ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์)
ปริญญา

พันธุศาสตร์ — **สาขา**
พันธุศาสตร์ — **ภาควิชา**

เรื่อง หลักฐานแสดงต้นกำเนิดและการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยจากดีเอ็นเอโบราณในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลาย

Ancient DNA Evidence of Origin and Domestication of Pig in Thailand in Late Prehistoric Time

นามผู้วิจัย นางสาวมัทธนา วรรณจักร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ....

(อาจารย์วรรณรดา สุราช, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ....

(อาจารย์ประดิษฐ์ แสงทอง, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา ....

(รองศาสตราจารย์สมศักดิ์ อภิสิทธิวาณิช, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ .... **เดือน** .... **พ.ศ.** ....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

หลักฐานแสดงต้นกำเนิดและการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยจากดีเอ็นเอโบราณในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลาย

Ancient DNA Evidence of Origin and Domestication of Pig in Thailand in Late Prehistoric Time

โดย

นางสาวมัทธนา วรรณจักร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์)
พ.ศ. 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มัทธนา วรรณจักร 2556: หลักฐานแสดงต้นกำเนิดและการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยจากดีเอ็นเอโบราณในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลาย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์วรรณรดา สุราช, Ph.D. 101 หน้า

งานวิจัยนี้ได้นำตัวอย่างฟันของสุกร (PTK) จำนวน 13 ตัวอย่าง (อายุประมาณ 3,000 ปีก่อน) จากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ อำเภอวังม่วง จังหวัดสระบุรี มาใช้เพื่อหาต้นกำเนิดของสุกรไทย โดยการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณดีลูป (D-loop) และยีนไซโตโครมบี (*cytochrome b* หรือ *cytb*) ของสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลาย และประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสุกรไทยในยุคโบราณกับสุกรเอเชียและสุกรยุโรปในปัจจุบันและสุกรโบราณจากประเทศจีนจากฐานข้อมูล GenBank ด้วยการสร้าง phylogenetic tree และ Minimum Spanning Network โดยตัวอย่างสุกรโบราณ (PTK) 13 ตัวอย่าง สามารถสกัดดีเอ็นเอและนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สำเร็จจากไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop 8 ตัวอย่าง (ความยาว 179 คู่เบส) และจากยีน *cytb* ได้ 7 ตัวอย่าง (ความยาว 131 คู่เบส) ผลการวิจัยของการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* และบริเวณ D-loop จากสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ชี้ให้เห็นว่าตัวอย่างสุกรโบราณของไทยถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสุกรในแถบภูมิภาคเอเชีย และมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรป่าและสุกรเลี้ยงในแถบภูมิภาคเอเชีย จากผลการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop พบว่าสุกรโบราณของไทยมีความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 5 ตำแหน่งจากทั้งหมด 23 ตำแหน่ง และสามารถจัดกลุ่มแฮปโพลไทป์ได้ 5 กลุ่ม และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยการสร้าง phylogenetic tree พบว่าสุกรโบราณของไทยถูกจัดออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีแต่สุกรในแถบภูมิภาคเอเชีย (Asian clade) เท่านั้น ซึ่งตัวอย่างสุกรไทยโบราณส่วนใหญ่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้ และมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสุกรเลี้ยงจากภูมิภาคเอเชีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสุกรจากประเทศจีน ส่วนกลุ่มที่สอง คือ กลุ่มที่มีทั้งสุกรเอเชียและยุโรป (European-Asian clade) ซึ่งในกลุ่มนี้มีสุกรโบราณของไทยเพียงตัวอย่างเดียว และมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสุกรป่าของเอเชีย จากข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างสุกรไทยโบราณอาจมีต้นกำเนิดมาจากหลายสายวิวัฒนาการ คือสืบเชื้อสายมาจากประชากรสุกรในท้องถิ่น และสืบเชื้อสายมาจากสุกรเลี้ยงในแถบเอเชียโดยเฉพาะอย่างยิ่งสุกรเลี้ยงของจีน นอกจากนี้การพบทั้งสุกรเลี้ยงและสุกรป่าในบริเวณพื้นที่ของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบนี้ยังชี้ให้เห็นว่าน่าจะมีการเลี้ยงสุกรในบริเวณพื้นที่ของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบมาแล้วอย่างน้อย 3,000 ปีก่อน และอาจตีความได้ว่าชุมชนที่อาศัยอยู่ในบริเวณบ้านโป่งตะขบนี้ เมื่อประมาณ 3,000 ปีก่อน อาจเป็นทั้งนักล่าและเลี้ยงสัตว์ด้วย

________________ ________________ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Muttana Wannajuk 2013: Ancient DNA Evidence of Origin and Domestication of Pig in Thailand in Late Prehistoric Time. Master of Science (Genetics), Major Field: Genetics, Department of Genetics. Thesis Advisor: Ms. Wunrada Surat, Ph.D. 101 pages.

13 ancient pig bones (approximately 3,000 B.P.) from the Pong Takhop archaeological site in Wang Muang district, Saraburi province, Thailand were used to gain the information on origins of Thai pigs. The genetic variation, phylogenetic relationships and network analysis were examined based on partial sequences of mtDNA D-loop region and *cytochrome b* (*cytb*) gene of Thai ancient pig remains (in late prehistoric time) in comparison with those of Chinese ancient pigs, Asian and European modern pig breeds from GenBank. Eight partial D-loop sequences and seven partial *cytb* sequences from 13 ancient pig samples (PTK) was successfully amplified and sequenced. The results of partial mtDNA *cytb* and D-loop sequences indicated that all ancient pig samples were categorized into the Asian pig breeds. Our data showed that Thai ancient pigs have a close relationship with Asian wild boars and domestic pigs. From the results of partial D-loop sequences, 5 polymorphic sites from a total of 23 nucleotide variations were detected in PTK samples and the PTKs were assigned into 5 haplotypes. From phylogenetic relationship, PTKs were clustered into 2 clades; European-Asian clade and Asian clade. In the Asian clade, the majority of PTKs had a close relationship with other Asian pigs, especially Chinese domestic pigs, while the other had affinity to Asian wild boars. The results indicated that Thai ancient pigs were likely to originate from multiple lineages. One was descended from local population while the other originated from other Asian pigs, especially Chinese domestic pigs. In addition, the results also imply that pig domestication in central Thailand might occur at least 3,000 B.P. Moreover, the occurrence of both domestic pigs and wild boars in the Pong Takhop area suggested that the Pong Takhop community might be an agricultural society that both raised and hunted animals for their living.

______________________________ ______________________________ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อ.ดร. วรรณรดา สุราช ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอ.ดร. ประดิษฐ์ แสงทอง กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ รศ. สุรพล นาถะพินธุ ที่ให้คำปรึกษาในการค้นคว้าวิจัย และช่วยเหลือในเรื่องตัวอย่างโบราณที่ใช้ในงานวิจัยนี้ และขอกราบขอพระคุณอาจารย์ภาควิชาพันธุศาสตร์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาพันธุศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์ (ทุน Preproposal Research) และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์เพื่อการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2554

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ และทุกๆคนในครอบครัวที่ได้ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจผู้วิจัยมาตลอดในทุกเรื่อง

มัทธนา วรรณจักร

มีนาคม 2556

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	17
อุปกรณ์	17
วิธีการทดลอง	19
ผลและวิจารณ์	23
สรุปและข้อเสนอแนะ	47
สรุป	47
ข้อเสนอแนะ	48
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	49
ภาคผนวก	58
ภาคผนวก ก รายละเอียดของลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank ที่นำมาใช้ในการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop และยีน *cytb*	59
ภาคผนวก ข GenBank accession no. JQ429497-JQ429504 ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop จากตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรโบราณ (PTK)	67
ภาคผนวก ค ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop จากตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรโบราณที่นำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Blast	84
ภาคผนวก ง ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* จากตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรโบราณที่นำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Blast	93
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	101

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงตำแหน่งของยีนต่างๆและ control region ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสุกร	12
2	ข้อมูลทางพันธุกรรมของสัตว์เลี้ยงชนิดต่างๆในปัจจุบัน	15
3	แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพร์เมอร์ที่มีตำแหน่งอยู่บนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ บริเวณ D-loop และยีน *cytb* ของสุกร	20
4	รายละเอียดของตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ จำนวน 13 ตัวอย่าง ที่ใช้ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop	25
5	แสดงความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ บริเวณ D-loop	26
6	การจัดกลุ่มแฮปโพลไทป์ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop จากตัวอย่างโบราณจำนวน 8 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank จำนวน 87 ตัวอย่าง	28
7	รายละเอียดของตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ จำนวน 13 ตัวอย่าง ที่ใช้ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb*	38
8	แสดงความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ บริเวณยีน *cytb*	41
9	การจัดกลุ่มแฮปโพลไทป์ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb* จากตัวอย่างโบราณจำนวน 7 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank จำนวน 28 ตัวอย่าง	42

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 แสดงความหลากหลายของสุกร และความสัมพันธ์ทาง phylogenetic tree 5

2 แผนที่แสดงตำแหน่งของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ จังหวัดสระบุรี 10

3 ภาพถ่ายแสดงพื้นที่หลุมขุดค้นทางโบราณคดีในพื้นที่ของโรงเรียนบ้านโป่งตะขบ ตำบลวังม่วง อำเภอวังม่วง จังหวัดสระบุรี 10

4 ชิ้นส่วนฟันของสุกรจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ อำเภอวังม่วง จังหวัดสระบุรี จำนวน 13 ตัวอย่าง 17

5 การแยกขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis 24

6 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop ของสุกรไทยโบราณ (PTK) 30

7 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop ของสุกรไทยโบราณ (PTK) สุกรเอเชีย และสุกรยุโรปจากฐานข้อมูล GenBank 32

8 Minimum Spanning Network (MSN) บริเวณ D-loop จากแฮปโพลไทป์ทั้งหมด 33 แฮปโพลไทป์ 33

9 การแยกขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis 39

10 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb* ของสุกรไทยโบราณ (PTK) 40

11 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb* ของสุกรไทยโบราณ (PTK) สุกรเอเชีย และสุกรยุโรปจากฐานข้อมูล GenBank 45

12 Minimum Spanning Network (MSN) บริเวณยีน *cytb* จากแฮปโพลไทป์ 7 แฮปโพลไทป์ (ยกเว้น Outgroup) 46

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หลักฐานแสดงต้นกำเนิดและการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยจากดีเอ็นเอโบราณ ในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลาย

Ancient DNA Evidence of Origin and Domestication of Pig in Thailand in Late Prehistoric Time

คำนำ

สุกรเลี้ยงและสุกรป่า สามารถพบได้อย่างกว้างขวางในทุกสภาวะแวดล้อม และมีความสำคัญทางด้านการปศุสัตว์ โดยเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของมนุษย์ (Jorgensen, *et al*., 2005) สุกรเลี้ยงเกิดจากการนำสุกรป่าในท้องถิ่นต่างๆมาเลี้ยงเมื่อประมาณ 9,000-6,000 ปีก่อน (Xu, 1950) ในประเทศไทยมีสุกรพื้นเมืองหลายพันธุ์แบ่งตามลักษณะและแหล่งที่อยู่ คือ พันธุ์ไหหลำ (Hailum) พบทั่วไปในแถบภาคใต้ และบริเวณตอนกลางของประเทศไทย พันธุ์ควาย (Mukuai) ส่วนใหญ่จะอยู่ในแถบภาคเหนือ และบริเวณตอนกลางของประเทศ พันธุ์ราด (Murad) พบมากในแถบภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ส่วนพันธุ์พวงพบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งสุกรพื้นเมืองทั้ง 4 พันธุ์จะมีลักษณะที่แตกต่างกัน เช่น สุกรพันธุ์ไหหลำมีสีขาวที่ส่วนท้องและเท้ามากกว่าสุกรอีกสามชนิด ส่วนสุกรพันธุ์ควายมีขนาดใหญ่ และน้ำหนักตัวที่มากกว่าสุกรชนิดอื่น (Tanaka, *et al*., 1974; สินชัย, 2537) ส่วนประเทศในแถบเอเชีย เช่น ประเทศจีนนั้นถือเป็นศูนย์กลางที่สำคัญที่สุดที่มีการเลี้ยงสุกรมาเมื่อประมาณ 10,000 ปีก่อน (Cucchi, *et al*., 2011) และจากหลักฐานทางโบราณคดียังแสดงให้เห็นว่ามีการขยายพื้นที่เพาะปลูกพืชและเลี้ยงสุกรจากบริเวณตอนกลางของประเทศจีนไปทางทิศใต้หลายครั้งในช่วง 5,000-4,000 ปีก่อน (Chang, 1986; Chi and Hung, 2010; Larson, *et al*., 2010) และยังมีข้อมูลที่น่าสนใจของ Larson และคณะ (2005) ซึ่งรายงานว่าประเทศไทยนั้นก็เป็นศูนย์กลางของการเลี้ยงสุกร แต่จุดเริ่มต้นของการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยนี้ยังไม่มีข้อมูลที่สามารถบอกได้ชัดเจน อย่างไรก็ตามการค้นพบชิ้นส่วนฟันและกระดูกของสุกรจำนวนมากภายในหลุมฝังศพของมนุษย์บริเวณแหล่งโบราณคดีหลายแห่งในประเทศไทยและจากหลักฐานทางโบราณคดีต่างๆแสดงให้เห็นว่า นอกจากสุกรจะเป็นแหล่งอาหารสำคัญของมนุษย์ในสมัยก่อนแล้ว สุกรยังถูกนำมาใช้ในการประกอบพิธีกรรมต่างๆตั้งแต่สมัยก่อนประวัติศาสตร์ เช่น งานศพ งานแต่งงาน และงานบุญต่างๆ เป็นต้น (Higham, 1989)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมา มีการใช้ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mtDNA) จากตัวอย่างสุกรในปัจจุบันและตัวอย่างสุกรโบราณ เพื่อศึกษาการย้ายถิ่นฐานของมนุษย์ซึ่งมักมีการนำสัตว์เลี้ยง เช่น สุกรเลี้ยงอพยพไปด้วย (Haile, *et al*., 2010; Larson, *et al*., 2007) โดยงานวิจัยส่วนใหญ่จะนิยมเลือกบริเวณดีลูป (D-loop) และยีนไซโตโครมบี (*cytochrome b* หรือ *cytb*) ซึ่งอยู่ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสุกรเลี้ยงและสุกรป่ามาใช้กันอย่างแพร่หลาย เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม และประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรด้วยการสร้าง phylogenetic tree ทำให้มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการกระจายตัวของสุกรในอดีตเพิ่มมากขึ้น (Alves, *et al*., 2003; Cho, *et al*., 2009; Haile, *et al*., 2010; Ishiguro, *et al*., 2008; Larson, *et al*., 2010; Okumura, *et al*., 2001; Ursing and Arnason, 1998) ในทางตรงกันข้าม ความรู้เกี่ยวกับต้นกำเนิดของสุกรไทยและการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรไทยด้วยการสร้าง phylogenetic tree ยังมีอยู่น้อยมาก และงานวิจัยเหล่านี้วิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุศาสตร์โมเลกุลเฉพาะของตัวอย่างสุกรในยุคปัจจุบัน ซึ่งประกอบด้วยสุกรพื้นเมืองและสุกรป่าของไทยที่พบในบริเวณภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศไทย โดยพบว่าสุกรไทยมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรเลี้ยงจากประเทศจีนโดยเฉพาะอย่างยิ่งสุกรจากทางตอนใต้ของประเทศจีน (Chaiwatanasin, *et al*., 2002; Charoensook, *et al*., 2011; Yang, *et al*., 2012) ซึ่งงานวิจัยเหล่านี้ยังขาดหลักฐานทางโบราณคดีและดีเอ็นเอของสุกรโบราณ และไม่ได้มีการรวบรวมตัวอย่างของสุกรในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มาศึกษาในงานวิจัยเหล่านี้เลย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกที่นำดีเอ็นเอโบราณจากตัวอย่างของสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์มาใช้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาต้นกำเนิดของสุกรไทย และตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop และยีน *cytb* ของสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลายโดยใช้วิธีการทางพันธุศาสตร์โมเลกุล และประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรไทยโบราณเปรียบเทียบกับสุกรเอเชียและสุกรยุโรปในยุคปัจจุบัน รวมถึงสุกรโบราณของจีนด้วยการสร้าง phylogenetic tree และการวิเคราะห์ Minimum Spanning Network (MSN)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาต้นกำเนิดของสุกรไทย

2. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลาย

3. เพื่อประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลายกับในยุคปัจจุบัน สุกรเอเชีย และยุโรปด้วยการสร้าง phylogenetic tree และการวิเคราะห์ Minimum Spanning Network (MSN)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. ประวัติของการเลี้ยงสัตว์

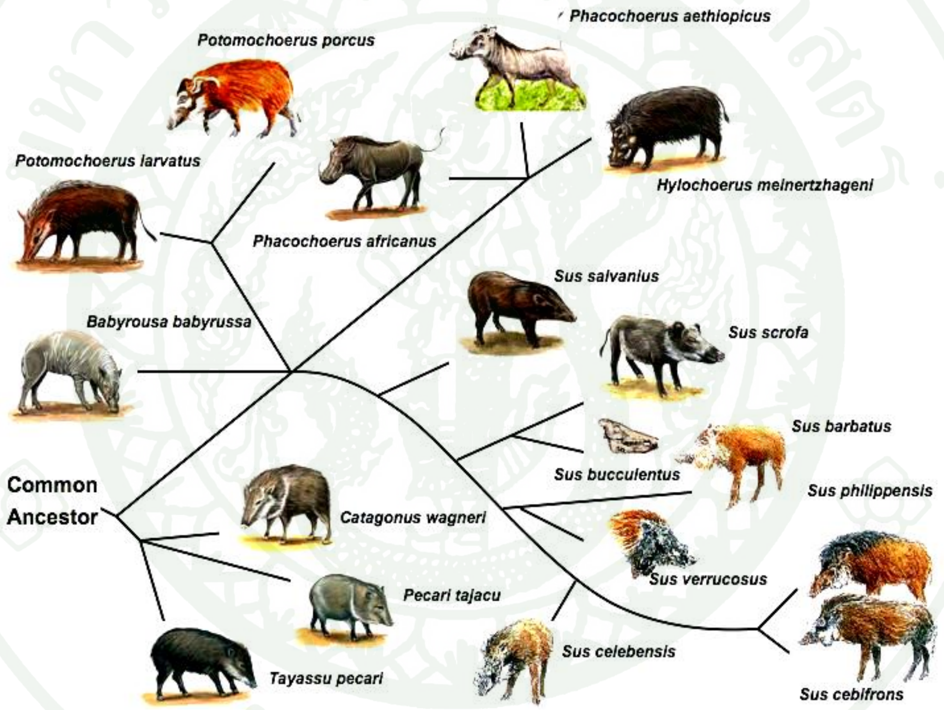
การเลี้ยงสัตว์เป็นการปรับปรุงพันธุ์ด้วยการควบคุมสภาวะการเป็นอยู่และการสืบพันธุ์ของสัตว์ภายใต้การดูแลของมนุษย์ เพื่อให้มีลักษณะที่ดีขึ้นตามความต้องการของมนุษย์ (Darwin, 1868) ความเข้าใจในเรื่องของวิวัฒนาการและการแพร่กระจายของสุกรเลี้ยงอย่างลึกซึ้ง จะช่วยให้เราความเข้าใจถึงจุดเริ่มต้นและที่มาของการทำปศุสัตว์ และอารยธรรมของมนุษย์ที่เจริญเป็นสังคมกลุ่มใหญ่ จากการที่มีการเลี้ยงสัตว์เพิ่มมากขึ้น จากหลักฐานทางประวัติศาสตร์แสดงให้เห็นว่าการเลี้ยงสัตว์โดยมนุษย์นั้นเกิดขึ้นมาอย่างยาวนาน โดยพบว่าการเลี้ยงสัตว์เกิดขึ้นอย่างแพร่หลายในพื้นที่ต่างๆ ทั่วโลก ได้แก่ ภูมิภาคเอเชียตะวันตกเฉียงใต้ เอเชียตะวันออก และอเมริกา บริเวณที่มีการเลี้ยงสัตว์ส่วนใหญ่จะอยู่ในที่ราบลุ่มแม่น้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์ไปจนถึงบริเวณหุบเขา ซึ่งในแต่ละพื้นที่จะมีชนิดของสัตว์เลี้ยงที่แตกต่างกัน เช่น ในแถบภูมิภาคเอเชียรวมถึงประเทศจีนจะมีการเลี้ยงวัว (*Bos tauru* และ *B. indicus*) แกะ (*Ovis aries*) แพะ (*Capra hircus*) สุกร (*Sus scrofa*) อูฐ (*Camelus spp*) และกระบือ (*Bubalus spp*) แต่ในแถบอเมริกาใต้จะมีการเลี้ยงลามะ (*Lama guanicoe*) alpacas (*Vicugna pacos*) และหนูตะเภา (*Cavia porcellus*) (Diamond, 2002) สำหรับม้ามีหลักฐานทางพันธุศาสตร์ชี้ให้เห็นว่า (*Equus caballus*) มีสถานที่เลี้ยงม้าเป็นจำนวนมากอยู่ในบริเวณทางเหนือของเส้นศูนย์สูตร (Lister, *et al*., 1998; Vila, *et al*., 2001; Jansen, *et al*., 2002) ส่วนการเริ่มต้นนำสุนัข (*Canis familiaris*) มาเลี้ยงนั้นยังคงมีการโต้เถียงกันอยู่ว่าเกิดขึ้นเมื่อใด เนื่องจากสกุลของสุนัขมีหลายพันธุ์ สำหรับบริเวณที่น่าเชื่อถือได้ว่าเป็นบริเวณที่มีการเลี้ยงสุนัขอันดับแรกที่พบคือ ภูมิภาคเอเชียตะวันออก (Vila, *et al*., 1997; Savolainen, *et al*., 2002; Leonard, *et al*., 2002)

2. สุกรเลี้ยง

สุกรเลี้ยงถือกำเนิดขึ้นมาในแถบประเทศทางแถบตะวันออกไปถึงประเทศจีนและกระจายไปยังแถบตะวันตก ไปยังยุโรป และมีการวิจัยเพิ่มเติมโดยใช้ลำดับเบส ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจากตัวอย่างของสุกรป่ายูราเชีย และสุกรเลี้ยงที่มีสายพันธุ์แตกต่างกัน ซึ่งผลที่ได้นั้นสนับสนุนหลักฐานของสมมติฐาน “multiple and independent domestication” ที่ว่าสัตว์เลี้ยงมีความหลากหลายของสายพันธุ์ และไม่ได้สืบทอดมาจากบรรพบุรุษเพียงสายพันธุ์เดียว (Giuffra, *et al*., 2000 ; Kijas, *et al*., 2001) จากการวิเคราะห์ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจากสุกรป่าและสุกรเลี้ยง 686 ตัวอย่าง ทั่วยูราเชีย พบว่าการเลี้ยงสุกรเกิดขึ้นในหลายพื้นที่ที่มีลักษณะทางภูมิศาสตร์แตกต่างกันทั่วยูราเชีย ได้แก่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พื้นที่ตะวันออก (ประเทศจีน และประเทศไทยไปจนถึงประเทศพม่าและแถบภาคเหนือของประเทศอินเดีย) พื้นที่จากเกาะในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และพื้นที่ในแถบยุโรป (Larson, *et al*., 2005) ซึ่งผลการศึกษาเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่า *S. scrofa* น่าจะมีต้นกำเนิดจากทวีปยูราเชีย และกระจายไปทั่วทั้งเกาะในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และยังพบว่าสุกรเลี้ยงทางแถบตะวันออกถูกนำเข้าไปในยุโรปโดยเกษตรกรในช่วงแรกๆด้วย แต่มีจำนวนเล็กน้อยเท่านั้น (Kefei, *et al*., 2007) เนื่องจากสุกรเป็นสัตว์เลี้ยงที่มีจำนวนมากและกระจายตัวอยู่ในหลายพื้นที่ทั่วโลกจึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้ศึกษาวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตที่ยังมีชีวิตอยู่ในปัจจุบัน (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงความหลากหลายของสุกร และความสัมพันธ์ทาง phylogenetic tree

ที่มา: Randi และคณะ (1996); Groves และคณะ (1997); Fokkinga และคณะ (2004); Robins และคณะ (2006)

3. การแบ่งยุคสมัยทางประวัติศาสตร์ (กรมศิลปากร, ปี 2545)

การแบ่งช่วงเวลาทางประวัติศาสตร์ตามแบบสากลมีจุดมุ่งหมาย เพื่อให้เกิดความสะดวกในการศึกษาค้นคว้าเรื่องราวของมนุษย์ในยุคสมัยต่างๆในอดีตและช่วยให้เข้าใจง่ายขึ้น ช่วงเวลาทาง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติศาสตร์ตามแบบสากลแบ่งออกเป็น 2 สมัย คือ สมัยก่อนประวัติศาสตร์ และสมัยประวัติศาสตร์ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1.1 สมัยก่อนประวัติศาสตร์ เป็นช่วงเวลาที่มนุษย์ยังไม่รู้จักการประดิษฐ์ตัวอักษรขึ้นใช้ จึงยังไม่มีหลักฐานทางประวัติศาสตร์ที่เป็นลายลักษณ์อักษร ดังนั้น การศึกษาเรื่องราวของมนุษย์สมัยก่อนประวัติศาสตร์ จึงต้องอาศัยการวิเคราะห์และตีความจากหลักฐานทางโบราณคดีที่ค้นพบ เช่น เครื่องมือ เครื่องใช้ เครื่องประดับที่ทำจากหิน โลหะ และโครงกระดูกมนุษย์ ปัจจุบันการกำหนดอายุสมัยก่อนประวัติศาสตร์ในประเทศไทย อาศัยพัฒนาการทางเทคโนโลยี แบบแผนการดำรงชีพและสังคม ยุคสมัยทางธรณีวิทยา มาใช้ร่วมกันในการกำหนดยุคสมัย โดยสามารถแบ่งยุคสมัยก่อนประวัติศาสตร์ได้ดังนี้

1.1.1 ยุคหิน เริ่มเมื่อประมาณ 500,000 ถึง 4,000 ปี ล่วงมาแล้ว แบ่งเป็น 3 ยุคย่อย

1.1.1.1 ยุคหินเก่า (500,000–10,000 ปีมาแล้ว) เป็นช่วงเวลาแรกๆ ของมนุษยชาติ มนุษย์รู้จักใช้เครื่องมือขวานหินกะเทาะ ในระยะแรก เครื่องมือจะมีลักษณะหยาบ โดยนำหินกรวดแม่น้ำมากะเทาะเพียงด้านเดียวและไม่ได้กะเทาะหมดทั้งก้อน ใช้สำหรับขุดสับและสับตัด มนุษย์ในยุคหินเก่า ดำรงชีวิตอย่างเร่ร่อน ล่าสัตว์และหาของป่ากินเป็นอาหาร

