES**

MISS KESSARA AMPAPORN

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN ANIMAL SCIENCE
GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY**

2010



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

หลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

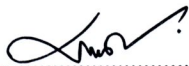
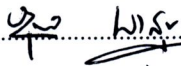
สาขาวิชาสัตวศาสตร์

ชื่อวิทยานิพนธ์: การศึกษาความหลากหลายและเปรียบเทียบโครงสร้างทางพันธุกรรมระหว่าง
ไก่ป่าและไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้ไมโครแซทเทลไลต์

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์: นางสาวเกศรา อำพาภรณ์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์:	ดร. สาวิตรี วงศ์ตั้งถิ่นฐาน	ประธานกรรมการ
	รศ.ดร. วรวิทย์ สิริพลวัฒน์	กรรมการ
	รศ.ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา	กรรมการ
	รศ.ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ	กรรมการ
	ผศ.ดร. ยุพิน ผาสุข	กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:

	อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา)	
	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ)	
	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยุพิน ผาสุข)	


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ลำปาง แม่นมดัย)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. อนันต์ พลธานี)
คณบดีคณะเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

เกศรา อำพากรณ์. 2553. การศึกษาความหลากหลายและเปรียบเทียบโครงสร้างทางพันธุกรรมระหว่างไก่ป่าและ
ไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา,
รศ.ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ,
ผศ.ดร. ยุพิน ผาสุข

บทคัดย่อ

209113

การศึกษครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและเปรียบเทียบโครงสร้างทาง
พันธุกรรมของไก่ป่าและไก่พื้นเมืองไทยทั้งหมด 6 สายพันธุ์ รวม 326 ตัว ได้แก่ ไก่ป่า 2 สายพันธุ์ คือ
ไก่ป่าคุ่มหูแดง (GS, n = 49) และไก่ป่าคุ่มหูขาว (GG, n = 53) และไก่พื้นเมือง 4 สายพันธุ์ คือ ไก่ประดู่หางดำ
(PD, n = 56), ไก่แดง (D, n = 56), ไก่ชี (CH, n = 56) และไก่เหลืองหางขาว (LK, n = 56) โดยใช้
ไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 20 โลไซ ที่แนะนำโดย FAO และตรวจสอบชิ้นส่วนไมโครแซทเทลไลท์ด้วย 6%
PAGE ผลการศึกษาพบจำนวนอัลลีลทั้งหมด 210 อัลลีล โดยมีขนาดอัลลีลอยู่ระหว่าง 85-394 bp จำนวนอัลลีล
เฉลี่ย 10.50 อัลลีลต่อโลกัส และผันแปรในช่วง 5-18 อัลลีล ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีค่าเฉลี่ยในไก่ป่าคุ่มหูแดง,
ไก่ป่าคุ่มหูขาว, ไก่ประดู่หางดำ, ไก่แดง, ไก่ชี และไก่เหลืองหางขาว มีค่า 0.810, 0.812, 0.823, 0.809, 0.805, และ
0.817 ตามลำดับ ซึ่งเห็นว่าประชากรไก่ป่าและไก่พื้นเมืองที่ทำการศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง
สำหรับการจำแนกกลุ่มสายพันธุ์ทางพันธุกรรมด้วยข้อมูลพันธุกรรมรายตัวด้วยวิธี Principle component plot และ
วิธี Cluster analysis นั้นยังไม่สามารถจำแนกกลุ่มทางพันธุกรรมของไก่ทั้ง 6 สายพันธุ์ออกจากกันได้ วิเคราะห์
ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจากค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยวิธี NJ พบว่าสามารถจำแนกไก่ได้เป็น 3
กลุ่ม ได้แก่ ไก่ป่าคุ่มหูแดง ไก่ป่าคุ่มหูขาว และไก่พื้นเมือง (ไก่ประดู่หางดำ, ไก่แดง, ไก่ชี และไก่เหลืองหางขาว)
และจากการศึกษครั้งนี้ พบว่า ไก่พื้นเมืองมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับไก่ป่าคุ่มหูแดงมากกว่าไก่ป่าคุ่มหูขาว
และไก่ป่าคุ่มหูขาวมีลำดับทางวิวัฒนาการมาก่อนไก่สายพันธุ์อื่นๆ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า ไก่ป่าคุ่มหูขาวน่าจะเป็น
บรรพบุรุษของไก่พื้นเมืองในปัจจุบัน จากค่า F_{ST} เท่ากับ 0.313 ทำให้ทราบว่ามียีนพูลของการเกิดประชากรกลุ่ม
ย่อยสูง การทดสอบไค-สแควร์ (χ^2) เพื่อตรวจสอบสภาพทางพันธุกรรมของประชากร แสดงให้เห็นว่า ไก่ทุก
สายพันธุ์ไม่เบี่ยงเบนจากสมดุล Hardy-Weinberg การศึกษครั้งนี้พบ unique allele ในไก่ป่าคุ่มหูแดง
(MCW0081.12, MCW0222.15), ไก่ประดู่หางดำ (ADL0268.1), และ ไก่ชี (MCW0222.1) จากข้อมูลการศึกษา
ความหลากหลายและโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรไก่ป่าและไก่พื้นเมืองไทยที่ตรวจสอบด้วย
ไมโครแซทเทลไลท์นี้จะเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนการอนุรักษ์พันธุกรรมของสัตว์ต่อไป