1.1.1.2 ยุคหินกลาง (10,000–6,000 ปีมาแล้ว) เป็นช่วงเวลาที่มนุษย์รู้จักทำเครื่องมือเครื่องใช้สำหรับล่าสัตว์ด้วยหินที่มีความประณีตมากขึ้นและมนุษย์ในยุคหินกลางเริ่มรู้จักการอยู่รวมกลุ่มเป็นสังคมมากขึ้น

1.1.1.3 ยุคหินใหม่ (6,000–4,000 ปีมาแล้ว) เป็นช่วงเวลาที่มนุษย์รู้จักทำเครื่องมือด้วยหินขัดเป็นมันเรียบ เรียกว่า ขวานหินขัด ใช้สำหรับตัดเฉือนแบบมีดหรือต่อด้ามเพื่อใช้เป็นเครื่องมือขุดหรือถาก มนุษย์ยุคหินใหม่มีความเจริญมากกว่ายุคก่อนๆ รู้จักตั้งถิ่นฐานเป็นหลักแหล่ง รู้จักการเพาะปลูก เลี้ยงสัตว์ และทำภาชนะดินเผา

1.1.2 ยุคโลหะ เป็นช่วงที่มนุษย์มีพัฒนาการด้านการทำเครื่องมือเครื่องใช้ โดยรู้จักการนำแร่ธาตุมาถลุงและหลอมใช้หล่อทำเป็นอาวุธหรือเครื่องมือและเครื่องประดับต่างๆ แบ่งสมัยได้ตามวัตถุของโลหะ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.1.2.1 ยุคสำริด (4,000–2,500 ปีมาแล้ว) เป็นช่วงเวลาที่มนุษย์รู้จักใช้โลหะสำริด (ทองแดงผสมดีบุก) ทำเครื่องมือเครื่องใช้และเครื่องประดับ มีชีวิตความเป็นอยู่ที่ดีกว่ายุคหิน อาศัยอยู่ร่วมกันเป็นชุมชนขนาดใหญ่ขึ้น รู้จักปลูกข้าวและเลี้ยงสัตว์

1.1.2.2 ยุคเหล็ก (2,500–1,500 ปีมาแล้ว) เป็นช่วงเวลาที่มนุษย์รู้จักนำเหล็กมาทำเป็นเครื่องมือเครื่องใช้ ซึ่งมีคุณภาพดีแข็งแกร่งกว่าสำริด การดำรงชีวิตด้วยการเกษตรกรรม มีการติดต่อค้าขายระหว่างชุมชนต่าง

1.2 สมัยประวัติศาสตร์ เป็นยุคสมัยที่มนุษย์รู้จักการประดิษฐ์ตัวอักษรขึ้นมาใช้แล้ว โดยได้มีการบันทึกเรื่องราวเหตุการณ์ต่างๆ ในยุคสมัยนั้นเป็นลายลักษณ์อักษร มักพบอยู่ตามผนังถ้ำ แผ่นดินเหนียว แผ่นหิน ใบลาน และแผ่นโลหะ ชุมชนของมนุษย์ในภูมิภาคต่างๆ ก้าวเข้าสู่สมัยประวัติศาสตร์ ในระยะเวลาที่ไม่เท่ากัน เนื่องด้วยความสามารถของมนุษย์ในการสร้างสรรค์อารยธรรมความเจริญที่แตกต่างกัน ดังนั้น สมัยประวัติศาสตร์ในทางสากล จึงแบ่งเป็น 3 ยุคย่อยๆ

1.2.1 ประวัติศาสตร์สมัยโบราณ เริ่มตั้งแต่ความเจริญของแหล่งอารยธรรมเมโสโปเตเมีย อารยธรรมอียิปต์โบราณ และอารยธรรมกรีก-โรมัน จนกระทั่งสิ้นสุดลงเมื่อกรุงโรม ซึ่งเป็นศูนย์กลางของจักรวรรดิถูกตีแตกโดยพวกอนารยชนในปี พ.ศ.1019

1.2.2 ประวัติศาสตร์สมัยกลาง เริ่มภายหลังจากที่กรุงโรม (จักรวรรดิโรมันตะวันตก) ถูกพวกอนารยชนตีแตกในปี พ.ศ.1019 จนกระทั่งในปี พ.ศ.1996 สมัยกลางจึงสิ้นสุดลง เมื่อชนชาติเติร์กที่นับถือศาสนาอิสลามเข้าโจมตีกรุงคอนสแตนติโนเปิล (จักรวรรดิโรมันตะวันออก)

1.2.3 ประวัติศาสตร์สมัยใหม่ เริ่มภายหลังจากที่กรุงคอนสแตนติโนเปิลถูกตีแตก เมื่อปี พ.ศ.1996 เป็นต้นมา จนกระทั่งสิ้นสุดสงครามโลกครั้งที่ 2 ในปี พ.ศ.2488 มีเหตุการณ์สำคัญในยุคประวัติศาสตร์สมัยใหม่หลายประการ เช่น การปฏิรูปศาสนา การเกิดลัทธิหรือแนวความคิดแบบเสรีนิยม ประชาธิปไตยและคอมมิวนิสต์ ทางด้านเศรษฐกิจ มีการขยายตัวทางการค้าทางเรือสำเภา การแสวงหาดินแดนใหม่และปฏิวัติอุตสาหกรรม

นอกจากนี้การแบ่งยุคสมัยทางประวัติศาสตร์ยังมีการแบ่งช่วงเวลาทางประวัติศาสตร์ตามแบบไทย โดยนักประวัติศาสตร์นิยมแบ่งช่วงเวลาทางประวัติศาสตร์ตามแบบไทยที่มีลักษณะเป็นรูปแบบของตนเอง ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.1 แบ่งตามสมัยหรือตามเวลาที่เริ่มมีตัวอักษร โดยแบ่งได้ 2 สมัย

1.1.1 สมัยก่อนประวัติศาสตร์ หมายถึง ยุคที่ยังไม่มีการบันทึกเรื่องราวเป็นลายลักษณ์อักษร แบ่งออกเป็นยุคหิน (ยุคหินเก่า ยุคหินกลาง ยุคหินใหม่) และยุคโลหะ (ยุคสำริด ยุคเหล็ก) โดยมีการขุดค้นพบหลักฐานทางโบราณคดีในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทยตามลำดับ

1.1.2 สมัยประวัติศาสตร์ หมายถึง ยุคที่มนุษย์เริ่มมีการใช้ตัวอักษรบันทึกเรื่องราวเหตุการณ์ต่างๆ จากหลักฐานที่ค้นพบได้แก่ หลักศิลาจารึก

1.2 แบ่งยุคสมัยตามอาณาจักร โดยแบ่งยุคสมัยตามอาณาจักร ได้แก่ อาณาจักรทวารวดี (นครปฐม) อาณาจักรละโว้ (ลพบุรี) อาณาจักรตามพรลิงค์ (นครศรีธรรมราช) อาณาจักรศรีวิชัย (สุราษฎร์ธานี) อาณาจักรหริภุญชัย (ลำพูน)

1.3 แบ่งยุคสมัยตามราชธานี เป็นการแบ่งยุคสมัยทางประวัติศาสตร์ตามราชธานีของไทยเรียงความลำดับ เช่น สมัยสุโขทัย สมัยอยุธยา สมัยธนบุรีและสมัยรัตนโกสินทร์

1.4 แบ่งยุคสมัยตามพระราชวงศ์ เป็นการแบ่งยุคสมัยทางประวัติศาสตร์ตามพระราชวงศ์ เช่น สมัยราชวงศ์พระร่วงของอาณาจักรสุโขทัย สมัยราชวงศ์อู่ทอง สมัยราชวงศ์สุพรรณภูมิ สมัยราชวงศ์สุโขทัย สมัยราชวงศ์ปราสาททอง สมัยราชวงศ์บ้านพลูหลวง โดยทั้งหมดเป็นชื่อพระราชวงศ์ที่ครองราชย์สมบัติเป็นกษัตริย์ในสมัยอยุธยา หรือราชวงศ์จักรีในสมัยรัตนโกสินทร์

1.5 แบ่งยุคสมัยตามรัชกาล เป็นการแบ่งยุคสมัยในช่วงเวลาที่พระมหากษัตริย์พระองค์นั้นครองราชย์อยู่ ได้แก่ รัชสมัยสมเด็จพระบรมไตรโลกนาถ รัชสมัยสมเด็จพระนารายณ์มหาราช และรัชสมัยพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว

1.6 แบ่งยุคสมัยตามระบอบการเมืองการปกครอง ได้แก่ สมัยสมบูรณาญาสิทธิราชย์และสมัยประชาธิปไตย โดยถือเหตุการณ์การเปลี่ยนแปลงทางการเมือง เมื่อ วันที่ 24 มิถุนายน 2475 เป็นเส้นแบ่งยุคสมัยการเปลี่ยนแปลงการปกครองจากระบอบสมบูรณาญาสิทธิราชย์เข้าสู่ระบอบประชาธิปไตย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. แหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ

แหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ ต.วังม่วง อ.วังม่วง จ.สระบุรี เป็นแหล่งโบราณคดีขนาดเนื้อที่ไม่น้อยกว่า 15 ไร่ โดยพื้นที่ของแหล่งโบราณคดีส่วนหนึ่งอยู่ในเขตพื้นที่ของโรงเรียนบ้านโป่งตะขบในปัจจุบัน ในขณะที่พื้นที่ส่วนใหญ่ของแหล่งโบราณคดีเป็นพื้นที่ของราษฎรในหมู่บ้านซึ่งใช้พื้นที่ทำไร่ข้าวโพด ที่ระดับผิวดินของแหล่งโบราณคดีมีโบราณวัตถุกระจายอยู่หนาแน่น และพบว่ามีโบราณวัตถุที่สำคัญได้แก่ เศษภาชนะดินเผาตกแต่งด้วยลายเชือกทาบ เศษภาชนะดินเผาตกแต่งด้วยการทาน้ำดินสีแดง ขวานหินขัดขนาดเล็ก และเศษกำไลข้อมือทำจากหินอ่อนสีขาว นอกจากนี้ ยังพบเศษกระดูกสัตว์หลายชนิด เช่น วัว-ควาย เก้ง กวาง และสุกรโบราณวัตถุเหล่านี้บ่งชี้ว่าแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบอาจเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยขนาดใหญ่แห่งหนึ่งของคนในยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลาย และจากหลักฐานที่พบพอสรุปได้ว่าแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของคนสมัยโบราณยุคก่อนประวัติศาสตร์ที่น่าจะมีอายุประมาณ 3,000 ปีมาแล้วเป็นอย่างน้อย ดังนั้นการศึกษาแหล่งโบราณคดีแห่งนี้ จึงสามารถให้ข้อมูลที่จำเป็นสำหรับการสร้างความรู้และความเข้าใจที่สมบูรณ์ขึ้นในเรื่องพัฒนาการของวัฒนธรรมยุคก่อนประวัติศาสตร์ตอนปลายในภาคกลางของประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่ลุ่มแม่น้ำป่าสักได้เป็นอย่างดี (สุรพล, 2552)

1.1 สภาพทั่วไปของแหล่งโบราณคดีแห่งนี้ เป็นพื้นที่เนินในพื้นที่แบบลอนลูกคลื่นลอนลาด อยู่ทางตะวันออกของแม่น้ำป่าสัก และห่างจากตัวอำเภอวังม่วงไปทางตะวันออกประมาณ 5 กิโลเมตร ตั้งอยู่ริมทางน้ำธรรมชาติที่มีต้นน้ำอยู่ในแนวเทือกเขาทางด้านออกเฉียงใต้ของแหล่งโบราณคดี ทางน้ำนี้ไหลต่อไปทางทิศตะวันตก ผ่านตัวอำเภอวังม่วงจึงมีชื่อเรียกว่าห้วยวังม่วง จากนั้นจึงไหลไปทางทิศตะวันตกต่อไปจนระบายลงสู่แม่น้ำป่าสัก พื้นที่ราวครึ่งหนึ่งของเนินดินแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบเป็นพื้นที่ในความครอบครองของโรงเรียนบ้านโป่งตะขบ ส่วนอีกครึ่งหนึ่งเป็นพื้นที่ของเอกชน (ภาพที่ 2) ที่ระดับผิวดินของแหล่งโบราณคดีได้พบเศษภาชนะดินเผาและเศษกระดูกสัตว์กระจายทั่วไป นอกจากนี้พบขวานหินขัดขนาดเล็กด้วย

1.2 ตำแหน่งของพื้นที่ขุดค้นทางโบราณคดี (ภาพที่ 3) ได้ขุดค้นในพื้นที่ของโรงเรียนบ้านโป่งตะขบ ตำบลวังม่วง อำเภอวังม่วง จังหวัดสระบุรี จำนวน 2 หลุมขุดค้น หลุมขุดค้นที่หนึ่ง (Operation number 1 หรือ OP.1) และหลุมขุดค้นที่สอง (Operation number 2 หรือ OP.2) โดยแต่ละหลุมขุดค้นมีเนื้อที่ขนาดกว้าง 3 เมตร ยาว 3 เมตร (9 ตารางเมตร) การรวบรวมข้อมูลในพื้นที่ขุดค้นนั้นจะใช้วิธีค่อยๆขุด และขุดดินทีละ 1-2 เซนติเมตร เพื่อแยกโบราณวัตถุและหลักฐานทางโบราณคดี จากชั้นทับถมทางโบราณคดีที่ระดับความลึกต่างๆ ซึ่งได้กำหนดให้ขุดค้นแต่ละระดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บางๆนั้นเป็นชั้นสมมติ (arbitrary level หรือ level) ต่างๆ โดยจะตั้งชื่อเป็นหมายเลขเรียงลำดับกันไปจากบนลงล่าง ดั้งนั้นชั้นบนจึงตั้งเป็น ชั้นที่ 1 ชั้นลึกถัดลงไปจึงเป็นชั้นที่ 2 3 และ 4 ไปเรื่อยๆ ตามลำดับ

ภาพที่ 2 แผนที่แสดงตำแหน่งของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ จังหวัดสระบุรี

ภาพที่ 3 ภาพถ่ายแสดงพื้นที่หลุมขุดค้นทางโบราณคดีในพื้นที่ของโรงเรียนบ้านโป่งตะขบ ตำบลวังม่วง อำเภอวังม่วง จังหวัดสระบุรี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.3 หลักฐานทางโบราณคดีที่พบ สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภทหลัก คือ

1.3.1 ชิ้นส่วนจากร่างกายมนุษย์สมัยโบราณ (ancient human remains) ได้แก่ กระดูกจากส่วนต่างๆของร่างกายมนุษย์สมัยโบราณ

1.3.2 โบราณศิลปวัตถุ (archaeological artefacts) หมายถึงสิ่งของที่มนุษย์ประดิษฐ์หรือดัดแปลงขึ้นมาจากวัสดุธรรมชาติชนิดต่างๆ หลักฐานทางโบราณคดีประเภทนี้ที่พบมากในแหล่งโบราณคดีนี้ได้แก่ ภาชนะดินเผา เครื่องมือที่ทำจากหิน ลูกปัดที่ทำจากเปลือกหอย ฯลฯ

1.3.3 โบราณนิเวศวัตถุ (archaeological ecofacts) หมายถึงสิ่งของที่ไม่ใช่ประดิษฐ์กรรมของมนุษย์แต่เป็นวัตถุธรรมชาติที่มนุษย์นำมาใช้ หรือที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์ โดยมนุษย์มิได้ดัดแปลงให้เปลี่ยนรูปลักษณ์และหน้าที่ใช้งาน หลักฐานทางโบราณคดีประเภทนี้ได้แก่ กระดูกสัตว์ เปลือกหอย เมล็ดพืช ก้อนหิน ดิน ฯลฯ โดยกระดูกสัตว์บกที่พบมากในแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ ได้แก่ ฟันและกระดูกจากส่วนต่างๆของสุกรและเก้ง นอกจากนั้นยังพบฟันและกระดูกของวัว-ควาย ลิง สุนัข และสัตว์ในกลุ่มกวางอีกด้วย

1.3.4 ร่องรอยกิจกรรมมนุษย์ หรือร่องรอยที่มนุษย์ทำขึ้น (archaeological features) หมายถึงสิ่งที่มนุษย์ประดิษฐ์ขึ้นมา แต่เป็นพวกที่เมื่อเคลื่อนย้ายแล้วสูญเสียลักษณะดั้งเดิมตามที่มนุษย์สมัยอดีตสร้างไว้หลักฐานทางโบราณคดีประเภทนี้ได้แก่ ร่องรอยที่เกิดจากกิจกรรมต่างๆของมนุษย์ เช่น กองไฟ หลุมเสาบ้านหลุมฝังศพ หลุมขยะ ซากอาคาร ดินที่นำมาถมทำลานบ้าน ฯลฯ

1.4 การวัดอายุจากหลักฐานทางโบราณคดี โดยตรวจหาอายุจากสารกัมมันตภาพรังสี และหาอายุโดยประมาณจากการเทียบเคียงจากโบราณวัตถุประเภทเด่น (diagnostic artefact) ซึ่งในกรณีของบ้านโป่งตะขบนั้นใช้ภาชนะดินเผาที่ตกแต่งด้วยลายขีดเป็นเส้นคดโค้งผสมลายกดประทับแบบเกล็ดปลา (curvilinear incised and scale pattern impression pottery) ที่ทราบอายุมาก่อนแล้วเป็นตัวบอกอายุจากหลักฐานทางโบราณคดี

5. ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

ไมโทคอนเดรียเป็นออแกเนลล์ขนาดเล็กที่มีโมเลกุลดีเอ็นเอเป็นของตัวเอง เซลล์ส่วนใหญ่ประกอบด้วยโมเลกุลไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอหลายชุด ทำให้ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดจากไมโทคอน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เครียมากกว่าการสกัดดีเอ็นเอจากนิวเคลียดีเอ็นเอ ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสุกรมีลักษณะเป็นวงกลมที่มีขนาดประมาณ 16,679 คู่เบส โดยตำแหน่งของยีนต่างๆ แสดงในตารางที่ 1 ซึ่งตำแหน่งที่ 1 ของลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นตำแหน่ง 5’ ของยีน tRNA-Phe ส่วนตำแหน่งสุดท้ายเป็นบริเวณที่เรียกว่า control region หรือ D-loop (Ursing and Arnason, 1998)

ตารางที่ 1 แสดงตำแหน่งของยีนต่างๆและ control region ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสุกร

	Position			Codon	
Feature	From	To		Start	Stop
tRNA-Phe	1	70			
12S rRNA	71	1,032			
tRNA-Val	1,032	1,099			
16S rRNA	1,100	2,668			
tRNA-Leu (UUR)	2,668	2,742			
NADH1	2,745	3,701		ATG	TAG
tRNA-Ile	3,700	3,768			
tRNA-Gln	3,766	3,838	(L)		
tRNA-Met	3,840	3,909			
NADH	2 3,910	4,953		ATT	TAG
tRNA-Trp	4,952	5,019			
tRNA-Ala	5,093	5,026	(L)		
tRNA-Asn	5,169	5,095	(L)		
Or. L-stand repl.	5,166	5,212			
tRNA-Cys	5,267	5,202	(L)		
tRNA-Tyr	5,332	5,267	(L)		
COI	5,334	6,878		ATG	TAA
tRNA-Ser (UCN)	6,950	6,882	(L)		
tRNA-Asp	6,958	7,025			
COII	7,026	7,713		ATG	T--
tRNA-Lys	7,714	7,780			
ATPase8	7,782	7,985		ATG	TAA
ATPase 6	7,943	8,623		ATG	TAA
COIII	8,623	9,407		ATG	TA
tRNA-Gly	9,407	9,475			

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 (ต่อ)

	Position			Codon	
Feature	From	To		Start	Stop
NADH3	9,476	9,822		ATA	TA
tRNA-Arg	9,823	9,891			
NADH4L	9,892	10,188		GTG	TAA
NADH4	10,182	11,559		ATG	T--
tRNA-His	11,560	11,628			
tRNA-Ser (AGY)	11,629	11,687			
tRNA-Leu (CUN)	11,688	11,757			
NADH5	11,758	13,577		ATA	TAA
NADH6	14,088	13,559	(L)	ATG	TAA
tRNA-Glu	14,157	14,089	(L)		
Cytb	14,162	15,301		ATG	AGA
tRNA-Thr	15,302	15,369			
tRNA-Pro	15,433	15,369	(L)		
Control region	15,434	16,679			
CSB-1	16,109	16,134			
CSB-2	16,378	16,396			
CSB-3	16,430	16,448			

ที่มา: Ursing และ Arnason (1998)

บริเวณ D-loop ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสุกรประกอบด้วยตำแหน่งซ้ำ (repeat motif) GTACACGTGC โดยที่ตำแหน่ง 16,146 เป็นตำแหน่ง 5’ นิวคลีโอไทด์ของลำดับซ้ำแรก จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop ของสุกร (Ghivizzani, *et al.*, 1993) พบว่ามีตำแหน่งซ้ำประมาณ 14-29 ตำแหน่ง ส่วนยีน *cytb* ของสุกรนั้น Irwin และคณะ (1991) ได้ศึกษาและพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *cytb* จะพบ nonsynonymous transversion ในโคดอนแรก 1 ตำแหน่ง และ synonymous transition ในโคดอนที่สาม 1 ตำแหน่ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ทางด้านพันธุศาสตร์ได้ถูกนำมาใช้ศึกษาหาต้นกำเนิดของสัตว์ตั้งแต่ในปี 1960 และ 1970 ซึ่งเป็นยุคที่มีการนำอัลโลเอนไซม์มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ แต่การวิเคราะห์ดังกล่าวเป็นเพียงการศึกษาขั้นพื้นฐานในการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอในสัตว์ชนิดต่างๆเท่านั้น ต่อมาได้มีการนำไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมาใช้ในการวิเคราะห์ เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมในมนุษย์ พืช และสัตว์ การนำไมโทคอนเดรียมาใช้มีข้อดีหลายประการที่เหมาะสำหรับการสืบค้นความสัมพันธ์ในแง่ของวิวัฒนาการด้านการสืบพันธุ์ และในแง่โครงสร้างทางภูมิศาสตร์ภายในกลุ่มประชากรเนื่องจาก 1) บางตำแหน่งของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสัตว์หลายๆชนิดรวมทั้งสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมนั้น มีวิวัฒนาการค่อนข้างเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับนิวเคลียร์ยีน 2) ในแต่ละเซลล์มีไมโทคอนเดรียมากกว่า 1 ชุด ทำให้มีโอกาสที่จะสกัดไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอออกจากตัวอย่างที่มีอายุเก่าแก่มาวิเคราะห์ได้ และ 3) ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอไม่เกิดรีคอบบิเนชั่น และการถ่ายทอดทางพันธุกรรมเป็นการถ่ายทอดจากแม่ไปสู่ลูก ทำให้แปลผลได้ง่ายไม่ซับซ้อนเหมือนจีโนมในนิวเคลียส และลำดับเบสของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจะยังคงเดิมทุกประการเมื่อมีการถ่ายทอดจากแม่ไปสู่ลูก ยกเว้นเมื่อเกิดการกลายพันธุ์ (ซึ่งแต่ละบริเวณของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอมีวิวัฒนาการหรือมีอัตราการกลายไม่เท่ากัน) ทำให้ความแตกต่างในระดับนิวคลิโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ สะท้อนให้เห็นถึงความแตกต่างของประชากรแต่ละกลุ่ม โดยเฉพาะลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop ที่มีอัตราการเกิดกลายที่สูงกว่าบริเวณอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณที่เรียกว่า hypervariable region I (HVI)

6. การศึกษาดีเอ็นเอโบราณ

มีการนำดีเอ็นเอจากกระดูกโบราณมาใช้ในการศึกษาหาบรรพบุรุษของสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น การศึกษาของ Larson และคณะ (2005) ที่นำดีเอ็นเอโบราณมาใช้ศึกษาต้นกำเนิดของสุกรในแถบยุโรปและเอเชีย ซึ่งผลที่ได้นั้นสรุปได้ว่าสุกรในแถบยุโรปและเอเชียมีต้นกำเนิดที่แตกต่างกัน ยิ่งกว่านั้นการใช้ดีเอ็นเอโบราณเพื่อหาบรรพบุรุษยังช่วยให้เราเข้าใจถึงความซับซ้อนของวิวัฒนาการของสัตว์ชนิดต่างๆ ดังที่สรุปได้ในตารางที่ 2

สรุปได้ว่าการศึกษาดีเอ็นเอโบราณสามารถนำมาใช้อธิบายถึงต้นกำเนิดของสิ่งมีชีวิต สายวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตต่างๆได้ และยังสามารถอธิบายถึงเรื่องราวที่เกิดขึ้นในยุคก่อนประวัติศาสตร์ได้เป็นอย่างดีอีกด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ข้อมูลทางพันธุกรรมของสัตว์เลี้ยงชนิดต่างๆในปัจจุบัน

Species	Possible ancestors	Extant ancestors	# inferred domestications	Average CR* divergence among haplogroups
Bos indicus	*B. primigenius primigenius*	0	2 (Asia and Africa)	0.057
Bos taurus	*B. primigenius namadicus*		1	
Ovis aries	*O. orientalis/musimon*	3	3	0.045
	O. ammon		0	
	O. vignei		0	
Capra hircus	*C. aegagrus*	2 (*C. aegagrus* has 3 subspecies)	3	0.041
	C. falconeri		0	
Equus caballus	*E. caballus*	0	Multiple (Eurasia)	0.040
Equus asinus	*E. africanus*	3 (*E. africanus* has 2 subspecies)	2 (Nubia / Somalia)	0.033
	E. hemiones		0	
	E. kiang		0	
Sus scrofa	*S. scrofa*	2	Multiple (Eurasia): up to six	Not described
	S. indicus			
Bubalus bubalis	*B. bubalis bubalis*	2	2	0.074
	B. bubalis carabanensis			
Canis familiaris	*C. lupus*	1	Multiple	0.047
Lama glama	*L. guanicoe*	2 (both species have two subspp.)	Not described	Not described
	V. vicugna			
Vigugna pacos	*L. guanicoe*	2 (both species have two subspp.)	Not described	Not described
	V. vicugna			

หมายเหตุ CR = control region

ที่มา: Bruford และคณะ (2003)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. แฮปโพลไทป์ และ แฮปโพลกรุ๊ป

แฮปโพลกรุ๊ป (haplogroup) หมายถึง กลุ่มของแฮปโพลไทป์ (haplotype) ที่คล้ายคลึงกัน และมีสายวิวัฒนาการร่วมกัน จึงสามารถนำมาใช้เพื่อสืบค้นหาต้นกำเนิดของบรรพบุรุษย้อนกลับไปหลายพันปีได้ ส่วนแฮปโพลไทป์ คือ รูปแบบของ single-nucleotide polymorphism (SNP) ที่สามารถถ่ายทอดไปด้วยกันได้ ซึ่งจะแตกต่างกันในแต่ละประชากรหรือแต่ละบุคคล ถ้าประชากรคู่หรือกลุ่มใด มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากเช่น มีการสืบเชื้อสายมาจากบรรพบุรุษร่วมกัน ก็จะได้รับการถ่ายทอดรูปแบบ SNP ที่เหมือนกันทำให้เมื่อวิเคราะห์ลำดับเบสทั้ง 2 ประชากรนี้ก็จะถูกจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์และแฮปโพลกรุ๊ปเดียวกัน แต่ถ้าประชากรคู่หรือกลุ่มใดมีรูปแบบ SNP ที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการมีต้นกำเนิดร่วมกันแต่แยกจากประชากรเดิมมาเป็นระยะเวลานานแล้ว หรือมีการกลายเกิดขึ้นก็จะมีรูปแบบ SNP ที่แตกต่างไปจากประชากรเดิม ก็จะถูกจัดอยู่คนละแฮปโพลไทป์ แต่อาจถูกจัดอยู่ในแฮปโพลกรุ๊ปเดียวกัน ส่วนประชากรที่มีต้นกำเนิดที่แตกต่างกันก็น่าจะมีรูปแบบ SNP ที่ต่างกันมาก จะถูกจัดอยู่ต่างแฮปโพลไทป์และต่างแฮปโพลกรุ๊ปกัน ทำให้ทั้งแฮปโพลไทป์และแฮปโพลกรุ๊ปถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในระดับโมเลกุล และตรวจสอบความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตทั้งในระดับประชากร และระดับชนิดของสิ่งมีชีวิตได้

Wu และคณะ (2007) ศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop ขนาด 670 คู่เบส ของสุกรเลี้ยงจำนวน 567 ตัวอย่าง และสุกรป่าจำนวน 155 ตัวอย่างในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออก เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และประเทศอินเดีย จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop พบว่าสามารถจำแนกแฮปโพลไทป์ได้ 119 แบบ และสามารถจัดกลุ่มแฮปโพลกรุ๊ปได้จาก haplogroup-specific mutation motifs จากการแบ่งสายวิวัฒนาการ (clades) โดยการสร้าง phylogenetic tree สามารถแบ่งสายวิวัฒนาการได้ 2 สายหลัก คือ สุกรเลี้ยงที่มีสายวิวัฒนาการจากยุโรป E (E clade) และสุกรเลี้ยงที่มีสายวิวัฒนาการจากเอเชีย A (A clade) สำหรับสายวิวัฒนาการกลุ่มย่อย (subclades) อื่นๆของสายวิวัฒนาการจากเอเชีย และสายวิวัฒนาการกลุ่มย่อยภายในอื่นๆ ใช้ระบบการตั้งแฮปโพลกรุ๊ปแบบเชิงลำดับชั้น (Hierarchical haplogroup nomination system) เช่นเดียวกับการศึกษาวิวัฒนาการจากไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของมนุษย์ (Torroni, *et al.*, 2006; Kong, *et al.*, 2003; Kong, *et al.*, 2006; Richards, *et al.*, 1998; Yao, *et al.*, 2002; Palanichamy, *et al.*, 2004; Macaulay, *et al.*, 2005) ดังนั้นการศึกษาแฮปโพลไทป์ และแฮปโพลกรุ๊ปจึงมีประโยชน์ในการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวงวานศ์วิวัฒนาการ และความหลากหลายของประชากรของสิ่งมีชีวิตทั้งในปัจจุบัน และยุคก่อนประวัติศาสตร์ได้เป็นอย่างดี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

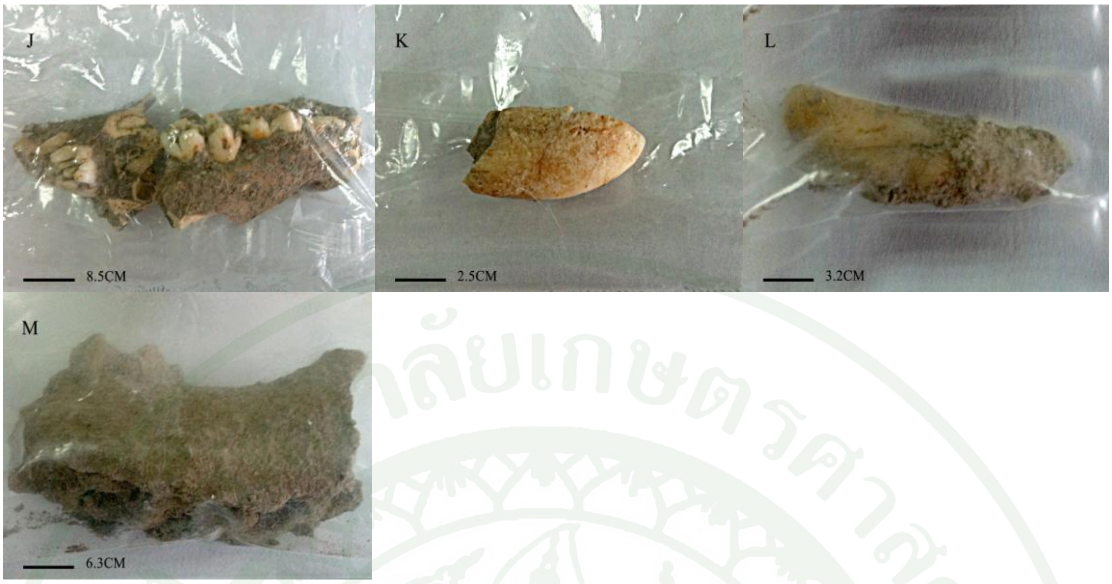
อุปกรณ์

1. ตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ ต.วังม่วง อ.วังม่วง จ.สระบุรี (มีอายุประมาณ 3,000 ปีมาแล้ว)

เก็บตัวอย่างฟันของสุกรจากแหล่งโบราณคดี โดยเลือกเก็บตัวอย่างที่มีสภาพดีและบันทึกภาพของทุกตัวอย่าง พร้อมวัดขนาดก่อนนำไปเก็บในห้องปฏิบัติการณ์ที่สะอาดและแห้งในที่มืด

ภาพที่ 4 ชิ้นส่วนฟันของสุกรจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ อำเภอวังม่วง จังหวัดสระบุรี จำนวน 13 ตัวอย่าง (A-M: PTK1-13)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 (ต่อ)

ที่มา: สุรพล (2552)

2. อุปกรณ์

2.1 เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (refrigerated centrifuge)

2.2 เครื่อง Thermocycler สำหรับ Polymerase chain reaction (PCR)

2.3 เครื่องฉายแสงอุลตร้าไวโอเลตพร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ

2.4 ชุดเครื่องมือ agarose gel electrophoresis

2.5 เครื่องทำความร้อนความเย็น (cooling and heating block)

2.6 หลอดพลาสติก (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2.7 หลอดพลาสติกสำหรับทำปฏิกิริยา PCR (PCR tube)

2.8 ไมโครปิเปตชนิดปรับปริมาตรได้ ขนาด 2 20 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

2.9 Filter tip ที่ใช้กับไมโครปิเปตขนาด 2 20 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

2.10 โกร่งใช้บด

2.11 เครื่องกรอฟัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. สารเคมี

3.1 ชุดสกัดดีเอ็นเอ (ZymoBead™ Genomic DNA Kit; (Zymo Research Corporation, U.S.A.)

3.2 ชุดทำ PCR product ให้บริสุทธิ์ (HiYield™ Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit; Real Biotech Corporation (RBC), Taiwan)

3.3 QIAGEN Multiplex PCR Master Mix (QIAGEN Hamburg GmbH, Germany)

3.4 Bovine serum albumin (New England Biolabs Inc., United State)

3.5 DNA AWAY (Molecular BioProducts, Inc., San Diego, CA.)

3.6 50X Tris-Acetate-EDTA (TAE) buffer (Vivantis Inc., United State)

3.7 Agarose gel (Bio-Rad Laboratories, Inc., CA.)

3.8 Loading dye และ DNA ladder (New England Biolabs Inc., United State)

วิธีการทดลอง

1. การสกัดดีเอ็นเอ

นำกระดูกและฟันของสุกรโบราณที่ทำความสะอาดด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1N และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว มาอาบด้วยรังสียูวีทั้งสองด้านๆละ 20 นาที จากนั้นนำมาบดจนเป็นผงละเอียดปริมาณ 1.0 กรัม แล้วนำผงกระดูกที่ได้ใส่หลอดที่มีไลซิสบัฟเฟอร์ 500 ไมโครลิตร มาบ่มโดยเขย่าหลอดที่อุณหภูมิห้อง นาน 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วแยกเอาสารละลายส่วนใสออกมาใส่หลอดใหม่ แล้วเติม ZymoBead™ 10 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วทิ้งสารละลายส่วนใส จากนั้นเติมไลซิสบัฟเฟอร์ 200 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วทิ้งสารละลายส่วนใส จากนั้นเติมดีเอ็นเอพรีวอชบัฟเฟอร์ 200 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วทิ้งสารละลายส่วนใส แล้วใส่วอชชิ่งบัฟเฟอร์ 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 รอบต่อนาที นาน 1 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วทิ้งสารละลายส่วนใส ปั่นเหวี่ยงสั้นๆแล้วเอาส่วนวอชชิ่งบัฟเฟอร์ที่เหลือออกให้หมด จากนั้นเติมอีลูชั่นบัฟเฟอร์ 35 ไมโครลิตร แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 นาที แล้วนำไปปั่นที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที แล้วจึงเก็บสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction; PCR)

เตรียมปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อ 1 ปฏิกิริยาโดยใส่ 2xQIAGEN Multiplex PCR Master Mix 10 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ความเข้มข้น 25 µM 0.4 ไมโครลิตร (forward primer 0.2 µl reverse primer 0.2 µl) 10 mg/ml BSA (bovine serum albumin) 0.8 ไมโครลิตร และสารละลายดีเอ็นเอ 2 ไมโครลิตร

3. ไพรเมอร์

เลือกไพรเมอร์ที่จำเพาะกับไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop และยีน *cytb* ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพร์เมอร์ที่มีตำแหน่งอยู่บนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop และ ยีน *cytb* ของสุกร

ชื่อไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	ขนาด (คู่เบส)	อ้างอิง
D-loop			
L180	TGC TAG TCC CCA TGC ATA TAA	179	Larson, *et al*., 2010
R358	CCT GCC AAG CGG GTT GCT GG		
ยีน *cytb*			
CTB1_131	CGC CTA CGC TAT TCT ACG TTC A	131	Clop, *et al*., 2004
CTB2_131	GTG GTC GAA ATA TTA TGC CTC GTT		

4. ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสเพื่อเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนบริเวณ D-loop **และ ยีน** *cytb*

4.1 เพิ่มจำนวนชิ้นส่วนบริเวณ D-loop โดยทำปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสตามขั้นตอนดังนี้ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที 1 รอบ ต่อด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วินาที อุณหภูมิ 51.3 หรือ 54.5 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที และ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที จำนวน 40 รอบ และขั้นตอนสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ

4.2 เพิ่มจำนวนชิ้นส่วนบริเวณยีน *cytb* โดยทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสตามขั้นตอนดังนี้ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที 1 รอบ ต่อด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, อุณหภูมิ 56.1 หรือ 58.2 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที และ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที จำนวน 40 รอบ และขั้นตอนสุดท้าย อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ

5. การแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

ขั้นตอนการแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis มีดังนี้ หลังจากเตรียม 1.8% agarose gel แล้วจะทำการหยอดตัวอย่างลงไปในช่อง (wells) ที่เตรียมไว้ โดยใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอ (PCR product) 9 ไมโครลิตร และผสมกับ Loading dye 1 ไมโครลิตร ใส่ 1x TAE buffer แล้วใช้กระแสไฟฟ้า 120 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นย้อมด้วย Ethidium bromide (10 mg/ml) นาน 5 นาที จากนั้นนำไปถ่ายรูปเจล เพื่อบันทึกภาพของแถบดีเอ็นเอ

6. การทำให้ PCR product บริสุทธิ์ และ การหาลำดับเบส

PCR products ถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วย HiYield™ Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit (RBC, Taiwan) และส่งไปหาลำดับเบสต่อไป (Macrogen Inc., Korea)

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop และบริเวณยีน *cytb* โดยการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop และบริเวณยีน *cytb* ของตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรที่ขุดค้นพบจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ (ตารางที่ 3 และตารางที่ 8 ตามลำดับ) จากโครมาโตแกรมด้วยตาเปล่าเพื่อให้ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop (179 คู่เบส) และบริเวณยีน *cytb* ที่สมบูรณ์ (131 คู่เบส) และถูกต้องที่สุดแล้วนำมาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจากฐานข้อมูลพันธุกรรม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

GenBank จำนวน 87 ตัวอย่าง และ 28 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ภาคผนวก ก ตารางผนวกที่ 1 และ ตารางผนวกที่ 2) โดยการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ClustalW version 1.83 (Thompson, *et al*., 1994) จากนั้นจึงใช้โปรแกรม DnaSP version 5.10 (Librado and Rozas, 2009) เพื่อตรวจสอบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop และบริเวณยีน *cytb* เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ และวิเคราะห์ phylogenetic เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์กับสุกรในยุคปัจจุบัน โดยการใช้โปรแกรม MEGA version 5.0 (Tamura, *et al*. 2007) ด้วยวิธี General Time Reversible (Gamma distributed with Invariant sites) จากการทดสอบด้วย model test ของโปรแกรม MEGA Version 5.0 แล้วได้ค่า InL ต่ำที่สุด หรือมีค่าใกล้ศูนย์มากที่สุด และสร้าง phylogenetic tree ด้วยวิธี Maximum Likelihood ผ่านการสุ่มทดสอบแบบ bootstrap 1,000 ซ้ำ

Maximum Likelihood เป็นวิธีการหาค่า likelihood โดยใช้วิธีการแทนค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ลงในโมเดลของความน่าจะเป็น และพิจารณาดูค่าพารามิเตอร์ที่มีค่า likelihood สูงสุดหรือทำให้ข้อมูลนั้นน่าจะเป็นไปได้ที่สุด (Purcell, 2007) ส่วน Generalised time-reversible model (GTR) เป็นแบบจำลองของการแทนที่เบสเพื่อชดเชยการแทนที่เบสที่เหมือนกับการเกิดทั่วไปตามธรรมชาติมากที่สุด (Tavaré, 1986) โดยจะคำนวณจากความถี่ และอัตราการแทนที่ของเบสทุกตัว (A T C G) จึงเป็นวิธีที่มีความซับซ้อน แต่ก็เป็นแบบจำลองของการแทนที่เบสที่ดีที่สุดในขณะนี้ จากนั้นจึงสร้าง Minimum Spanning Network (MSN) ระหว่างแฮปโพลไทป์ด้วยโปรแกรม Arlequin version 3.5.1.2 (Excoffier, *et al*., 2007; Excoffier and Lischer, 2010) โดยใช้ Warthog (*Phacochoerus aethiopicus*) (GenBank Accession No. AB046876) เป็นตัวเปรียบเทียบนอกกลุ่ม (Outgroup) ในการวิเคราะห์ข้อมูลไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* ซึ่ง MSN เป็นวิธีที่มีประโยชน์ที่สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ว่าจะเป็นกลุ่มตัวอย่างที่เป็นชีวภูมิศาสตร์หรืออนุกรมวิธาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. การตรวจสอบและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop

1.1 การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาจากตัวอย่างฟันของสุกรไทยโบราณ

ฟันของสุกรไทยโบราณ (ภาพที่ 4) มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกับฟันของสุกรป่า โดยสุกรป่าจะมีเขี้ยว 4 เขี้ยวที่ยาวและแหลมมาก ตัวผู้จะใช้เขี้ยวนี้เป็นอาวุธประจำตัวที่สำคัญมากในการป้องกันตัว เขี้ยวทั้ง 4 จะโค้งงอขึ้นด้านบน ความยาวของเขี้ยววัดจากโคนถึงปลายยาวประมาณ 4-5 นิ้ว มีระบบฟันที่พัฒนาไปมากเหมือนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยทั่วไปกล่าวคือ มีระบบฟันเป็นแบบ : 3/4 1/2 1/4 3/4 x 2 = 44 ฟันหน้าด้านล่างจะยาว แคบและยื่นตรงออกไปข้างหน้า จะทำหน้าที่คล้ายพลั่ว โดยเฉพาะในเวลาที่หาอาหาร โดยการขุดคุ้ยตามพื้นดินหรือตามดินโป่งเป็นต้น ส่วนเขี้ยวของสุกรป่าไม่มีราก และมีการพัฒนาไปมากโดยเฉพาะในตัวผู้ ขนาดของฟันกัดต่อมายังเขี้ยวจะค่อยๆ เพิ่มขนาดจากเล็กมาใหญ่ ส่วนฟันกรามพบว่าซี่สุดท้ายจะมีขนาดใหญ่มากคือ มีขนาดเท่ากับฟันกรามซี่ที่ 1 และ 2 รวมกัน (http://www.thaifeed.net/animal/wildboar/wildboar-1.html)

1.2 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จากดีเอ็นเอของสุกรไทยโบราณ

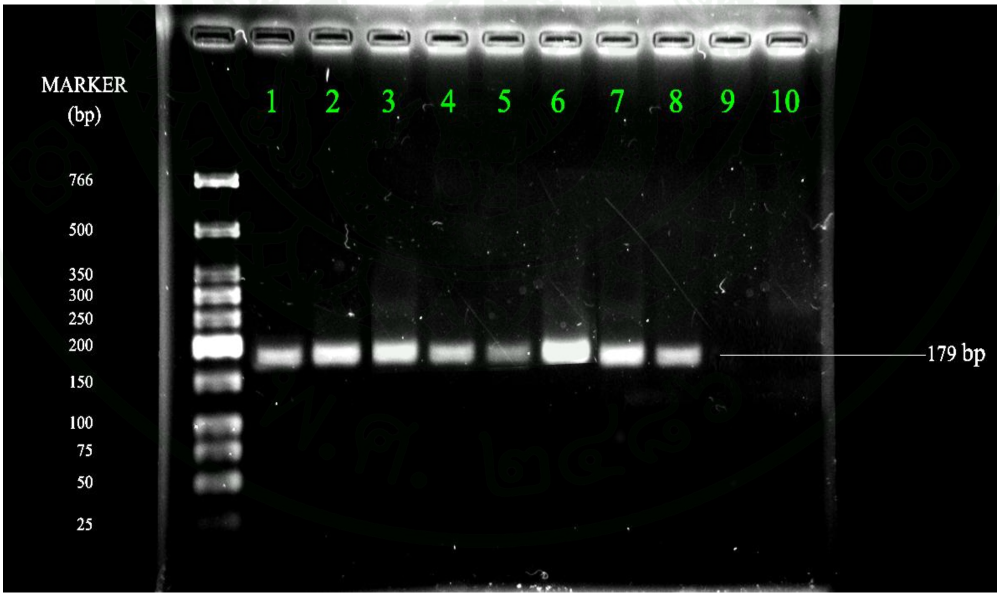
ตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรที่ขุดค้นพบจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ จำนวน 13 ตัวอย่าง สามารถสกัดดีเอ็นเอและนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สำเร็จ จำนวน 8 ตัวอย่าง ซึ่งทุกตัวอย่างมีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop 179 คู่เบส (ภาคผนวก ค) จากนั้นจึงตัดส่วนไพรเมอร์ออกเหลือดีเอ็นเอที่มีความยาว 138 คู่เบส แล้วนำข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์เหล่านี้บันทึกลงในฐานข้อมูล GenBank ซึ่งมี accession numbers JQ429497 ถึง JQ429504 (ตารางที่ 4 และ ภาคผนวก ข) โดยตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จะมีข้อกำหนดสำหรับการวิเคราะห์ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ประกอบด้วย

1) การเก็บตัวอย่าง จะต้องเก็บตัวอย่างอย่างระมัดระวัง และมีการบันทึกข้อมูลอย่างละเอียด โดยเป็นตัวอย่างที่ได้ขุดค้นตามหลักวิชาการมาตรฐานทางโบราณคดี ที่มีผลการกำหนดอายุสมัยสัมพันธ์กับชั้นดิน หรือชั้นทับถมทางวัฒนธรรมที่แน่นอนชัดเจน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2) ใช้ตัวควบคุมการปนเปื้อนจากดีเอ็นเออื่นๆ (negative control) ในขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ และขั้นตอนในการทำปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสเพื่อเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ โดยจะตรวจสอบด้วยการแยกดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis โดยเลนที่ใส่ตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรไทยโบราณ จะได้แถบดีเอ็นเอที่ขนาด 179 คู่เบส ส่วน negative control ทั้ง blank extract และ blank control จะไม่พบแถบดีเอ็นเอ (ภาพที่ 5)

3) ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ในครั้งที่ 2 สามารถยืนยันผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ในครั้งที่ 1 ได้ (โดยต้องสกัดดีเอ็นเอแยกกันในแต่ละครั้ง) และในแต่ละครั้งที่สกัดดีเอ็นเอ จะสกัดแยกออกเป็น 2 หลอด เพื่อยืนยันผลที่ได้ในแต่ละครั้งอีกเช่นกัน แล้วจึงนำผลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่ได้ทั้งหมดจากการทำซ้ำมาตรวจสอบลำดับเบส ด้วยการดูจากภาพโครมาโตแกรม แล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop ที่ได้จากการทำซ้ำทั้งหมดต่อไป



ภาพที่ 5 การแยกขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis โดยเลนที่ใส่ตัวอย่าง PCR product บริเวณ D-loop ของสุกรไทยโบราณที่มีแถบดีเอ็นเอขนาด 179 คู่เบส เลนที่ 1 ถึง 8 คือ ตัวอย่างโบราณ PTK4 PTK5 PTK7 PTK1 PTK8 PTK9 PTK3 และ PTK10 ตามลำดับ ส่วนเลนที่ 9 และ 10 คือ blank extract และ blank control ตามลำดับ จะไม่พบแถบดีเอ็นเอ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 รายละเอียดของตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ จำนวน 13 ตัวอย่าง ที่ใช้ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop

Extraction no.	Site/Phase	Element	PCR	Sequence obtained (bp)	GenBank accession no.
PTK1	PTK 2009 OP.1 - Level 1	Molar	Yes	179	JQ429497
PTK2	PTK 2009 OP.1 - Level 2	Molar	No	-	-
PTK3	PTK 2009 OP.1 - Level 1-3	Molar	Yes	179	JQ429498
PTK4	PTK 2009 OP.1 - Level 4	Molar	Yes	179	JQ429499
PTK5	PTK 2009 OP.1 - Level 5	Canine	Yes	179	JQ429500
PTK6	PTK 2009 OP.1 - Level 6/1	Molar	Yes	Poor quality	-
PTK7	PTK 2009 OP.1 - Level 6/2	Molar	Yes	179	JQ429501
PTK8	PTK 2009 OP.1 - Level 6/3	Molar	Yes	179	JQ429502
PTK9	PTK 2009 OP.1 - Level 1-10	Molar	Yes	179	JQ429503
PTK10	PTK 2009 OP.2 - Level 1-3/1	Molar	Yes	179	JQ429504
PTK11	PTK 2009 OP.2 - Level 1-3/2	Canine	Yes	Poor quality	-
PTK12	PTK -No. 0249 -Grid No.6 -Level 5	Canine	No	-	-
PTK13	PTK -No. 0467 -Grid No.7 -Level 10	Molar	No	-	-

จากการทดลองมีตัวอย่างโบราณ 3 ตัวอย่างได้แก่ ตัวอย่างโบราณ PTK2 PTK12 และ PTK13 ไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มชิ้นส่วนบริเวณ D-loop จากการทำ PCR ได้สำเร็จ ส่วนตัวอย่างโบราณ PTK6 และ PTK11 สามารถสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มชิ้นส่วนบริเวณดังกล่าว ได้สำเร็จ แต่ไม่สามารถนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สมบูรณ์ เนื่องจากอาจมีการปนเปื้อนจากดิน หรือดีเอ็นเออื่นๆ (Leonard, *et al*., 2007)

1.3 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop ของตัวอย่างโบราณทั้ง 8 ตัวอย่าง และของตัวอย่างสุกรจากฐานข้อมูล GenBank จำนวน 87 ตัวอย่าง (ภาคผนวก ก ตารางผนวกที่ 1) มาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่ามีความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 23 ตำแหน่ง โดยพบความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ในตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

PTK 5 ตำแหน่ง และพบตำแหน่งที่มีความจำเพาะกับสุกรในแถบเอเชีย 4 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 15,729 (นิวคลีโอไทด์ G) มีความจำเพาะกับสุกรในแถบเอเชีย ทำให้สามารถแยกกลุ่มออกจากสุกรในแถบยุโรปได้ ตำแหน่งที่ 15,648 (นิวคลีโอไทด์ C) มีความจำเพาะกับสุกรในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตำแหน่งที่ 15,736 (นิวคลีโอไทด์ T) พบเฉพาะในตัวอย่างโบราณ (PTK4, CAncientA6 และ CAncientW5) และตำแหน่งที่ 15,759 (นิวคลีโอไทด์ C) มีความจำเพาะกับสุกรป่าของเอเชีย (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แสดงความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop; จุด (.) แสดงถึง ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่สมบูรณ์ของสุกรจากประเทศสวีเดน GenBank Accession no. AJ002189 (Ursing และ Arnason, 1998)