Kessara Ampaporn. 2010. **The Study of Genetic Diversity and Genetic Structure Comparison between Red Jungle Fowls and Thai Native Chickens by Microsatellites.** Master of Science Thesis in Animal Science, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors : Assoc. Prof. Dr. Monchai Duangjinda,
Assoc. Prof. Dr. Thevin Vongpralub,
Asst. Prof. Dr. Yupin Phasuk

ABSTRACT

209113

The objectives of this study were to studies the genetic diversity and compare the genetic structure of 6 chicken breeds (326 birds) which were Red Jungle Fowl : *Gallus gallus gallus* (GG, n = 53) and *Gallus gallus spadiceus* (GS, n = 49) and Thai Native Chickens : Pradoo Hang Dam (PD, n = 56), Dang (D, n = 56), Chee (CH, n = 56), and Luang Hang Khao (LK, n = 56) by microsatellites technique. Microsatellite DNA were amplified with 20 primers, which were recommended by FAO, and separated on 6% PAGE. The results showed that 210 alleles were detected. The number of alleles per locus varied from 5 to 18. The mean number of allele per locus was 9.95 with 85-394 bp in size. The expected heterozygosities of GS, GG, PD, D, CH, and LK were 0.810, 0.812, 0.823, 0.809, 0.805, and 0.817, respectively. All populations had highly genetic diversity. Genetic clusterization from individual genetics by Principle Component Analysis plot and Cluster analysis could not detect the differentiation. The phylogenetic tree was reconstructed base on the genetic distance using the NJ method. Breeds were grouped into three clusters: which were GG, GS, and Thai Native Chickens (PD, D, CH, and LK). It was found that Thai Native Chickens closely related with GS more than GG. In addition, the GG was the first order in phylogenetic tree. Therefore, the GG might be an ancestor of Thai Native Chickens. F coefficient ($F_{ST} = 0.313$) highly indicated the subdivision of the population. All populations did not deviated from Hardy-Weinberg equilibrium. The unique allele was founded in GS (MCW0081.12, MCW0222.15), PD (ADL0268.1), and CH (MCW0222.1). The information about genetic diversity and genetic structures estimated by microsatellites analysis may be useful for developing conservation strategies.

ขอขอบส่วนดีของวิทยานิพนธ์นี้แด่บุพการีและคณาจารย์ทุกท่าน

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก รศ. ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณ รศ. ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ และ ผศ. ดร. ยุพิน ผาสุข อาจารย์ที่ปรึกษา ร่วม และ รศ. บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือและข้อชี้แนะต่างๆ ตลอดจนตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ ดร. สาวิตรี วงศ์ตั้งถิ่นฐาน ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร. วรวิทย์ สิริพลวัฒน์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ, ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าจุฬาภรณ์, สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าเขาค้อ สำนักอนุรักษ์สัตว์ป่า กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช และโครงการพัฒนาฟุ้งพ่อแม่พันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำและชีด้วยดัชนีการคัดเลือก ที่สนับสนุนตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการและศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกๆ ท่าน ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำในการเรียนและการดำเนินงาน วิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ABAG ทุกคนที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการทำ วิทยานิพนธ์ด้วยดีเสมอมา และขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้องทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือด้วยดีเสมอมา ด้วยคุณความดีและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้เขียนขอมอบให้กับผู้มีพระคุณดังที่กล่าวข้างต้นและผู้ที่ไม่ได้กล่าวถึง ณ ที่นี้ ด้วยความขอบคุณ

เกศรา อำพากรณ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
2.1 ประวัติความเป็นมาของไก่ไทย	4
2.2 ลักษณะทั่วไปของไก่ป่าไทย	5
2.3 ลักษณะของไก่พื้นเมืองไทยที่ใช้ในการศึกษา	7
2.4 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากร	9
2.5 การอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรม	12
2.6 ผลกระทบของการปรับปรุงพันธุ์ต่อการอนุรักษ์	13
2.7 ลักษณะจีโนมของไก่	14
2.8 เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular marker)	15
2.9 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ	15
2.10 การประยุกต์ใช้ไมโครแซทเทลไลต์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในสัตว์ปีก	17