Haplotype	Nucleotide position																						
	15648	15667	15675	15686	15701	15706	15711	15712	15714	15717	15720	15722	15723	15729	15735	15736	15737	15740	15741	15754	15757	15758	15759
AJ002189	T	G	T	G	C	C	T	A	T	C	T	A	A	A	C	C	A	A	C	T	A	T	T
H1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H3	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	T	.	.	T	.	.	.	.
H4	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H5	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H6	.	.	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H7	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	C
H8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	G	.	C
H9	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H10	.	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H11	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H12	.	.	.	.	T	.	.	.	C	T	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H13	.	.	.	.	T	.	.	.	C	T	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	C
H14	C	.	.	.	.	.	.	G	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H15	C	.	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H16	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	T	.	.	.	T	.	.	.	.
H17	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H18	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	C	.
H19	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	G	T	.	.	.	.
H20	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.
H21	.	.	C	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H22	.	.	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	T	.	.	T	.	.	.	.
H23	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	C	.	.	.
H24	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H25	.	.	C	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H26	.	A	C	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H27	.	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H28	C	.	.	.	.	T	C	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H29	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	T	.	.	C	.
H30	.	.	.	.	T	.	.	.	C	T	C	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H31	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H32	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	C
H33	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	G	.	.	G	.	.	.	.	.	C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สามารถจัดกลุ่มแฮปโพลไทป์ได้ทั้งหมด 33 แฮปโพลไทป์ (ตารางที่ 5 และ ตารางที่ 6) พบเป็นสุกรในแถบเอเชียและตัวอย่างโบราณของสุกรทั้งหมด 32 แฮปโพลไทป์ ซึ่งจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 1-19 และ 21-33 (H1-H19 และ H21-H33) ส่วนสุกรป่าและสุกรเลี้ยงในแถบยุโรปถูกจัดกลุ่มอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 20 (H20) (ตารางที่ 6) จากสุกรในแถบเอเชียที่สามารถจัดแฮปโพลไทป์ได้ 32 กลุ่ม พบว่ามี 16 แฮปโพลไทป์ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสุกรป่า (H7-H14 H25-H28 และ H30-H33) ส่วนสุกรเลี้ยงสามารถจัดแฮปโพลไทป์ได้ 6 กลุ่มคือ H15-H19 และ H29 และยังพบแฮปโพลไทป์ที่มีการรวมกันระหว่างสุกรเลี้ยงและสุกรป่า 4 แฮปโพลไทป์ (H2 และ H4-H6) ส่วนแฮปโพลไทป์ของตัวอย่างโบราณพบ 6 แฮปโพลไทป์ (H1 H3 และ H21-H24)

กลุ่มตัวอย่างโบราณทั้ง 8 ตัวอย่างสามารถจัดแฮปโพลไทป์ได้ 5 กลุ่ม (H1-H5) สอดคล้องกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์เฉพาะลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop ของตัวอย่างโบราณ ทั้ง 8 ตัวอย่างที่สามารถจัดกลุ่มได้ 5 กลุ่ม ส่วนสุกรไทยพื้นเมืองและสุกรป่าของไทยสามารถจัดแฮปโพลไทป์ได้ 9 และ 6 กลุ่มตามลำดับ ซึ่งการจัดแฮปโพลไทป์ของตัวอย่างโบราณพบว่า PTK1 ไม่ได้ถูกจัดรวมกลุ่มอยู่กับตัวอย่างอื่นๆ แต่กลับอยู่เดี่ยวๆ ในแฮปโพลไทป์ที่ 1 (H1) ส่วน PTK4 ถูกจัดรวมกลุ่มอยู่กับสุกรโบราณของจีนที่มีอายุประมาณ 4,000 ปีก่อน (CAncient6) ในแฮปโพลไทป์ที่ 3 (H3) ในขณะที่ตัวอย่าง PTK ที่เหลือถูกจัดรวมกลุ่มอยู่กับตัวอย่างอื่นๆของสุกรในแถบเอเชียในยุคปัจจุบันและสุกรโบราณของจีน ซึ่งสามารถแยกออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมร่วมกับสุกรเลี้ยงและสุกรป่าในแถบเอเชียตะวันออก (H2 และ H4) ส่วนอีกกลุ่มจะมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมร่วมกับสุกรเลี้ยงในแถบเอเชีย (H5)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 การจัดกลุ่มแฮปโพลไทป์ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop จากตัวอย่างโบราณจำนวน 8 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank จำนวน 87 ตัวอย่าง

Clade	Haplotype	Extraction number/ Code name
Asian clade		
	H1	PTK1
	H2	PTK3, PTK10, TWB02, TN20, CAncientA4, MyanmarDMKC
	H3	PTK4, CAncientA6
	H4	PTK5, FujianCWB, VietnamWB, TWB01, TN02, TN09, TN17, CAncientA3, YunnanCWB, FujianCDM, TaiwanDM, CambodiaDMRK
	H5	PTK7, PTK8, PTK9, ShandongCDM, GuizhouCDM, SichuanCDM, NorthWestCDM, JinHuaCDM, TongchengCDM, VietnamDMLC, TN05, TN10, TN13, CAnCientA1, VietnamDMCB
	H6	YunnanCDM, NorthEastCDM, LaoDM, VietnamDM, TWB04, TN06, TN08, TN15, TN16, CAnCientA2, MyanmarDMS, VietnamDMQN
	H7	HainanCWB
	H8	GansuCWB, SichuanCWB
	H9	LaoWB, MyanmarWBU
	H10	VietnamWBQT, VietnamWBTTH, VietnamWBPM
	H11	MyanmarWB, TWB06
	H12	CambodiaWBMK
	H13	TWB09, TWB07
	H14	TWB03
	H15	TN03, TN11, TN12, TN18, LaoDMXK, LaoDMB

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

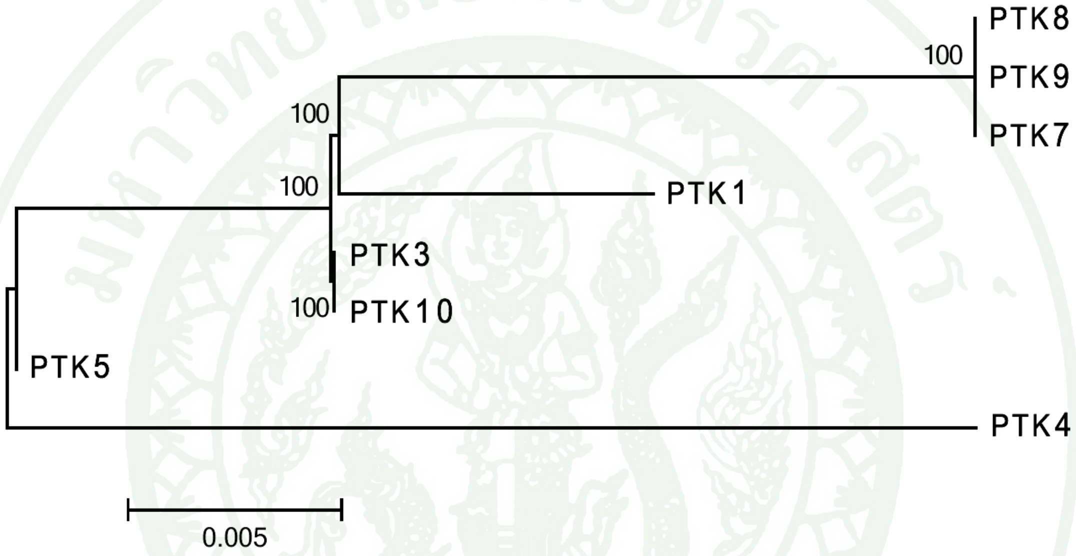
ตารางที่ 6 (ต่อ)

Clade	Haplotype	Extraction number/ Code name
Asian clade		
	H16	TN04
	H17	TN07, CambodiaDMMK
	H18	TN14
	H19	TN19
	H21	CAncientW1
	H22	CAncientW5
	H23	CAncientG5
	H24	CAncientG6
	H25	GuizhouCWB
	H26	HunanCWB
	H27	TaiwanWB
	H28	MyanmarWBY
	H29	MyanmarDMKY
	H30	CambodiaWBKC
	H31	LaoWBII
	H32	LaoWBI
	H33	VietnamWBI
European clade		
	H20	GermanyWB, MoroccoWB, ItalyFeral, HollandWB, Okayama, Hampshire, Pietrain, LargeWhite, Landrace

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.4 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree

นำลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop ของตัวอย่างโบราณทั้ง 8 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree สามารถจัดกลุ่มตัวอย่างโบราณทั้ง 8 ตัวอย่างได้ 5 กลุ่ม และแต่ละกลุ่มมีค่า bootstap 100% (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop ของสุกรไทยโบราณ (PTK)

สามารถแยกสายวิวัฒนาการได้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีสายวิวัฒนาการของเอเชียเท่านั้น (Asian clade; A) และกลุ่มที่มีสายวิวัฒนาการของเอเชียและยุโรปร่วมกัน (European-Asian clade; EA) (ภาพที่ 7) ซึ่ง EA clade สามารถแยกกลุ่มสุกรในแถบยุโรปออกจากสุกรในแถบเอเชียได้อย่างชัดเจนด้วยค่า bootstap 83% และพบว่ามีเพียงตัวอย่างโบราณ PTK1 ที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้ ส่วนใน A clade สามารถจัดกลุ่มย่อยได้ 6 กลุ่ม (AS1-AS6) ซึ่งตัวอย่าง PTK ถูกจัดอยู่ในกลุ่มย่อย 4 กลุ่ม คือ AS1 AS3 และAS5-AS6 และพบว่าใน 4 กลุ่มย่อยนี้มีการจัดกลุ่มของตัวอย่างโบราณและตัวอย่างปัจจุบันของสุกรอยู่ด้วยกัน ยกเว้น AS3 ที่มีเฉพาะตัวอย่างโบราณ (PTK4 CAncient6 และ CAncientW5) ที่ถูกจัดกลุ่มอยู่ด้วยกัน สำหรับกลุ่ม AS1 พบว่ามีสุกรเลี้ยงจากจีนมากในกลุ่มนี้ ในขณะที่กลุ่ม AS4 มีสุกรป่าจากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มากกว่าตัวอย่างสุกรอื่นๆ และยังพบข้อมูลที่น่าสนใจคือ กลุ่ม AS6 ที่มีทั้งสุกรเลี้ยงและสุกรป่าอยู่ด้วยกันในสัดส่วนใกล้เคียงกัน ซึ่งประกอบ

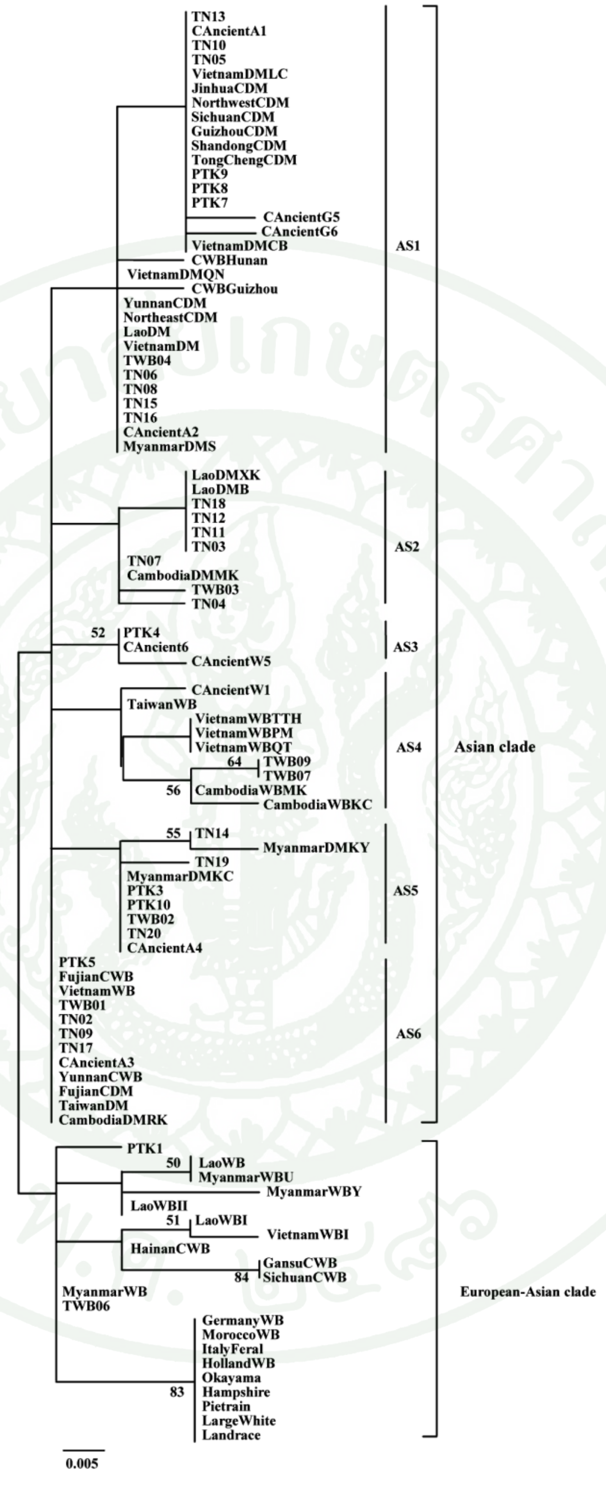
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ด้วย สุกรป่าของเอเชีย 4 ตัวอย่าง สุกรเลี้ยงของเอเชีย 6 ตัวอย่าง และสุกรโบราณ 2 ตัวอย่าง ส่วน PTK7 PTK8 และ PTK9 ถูกจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 5 (H5) และอยู่ในกลุ่มเดียวกับสุกรพื้นเมืองของไทย สุกรเลี้ยงจากประเทศจีน สุกรเลี้ยงจากประเทศเวียดนาม และสุกรโบราณของจีน สำหรับ PTK5 นั้นมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกับสุกรไทยพื้นเมืองในยุคปัจจุบัน สุกรป่าของไทย สุกรป่าและสุกรเลี้ยงจากประเทศจีน สุกรป่าของเวียดนาม สุกรเลี้ยงจากไต้หวันและกัมพูชา และสุกรโบราณของจีน ซึ่งถูกจัดกลุ่มอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 4 (H4) ส่วนแฮปโพลไทป์ที่ 2 (H2) เป็นแฮปโพลไทป์ที่ตัวอย่างโบราณของไทย คือ PTK3 และ PTK10 ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับสุกรป่า และสุกรพื้นเมืองของไทย สุกรเลี้ยงของพม่า และสุกรโบราณของจีน ส่วน PTK4 และสุกรโบราณของจีนถูกจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 3 (H3) และ PTK1 ไม่ได้ถูกจัดรวมกลุ่มอยู่กับตัวอย่างอื่นๆในแฮปโพลไทป์ที่ 1 (H1)

1.5 วิเคราะห์ Minimum Spanning Network (MSN)

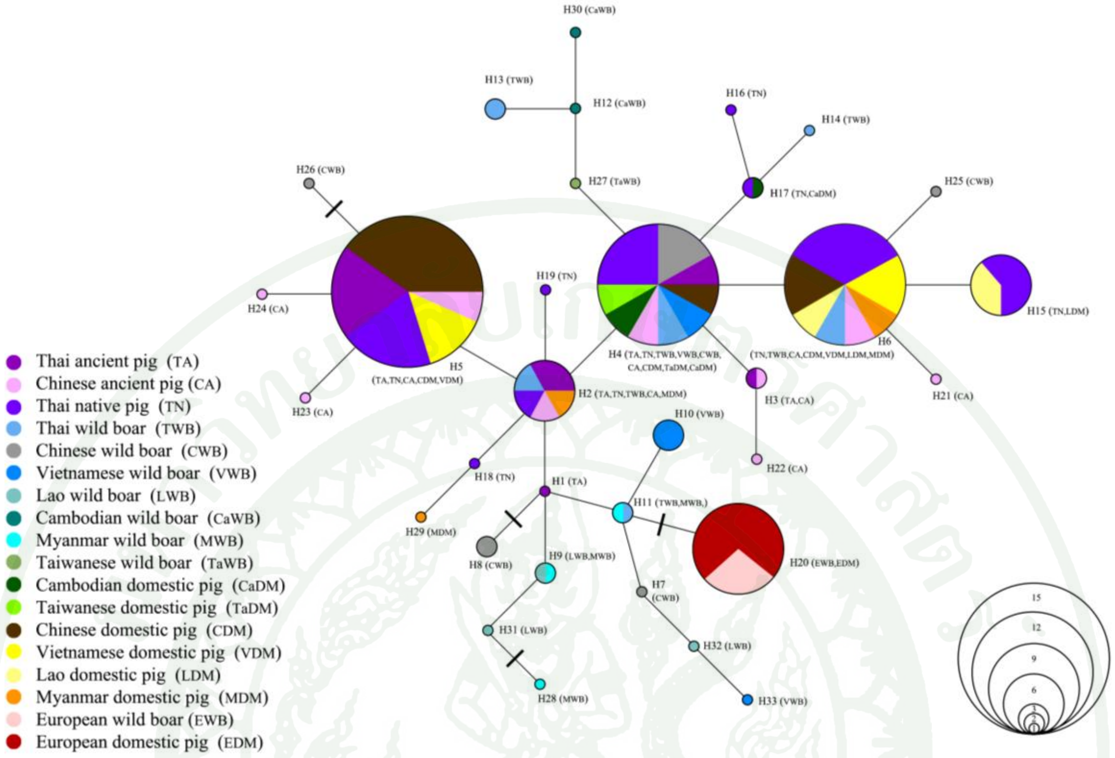
นำแฮปโพลไทป์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop ทั้งหมดที่ได้จากงานวิจัยนี้ (ตารางที่ 5 และ ตารางที่ 6) มาสร้าง MSN (ภาพที่ 8) เพื่อให้เห็นภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรได้ดีขึ้น โดยรูปแบบที่ได้จากการสร้าง network เป็นแบบ star-like pattern คือ เป็นรูปแบบที่มีการกระจายตัวออกไปคล้ายรูปดาว ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้บ่งบอกว่ามีการขยายตัวของประชากรของสุกร และจากผลที่ได้ยังพบว่า สามารถแยกกลุ่มสุกรในแถบเอเชียออกจากสุกรในแถบยุโรปได้ นอกจากนี้พบว่า H2 อยู่ตรงกลางของ MSN และมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ H1 H4 H5 H18 และ H19 และยังพบว่าตัวอย่างสุกรโบราณของไทยทั้ง 8 ตัวอย่าง ถูกจัดอยู่บริเวณตรงกลางของ MSN ในขณะที่สุกรไทยพื้นเมืองและสุกรป่าของไทยถูกกระจายออกไปจาก MSN ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและผลที่ได้จากการสร้าง phylogenetic tree

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 7 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D-loop ของสุกรไทยโบราณ (PTK) สุกรเอเชีย และสุกรยุโรปจากฐานข้อมูล GenBank ; ตัวเลขบริเวณ node คือค่า bootstrap ความยาวของแต่ละเส้นแสดงระยะห่างทางพันธุกรรม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 Minimum Spanning Network (MSN) บริเวณ D-loop จากแฮปโพลไทป์ทั้งหมด 33 แฮปโพลไทป์ โดยตัวอย่างที่แตกต่างกันจะแทนด้วยสีที่ต่างกัน แต่ละวงกลมคือแต่ละแฮปโพลไทป์ซึ่งขนาดของวงกลมจะขึ้นกับจำนวนของตัวอย่างที่อยู่ในแฮปโพลไทป์นั้นๆ เส้นเชื่อมระหว่างวงกลมแสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลง 1 เบส ส่วนเส้นขวางแสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเบสระหว่าง 2 แฮปโพลไทป์มากกว่า 1 ตำแหน่งขึ้นไป

สุกรเป็นสัตว์ที่สามารถพบได้มากในประเทศจีน เวียดนาม และประเทศเพื่อนบ้านจากประเทศลาว กัมพูชา พม่าและประเทศไทย (Larson, *et al.*, 2005; 2007) ซึ่งในประเทศไทยมีการเลี้ยงสุกรมากในหลายพื้นที่ของประเทศ เช่น ในแถบตอนกลางของประเทศและส่วนมากถูกปรับปรุงพันธุ์จากสุกรในแถบยุโรปที่มีการนำเข้ามาในประเทศ แต่อย่างไรก็ตามการเลี้ยงสุกรพื้นเมืองของไทยยังสามารถพบได้ในแถบภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของประเทศไทย (Chaiwatanasin, *et al.*, 2002; Charoensook, *et al.*, 2011; Yang, *et al.*, 2012) ซึ่งสุกรพื้นเมืองของไทยเหล่านี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกับสุกรเลี้ยงของประเทศจีน และมีลักษณะทางพันธุกรรมที่บ่งบอกว่าสุกรพื้นเมืองของไทยมีต้นกำเนิดมาจากสุกรเลี้ยงของประเทศจีน (Charoensook, *et al.*, 2011; Yang, *et al.*, 2012) แต่อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทาง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมของสุกรไทยพื้นเมืองค่อนข้างน้อย และยังไม่มีการนำเสนอข้อมูลทางพันธุกรรมจากกระดูกโบราณของสุกรไทยมาวิเคราะห์ร่วมด้วย ทำให้ยังขาดข้อมูลที่เกี่ยวกับสุกรไทยตั้งแต่ในยุคก่อนประวัติศาสตร์มาจนถึงในสมัยของยุคปัจจุบัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้มุ่งเน้นการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยการสร้าง phylogenetic tree และวิเคราะห์ MSN ของสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์เปรียบเทียบกับสุกรโบราณและสุกรในยุคปัจจุบันของประเทศจีนร่วมกับสุกรจากประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และแถบยุโรปจากฐานข้อมูลใน GenBank

การศึกษาพันธุศาสตร์โมเลกุลจากตัวอย่างโบราณที่ได้จากการขุดค้นในพื้นที่เขตร้อน เช่น ประเทศไทยนั้นทำได้ยากเพราะอุณหภูมิและความชื้นสูงจะเป็นตัวเร่งการสลายตัวของดีเอ็นเอในซากดึกดำบรรพ์ (Haile, *et al*., 2010; Singh, *et al*., 2011) แต่งานวิจัยนี้สามารถสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากการทำ PCR บริเวณ D-loop (179 คู่เบส) ได้สำเร็จ 10 ตัวอย่างจาก 13 ตัวอย่าง (76.92%) ซึ่ง 10 ตัวอย่างนี้สามารถนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สมบูรณ์ 8 ตัวอย่าง (80%) ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงผลสำเร็จอย่างสูงในการสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากการทำ PCR และสามารถนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สมบูรณ์เมื่อเทียบจากงานวิจัยต่างๆที่ผ่านมา โดย Larson และคณะ (2010) สามารถสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากการทำ PCR และสามารถนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สมบูรณ์ของบริเวณ D-loop (185 คู่เบส) ได้ 18 ตัวอย่างจากตัวอย่างสุกรโบราณทั้งหมด 48 ตัวอย่างที่ขุดค้นจากแถบตอนกลางของประเทศจีน (2 ตัวอย่างมีอายุประมาณ 9,000-8,200 ปีก่อน และ 16 ตัวอย่างมีอายุประมาณ 4,000 ปีก่อน) อย่างไรก็ตามงานวิจัยชิ้นนี้ยังมีความยาวของลำดับเบสที่ยาวกว่างานวิจัยที่ผ่านมาของ Singh และคณะ (2011) ที่สามารถสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากการทำ PCR ได้เพียง 48-80 คู่เบสจากตัวอย่างโบราณของวัว (ตัวอย่างมีอายุประมาณ 4,500 ปีก่อน) ส่วนผลที่ไม่สามารถนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สมบูรณ์ อาจเนื่องจากมีการสลายตัวของดีเอ็นเอ (Singh, *et al*., 2011) และมีการปนเปื้อนจากดิน หรือดีเอ็นเออื่นๆ (Leonard, *et al*., 2007)

จากข้อมูลแฮปโพลไทป์ 33 กลุ่ม พบว่าสุกรในแถบยุโรปถูกจัดกลุ่มอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 20 (H20) ซึ่งพบว่าสุกรป่าและสุกรเลี้ยงในแถบยุโรปถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าสุกรเลี้ยงของยุโรปมีต้นกำเนิดมาจากสุกรป่าของยุโรปซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Larson และคณะในปี 2005 และสามารถแยกกลุ่มสุกรในแถบเอเชียออกจากสุกรในแถบยุโรปได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 7) สนับสนุนผลงานวิจัยที่ผ่านมาของ Watanabe และคณะ (1985) Giuffra และคณะ (2000) และ Okumura และคณะ (2001) ที่รายงานว่า สุกรเลี้ยงภายในแถบภูมิภาคเอเชียและยุโรปนั้นมีต้นกำเนิด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มาจากสายพันธุ์ของสุกรป่าที่แตกต่างกัน (Watanabe, *et al*., 1985; Giuffra, *et al*., 2000) และชี้ให้เห็นว่ามีการนำสุกรป่าในท้องถิ่นเพื่อนำมาเป็นสุกรเลี้ยง อย่างไรก็ตามสุกรในแถบยุโรปถูกจัดเข้ามาอยู่ในกลุ่มร่วมกับสุกรป่าในแถบเอเชีย ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ว่ามีการนำสุกรในแถบเอเชียเข้าไปในยุโรปเพื่อปรับปรุงพันธุ์สุกรของยุโรปในอดีตเมื่อประมาณศตวรรษที่ 18 และ 19 (Jones, 1998; Fang and Anderson, 2006) ส่วนแฮปโพลไทป์ของสุกรป่าพบว่ามีถึง 16 กลุ่มโดยที่ 11 กลุ่มเป็นของสุกรป่าในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ชี้ให้เห็นว่าสุกรป่าในแถบภูมิภาคนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงและสุกรป่าเหล่านี้อาจไม่ได้ถูกรวมอยู่ในพันธุ์ของสุกรเลี้ยง นอกจากนี้สุกรป่าของไทยบางกลุ่มถูกจัดให้อยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 4 (H4) ร่วมกับสุกรป่าของจีนและเวียดนาม ชี้ให้เห็นว่าสุกรป่าเหล่านี้มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกัน ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับผลการศึกษา phylogenetic tree ที่ผ่านมาที่แสดงให้เห็นว่าสุกรป่าของไทยมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรป่าของประเทศจีน และเวียดนาม (Ishiguro, *et al*., 2008; Tanaka, *et al*., 2008) จากการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมพบว่า สุกรป่าของไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุด (7 ตัวอย่างใน 6 แฮปโพลไทป์) รองลงมาคือตัวอย่างสุกรโบราณของไทย (8 ตัวอย่างใน 5 แฮปโพลไทป์) และสุกรไทยพื้นเมือง (19 ตัวอย่างใน 9 แฮปโพลไทป์) ซึ่งผลเหล่านี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยที่ผ่านมาที่รายงานว่าประเทศไทยอยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงในแถบอินโดพม่า (Indo-Burma Biodiversity Hotspot) (Mittermeier, *et al*., 2005; Larson, *et al*., 2010) และเนื่องจากสุกรพื้นเมืองของไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าสุกรเลี้ยงของจีน (8 ตัวอย่างใน 2 แฮปโพลไทป์ และ 1 subclade) แสดงให้เห็นว่ามีการควบคุมการผสมพันธุ์ของสุกรไทยพื้นเมืองน้อย ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาของ Yang และคณะ (2012)

ส่วนตัวอย่างโบราณของไทยสามารถจัดแฮปโพลไทป์ได้ 5 กลุ่ม (H1-H5) โดย PTK1 ไม่ได้ถูกจัดรวมกลุ่มอยู่กับตัวอย่างอื่นๆ และอยู่เดี่ยวๆในแฮปโพลไทป์ที่ 1 (H1) แตกต่างกับตัวอย่างโบราณอื่นๆอีก 7 ตัวอย่างที่ถูกจัดรวมกลุ่มอยู่กับสุกรในแถบเอเชีย (H2-H5) สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree ที่แสดงให้เห็นว่า PTK1 น่าจะมีสายวิวัฒนาการแตกต่างไปจากตัวอย่างโบราณอื่นๆ ชี้ให้เห็นว่า สุกรโบราณของไทยน่าจะมีสายวิวัฒนาการหรือต้นกำเนิดอย่างน้อย 2 สาย และยังสนับสนุนงานวิจัยที่ผ่านมาของ Hongo และคณะ ในปี 2002 ที่รายงานว่า สุกรบางประเทศแถบเขตร้อนของภูมิภาคเอเชีย น่าจะมีบรรพบุรุษที่เป็นเอกลักษณ์ที่แตกต่างจากสุกรในแถบยุโรปและประเทศจีน จากผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree และวิเคราะห์ MSN จะพบว่า PTK1 มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรป่าของเอเชีย ชี้ให้เห็นว่า PTK1 น่าจะเป็นสุกรป่า และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อาจมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรป่าที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบภูมิภาคเอเชีย ส่วนแฮปโพลไทป์ที่ 2 และแฮปโพลไทป์ที่ 4-5 (H2 และ H4-H5) สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม โดยสมาชิกส่วนใหญ่ของกลุ่มแรก (H2 และ H5) จะเป็นสุกรเลี้ยงหรือสุกรป่า ตรงกันข้ามกับกลุ่มที่สอง (H4) ที่มีจำนวนสุกรเลี้ยงและสุกรป่าใกล้เคียงกัน ในกลุ่มแรกแฮปโพลไทป์ที่ 2 (H2) เป็นแฮปโพลไทป์ที่ตัวอย่างโบราณของไทยถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับสุกรพื้นเมืองของไทย สุกรป่าของไทย สุกรโบราณของจีน (อายุประมาณ 4,000 ปีก่อน) และสุกรเลี้ยงของพม่า ผลที่ได้นี้ชี้ให้เห็นว่าสุกรของไทยมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรโบราณของจีน และเนื่องจากไม่มีสุกรในยุคปัจจุบันของจีนในแฮปโพลไทป์นี้ก็อาจจะตีความได้ว่าสุกรโบราณของไทยและสุกรไทยในยุคปัจจุบันอาจจะเป็นลูกหลานมาจากประชากรสุกรในท้องถิ่นที่มีบรรพบุรุษร่วมกันกับสุกรโบราณของจีน หรือสุกรของจีนอาจถูกนำเข้ามาในพื้นที่บริเวณนี้อย่างน้อย 4,000 ปีก่อน ส่วน PTK7 PTK8 และ PTK9 ถูกจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 5 (H5) และมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรพื้นเมืองของไทย สุกรเลี้ยงจากจีนและเวียดนาม และสุกรโบราณของจีน และน่าจะมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรเลี้ยงที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในจีนและ/หรือเวียดนาม ซึ่งมีหลักฐานทางประวัติศาสตร์สนับสนุนผลที่ได้นี้ ที่รายงานว่าประเทศจีนและเวียดนามเป็นศูนย์กลางที่สำคัญของการเลี้ยงสุกรมากว่า 9,000-5,000 ปีมาแล้ว และมีการกระจายของสุกรเลี้ยงเหล่านี้เข้าไปในประเทศต่างๆในแถบเอเชียเมื่อหลายพันปีก่อน (Larson, *et al*., 2005, 2007; Ishiguro, *et al*., 2008) จากหลักฐานเหล่านี้สามารถให้ข้อสรุปได้ว่า สุกรเลี้ยงจากประเทศจีนและเวียดนามน่าจะถูกนำเข้าสู่บริเวณพื้นที่ของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบมาแล้วอย่างน้อย 3,000 ปีก่อน และสุกรเลี้ยงจากประเทศจีนและเวียดนามอาจจะเป็นบรรพบุรุษของสุกรของไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ ดังนั้นจากข้อมูลต่างๆเหล่านี้จึงชี้ให้เห็นว่า PTK7 PTK8 และ PTK9 น่าจะเป็นสุกรเลี้ยง ต่อมาในกลุ่มที่สอง ประกอบด้วย สุกรป่าของเอเชีย 4 ตัวอย่าง สุกรเลี้ยงของเอเชีย 6 ตัวอย่าง และสุกรโบราณ 2 ตัวอย่างและมีสุกรป่าและสุกรเลี้ยงจากบริเวณเดียวกัน เช่น สุกรป่าและสุกรเลี้ยงจากมณฑลฟู่เจี๋ยน (Fujian) ของประเทศจีน และสุกรเลี้ยงและสุกรป่าจากประเทศไทย ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่ามีการเลี้ยงสุกรโดยการนำสุกรป่าในท้องถิ่นในบริเวณดังกล่าว นอกจากนี้จากหลักฐานที่พบว่าสัดส่วนของสุกรป่าและสุกรเลี้ยงเกือบเท่ากันในแฮปโพลไทป์ที่ 4 (H4) และการที่ตัวอย่างสุกรโบราณของไทย (มีอายุประมาณ 3,000 ปีก่อน) และตัวอย่างสุกรโบราณของจีน (CAncientA3) ซึ่งมีอายุประมาณ 9,000-8,600 ปีก่อนอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 4 ทำให้สันนิษฐานได้ว่าแฮปโพลไทป์ที่ 4 อาจมีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการเลี้ยงสัตว์ในช่วงแรก และสุกรของจีนเหล่านี้อาจจะถูกนำมาเข้าในประเทศไทยเมื่อประมาณไม่น้อยกว่า 3,000 ปีก่อน สอดคล้องกับหลักฐานก่อนหน้านี้ที่แสดงให้เห็นว่ามีการขยายพื้นที่เพาะปลูกพืชและเลี้ยงสุกรจากบริเวณตอนกลางของประเทศจีนไปทางทิศใต้หลายครั้งในช่วง 5,000-4,000 ปีก่อน (Chang, 1986; Chi and Hung, 2010) นอกจากนี้ Higham (2002) ได้มีการรายงานว่าในประเทศไทยน่าจะมีการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เริ่มต้นการเลี้ยงสุกรมาเมื่อประมาณ 4,000 ปีก่อน อย่างไรก็ตามเนื่องจากตัวอย่างสุกรจีนโบราณในแฮปโพลไทป์ที่ 4 มีอายุประมาณ 9,000-8,600 ปีก่อน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าสุกรของจีนอาจจะถูกนำเข้ามาในประเทศไทยในช่วง 9,000-8,600 ปีก่อน และอาจมีการเริ่มต้นการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วงเวลาดังกล่าวเป็นต้นมา

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree พบว่าตัวอย่างสุกรโบราณ สุกรพื้นเมืองและสุกรป่าของไทยถูกจัดอยู่ในหลาย subclade แสดงให้เห็นว่า สุกรโบราณของไทยและสุกรในยุคปัจจุบันของไทยมีต้นกำเนิดมาจากสายวิวัฒนาการหลายสาย (multiple maternal lineages) ส่วน AS2 subclade พบเพียงสุกรในยุคปัจจุบันของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่มาจากประเทศไทย กัมพูชา และลาว แสดงให้เห็นว่าสุกรไทยพื้นเมืองบางตัวอย่างอาจมีต้นกำเนิดมาจากประชากรสุกรท้องถิ่นในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในทางตรงกันข้าม AS1 AS4 และ AS6 subclades พบว่าสุกรโบราณและสุกรในยุคปัจจุบันของไทยมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรโบราณและสุกรในยุคปัจจุบันของจีน ชี้ให้เห็นว่าสุกรของไทยอาจมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรของจีนและสุกรไทยเหล่านี้อาจมีต้นกำเนิดมาจากสุกรโบราณของจีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอย่างโบราณของไทยและสุกรไทยพื้นเมืองถูกจัดอยู่ในกลุ่ม AS5 กับสุกรโบราณของจีน (CAncientA4) และไม่มีสุกรในยุคปัจจุบันของจีนอยู่ในกลุ่มนี้ ดังนั้นจากข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยเหล่านี้อาจบอกได้ว่ามีการนำสุกรเลี้ยงของจีนเข้ามาในประเทศไทยตั้งแต่ในอดีตและมีการนำสุกรเหล่านี้มาเลี้ยงในประเทศไทยและไม่ได้มีการนำสุกรของจีนเข้ามาผสมอีกเลย จึงทำให้สุกรเหล่านี้มีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างจากสุกรในปัจจุบันของจีน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Charoensook และคณะ (2011) ที่รายงานว่าสุกรไทยพื้นเมืองบางพันธุ์มีต้นกำเนิดมาจากสุกรเลี้ยงของจีน แต่กระบวนการในการเลี้ยงสัตว์ในอดีตดังที่กล่าวไปข้างต้น ทำให้สุกรของไทยในยุคปัจจุบันเหล่านี้มีลักษณะทางพันธุกรรมที่เป็นเอกลักษณ์ต่างจากสุกรของจีน

จากการวิเคราะห์ MSN พบว่ามีรูปแบบคล้ายดาวกระจาย (star-like pattern) แสดงให้เห็นว่ามีการขยายตัวของประชากรของสุกร นอกจากนี้ตัวอย่างสุกรโบราณของไทยทั้ง 5 แฮปโพลไทป์ถูกจัดอยู่ตรงกลางของ MSN ในขณะที่สุกรไทยในยุคปัจจุบันกระจายออกไปรอบนอกของ MSN แสดงให้เห็นว่ามีการขยายตัวของประชากรเกิดขึ้นในอดีตและมีการขยายตัวของประชากรเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการวิเคราะห์ MSN มีผลสอดคล้องกับผลที่ได้จากแฮปโพลไทป์ การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree ที่แสดงให้เห็นว่าสุกรในแถบยุโรปถูกแยกออกจากสุกรในแถบเอเชียอย่างชัดเจน ซึ่งยืนยันการมีต้นกำเนิดที่แตกต่างกันระหว่างสุกรในแถบยุโรปและสุกรในแถบเอเชียตามรายงานที่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เคยศึกษามาแล้ว (Watanabe, *et al*., 1985; Giuffra, *et al*., 2000; Okumura, *et al*., 2001; Larson, *et al*., 2005)

2. การตรวจสอบและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb*

2.1 วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอโบราณของสุกรไทย

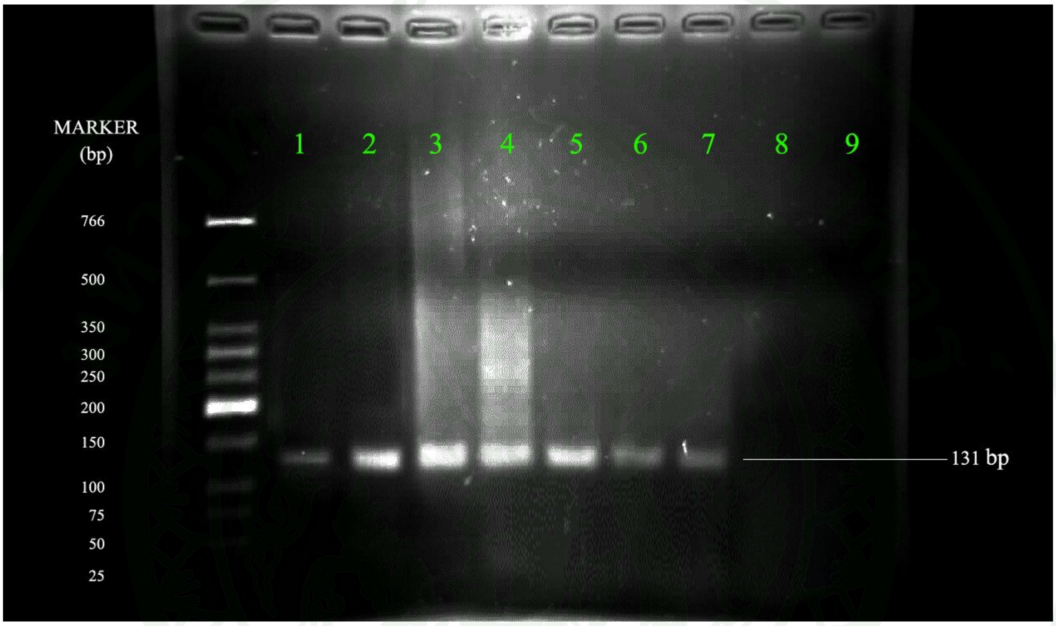
ตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรที่ขุดค้นพบจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ จำนวน 13 ตัวอย่าง สามารถสกัดดีเอ็นเอ และนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สำเร็จ จำนวน 7 ตัวอย่าง โดยพบว่าทุกตัวอย่างมีความยาว 131 คู่เบส (ภาคผนวก ง) จากนั้นจึงตัดส่วนไพรเมอร์ออกเหลือดีเอ็นเอที่มีความยาว 85 คู่เบส ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 รายละเอียดของตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรจากแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบ จำนวน 13 ตัวอย่าง ที่ใช้ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb*

Extraction no.	Site/Phase	Element	PCR	Sequence obtained (bp)
PTK1	PTK 2009 OP.1 - Level 1	Molar	Yes	Poor quality
PTK2	PTK 2009 OP.1 - Level 2	Molar	Yes	Poor quality
PTK3	PTK 2009 OP.1 - Level 1-3	Molar	Yes	131
PTK4	PTK 2009 OP.1 - Level 4	Molar	No	-
PTK5	PTK 2009 OP.1 - Level 5	Canine	No	-
PTK6	PTK 2009 OP.1 - Level 6/1	Molar	Yes	131
PTK7	PTK 2009 OP.1 - Level 6/2	Molar	No	-
PTK8	PTK 2009 OP.1 - Level 6/3	Molar	Yes	131
PTK9	PTK 2009 OP.1 - Level 1-10	Molar	Yes	131
PTK10	PTK 2009 OP.2 - Level 1-3/1	Molar	Yes	131
PTK11	PTK 2009 OP.2 - Level 1-3/2	Canine	Yes	131
PTK12	PTK -No. 0249 -Grid No.6 -Level 5	Canine	Yes	Poor quality
PTK13	PTK -No. 0467 -Grid No.7 -Level 10	Molar	Yes	131

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตรวจสอบผลที่ได้จากการทำปฏิกิริยา PCR โดยการแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis โดยเลนที่ใส่ตัวอย่าง PCR product จากดีเอ็นเอของสุกรไทยโบราณ จะได้แถบดีเอ็นเอที่ขนาด 131 คู่เบส ส่วน negative control ทั้ง blank extract และ blank control จะไม่พบแถบดีเอ็นเอ (ภาพที่ 9)



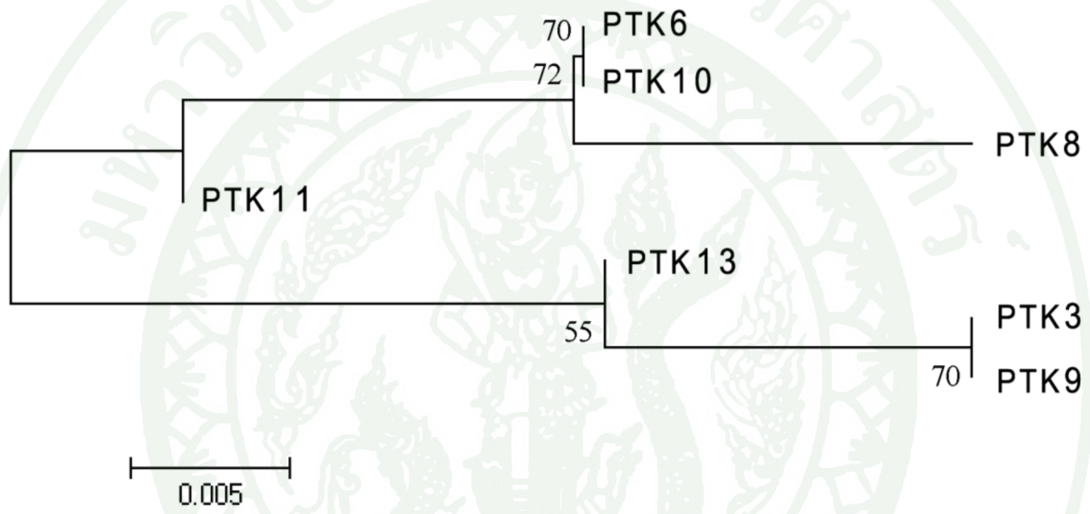
ภาพที่ 9 การแยกขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis โดยเลนที่ใส่ตัวอย่าง PCR product บริเวณยีน *cytb* ของสุกรไทยโบราณ จะได้แถบดีเอ็นเอที่ขนาด 131 คู่เบส เลนที่ 1-7 คือ ตัวอย่างโบราณ PTK6 PTK8 PTK9 PTK3 PTK10 PTK11 และ PTK13 ตามลำดับ ส่วนเลนที่ 8 ถึง 9 คือ blank extract และ blank control ตามลำดับจะไม่พบแถบดีเอ็นเอ

จากการทดลองพบว่าไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากตัวอย่างโบราณ PTK4 PTK5 และ PTK7 ได้สำเร็จ ส่วนตัวอย่างโบราณ PTK1 PTK2 และ PTK12 สามารถสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอได้สำเร็จ แต่ไม่สามารถนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้สมบูรณ์ เนื่องจากอาจมีการปนเปื้อนจากดิน หรือดีเอ็นเออื่นๆ (Leonard, *et al.*, 2007)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ และ Minimum Spanning Network (MSN)

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* ของตัวอย่างโบราณ PTK ทั้ง 7 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree พบว่าสามารถจัดกลุ่มได้ 5 กลุ่ม และมี bootstap มากกว่า 50% ทุกกลุ่ม (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb* ของสุกรไทยโบราณ (PTK)

จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* ของตัวอย่างโบราณ ทั้ง 7 ตัวอย่าง มาตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมกับข้อมูลที่ได้จาก GenBank 28 ตัวอย่าง (ภาคผนวก ก ตารางผนวกที่ 2) พบว่ามีความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 11 ตำแหน่ง โดยพบความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ในตัวอย่างโบราณ 5 ตำแหน่ง ตำแหน่งที่ 879 (นิวคลีโอไทด์ T) มีความจำเพาะกับสุกรในแถบเอเชีย ทำให้สามารถแยกกลุ่มออกจากสุกรในแถบยุโรปได้ (ตารางที่11) และสามารถจัดกลุ่มได้ทั้งหมด 8 แฮปโพลไทป์ โดยเป็นกลุ่มตัวอย่างโบราณ 5 แฮปโพลไทป์ สอดคล้องกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์เฉพาะลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* ของตัวอย่างโบราณ ทั้ง 7 ตัวอย่างที่สามารถจัดกลุ่มได้ 5 กลุ่ม เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 8)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 แสดงความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb*; จุด (.) แสดงถึง ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งนี้เหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ GenBank Accession on. AJ002189 ซึ่งใช้ในการอ้างอิงตำแหน่งของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *cytb*

Haplotype	Nucleotide position										
	852	862	870	873	874	876	879	883	901	907	912
AJ002189	T	C	A	G	T	G	C	G	C	T	G
H1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H2	.	.	.	.	C	A	T	A	.	.	.
H3	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
H4	.	.	T	.	C	A	T	A	.	.	.
H5	.	.	.	.	C	A	T	.	.	.	.
H6	.	.	.	.	C	.	T	.	.	.	.
H7	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.
H8	C	T	.	A	C	C	.	.	T	C	A

สุกรในแถบยุโรปถูกจัดกลุ่มอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 1 (H1) ในขณะที่สุกรในแถบเอเชียและตัวอย่างโบราณของสุกรจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 2-7 (H2-H7) (ตารางที่ 9) สอดคล้องกับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree ที่สามารถแยกกลุ่มสุกรในแถบเอเชีย ออกจากสุกรในแถบยุโรปได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 11) สนับสนุนผลงานวิจัยที่ผ่านมาของ Giuffra และคณะในปี 2000 และ Okumura และคณะในปี 2001 ที่รายงานว่า *S. scrofa* มีแหล่งกำเนิดแบ่งออกเป็นสองสายใหญ่ๆ คือ ยุโรปและเอเชีย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 การจัดกลุ่มแฮปโพลไทป์ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb* จากตัวอย่างโบราณจำนวน 7 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank จำนวน 28 ตัวอย่าง

Clade	Haplotype	Extraction number/ Code name
Asian clade		
	H2	PTK6, PTK10, KoreanJNP, CDMMeishan, CDMWulianBlack, CDMYimengBlack, CDMLuyanWhite, CDMJiangsu, CDMShandong, CDMNorthwest, CDMHainan, CDMSichuan, CDMGuizhou, CDMNorthEast
	H3	PTK3, PTK9
	H4	PTK8
	H5	PTK11, AsianWB550, VWB, CWBHainan, ThaiKanjana
	H6	PTK13
	H7	JapaneseWB067, JapaneseWB068, RyukyuWB, AsianWB551, CWBYunnan, LaoWB,
European clade		
	H1	EuropeanWB541, EuropeanWB542, LandraceDM, DurocDM, SwedishWB
Out group		
	H8	*Phacochoerus aethiopicus*

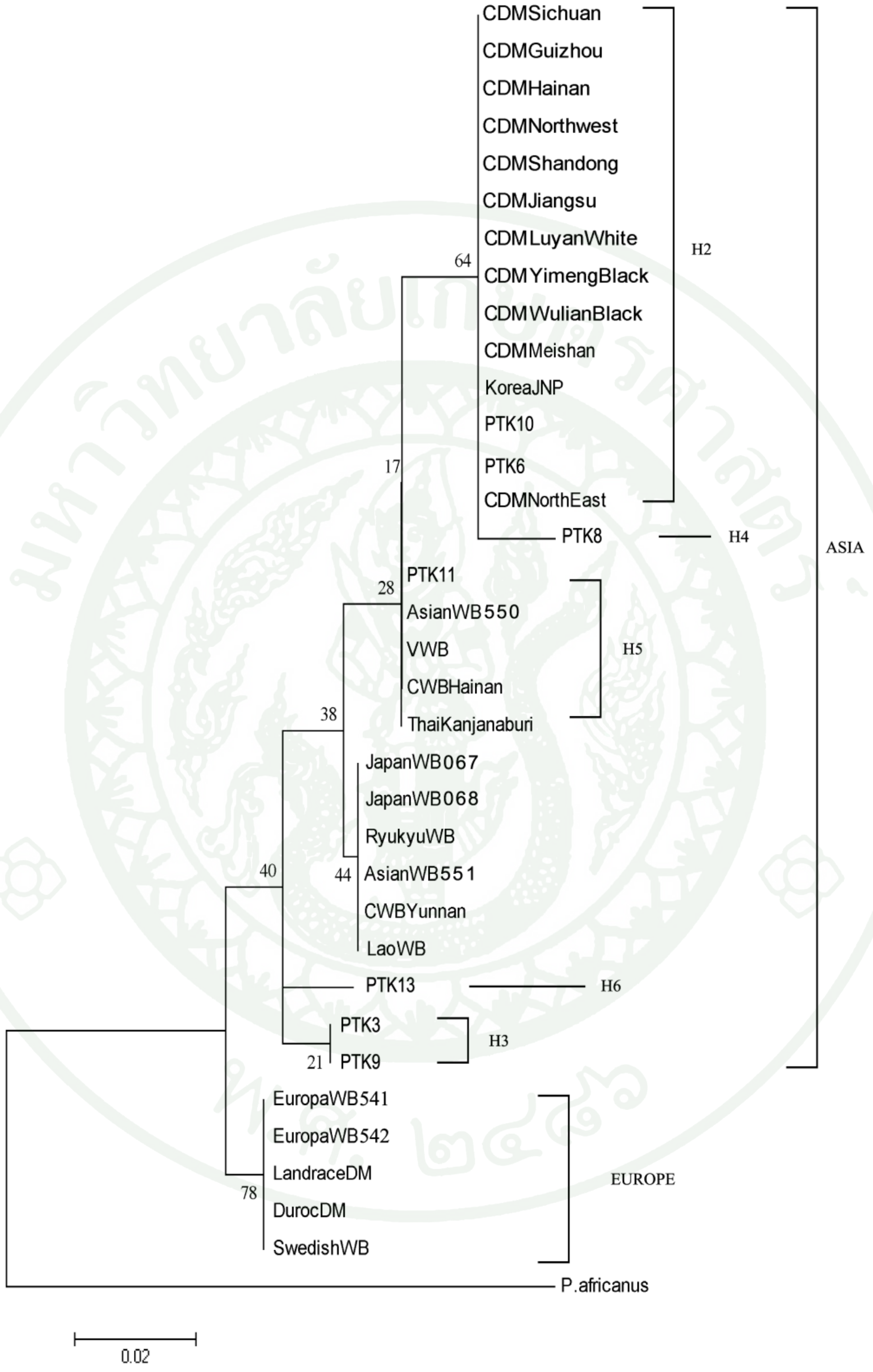
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตัวอย่างโบราณทั้ง 7 ตัวอย่าง คือ PTK3 PTK6 PTK8 PTK9 PTK10 PTK11 และ PTK13 ถูกจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 2-6 (H2-H6) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสายวิวัฒนาการของสุกรในแถบเอเชีย (ภาพที่ 11) แสดงให้เห็นว่า สุกรไทยในสมัยก่อนประวัติศาสตร์ที่ขุดค้นพบในแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบแห่งนี้ น่าจะมีสายวิวัฒนาการมาจากสุกรในแถบเอเชียมากกว่าสุกรในแถบยุโรป PTK6 และ PTK10 ถูกจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์กลุ่มเดียวกัน คือ แฮปโพลไทด์ที่ 2 (H2) ซึ่งถูกจัดอยู่รวมกับสุกรเลี้ยงจากประเทศจีน และสุกรพื้นเมืองจากประเทศเกาหลีสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยการสร้าง phylogenetic tree ซึ่งผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่า PTK6 และ PTK10 มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรเลี้ยง และมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรเลี้ยงของประเทศจีน จากผลงานวิจัยที่ผ่านมายังสนับสนุนผลที่ได้นี้ โดยรายงานว่า ประเทศจีนเป็นหนึ่งในศูนย์กลางที่สำคัญของการเลี้ยงสุกรมากว่า 7,000 ปีที่ผ่านมา และยังมีการกระจายของสุกรเข้าไปในประเทศในแถบเอเชียมาหลายพันปีมาแล้ว (Larson, *et al*., 2005, 2007; Ishiguro, *et al*., 2008) จากผลการวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สุกรจากประเทศจีนน่าจะถูกนำเข้าสู่บริเวณพื้นที่ของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบมาแล้วอย่างน้อย 3,000 ปีก่อน และสุกรเลี้ยงจากประเทศจีนอาจจะเป็นบรรพบุรุษของสุกรของไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ ในทางกลับกัน PTK11 นั้นมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมกับสุกรป่าจากประเทศในแถบภูมิภาคเอเชีย คือ ประเทศจีน (มณฑลไห่หนาน) เวียดนาม และไทย ซึ่งถูกจัดกลุ่มอยู่ในแฮปโพลไทป์ที่ 5 (H5) ด้วยกัน ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยการสร้าง phylogenetic tree และยังสนับสนุนการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยการสร้าง phylogenetic tree ของ Ishiguro และคณะ และ Tanaka และคณะ ในปี 2008 ที่รายงานว่า สุกรป่าของไทยมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรป่าของประเทศจีน และเวียดนาม ดังนั้นข้อมูลเหล่านี้จึงชี้ให้เห็นว่า PTK11 น่าจะเป็นสุกรป่าและมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรป่าที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบภูมิภาคเอเชีย ข้อมูลที่น่าสนใจคือ PTK8 และ PTK13 ไม่ได้ถูกจัดรวมกลุ่มอยู่กับตัวอย่างอื่นๆ แต่อยู่เดี่ยวๆ ในแฮปโพลไทป์ที่ 4 และ 6 ตามลำดับ (H4 และ H6) ผลงานวิจัยที่ได้นี้สนับสนุนงานวิจัยที่ผ่านมาของ Hongo และคณะ ในปี 2002 ที่รายงานว่า สุกรบางประเทศแถบเขตร้อนของภูมิภาคเอเชีย จะมีบรรพบุรุษที่เป็นเอกลักษณ์ที่แตกต่างจากสุกรในแถบยุโรปและประเทศจีน แต่ถ้ามาดูผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการโดยการสร้าง phylogenetic tree PTK8 และ PTK13 นั้นก็ยังมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรเลี้ยง และสุกรป่าในแถบภูมิภาคเอเชีย ตามลำดับ ดังนั้น PTK8 น่าจะเป็นสุกรเลี้ยงและมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรเลี้ยงที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบภูมิภาคเอเชีย ส่วน PTK13 น่าจะเป็นสุกรป่า และมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรป่าที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบภูมิภาคเอเชีย ส่วน PTK3 และ PTK9 ถูกจัดอยู่ในแฮปโพลไทป์กลุ่มเดียวกัน คือ แฮปโพลไทป์ที่ 3 (H3) แต่ก็ยังอยู่ใกล้ชิดกับกลุ่มของสุกรป่าในแถบภูมิภาคเอเชีย ดังนั้นจึงคาดว่า PTK3 และ PTK9 น่าจะเป็นสุกรป่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