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3	วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1	ศัพท์ทดลอง	20
3.2	การเก็บข้อมูลและตัวอย่างเลือดไก่	20
3.3	การสกัดดีเอ็นเอจากเลือดไก่	20
3.4	ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ	21
3.5	การเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอด้วยกระบวนการ PCR	22
3.6	ตรวจสอบไมโครแซทเทลไลต์ดีเอ็นเอ	24
3.7	การวิเคราะห์ข้อมูล	24
3.8	สถานที่ทำการวิจัย	29
บทที่ 4	ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	
4.1	สภาพความหลากหลายทางพันธุกรรม	30
4.2	การจำแนกกลุ่มสายพันธุ์ด้วยข้อมูลพันธุกรรมรายตัว	34
4.3	การจำแนกกลุ่มสายพันธุ์จากความถี่อัลลีล	36
4.4	สภาพโครงสร้างทางพันธุกรรมของไก่ป่าและไก่พื้นเมืองไทย	36
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างอัลลีลกับสายพันธุ์ไก่	39
บทที่ 5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1	สรุปผลการทดลอง	43
5.2	ข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง		45
ภาคผนวก		49
ประวัติผู้เขียน		66

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1	ความแตกต่างระหว่างไก่อ้วนและไก่ป่า
ตารางที่ 2.2	การประยุกต์ใช้ไมโครแซทเทลไลต์ในไก่
ตารางที่ 3.1	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่ป่าและไก่พื้นเมืองไทย
ตารางที่ 4.1	ไพรเมอร์ ขนาดและจำนวนอัลลีลที่พบและอ้างอิง
ตารางที่ 4.2	จำนวนอัลลีลที่พบในไก่ป่าคุ่มหูแดง (GS) ไก่ป่าคุ่มหูขาว (GG) ไก่ประดู่หางดำ (PD) ไก่แดง (D) ไก่ชี (CH) และไก่เหลืองหางขาว (LK)
ตารางที่ 4.3	ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต (H _o) ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่คาดหวัง (H _e) และค่า chi-square (χ^2) ของไพรเมอร์ 20 โกล์ส ที่พบในไก่ป่าคุ่มหูแดง (GS) ไก่ป่าคุ่มหูขาว (GG) ไก่ประดู่หางดำ (PD) ไก่แดง (D) ไก่ชี (CH) และไก่เหลืองหางขาว (LK)
ตารางที่ 4.4	การจำแนกกลุ่มไก่ป่าคุ่มหูแดง ไก่ป่าคุ่มหูขาว ไก่ประดู่หางดำ ไก่แดง ไก่ชีและไก่เหลืองหางขาว ด้วยข้อมูลพันธุกรรมรายตัว โดยวิธี Cluster Analysis
ตารางที่ 4.5	ค่าความแตกต่างทางพันธุกรรมของไก่ป่าคุ่มหูแดง (GS) ไก่ป่าคุ่มหูขาว (GG) ไก่ประดู่หางดำ (PD) ไก่แดง (D) ไก่ชี (CH) และไก่เหลืองหางขาว (LK)
ตารางที่ 4.6	ค่า F _{ST} ของแต่ละไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาอิทธิพลการเกิดประชากรกลุ่มย่อยของไก่ป่าคุ่มหูแดง ไก่ป่าคุ่มหูขาว ไก่ประดู่หางดำ ไก่แดง ไก่ชี และไก่เหลืองหางขาว
ตารางที่ 4.7	most frequent allele, dominant allele และ unique allele ในไก่ป่าคุ่มหูแดง (GS) ไก่ป่าคุ่มหูขาว (GG) ไก่ประดู่หางดำ (PD) ไก่แดง (D) ไก่ชี (CH)และไก่เหลืองหางขาว (LK)

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 ไก่ป่าคุ้มครองแดงเพศผู้ (ก) และเพศเมีย (ข) และไก่ป่าคุ้มครองขาวเพศผู้ (ค) และเพศเมีย (ง)	6
ภาพที่ 2.2 ไก่ประจูด่างดำเพศผู้ (ก) เพศเมีย (ข), ไก่เหลืองหางขาวเพศผู้ (ค) เพศเมีย (ง), ไก่แดงเพศผู้ (จ) เพศเมีย (ฉ) และไก่สีเพศผู้ (ช) และเพศเมีย (ซ) ที่ใช้ในการศึกษา	8
ภาพที่ 4.1 การจัดกลุ่มไก่ป่าคุ้มครองแดง ไก่ป่าคุ้มครองขาว ไก่ประจูด่างดำ ไก่แดง ไก่สี และไก่เหลืองหางขาว ด้วยข้อมูลพันธุกรรมรายตัว ด้วยวิธี Principle Component Analysis plot	35
ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไก่ป่าคุ้มครองแดง (GS) ไก่ป่าคุ้มครองขาว (GG) ไก่ประจูด่างดำ (PD) ไก่แดง (D) ไก่สี (CH) และไก่เหลืองหางขาว (LK)	37
ภาพที่ 4.3 unique allele ของไก่ป่าคุ้มครองแดง บริเวณโลกัส MCW0081 อัลลีลที่ 12	41
ภาพที่ 4.4 unique allele ของไก่สีและไก่ป่าคุ้มครองแดง บริเวณโลกัส MCW0222 อัลลีลที่ 1 และ 15 ตามลำดับ	41
ภาพที่ 4.5 unique allele ของไก่ประจูด่างดำ บริเวณโลกัส ADL0268 อัลลีลที่ 1	42