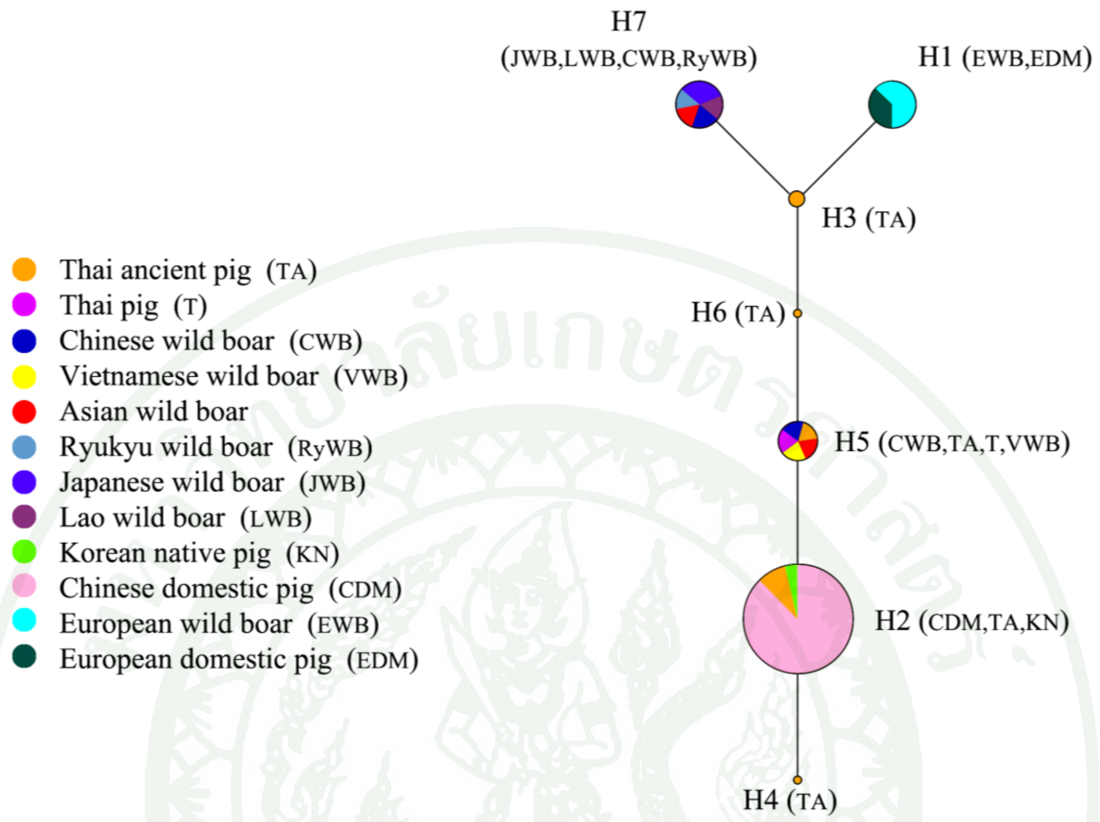
นำแฮปโพลไทป์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* ทั้งหมดที่ได้จากงานวิจัยนี้ (ยกเว้น Out group) (ตารางที่ 8 และ ตารางที่ 9) มาสร้าง MSN (ภาพที่ 12) เพื่อให้เห็นภาพความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างสุกรได้ดีขึ้น พบว่าแฮปโพลไทป์ที่ 1 (H1) ซึ่งเป็นแฮปโพลไทป์ของสุกรป่าและสุกรเลี้ยงในแถบยุโรป สามารถแยกออกจากสุกรในแถบภูมิภาคเอเชียได้อย่างชัดเจน สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Larson และคณะ ในปี 2005 ต่อมาในส่วนของตัวอย่างโบราณทั้ง 5 แฮปโพลไทป์ (H2-H6) พบว่ามีการเชื่อมต่อและมีความ สัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกัน ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสุกรเลี้ยงของจีน น่าจะสืบเชื้อสายมาจากสุกรเลี้ยงของจีน ส่วนสุกรไทยโบราณที่อยู่ในแฮปโพลไทป์เดียวกับสุกรป่าของจีนและเวียดนาม อาจจะมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรป่าของจีนและเวียดนาม (Larson, *et al*., 2005; Ishiguro, *et al*., 2008; Tanaka, *et al*., 2008) แต่สุกรไทยโบราณที่ไม่ได้จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับสุกรอื่นๆเลยนั้น อาจสืบเชื้อสายมาจากบรรพบุรุษที่อาศัยอยู่ในบริเวณนี้มาหลายพันปีแล้ว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 11 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน *cytb* ของสุกรไทยโบราณ (PTK) สุกรเอเชีย และสุกรยุโรปจากฐานข้อมูล GenBank

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 Minimum Spanning Network (MSN) บริเวณยีน *cytb* จากแฮปโพลไทป์ 7 แฮปโพลไทป์ (ยกเว้น Outgroup) ตัวอย่างที่แตกต่างกันจะแทนด้วยสีที่ต่างกัน แต่ละวงกลมคือแต่ละแฮปโพลไทป์ซึ่งขนาดของวงกลมจะขึ้นกับจำนวนของตัวอย่างที่อยู่ในแฮปโพลไทป์นั้นๆ เส้นเชื่อมระหว่างวงกลมแสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลง 1 เบส ส่วนเส้นขวางแสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเบสระหว่าง 2 แฮปโพลไทป์มากกว่า 1 ตำแหน่งขึ้นไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ผลการวิจัยโดยการวิเคราะห์ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop พบว่าตัวอย่างสุกรไทยโบราณและสุกรไทยในปัจจุบันอาจมีต้นกำเนิดมาจากสายวิวัฒนาการหลายสาย คือสืบเชื้อสายมาจากประชากรสุกรในท้องถิ่นหรือมีต้นกำเนิดมาจากสุกรอื่นๆในแถบเอเชียโดยเฉพาะอย่างยิ่งสุกรเลี้ยงของจีน ซึ่งตัวอย่างโบราณของสุกรไทยทั้ง 8 ตัวอย่างถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสุกรในแถบภูมิภาคเอเชีย (Asian clade) ยกเว้น PTK1 ที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสุกรในแถบภูมิภาคเอเชียและยุโรป (European-Asian clade) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า PTK1 PTK3 PTK4 PTK5 และ PTK10 มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรป่าในแถบภูมิภาคเอเชีย ในขณะที่ PTK7 PTK8 และ PTK9 ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับสุกรเลี้ยงในประเทศแถบภูมิภาคเอเชีย ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสุกรไทยโบราณในยุคก่อนประวัติศาสตร์น่าจะมีบรรพบุรุษมาจากทั้งสุกรป่า และสุกรเลี้ยงของเอเชีย และจากการวิเคราะห์ MSN แสดงให้เห็นว่าสุกรไทยน่าจะมีบรรพบุรุษมาจากสุกรเลี้ยงของประเทศจีนและเวียดนาม แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีการเลี้ยงสุกรในบริเวณพื้นที่ของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบมาแล้วอย่างน้อย 3,000 ปีก่อน หรืออาจจะเริ่มต้นขึ้นเมื่อประมาณ 9,000-4,000 ปีก่อน และยังพบว่าสุกรป่าในประเทศไทยอาจเป็นบรรพบุรุษของสุกรไทยพื้นเมือง และน่าจะมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรป่าในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นอกจากนี้การพบทั้งสุกรเลี้ยงและสุกรป่าในบริเวณพื้นที่ของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบนี้อาจตีความได้ว่ามนุษย์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณบ้านโป่งตะขบนี้ เมื่อประมาณ 3,000 ปีก่อน เริ่มมีการเลี้ยงสัตว์และยังคงมีการล่าสัตว์ป่าด้วย

ส่วนผลการวิจัยโดยการวิเคราะห์ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* พบว่าตัวอย่างโบราณของสุกรไทยทั้ง 7 ตัวอย่าง (ตารางที่ 7) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสุกรในแถบภูมิภาคเอเชีย โดยข้อมูลของเราแสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างโบราณ PTK3 PTK9 PTK11 และ PTK13 มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรป่าในแถบภูมิภาคเอเชีย ในขณะที่ตัวอย่างโบราณ PTK6 PTK8 และ PTK10 ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับสุกรเลี้ยงในประเทศแถบภูมิภาคเอเชีย ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสุกรไทยโบราณในยุคก่อนประวัติศาสตร์น่าจะมีบรรพบุรุษมาจากทั้งสุกรป่า และสุกรเลี้ยงจากในแถบภูมิภาคเอเชีย และจากการวิเคราะห์ MSN แสดงให้เห็นว่าสุกรไทยน่าจะมีบรรพบุรุษร่วมกับสุกรป่าของประเทศจีนและเวียดนาม นอกจากนี้คาดว่าน่าจะมีการเลี้ยงสุกรในบริเวณพื้นที่ของแหล่งโบราณคดีบ้านโป่งตะขบมาแล้วอย่างน้อย 3,000 ปีก่อน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

ในอนาคต การศึกษาวิจัยโดยการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและพันธุศาสตร์โมเลกุลของสุกรไทยโบราณในยุคก่อนประวัติศาสตร์จะเป็นข้อมูลที่สำคัญ ที่สามารถสร้างความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับประวัติศาสตร์ของการเลี้ยงสัตว์และการกระจายทางภูมิศาสตร์ของสุกรเลี้ยงและสุกรป่าในประเทศไทย และยังสร้างความรู้และความเข้าใจในเรื่องพัฒนาการของวัฒนธรรมที่เกิดขึ้นในยุคก่อนประวัติศาสตร์ของประเทศไทยอีกด้วย ดังนั้นการศึกษาในขั้นต่อไปน่าจะมีการเพิ่มข้อมูลของสุกรทั้งในปัจจุบัน และในยุคก่อนประวัติศาสตร์ในประเทศไทยให้ครอบคลุมทั้งประเทศ จะทำให้มีข้อมูลที่ทำให้เรามีความรู้ ความเข้าใจในประวัติศาสตร์ และวัฒนธรรมของประเทศไทยในอดีตเพิ่มมากขึ้น

การศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* ไม่ว่าจากทั้งสุกรไทยในปัจจุบันหรือในยุคก่อนประวัติศาสตร์ อีกทั้งสุกรในแถบเอเชียและยุโรปนั้นมีการศึกษาน้อยมาก และยังมีการศึกษาน้อยกว่าบริเวณ D-loop ดังนั้นงานวิจัยชิ้นนี้จึงริเริ่มศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb* จากสุกรไทยในยุคก่อนประวัติศาสตร์ เพื่อเป็นประโยชน์ในการสร้างข้อมูล และแนวทางในการศึกษายีน *cytb* จากสุกรต่างๆในแถบเอเชียและยุโรปต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมศิลปากร. 2545. **นำชมห้องจัดแสดงประวัติศาสตร์ชาติไทย.** 29 และ 32-33.

สินชัย พารักษา. 2537. การเลี้ยงหมู. **สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ** เล่มที่ 18

สุรพล นาถะพินธุ. 2552. ประวัติวัฒนธรรมยุคก่อนประวัติศาสตร์ที่แหล่งโบราณคดีโรงเรียนบ้านโป่งตะขบ ต.วังม่วง อ.วังม่วง จ.สระบุรี พ.ศ. 2552. ใน **รายงานสรุปผลเบื้องต้นของการปฏิบัติงานโครงการวิจัย.** มหาวิทยาลัยศิลปากร.

Alves, E., C. Óvilo, M. C. Rodríguez and L. Silió. 2003. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relationships among Iberian pigs and other domestic and wild pig populations. **Anim. Genet.** 34: 319-324.

Bruford, M. W., D. G. Bradley and G. Luikart. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. **Nat. Rev. Genet.** 4: 900-910.

Clop, A., M. Amills, J. Noguera, A. Fernandez, J. Capote, M. Ramon, L. Kelly, J. Kijas, L. Andersson and A. Sanchez. 2004. Estimating the frequency of Asian *cytochrome B* haplotypes in standard European and local Spanish pig breeds. **Genet. Sel. Evol.** 36: 97–104.

Cho, I.-C., S.-H. Han, M. Fang, S.-S. Lee, M.-S. Ko, H. Lee, H.-T. Lim, C.-K. Yoo, J.-H. Lee and J.-T. Jeon. 2009. The robust phylogeny of Korean wild boar (*Sus scrofa coreanus*) using partial D-loop sequence of mtDNA. **Mol. Cells** 28: 423-430.

Chang, K. C. 1986. **The Archaeology of Ancient China.** Yale Univ Press, New Haven, CT.

Charoensook, R., B. Brenig, K. Gatphayak, C. Knorr. 2011. Further resolution of porcine phylogeny in Southeast Asia by Thai mtDNA haplotypes. **Anim. Genet.** 42: 445-450.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Chi, Z. and H .Hung. 2010. The emergence of agriculture in southern China. **Antiquity** 84: 11–25.

Chaiwatanasin, W. and S. Chantsavang. 2002. Genetic diversity of native pig in Thailand using microsatellite analysis. **Kasetsart J. Nat. Sci.** 36: 133-137.

Cucchi, T., A. Hulme-Beaman, J. Yuan and K. Dobney. 2011. Early Neolithic pig domestication at Jiahu, Henan Province, China: clues from molar shape analyses using geometric morphometric approaches. **J. Archaeol. Sci.** 38: 11-22.

Darwin, C. 1868. **The Variation of Animals and Plants Under Domestication.** 1st ed. London, UK: John Murray.

Diamond, J. 2002. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. **Nature** 418: 700–707.

Excoffier, L., G. Laval and S. Schneider. 2007. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. **Evol. Bioinform.** 1: 0.

______ and H. E. L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Mol. Ecol. Resour.** 10: 564-567.

Fang, M. and L. Andersson. 2006. Mitochondrial diversity in European and Chinese pigs is consistent with population expansions that occurred prior to domestication. **Proc. R. Soc. B** 273: 1803-1810.

Fokkinga, A. 2004. **Het Varkensboek.** The Netherlands: Uitgeverij Thoth.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ghivizzani, S. C., S. L. D. Mackay, C. S. Madsen, P. J. Laipis and W. W. Hauswirth. 1993. Transcribed heteroplasmic repeated sequences in the porcine mitochondrial DNA D-loop region. **J. Mol. Evol.** 37: 36-47.

Giuffra, E., J. M. H. Kijas, V. Amarger, O. Carlborg, J.-T. Jeon and L. Andersson. 2000. The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. **Genetics** 154: 1785-1791.

Groves, C. P., G. B. Schaller, G. Amato and K. Khounboline. 1997. Rediscovery of the wild pig *Sus bucculentus*. **Nature** 386: 335-335.

Haile, J., G. Larson, K. Owens, K. Dobney and B. Shapiro. 2010. Ancient DNA typing of archaeological pig remains corroborates historical records. **J. Archaeol. Sci.** 37: 174-177.

Higham, C. F.W. 1989. **The Archaeology of Mainland Southeast Asia.** Cambridge University Press, Cambridge.

______. 2002. **Early Culture of Mainland Southeast Asia.** In River Books, Bangkok.

Hongo, H., N. Ishiguro, T. Watanobe, N. Shigehara, T. Anezaki, V. The Long, D. Vu Binh, N. T. Tien and N. H. Nam. 2002. Variation in Mitochondrial DNA of Vietnamese Pigs: Relationships with Asian Domestic Pigs and Ryukyu Wild Boars**. Zool. Sci.** 19: 1329-1335.

Irwin, D. M., T. D. Kocher and A. C. Wilson. 1991. Evolution of the *cytochrome b* gene of mammals. **J. Mol. Evol.** 32: 128–144**.**

Ishiguro, N., M. Sasaki, M. Iwasa, N. Shigehara, H. Hongo, T. Anezaki, V. T. Long, D. T. B. Lan and P. T. Long. 2008. mtDNA variation in Vietnamese pigs, with particular emphasis on the genetic relationship between wild boars from Vietnam and the Ryukyu Islands. **Mammal Study** 33: 51-58.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Jansen, T., P. Forster, M. A. Levine, H. Oelke, M. Hurles, C. Renfrew, J. Weber and K. Olek. 2002. Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 99: 10905–10910.

Jones, G. F. 1998. **Genetics of the Pig.** eds Rothchild MF, Ruvinksy A. CAB Intl, Oxford. 17-50.

Jorgensen, F., A. Hobolth, H. Hornshoj, C. Bendixen, M. Fredholm and M. Schierup. 2005. Comparative analysis of protein coding sequences from human, mouse and the domesticated pig. **BMC Biol.** 3: 2.

Kim, K. I., J. H. Lee, K. Li, Y. P. Zhang, S. S. Lee, J. Gongora and C. Moran. 2002. Phylogenetic relationships of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. **Anim. Genet.** 33: 19-25.

Kijas, J. M. H. and L. Andersson. 2001. A phylogenetic study of the origin of the domestic pig estimated from the near-complete mtDNA genome. **J. Mol. Evol.** 52: 302-308.

Kefei, C., T. Baxter, W. M. Muir, M. A. Groenen and L. B. Schook. 2007. Genetic resources, genome mapping and evolutionary genomics of the pig (*Sus scrofa*). **Int. J. Biol. Sci.** 3: 153-165.

Kong, Q.-P., H.-J. Bandelt, C. Sun, Y.-G. Yao, A. Salas, A. Achilli, C.-Y. Wang, L. Zhong, C.-L. Zhu, S.-F. Wu, A. Torroni and Y.-P. Zhang. 2006. Updating the East Asian mtDNA phylogeny: a prerequisite for the identification of pathogenic mutations. **Hum. Mol. Genet.** 15: 2076-2086.

______ Y.-G. Yao, C. Sun, H.-J. Bandelt, C.-L. Zhu and Y.-P. Zhang. 2003. Phylogeny of East Asian mitochondrial DNA lineages inferred from complete sequences. **Am. J. Hum. Genet.** 73: 671-676.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Larson, G., K. Dobney, U. Albarella, M. Fang, E. Matisoo-Smith, J. Robins, S. Lowden, H. Finlayson, T. Brand, E. Willerslev, P. Rowley-Conwy, L. Andersson and A. Cooper. 2005. Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centres of pig domestication. **Science** 307: 1618-1621.

______ R. Liu, X. Zhao, J. Yuan, D. Fuller, L. Barton, K. Dobney, Q. Fan, Z. Gu, X. Liu, Y. Luo, P. Lv, L. Andersson and N. Li. 2010. Patterns of East Asian pig domestication, migration and turnover revealed by modern and ancient DNA. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 107: 7686-7691.

______ T. Cucchi, M. Fujita, E. Matisoo-Smith, J. Robins, A. Anderson, B. Rolett, M. Spriggs, G. Dolman, T.-H. Kim, N. T. D. Thuy, E. Randi, M. Doherty, R. A. Due, R. Bollt, T. Djubiantono, B. Griffin, M. Intoh, E. Keane, P. Kirch, K.-T. Li, M. Morwood, L. M. Pedriña, P. J. Piper, R. J. Rabett, P. Shooter, G. Van den Bergh, E. West, S. Wickler, J. Yuan, A. Cooper and K. Dobney. 2007. Phylogeny and ancient DNA of *Sus* provides insights into Neolithic expansion in Island Southeast Asia and Oceania. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 104: 4834-4839.

Leonard, J. A., O. Shanks, M. Hofreiter, E. Kreuz, L. Hodges, W. Ream, R. K. Wayne and R. C. Fleischer. 2007. Animal DNA in PCR reagents plagues ancient DNA research**. J. Archaeol. Sci.** 34: 1361-1366.

______ R. K. Wayne, J. Wheeler, R. Valadez, S. Guillen and C. Vila. 2002. Ancient DNA evidence for Old World origin of New World dogs. **Science** 298: 1613-1616.

Librado, P. and J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics 25:** 1451-1452.

Lin, C.-S., Y.-L. Sun, C.-Y. Liu, P.-C. Yang, L.-C. Chang, I.-C. Cheng, S. J. T. Mao and M.-C. Huang. 1999. Complete nucleotide sequence of pig (*Sus scrofa*) mitochondrial genome and dating evolutionary divergence within Artiodactyla. **Gene** 236: 107-114.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lister, A. M., M. Kadwell, L. M. Kaagan, W. C. Jordan, M. B. Richards and H. F. Stanley. 1998. Ancient and modern DNA from a variety of sources in a study of horse domestication. **Anc. Biomol.** 2: 267–280.

Macaulay, V., C. Hill, A. Achilli, C. Rengo, D. Clarke, W. Meehan, J. Blackburn, O. Semino, R. Scozzari, F. Cruciani, A. Taha, N. K. Shaari, J. M. Raja, P. Ismail, Z. Zainuddin, W. Goodwin, D. Bulbeck, H.-J. Bandelt, S. Oppenheimer, A. Torroni and M. Richards. 2005. Single, rapid coastal settlement of Asia revealed by analysis of complete mitochondrial genomes. **Science** 308: 1034-1036.

Mittermeier, R. A., P. R. Gil, M. Hoffman, J. Pilgrim, T. Brooks, C. G. Mittermeier, J. Lamoreux and G. A. B. da Fonseca. 2005. **Hotspots revisited: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions.** Conservation International, Washington, DC.

Okumura, N., Y. Kurosawa, E. Kobayashi, T. Watanobe, N. Ishiguro, H. Yasue and T. Mitsuhashi. 2001. Genetic relationship amongst the major non-coding regions of mitochondrial DNAs in wild boars and several breeds of domesticated pigs. **Anim. Genet.** 32: 139-147.

Okamoto, M., Y. Sugino and Y. Suzuki. **Phylogeny of pig in Thailand.** Unpublished

Palanichamy, M. g., C. Sun, S. Agrawal, H.-J. Bandelt, Q.-P. Kong, F. Khan, C.-Y. Wang, T. K. Chaudhuri, V. Palla and Y.-P. Zhang. 2004. Phylogeny of mitochondrial DNA macrohaplogroup N in India, based on complete sequencing: implications for the peopling of South Asia. **Am. J. Hum. Genet.** 75: 966-978.

Purcell, S. 2007. BGIM: **Maximum likelihood estimation primer.** from http://statgen.iop.kci.ac.uk/bgim/mle/sslike_1.html, July 16, 2007.

Randi, E., V. Lucchini and C. H. Diong. 1996. Evolutionary genetics of the suiformes as reconstructed using mtDNA sequencing. **Mamm. Evol.** 3: 163-94.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Richards, M. B., V. A. Macaulay, H. J. Bandelt and B. C. Sykes. 1998. Phylogeography of mitochondrial DNA in western Europe. **Ann. Hum. Genet.** 62: 241-260.

Robins, J. H., H. A. Ross, M. S. Allen and E. Matisoo-Smith. 2006. Taxonomy: *Sus bucculentus* revisited. **Nature** 440: E7-E7.

Savolainen, P., Y.-p. Zhang, J. Luo, J. Lundeberg and T. Leitner. 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. **Science** 298: 1610-1613.

Singh, N., P. Joglekar and K. Koziol. 2011. First ancient bovine DNA evidence from India: difficult but not impossible. **J. Archaeol. Sci.** 38: 2200-2206.

Tamura, K., J. Dudley, M. Nei and S. Kumar. **2007**. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. **Mol. Biol. Evol.** 24: 1596-1599.

Tanaka, K. 1974. Morphological and serological studies on the native pigs in Thailand. **The Society for Research on Native Livestock.** 6: 181-183.

______ Y. Iwaki, T. Takizawa, T. Dorji, G. Tshering, Y. Kurosawa, Y. Maeda, H. Mannen, K. Nomura, V.-B. Dang, L. Chhum-Phith, B. Bouahom, Y. Yamamoto, T. Daing and T. Namikawa. 2008. Mitochondrial diversity of native pigs in the mainland South and South-east Asian countries and its relationships between local wild boars. **Anim. Sci.** 79: 417-434.

Thailand Agriculture Market Online. **การเลี้ยงหมูป่า.** แหล่งที่มา http://www.thaifeed.net/animal/wildboar/wildboar-1.html, 11 มีนาคม 2555

Thompson, J. D., D. G. Higgins and T. J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice**. Nucleic Acids Res.** 22: 4673-4680.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Torroni, A., A. Achilli, V. Macaulay, M. Richards and H.-J. Bandelt. 2006. Harvesting the fruit of the human mtDNA tree. **Trends Genet**. 22: 339-345.

Tavaré, S. 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. Lectures on Mathematics in the Life Sciences. **American Mathematical Society** 17: 57–86.

Ursing, B. M. and U. Arnason. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the pig (*Sus scrofa*). **J. Mol. Evol.** 47: 302-306.

Vila, C., J. A. Leonard, A .Gotherstom, S. Marklund, K. Sandberg, K. Liden, R. K. Wayne and H. Ellegren. 2001. Widespread origins of domestic horse lineages. **Science** 291: 474–477.

______ P. Savolainen, J. E. Maldonado, I. R. Amorim, J. E. Rice, R. L. Honeycutt, K. A. Crandall, J. Lundeberg and R. K. Wayne. 1997. Multiple and ancient origins of the domestic dog. **Science** 276: 1687-1689.

Wang, J. Y., Y. Wu, D. L. Zhang, H. Z. Wang, J. F. Guo, Y. Zhang, C. Wang. 2008. Study on the polymorphisms of reproductive genes and their effects on litter size in Laiwu Black Pigs. **Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica** 17: 7-10.

Watanabe, T., Y. Hayashi, N. Ogasawara and T. Tomoita. 1985. Polymorphism of mitochondrial DNA in pigs based on restriction endonuclease cleavage patterns. **Biochem. Genet.** 23: 105-113.

Watanobe, T., N. Okumura, N. Ishiguro, M. Nakano, A. Matsui, M. Sahara and M. Komatsu. 1999.Genetic relationship and distribution of the Japanese wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) and Ryukyu wild boar (*Sus scrofa riukiuanus*) analysed by mitochondrial DNA. **Mol. Ecol.** 8: 1509-1512.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Wu, C. Y., Y. N. Jiang, H. P. Chu, S. H. Li, Y. Wang, Y. H. Li, Y. Chang and Y. T. Ju. 2007. The type I Lanyu pig has a maternal genetic lineage distinct from Asian and European pigs. **Anim. Genet.** 38: 499–505.

Wu, G. S., Y. G. Yao, K. X. Qu, Z. L. Ding, H. Li, M. G. Palanichamy, Z. Y. Duan, N. Li, Y. S. Chen and Y. P. Zhang. 2007. Population phylogenomic analysis of mitochondrial DNA in wild boars and domestic pigs revealed multiple domestication events in East Asia. **Genome Biol.** 8: R245.

Xu, Z. Y. 1950. **The Animal Husbandry of China**. Shanghai Yongxiang, Shanghai.

Yang, J., J. Wang, J. Kijas, B. Liu, H. Han, M. Yu, H. Yang, S. Zhao and K. Li. 2003. Genetic diversity present within the near-complete mtDNA genome of 17 breeds of indigenous Chinese pigs**. J. Hered.** 94: 381-385.

Yang, S. L., B. Surintorn, N. L. Pongchan, N. N. Uthairat and Z. H. Shi. 2012. Genetic variation and population structure of Thai indigenous pig populations based on mitochondrial and microsatellite DNA markers. **J. Anim. Vet. Adv.** 11: 509-516.

Yao, Y.-G., Q.-P. Kong, H.-J. Bandelt, T. Kivisild and Y.-P. Zhang. 2002. Phylogeographic differentiation of mitochondrial DNA in Han Chinese. **Am. J. Hum. Genet.** 70: 635-651.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ก

รายละเอียดของลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank
ที่นำมาใช้ในการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop และยีน *cytb*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก1 แสดงรายละเอียดของลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank จำนวน 87 ตัวอย่าง ที่นำมาใช้ในการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop

Code name[a]	Accession NO.	Country	Location	Status	Breeds	Reference
ShandongCDM	DQ496500	China	Shandong	Domestic	Jiaozhouhei	Wu et al., 2007
YunnanCDM	DQ496380	China	Yunnan	Domestic	Diannanxiao’er	Wu et al., 2007
NorthEastCDM	DQ496569	China	Northeast	Domestic	Min	Wu et al., 2007
GuizhouCDM	DQ496622	China	Guizhou	Domestic		Wu et al., 2007
SichuanCDM	DQ496257	China	Sichuan	Domestic		Wu et al., 2007
NorthWestCDM	DQ496282	China	Northwest	Domestic	Bamei	Wu et al., 2007
FujianCDM	DQ496601	China	Fujian	Domestic		Wu et al., 2007
TongchengCDM	AF276923	China		Domestic	TongCheng	Kim et al., 2002
JinHuaCDM	AB041475	China		Domestic	Jinhua	Watanobe et al., 1999
YunnanCWB	DQ496881	China	Yunnan	Wild		Wu et al., 2007
GuizhouCWB	DQ496827	China	Guizhou	Wild		Wu et al., 2007
HainanCWB	DQ496802	China	Hainan	Wild		Wu et al., 2007
FujianCWB	DQ496787	China	Fujian	Wild		Wu et al., 2007
GansuCWB	DQ496789	China	Gansu	Wild		Wu et al., 2007
SichuanCWB	AY884640	China	Sichuan	Wild		Larson et al., 2005
HunanCWB	AY884641	China	Hunan	Wild		Larson et al., 2005
CAnCientA1	FJ601542	China	Shanxi	Ancient		Larson et al., 2010
CAnCientA2	FJ601540	China	Shanxi	Ancient		Larson et al., 2010
CAncientA3	FJ601538	China	Henan	Ancient		Larson et al., 2010
CAncientA4	FJ601539	China	Henan	Ancient		Larson et al., 2010

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Code name[a]	Accession NO.	Country	Location	Status	Breeds	Reference
CAncientA6	FJ601546	China	Henan	Ancient		Larson et al., 2010
CAncientG5	FJ601530	China	Henan	Ancient		Larson et al., 2010
CAncientG6	FJ601531	China	Henan	Ancient		Larson et al., 2010
CAncientW1	FJ601545	China	Henan	Ancient		Larson et al., 2010
CAncientW5	FJ601547	China	Henan	Ancient		Larson et al., 2010
LaoDM	DQ496710	Laos		Domestic		Wu et al., 2007
LaoDMXK	AB252819	Laos	Xieng Khuang	Domestic		Tanaka et al., 2008
LaoDMB	AB252818	Laos	Borikamxai	Domestic		Tanaka et al., 2008
LaoWB	DQ496821	Laos		Wild		Wu et al., 2007
LaoWBII	DQ444703	Laos		Wild		Robins et al., 2006
LaoWBI	DQ496824	Laos		Wild		Wu et al., 2007
VietnamDM	AB041479	Vietnam		Domestic	Potbelly	Wu et al., 2007
VietnamDMLC	AB053614	Vietnam	Lao Cai	Domestic		Hongo et al., 2002
VietnamDMCB	DQ779432	Vietnam	Cao Bang	Domestic		Larson et al., 2007
VietnamDMQN	AB252801	Vietnam	Quang Ninhi	Domestic		Tanaka et al., 2008
VietnamWB	DQ496848	Vietnam		Wild		Wu et al., 2007
VietnamWBQT	AB306903	Vietnam	Quang Tri	Wild		Ishiguro et al., 2008
VietnamWBTTH	AB306906	Vietnam	Thua Thien Hue	Wild		Ishiguro et al., 2008
VietnamWBI	AB053610	Vietnam	North Vietnam	Wild		Hongo et al., 2002
VietnamWBPM	DQ779399	Vietnam	Phouc Mon	Wild		Larson et al., 2007
MyanmarWB	AY884623	Myanmar	Tenasserim/ Bok Pyin	Wild		Larson et al., 2005
MyanmarWBU	DQ779411	Myanmar	Upper Burma	Wild		Larson et al., 2007
MyanmarWBY	AB252822	Myanmar	Yangon	Wild		Tanaka et al., 2008
MyanmarDMKY	AB252784	Myanmar	Kayin state	Domestic		Tanaka et al., 2008

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Code name[a]	Accession NO.	Country	Location	Status	Breeds	Reference
MyanmarDMKC	AB252783	Myanmar	Kachin state	Domestic		Tanaka et al., 2008
MyanmarDMS	AB252804	Myanmar	Shan state	Domestic		Tanaka et al., 2008
CambodiaDMMK	AB252814	Cambodia	Mondul Kiri	Domestic		Tanaka et al., 2008
CambodiaDMRK	AB252799	Cambodia	Rattana Kiri	Domestic		Tanaka et al., 2008
CambodiaWBKC	AB252824	Cambodia	Kampong Cham	Wild		Tanaka et al., 2008
CambodiaWBMK	AB252823	Cambodia	Mondul Kiri	Wild		Tanaka et al., 2008
TaiwanWB	AB053627		Taiwan	Wild		Hongo et al., 2002
TaiwanDM	DQ972936		Taiwan	Domestic		C.Y. Wu et al., 2007
TWB01	FM244686	Thailand	Mae Sariang/ Mae Hongson	Wild		Charoensook et al., 2011
TWB02	AM779935	Thailand	Ban Luang/ Nan	Wild		Charoensook et al., 2011
TWB03	AM779936	Thailand	San sai/ Chiang Mai	Wild		Charoensook et al., 2011
TWB04	FM244684	Thailand	Mae Sariang/ Mae Hongson	Wild		Charoensook et al., 2011
TWB06	AY884630	Thailand	Trang Trong	Wild		Larson et al., 2005

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Code name[a]	Accession NO.	Country	Location	Status	Breeds	Reference
TWB07	DQ779403	Thailand	Klong Klung Camp	Wild		Larson et al., 2007
TWB09	DQ779410	Thailand		Wild		Larson et al., 2007
TN02	FM244679	Thailand	Nam Pat/ Uttaradit	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN03	FM244680	Thailand	Nam Pat/ Uttaradit	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN04	FM244469	Thailand	Fak Tha/ Uttaradit	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN05	FM244493	Thailand	Om Koi/ Chiang Mai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN06	FM244494	Thailand	Om Koi/ Chiang Mai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN07	FM244473	Thailand	Fak Tha/ Uttaradit	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN08	FM244681	Thailand	Nam Pat/ Uttaradit	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN09	FM244468	Thailand	Fak Tha/ Uttaradit	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN10	AM774644	Thailand	Chiang San/ Chiang Rai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN11	FM244678	Thailand	Nam Pat/ Uttaradit	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN12	AM777919	Thailand	Chiang San/ Chiang Rai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN13	AM777923	Thailand	Fang/ Chiang Mai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN14	AM779906	Thailand	Jhom Thong/ Chiang Mai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก1 (ต่อ)

Code name[a]	Accession NO.	Country	Location	Status	Breeds	Reference
TN15	AM779910	Thailand	Jhom Thong/ Chiang Mai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN16	AM779913	Thailand	Jhom Thong/ Chiang Mai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN17	AM779914	Thailand	Jhom Thong/ Chiang Mai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN18	AM774643	Thailand	Chiang San/ Chiang Rai	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN19	AM778825	Thailand	Muang/ Mae Hongson	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
TN20	AM778827	Thailand	Muang/ Mae Hongson	Domestic	Thai native	Charoensook et al., 2011
GermanyWB	AY884626	Germany	Hartz Mts	Wild		Larson et al., 2005
MoroccoWB	AY884635	Morocco	Ougda/ Taforalt	Wild		Larson et al., 2005
ItalyFeral	AY884668	Italy	Sardinia	Feral		Larson et al., 2005
HollandWB	AY884669	Holland	Het Loo	Wild		Larson et al., 2005
Okayama	AB041486	EuroAm		Domestic		Watanobe et al., 1999
Hampshire	AB041488	EuroAm		Domestic	Hampshire	Watanobe et al., 1999
Pietrain	AB041489	EuroAm		Domestic	Pietrain	Watanobe et al., 1999
LargeWhite	AB041492	EuroAm		Domestic	Large White	Watanobe et al., 1999
Landrace	AB041496	EuroAm		Domestic	Landrace	Watanobe et al., 1999

หมายเหตุ [a] Code name ใช้ในงานวิจัยนี้เท่านั้น ไม่ได้อ้างอิงจากงานวิจัยที่ผ่านมา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก2 แสดงรายละเอียดของลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูลพันธุกรรม GenBank จำนวน 28 ตัวอย่าง ที่นำมาใช้ในการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb*

Code name[a]	Accession NO.	Country	Location	Status	Breeds	Reference
ThaiKanjanaburi	AB376964	Thailand	Kanchanaburi			Okamoto et al., Unpublished
LaoWB	DQ444704	Laos				Robins et al., 2006
JapanWB067	AB015067	Japan		Wild		Watanobe et al., 1999
JapanWB068	AB015068	Japan		Wild		Watanobe et al., 1999
RyukyuWB	AB015071	Japan		Wild	Ryukyu	Watanobe et al.,1999
KoreaJNP	AY830184	Korea	Jeju		Jeju native	Watanobe et al., 1999
AsianWB550	AF136550	Asia		Wild		Giuffra et al., 2000
AsianWB551	AF136551	Asia		Wild		Giuffra et al., 2000
CDMMeishan	AF136553	Asia			Meishan	Giuffra et al., 2000
EuropaWB	AF136541	Europe		Wild		Giuffra et al., 2000
EuropaWB	AF136542	Europe		Wild		Giuffra et al., 2000
CDMWulian Black	EU979236	China			Wulian Black	Wang et al., 2008
CDMYimeng Black	EU979222	China			Yimeng Black	Wang et al., 2008
CDM Luyan White	EU979216	China			Luyan White	Wang et al., 2008

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ก2 (ต่อ)

Code name[a]	Accession NO.	Country	Location	Status	Breeds	Reference
CDM Jiangsu	AF486861	China	Jiangsu	Domestic		Yang et al., 2003
CDMShandong	AF486868	China	Shandong	Domestic		Yang et al., 2003
CDMHainan	AF486867	China	Hainan	Domestic		Yang et al., 2003
CDMSichuan	AF486860	China	Sichuan	Domestic		Yang et al., 2003
CDMNorthEast	AF486864	China	NorthEast	Domestic		Yang et al., 2003
DurocDM	AF486858	Europe		Domestic	Duroc	Yang et al., 2003
CWBYunnan	EF545585	China	Yunnan	Wild		Fang and Andersson, 2006
CWBHainan	EF545572	China	Hainan	Wild		Fang and Andersson, 2006
VWB	EF545584	Vietnam		Wild		Fang and Andersson, 2006
CDM Northwest	EF545587	China	Northwest	Domestic		Fang and Andersson, 2006
CDMGuizhou	EF545593	China	Guizhou	Domestic		Fang and Andersson, 2006
SwedishWB	AF304203	Europe		Wild	Swedish	Kijas et al., 2001
LandraceDM	AF034253	Europe		Domestic	Landrace	Lin et al., 1999
P. africanus (Out group)	DQ409327	Africa		Wild		Fang and Andersson, 2006

หมายเหตุ [a] Code name ใช้ในงานวิจัยนี้เท่านั้น ไม่ได้อ้างอิงจากงานวิจัยที่ผ่านมา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข

GenBank accession no. JQ429497-JQ429504

ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop จากตัวอย่างชิ้นส่วนฟันของสุกรโบราณ (PTK)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. GenBank accession no. JQ429497

LOCUS JQ429497 138 bp DNA linear MAM 10-APR-2012

DEFINITION *Sus scrofa* isolate Ancient PTK1_1 D-loop, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JQ429497

VERSION JQ429497

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae;
Sus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Molecular genetic analysis of Thai ancient pig (*Sus scrofa*) from
Pong Takhop archaeological site using partial mitochondrial DNA
D-loop sequences

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JAN-2012) Evolutionary Genetics and Computational
Biology (EGCB) Research Unit, Department of Genetics, Faculty of
Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Ladyaow
Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..138

/organism="*Sus scrofa*"

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="AncientPTK1_1"

/db_xref="taxon:9823"

/country="Thailand: Pong Takhop archaeological site"

D-loop <1..>138

ORIGIN

1 gcatgtacat attattatta atattacata gtacatatta ttattgatcg tacatagcac

61 atatcatgtc aaataattcc agtcaacatg cgtatcacca ccactagatc acgagcttaa

121 ttaccatgcc gcgtgaaa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. GenBank accession no. JQ429498

LOCUS JQ429498 138 bp DNA linear MAM 10-APR-2012

DEFINITION *Sus scrofa* isolate Ancient PTK1_1-3 D-loop, partial sequence; mitochondrial.

ACCESSION JQ429498

VERSION JQ429498

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae; *Sus*.

REFERENCE 1 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and Mingmuang,M.

TITLE Molecular genetic analysis of Thai ancient pig (*Sus scrofa*) from Pong Takhop archaeological site using partial mitochondrial DNA D-loop sequences

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and Mingmuang,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JAN-2012) Evolutionary Genetics and Computational Biology (EGCB) Research Unit, Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Ladyaow Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..138

/organism="*Sus scrofa*"

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="AncientPTK1_1-3"

/db_xref="taxon:9823"

/country="Thailand: Pong Takhop archaeological site"

/note="Thai ancient pig"

D-loop <1..>138

ORIGIN

1 gcatgtacat attattatta atattacata gtacatatta ttattgatcg tacatagcac

61 atatcatgtc aaataattcc agtcaacatg cgtatcacca ccattagatc acgagcttaa

121 ttaccatgcc gcgtgaaa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. GenBank accession no. JQ429499

LOCUS JQ429499 138 bp DNA linear MAM 10-APR-2012

DEFINITION *Sus scrofa* isolate Ancient PTK1_4 D-loop, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JQ429499

VERSION JQ429499

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae;
Sus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Molecular genetic analysis of Thai ancient pig (*Sus scrofa*) from
Pong Takhop archaeological site using partial mitochondrial DNA
D-loop sequences

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JAN-2012) Evolutionary Genetics and Computational
Biology (EGCB) Research Unit, Department of Genetics, Faculty of
Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Ladyaow
Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..138

/organism="*Sus scrofa*"

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="AncientPTK1_4"

/db_xref="taxon:9823"

/country="Thailand: Pong Takhop archaeological site"

/note="Thai ancient pig"

D-loop <1..>138

ORIGIN

1 gcatgtacat attattatta atattacata gtacatatta ttattgatcg tacatagcac

61 atatcatgtc aaataactcc agtcaacatg cgtatcacta ccattagatc acgagcttaa

121 ttaccatgcc gcgtgaaa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. GenBank accession no. JQ429500

LOCUS JQ429500 138 bp DNA linear MAM 10-APR-2012

DEFINITION *Sus scrofa* isolate Ancient PTK1_5 D-loop, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JQ429500

VERSION JQ429500

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae;
Sus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Molecular genetic analysis of Thai ancient pig (*Sus scrofa*) from
Pong Takhop archaeological site using partial mitochondrial DNA
D-loop sequences

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JAN-2012) Evolutionary Genetics and Computational
Biology (EGCB) Research Unit, Department of Genetics, Faculty of
Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Ladyaow
Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..138

/organism="*Sus scrofa*"

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="AncientPTK1_5"

/db_xref="taxon:9823"

/country="Thailand: Pong Takhop archaeological site"

/note="Thai ancient pig"

D-loop <1..>138

ORIGIN

1 gcatgtacat attattatta atattacata gtacatatta ttattgatcg tacatagcac

61 atatcatgtc aaataactcc agtcaacatg cgtatcacca ccattagatc acgagcttaa

121 ttaccatgcc gcgtgaaa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. GenBank accession no. JQ429501

LOCUS JQ429501 138 bp DNA linear MAM 10-APR-2012

DEFINITION *Sus scrofa* isolate Ancient PTK1_6-2 D-loop, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JQ429501

VERSION JQ429501

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae;
Sus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Molecular genetic analysis of Thai ancient pig (*Sus scrofa*) from
Pong Takhop archaeological site using partial mitochondrial DNA
D-loop sequences

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JAN-2012) Evolutionary Genetics and Computational
Biology (EGCB) Research Unit, Department of Genetics, Faculty of
Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Ladyaow
Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..138

/organism="*Sus scrofa*"

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="AncientPTK1_6-2"

/db_xref="taxon:9823"

/country="Thailand: Pong Takhop archaeological site"

/note="Thai ancient pig"

D-loop <1..>138

ORIGIN

1 gcatgtacat attattatta atattacata gtacatatca ttattgatcg tacatagcac

61 atatcatgtc aaataattcc agtcaacatg cgtatcacca ccattagatc acgagcttaa

121 ttaccatgcc gcgtgaaa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. GenBank accession no. JQ429502

LOCUS JQ429502 138 bp DNA linear MAM 10-APR-2012

DEFINITION *Sus scrofa* isolate Ancient PTK1_6-3 D-loop, partial sequence; mitochondrial.

ACCESSION JQ429502

VERSION JQ429502

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae; *Sus*.

REFERENCE 1 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and Mingmuang,M.

TITLE Molecular genetic analysis of Thai ancient pig (*Sus scrofa*) from Pong Takhop archaeological site using partial mitochondrial DNA D-loop sequences

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and Mingmuang,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JAN-2012) Evolutionary Genetics and Computational Biology (EGCB) Research Unit, Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Ladyaow Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..138

/organism="*Sus scrofa*"

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="AncientPTK1_6-3"

/db_xref="taxon:9823"

/country="Thailand: Pong Takhop archaeological site"

/note="Thai ancient pig"

D-loop <1..>138

ORIGIN

1 gcatgtacat attattatta atattacata gtacatatca ttattgatcg tacatagcac

61 atatcatgtc aaataattcc agtcaacatg cgtatcacca ccattagatc acgagcttaa

121 ttaccatgcc gcgtgaaa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. GenBank accession no. JQ429503

LOCUS JQ429503 138 bp DNA linear MAM 10-APR-2012

DEFINITION *Sus scrofa* isolate Ancient PTK1_10 D-loop, partial sequence;
mitochondrial.

ACCESSION JQ429503

VERSION JQ429503

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae;
Sus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Molecular genetic analysis of Thai ancient pig (*Sus scrofa*) from
Pong Takhop archaeological site using partial mitochondrial DNA
D-loop sequences

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and
Mingmuang,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JAN-2012) Evolutionary Genetics and Computational
Biology (EGCB) Research Unit, Department of Genetics, Faculty of
Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Ladyaow
Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..138

/organism="*Sus scrofa*"

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="AncientPTK1_10"

/db_xref="taxon:9823"

/country="Thailand: Pong Takhop archaeological site"

/note="Thai ancient pig"

D-loop <1..>138

ORIGIN

1 gcatgtacat attattatta atattacata gtacatatca ttattgatcg tacatagcac

61 atatcatgtc aaataattcc agtcaacatg cgtatcacca ccattagatc acgagcttaa

121 ttaccatgcc gcgtgaaa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. GenBank accession no. JQ429504

LOCUS JQ429504 138 bp DNA linear MAM 10-APR-2012

DEFINITION *Sus scrofa* isolate Ancient PTK2_1-3_1 D-loop, partial sequence; mitochondrial.

ACCESSION JQ429504

VERSION JQ429504

KEYWORDS .

SOURCE mitochondrion *Sus scrofa* (pig)

ORGANISM *Sus scrofa*

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae; *Sus*.

REFERENCE 1 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and Mingmuang,M.

TITLE Molecular genetic analysis of Thai ancient pig (*Sus scrofa*) from Pong Takhop archaeological site using partial mitochondrial DNA D-loop sequences

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 138)

AUTHORS Wannajuk,M., Surat,W., Sangthong,P., Natapintu,S., Kubera,A. and Mingmuang,M.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JAN-2012) Evolutionary Genetics and Computational Biology (EGCB) Research Unit, Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, 50 Ngam Wong Wan Rd, Ladyaow Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..138

/organism="*Sus scrofa*"

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

/organelle="mitochondrion"

/mol_type="genomic DNA"

/isolate="AncientPTK2_1-3_1"

/db_xref="taxon:9823"

/country="Thailand: Pong Takhop archaeological site"

/note="Thai ancient pig"

D-loop <1..>138

ORIGIN

1 gcatgtacat attattatta atattacata gtacatatta ttattgatcg tacatagcac

61 atatcatgtc aaataattcc agtcaacatg cgtatcacca ccattagatc acgagcttaa

121 ttaccatgcc gcgtgaaa

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ค

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ D-loop
จากตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรโบราณที่นำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Blast

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ตัวอย่าง PTK1

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
AB564400.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	324	324	100%	2e-85	100%
AB564365.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	324	324	100%	2e-85	100%
AB564357.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	324	324	100%	2e-85	100%
AB564345.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	324	324	100%	2e-85	100%
AB564344.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	324	324	100%	2e-85	100%
EU362486.1	Sus scrofa isolate SS1 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
DQ779340.1	Sus sp. GL isolate GL624 control region, partial sequence; mitochond	324	324	100%	2e-85	100%
AY864817.1	Sus scrofa haplotype Sardinian control region, partial sequence; mitc	324	324	100%	2e-85	100%
AY884690.1	Sus scrofa isolate GL190 control region, partial sequence; mitochond	324	324	100%	2e-85	100%
AY884628.1	Sus scrofa isolate GL65 control region, partial sequence; mitochondr	324	324	100%	2e-85	100%
AB050874.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop region, partial sequence, isolat	324	324	100%	2e-85	100%
AB050873.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop region, partial sequence, isolat	324	324	100%	2e-85	100%
AB050871.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop region, partial sequence, isolat	324	324	100%	2e-85	100%
AB050870.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop region, partial sequence, isolat	324	324	100%	2e-85	100%
AB015087.1	Sus scrofa riukiuanus mitochondrial DNA, D-loop region, isolate: Ryuk	324	324	100%	2e-85	100%
D42184.1	Sus scrofa riukiuanus mitochondrial DNA for repeat sequence	324	324	100%	2e-85	100%
AB564356.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	322	322	99%	6e-85	100%
AB564347.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	322	322	99%	6e-85	100%
AB564337.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	322	322	99%	6e-85	100%
DQ779331.1	Sus sp. GL isolate GL613 control region, partial sequence; mitochond	322	322	99%	6e-85	100%
AB053628.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop region, partial sequence, clone	322	322	99%	6e-85	100%
AY884744.1	Sus celebensis control region, partial sequence; mitochondrial	322	322	99%	6e-85	100%
HQ318591.1	Sus scrofa isolate Aus-OG15 control region, complete sequence; mit	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318590.1	Sus scrofa isolate Aus-OG25 control region, complete sequence; mit	318	318	100%	7e-84	99%

ภาพผนวกที่ ค1 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK1 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK1 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ >dbj|AB564400.1| *Sus scrofa* mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype: 2009SS1

Length = 573

Score = 324 bits (358), Expect = 2e-85

Identities = 179/179 (100%), Gaps = 0/179 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  52   TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  111

Query  61   ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  112  ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  171

Query  121  ACCACTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  179
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  172  ACCACTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  230
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ตัวอย่าง PTK3

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
HQ318591.1	Sus scrofa isolate Aus-OG15 control region, complete sequence; mit	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318590.1	Sus scrofa isolate Aus-OG25 control region, complete sequence; mit	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318587.1	Sus scrofa isolate PNG-B7 control region, complete sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318586.1	Sus scrofa isolate PNG-G18 control region, complete sequence; mito	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318585.1	Sus scrofa isolate PNG-Y30 control region, complete sequence; mito	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318584.1	Sus scrofa isolate PNG-Y32 control region, complete sequence; mito	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318583.1	Sus scrofa isolate PNG-Y33 control region, complete sequence; mito	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318582.1	Sus scrofa isolate PNG-F5 control region, complete sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318581.1	Sus scrofa isolate PNG-F4 control region, complete sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318456.1	Sus scrofa isolate NK3VP control region, partial sequence; mitochonc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318452.1	Sus scrofa isolate NK13VP control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF702110.1	Sus scrofa isolate BM0434MI control region, partial sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
JF702109.1	Sus scrofa isolate BM0433MI control region, partial sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
JF702105.1	Sus scrofa isolate BM0429ID control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
DQ534707.2	Sus scrofa breed Taoyuan mitochondrion, complete genome	324	324	100%	2e-85	100%
JN031377.1	Sus scrofa isolate B114-S11 tRNA-Pro gene and control region, parti	324	324	100%	2e-85	100%
JN031376.1	Sus scrofa isolate B110-S11 tRNA-Pro gene and control region, parti	324	324	100%	2e-85	100%
JN031375.1	Sus scrofa isolate B99-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	324	324	100%	2e-85	100%
JN031374.1	Sus scrofa isolate B21-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	324	324	100%	2e-85	100%
JN031373.1	Sus scrofa isolate B20-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	324	324	100%	2e-85	100%
JN031372.1	Sus scrofa isolate B10-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	324	324	100%	2e-85	100%
JN031371.1	Sus scrofa isolate B63-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	324	324	100%	2e-85	100%
JN031370.1	Sus scrofa isolate B3-S11 tRNA-Pro gene and control region, partial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026672.1	Sus scrofa isolate JQ D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%

ภาพผนวกที่ ค2 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK3 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK3 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ >gb|HQ318591.1| *Sus scrofa* isolate Aus-OG15 control region, complete sequence; mitochondrial

Length = 1044

Score = 324 bits (358), Expect = 2e-85

Identities = 179/179 (100%), Gaps = 0/179 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  181  TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  240

Query  61   ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  241  ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  300

Query  121  ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  179
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  301  ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  359
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ตัวอย่าง PTK4

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
HQ318570.1	Sus scrofa isolate PNG-B6 control region, complete sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318569.1	Sus scrofa isolate PNG-F1 control region, complete sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318568.1	Sus scrofa isolate PNG-F2 control region, complete sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318567.1	Sus scrofa isolate PNG-F3 control region, complete sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318566.1	Sus scrofa isolate PNG-N12 control region, complete sequence; mito	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148323.1	Sus scrofa isolate L8 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148326.1	Sus scrofa isolate L11 D-loop, partial sequence; mitochondrial >gb|H	324	324	100%	2e-85	100%
FJ601514.1	Sus scrofa isolate bd64bNIXI control region, partial sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
FJ601473.1	Sus scrofa isolate bd42bDHB control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
FJ601459.1	Sus scrofa isolate bd35bQDH control region, partial sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
FJ601458.1	Sus scrofa isolate bd35aQDH control region, partial sequence; mitocl	324	324	100%	2e-85	100%
FJ601433.1	Sus scrofa isolate bd22bWCH control region, partial sequence; mitoc	324	324	100%	2e-85	100%
GQ169777.1	Sus scrofa breed Yorkshire D-loop, complete sequence; mitochondria	324	324	100%	2e-85	100%
EF590146.1	Sus scrofa isolate wuzhishan D-loop, complete sequence; mitochond	324	324	100%	2e-85	100%
EF545570.1	Sus scrofa isolate wb11348 mitochondrion, complete genome	324	324	100%	2e-85	100%
AB326951.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop region, partial sequence, haplo	324	324	100%	2e-85	100%
AB326934.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop region, partial sequence, haplo	324	324	100%	2e-85	100%
AB326933.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop region, partial sequence, haplo	324	324	100%	2e-85	100%
DQ496990.1	Sus scrofa isolate YUJ209 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
DQ496776.1	Sus scrofa isolate WBfj348 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
DQ496728.1	Sus scrofa isolate taild95 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
DQ496697.1	Sus scrofa isolate SHG57 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
DQ496694.1	Sus scrofa isolate SHG155 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
DQ496643.1	Sus scrofa isolate qxp6 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%

ภาพผนวกที่ ค3 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK4 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK4 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ >gb|HQ318570.1| *Sus scrofa* isolate PNG-B6 control region, complete sequence; mitochondrial

Length = 1044

Score = 324 bits (358), Expect = 2e-85

Identities = 179/179 (100%), Gaps = 0/179 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  181  TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  240

Query  61   ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAACTCCAGTCAACATGCGTATCACT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  241  ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAACTCCAGTCAACATGCGTATCACT  300

Query  121  ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  179
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  301  ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  359
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ตัวอย่าง PTK5

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
HQ318589.1	Sus scrofa isolate Aus-OG1 control region, complete sequence; mito	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318588.1	Sus scrofa isolate Aus-OG20 control region, complete sequence; mit	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318475.1	Sus scrofa isolate NK32VP control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318474.1	Sus scrofa isolate NK16VP control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318473.1	Sus scrofa isolate NK1VP control region, partial sequence; mitochonc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318406.1	Sus scrofa isolate Bhu152VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318405.1	Sus scrofa isolate Bhu171VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318404.1	Sus scrofa isolate Bhu172VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318403.1	Sus scrofa isolate Bhu9VP control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318402.1	Sus scrofa isolate Bhu81VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318401.1	Sus scrofa isolate Bhu17VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318400.1	Sus scrofa isolate Bhu31VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318399.1	Sus scrofa isolate Bhu33VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318398.1	Sus scrofa isolate Bhu55VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318397.1	Sus scrofa isolate Bhu68VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318396.1	Sus scrofa isolate Bhu130VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318395.1	Sus scrofa isolate Bhu49VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318394.1	Sus scrofa isolate Bhu52VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318393.1	Sus scrofa isolate Bhu54VP control region, partial sequence; mitochc	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318392.1	Sus scrofa isolate Bhu113VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318391.1	Sus scrofa isolate Bhu123VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318390.1	Sus scrofa isolate Bhu127VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318389.1	Sus scrofa isolate Bhu137VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318388.1	Sus scrofa isolate Bhu182VP control region, partial sequence; mitoch	324	324	100%	2e-85	100%

ภาพผนวกที่ ค4 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK5 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK5 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ >gb|HQ318589.1| *Sus scrofa* isolate Aus-OG1 control region, complete sequence; mitochondrial

Length = 1044

Score = 324 bits (358), Expect = 2e-85

Identities = 179/179 (100%), Gaps = 0/179 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1     TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  60
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  181   TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  240

Query  61    ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAACTCCAGTCAACATGCGTATCACC  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  241   ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAACTCCAGTCAACATGCGTATCACC  300

Query  121   ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  179
             |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  301   ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  359
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ตัวอย่าง PTK7

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
JF774405.2	Sus scrofa isolate LrW002 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774404.2	Sus scrofa isolate LrW001 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774402.2	Sus scrofa isolate dom031 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774401.2	Sus scrofa isolate dom025 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774398.2	Sus scrofa isolate dom024 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774397.2	Sus scrofa isolate dom023 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774396.2	Sus scrofa isolate dom035 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774395.2	Sus scrofa isolate dom030 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774394.2	Sus scrofa isolate dom017 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318472.1	Sus scrofa isolate NK6VP control region, partial sequence; mitochonc	324	324	100%	2e-85	100%
AK390461.1	Sus scrofa mRNA, clone: BFLT10078C08, expressed in brain (frontal l	324	324	100%	2e-85	100%
JN251948.1	Sus scrofa isolate JejuWB2 control region, partial sequence; mitocho	324	324	100%	2e-85	100%
JN251947.1	Sus scrofa isolate JejuWB1 control region, partial sequence; mitocho	324	324	100%	2e-85	100%
HM026674.1	Sus scrofa isolate LW D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026675.1	Sus scrofa isolate MS02 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026676.1	Sus scrofa isolate MZ D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026671.1	Sus scrofa isolate JH D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026631.1	Sus scrofa isolate K5_19 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026621.1	Sus scrofa isolate J_17 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026625.1	Sus scrofa isolate J_28 D-loop, partial sequence; mitochondrial >gb|	324	324	100%	2e-85	100%
AB564376.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype: :	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148399.1	Sus scrofa isolate changdu6 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148401.1	Sus scrofa isolate changdu8 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148345.1	Sus scrofa isolate az35 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%

ภาพผนวกที่ ค5 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK7 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK7 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ >gb|JF774405.2| *Sus scrofa* isolate LrW002 control region, partial sequence; mitochondrial

Length = 603

Score = 324 bits (358), Expect = 2e-85

Identities = 179/179 (100%), Gaps = 0/179 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1     TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATC  60
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  166   TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATC  225

Query  61    ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  226   ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  285

Query  121   ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  179
             |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  286   ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  344
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. ตัวอย่าง PTK8

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
JF774405.2	Sus scrofa isolate LrW002 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774404.2	Sus scrofa isolate LrW001 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774402.2	Sus scrofa isolate dom031 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774401.2	Sus scrofa isolate dom025 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774398.2	Sus scrofa isolate dom024 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774397.2	Sus scrofa isolate dom023 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774396.2	Sus scrofa isolate dom035 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774395.2	Sus scrofa isolate dom030 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774394.2	Sus scrofa isolate dom017 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318472.1	Sus scrofa isolate NK6VP control region, partial sequence; mitochonc	324	324	100%	2e-85	100%
AK390461.1	Sus scrofa mRNA, clone: BFLT10078C08, expressed in brain (frontal l	324	324	100%	2e-85	100%
JN251948.1	Sus scrofa isolate JejuWB2 control region, partial sequence; mitocho	324	324	100%	2e-85	100%
JN251947.1	Sus scrofa isolate JejuWB1 control region, partial sequence; mitocho	324	324	100%	2e-85	100%
HM026674.1	Sus scrofa isolate LW D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026675.1	Sus scrofa isolate MS02 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026676.1	Sus scrofa isolate MZ D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026671.1	Sus scrofa isolate JH D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026631.1	Sus scrofa isolate K5_19 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026621.1	Sus scrofa isolate J_17 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026625.1	Sus scrofa isolate J_28 D-loop, partial sequence; mitochondrial >gb|	324	324	100%	2e-85	100%
AB564376.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype:	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148399.1	Sus scrofa isolate changdu6 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148401.1	Sus scrofa isolate changdu8 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148345.1	Sus scrofa isolate az35 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%

ภาพผนวกที่ ค6 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK8 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK8 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ >gb|JF774405.2| *Sus scrofa* isolate LrW002 control region, partial sequence; mitochondrial

Length = 603

Score = 324 bits (358), Expect = 2e-85

Identities = 179/179 (100%), Gaps = 0/179 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATC  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  166  TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATC  225

Query  61   ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  226  ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  285

Query  121  ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  179
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  286  ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  344
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. ตัวอย่าง PTK9

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
JF774405.2	Sus scrofa isolate LrW002 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774404.2	Sus scrofa isolate LrW001 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774402.2	Sus scrofa isolate dom031 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774401.2	Sus scrofa isolate dom025 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774398.2	Sus scrofa isolate dom024 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774397.2	Sus scrofa isolate dom023 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774396.2	Sus scrofa isolate dom035 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774395.2	Sus scrofa isolate dom030 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
JF774394.2	Sus scrofa isolate dom017 control region, partial sequence; mitochor	324	324	100%	2e-85	100%
HQ318472.1	Sus scrofa isolate NK6VP control region, partial sequence; mitochonc	324	324	100%	2e-85	100%
AK390461.1	Sus scrofa mRNA, clone: BFLT10078C08, expressed in brain (frontal l	324	324	100%	2e-85	100%
JN251948.1	Sus scrofa isolate JejuWB2 control region, partial sequence; mitocho	324	324	100%	2e-85	100%
JN251947.1	Sus scrofa isolate JejuWB1 control region, partial sequence; mitocho	324	324	100%	2e-85	100%
HM026674.1	Sus scrofa isolate LW D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026675.1	Sus scrofa isolate MS02 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026676.1	Sus scrofa isolate MZ D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026671.1	Sus scrofa isolate JH D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026631.1	Sus scrofa isolate K5_19 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026621.1	Sus scrofa isolate J_17 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HM026625.1	Sus scrofa isolate J_28 D-loop, partial sequence; mitochondrial >gb|	324	324	100%	2e-85	100%
AB564376.1	Sus scrofa mitochondrial DNA, D-loop, partial sequence, haplotype: :	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148399.1	Sus scrofa isolate changdu6 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148401.1	Sus scrofa isolate changdu8 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%
HQ148345.1	Sus scrofa isolate az35 D-loop, partial sequence; mitochondrial	324	324	100%	2e-85	100%

ภาพผนวกที่ ค7 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK9 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK9 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ > gb|JF774405.2| *Sus scrofa* isolate LrW002 control region, partial sequence; mitochondrial

Length = 603

Score = 324 bits (358), Expect = 2e-85

Identities = 179/179 (100%), Gaps = 0/179 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1     TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATC  60
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  166   TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATC  225

Query  61    ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  226   ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  285

Query  121   ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  179
             |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  286   ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAACCAGCAACCCGCTTGGCAGG  344
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. ตัวอย่าง PTK10

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
JF774403.2	Sus scrofa isolate dom032 control region, partial sequence; mitochor	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318591.1	Sus scrofa isolate Aus-OG15 control region, complete sequence; mit	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318590.1	Sus scrofa isolate Aus-OG25 control region, complete sequence; mit	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318587.1	Sus scrofa isolate PNG-B7 control region, complete sequence; mitocl	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318586.1	Sus scrofa isolate PNG-G18 control region, complete sequence; mito	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318585.1	Sus scrofa isolate PNG-Y30 control region, complete sequence; mito	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318584.1	Sus scrofa isolate PNG-Y32 control region, complete sequence; mito	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318583.1	Sus scrofa isolate PNG-Y33 control region, complete sequence; mito	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318582.1	Sus scrofa isolate PNG-F5 control region, complete sequence; mitocl	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318581.1	Sus scrofa isolate PNG-F4 control region, complete sequence; mitocl	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318456.1	Sus scrofa isolate NK3VP control region, partial sequence; mitochonc	318	318	100%	7e-84	99%
HQ318452.1	Sus scrofa isolate NK13VP control region, partial sequence; mitochor	318	318	100%	7e-84	99%
JF702110.1	Sus scrofa isolate BM0434MI control region, partial sequence; mitoch	318	318	100%	7e-84	99%
JF702109.1	Sus scrofa isolate BM0433MI control region, partial sequence; mitoch	318	318	100%	7e-84	99%
JF702105.1	Sus scrofa isolate BM0429ID control region, partial sequence; mitoch	318	318	100%	7e-84	99%
DQ534707.2	Sus scrofa breed Taoyuan mitochondrion, complete genome	318	318	100%	7e-84	99%
JN031377.1	Sus scrofa isolate B114-S11 tRNA-Pro gene and control region, parti	318	318	100%	7e-84	99%
JN031376.1	Sus scrofa isolate B110-S11 tRNA-Pro gene and control region, parti	318	318	100%	7e-84	99%
JN031375.1	Sus scrofa isolate B99-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	318	318	100%	7e-84	99%
JN031374.1	Sus scrofa isolate B21-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	318	318	100%	7e-84	99%
JN031373.1	Sus scrofa isolate B20-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	318	318	100%	7e-84	99%
JN031372.1	Sus scrofa isolate B10-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	318	318	100%	7e-84	99%
JN031371.1	Sus scrofa isolate B63-S11 tRNA-Pro gene and control region, partia	318	318	100%	7e-84	99%
JN031370.1	Sus scrofa isolate B3-S11 tRNA-Pro gene and control region, partial	318	318	100%	7e-84	99%

ภาพผนวกที่ ค8 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK10 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK10 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ > gb|JF774403.2| *Sus scrofa* isolate dom032 control region, partial sequence; mitochondrial

Length = 601

Score = 318 bits (352), Expect = 7e-84

Identities = 178/179 (99%), Gaps = 0/179 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATT  60
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  164  TGCTAGTCCCCATGCATATAAGCATGTACATATTATTATTAATATTACATAGTACATATC  223

Query  61   ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  224  ATTATTGATCGTACATAGCACATATCATGTCAAATAATTCCAGTCAACATGCGTATCACC  283

Query  121  ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAGCCAGCAACCCGCTTGGCAGG  179
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  284  ACCATTAGATCACGAGCTTAATTACCATGCCGCGTGAAGCCAGCAACCCGCTTGGCAGG  342
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ง

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณยีน *cytb*
จากตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรโบราณที่นำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Blast

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ตัวอย่าง PTK3

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
AK394618.1	Sus scrofa mRNA, clone: MLTL10017F11, expressed in longissimus mu	228	228	100%	6e-57	98%
AK399730.1	Sus scrofa mRNA, clone: BMWN10047H11, expressed in bone marrow	228	228	100%	6e-57	98%
GU937819.1	Sus scrofa voucher Su23 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937817.1	Sus scrofa voucher Su5 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	228	228	100%	6e-57	98%
GU937816.1	Sus scrofa voucher Su1 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	228	228	100%	6e-57	98%
GU937813.1	Sus scrofa voucher Su16 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937812.1	Sus scrofa voucher Su10 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937811.1	Sus scrofa voucher Su9 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	228	228	100%	6e-57	98%
GU937810.1	Sus scrofa voucher Su17 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937807.1	Sus scrofa voucher Su14 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937806.1	Sus scrofa voucher Su2 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	228	228	100%	6e-57	98%
GQ338965.1	Sus scrofa cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mitochondrial	228	228	100%	6e-57	98%
GU135833.1	Sus scrofa isolate zjwb06 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135832.1	Sus scrofa isolate zjwb05 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135798.1	Sus scrofa isolate 84dc cytochrome b (cytb) gene, complete cds; m	228	228	100%	6e-57	98%
GU135797.1	Sus scrofa isolate 83dc cytochrome b (cytb) gene, complete cds; m	228	228	100%	6e-57	98%
GU135796.1	Sus scrofa isolate 82pi cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135795.1	Sus scrofa isolate 81pi cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
AK344285.1	Sus scrofa mRNA, clone:BKFL10119G06, expressed in back fat	228	228	100%	6e-57	98%
GU211931.1	Sus scrofa breed Landrace cytochrome b gene, complete cds; mitoc	228	228	100%	6e-57	98%
GU211930.1	Sus scrofa breed Synthetic Line LS-345 Peris cytochrome b gene, cc	228	228	100%	6e-57	98%
GU211929.1	Sus scrofa breed Duroc cytochrome b gene, complete cds; mitochon	228	228	100%	6e-57	98%
GU211928.1	Sus scrofa breed Mangalitza cytochrome b gene, complete cds; mitc	228	228	100%	6e-57	98%
GU211926.1	Sus scrofa breed Synthetic Line LSP-2000 cytochrome b gene, comp	228	228	100%	6e-57	98%

ภาพผนวกที่ ง1 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK3 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK3 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ > dbj|AK394618.1| *Sus scrofa* mRNA, clone: MLTL10017F11, expressed in longissimus muscle

Length = 812

Score = 228 bits (252), Expect = 6e-57

Identities = 129/131 (98%), Gaps = 0/131 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGTTGGCCCTAGTAGC  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  494  CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGTTGGCCCTAGTAGC  553

Query  61   CTCCAATCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120
            |||||  |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  554  CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  613

Query  121  ATTTCGACCAC  131
            |||||||||||
Sbjct  614  ATTTCGACCAC  624
```

2. ตัวอย่าง PTK6

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
FR873741.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	237	237	100%	1e-59	100%
FR873739.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	237	237	100%	1e-59	100%
FR873740.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	232	232	100%	5e-58	99%
DQ534707.2	Sus scrofa breed Taoyuan mitochondrion, complete genome	228	228	100%	6e-57	98%
GU135837.1	Sus scrofa isolate zjwb10 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135836.1	Sus scrofa isolate zjwb09 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135835.1	Sus scrofa isolate zjwb08 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135834.1	Sus scrofa isolate zjwb07 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135831.1	Sus scrofa isolate zjwb04 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135830.1	Sus scrofa isolate zjwb03 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135829.1	Sus scrofa isolate zjwb02 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135828.1	Sus scrofa isolate zjwb01 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135827.1	Sus scrofa isolate MSH42 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135826.1	Sus scrofa isolate lawb11 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135824.1	Sus scrofa isolate jxwb04 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135823.1	Sus scrofa isolate jxwb03 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135821.1	Sus scrofa isolate jshwb1 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135807.1	Sus scrofa isolate dbwb02 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135806.1	Sus scrofa isolate XSHWB1 cytochrome b (cytb) gene, complete cds	228	228	100%	6e-57	98%
GU135805.1	Sus scrofa isolate tZwb12 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135804.1	Sus scrofa isolate 90ld cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135803.1	Sus scrofa isolate 89ld cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135800.1	Sus scrofa isolate 86lw cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135799.1	Sus scrofa isolate 85lw cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%

ภาพผนวกที่ ง2 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK6 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK6 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ >emb|FR873741.1| *Sus scrofa* mitochondrial partial *cytb* gene for *cytochrome b*, exon 1, breed Nagaland local

Length = 131

Score = 237 bits (262), Expect = 1e-59

Identities = 131/131 (100%), Gaps = 0/131 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1     CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGCTAGCTCTAATAGC  60
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  1     CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGCTAGCTCTAATAGC  60

Query  61    CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61    CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120

Query  121   ATTTCGACCAC  131
             |||||||||||
Sbjct  121   ATTTCGACCAC  131
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ตัวอย่าง PTK8

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
FR873741.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	232	232	100%	5e-58	99%
FR873739.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	232	232	100%	5e-58	99%
FR873740.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	228	228	100%	6e-57	98%
DQ534707.2	Sus scrofa breed Taoyuan mitochondrion, complete genome	223	223	100%	3e-55	98%
GU135837.1	Sus scrofa isolate zjwb10 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135836.1	Sus scrofa isolate zjwb09 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135835.1	Sus scrofa isolate zjwb08 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135834.1	Sus scrofa isolate zjwb07 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135831.1	Sus scrofa isolate zjwb04 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135830.1	Sus scrofa isolate zjwb03 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135829.1	Sus scrofa isolate zjwb02 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135828.1	Sus scrofa isolate zjwb01 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135827.1	Sus scrofa isolate MSH42 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135826.1	Sus scrofa isolate lawb11 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135824.1	Sus scrofa isolate jxwb04 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135823.1	Sus scrofa isolate jxwb03 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135821.1	Sus scrofa isolate jshwb1 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135807.1	Sus scrofa isolate dbwb02 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135806.1	Sus scrofa isolate XSHWB1 cytochrome b (cytb) gene, complete cds	223	223	100%	3e-55	98%
GU135805.1	Sus scrofa isolate tZwb12 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	223	223	100%	3e-55	98%
GU135804.1	Sus scrofa isolate 90ld cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	223	223	100%	3e-55	98%
GU135803.1	Sus scrofa isolate 89ld cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	223	223	100%	3e-55	98%
GU135800.1	Sus scrofa isolate 86lw cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	223	223	100%	3e-55	98%
GU135799.1	Sus scrofa isolate 85lw cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	223	223	100%	3e-55	98%

ภาพผนวกที่ ง3 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK8 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK8 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ > emb|FR873741.1| *Sus scrofa* mitochondrial partial *cytb* gene for *cytochrome b*, exon 1, breed Nagaland local

Length = 131

Score = 232 bits (256), Expect = 5e-58

Identities = 130/131 (99%), Gaps = 0/131 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGTGTGCTAGCTCTAATAGC  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||
Sbjct  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGCTAGCTCTAATAGC  60

Query  61   CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61   CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120

Query  121  ATTTCGACCAC  131
            |||||||||||
Sbjct  121  ATTTCGACCAC  131
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ตัวอย่าง PTK9

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max iden
Z50088.1	S.scrofa majori mitochondrial cytochrome b gene	237	237	100%	1e-59	100%
GU937818.1	Sus scrofa voucher Su19 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	233	233	100%	2e-58	99%
AK394618.1	Sus scrofa mRNA, clone: MLTL10017F11, expressed in longissimus mu	232	232	100%	5e-58	99%
AK399730.1	Sus scrofa mRNA, clone: BMWN10047H11, expressed in bone marrow	232	232	100%	5e-58	99%
GU937819.1	Sus scrofa voucher Su23 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	232	232	100%	5e-58	99%
GU937817.1	Sus scrofa voucher Su5 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	232	232	100%	5e-58	99%
GU937816.1	Sus scrofa voucher Su1 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	232	232	100%	5e-58	99%
GU937813.1	Sus scrofa voucher Su16 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	232	232	100%	5e-58	99%
GU937812.1	Sus scrofa voucher Su10 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	232	232	100%	5e-58	99%
GU937811.1	Sus scrofa voucher Su9 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	232	232	100%	5e-58	99%
GU937810.1	Sus scrofa voucher Su17 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	232	232	100%	5e-58	99%
GU937807.1	Sus scrofa voucher Su14 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	232	232	100%	5e-58	99%
GU937806.1	Sus scrofa voucher Su2 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	232	232	100%	5e-58	99%
GQ338965.1	Sus scrofa cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mitochondrial	232	232	100%	5e-58	99%
GU135833.1	Sus scrofa isolate zjwb06 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	232	232	100%	5e-58	99%
GU135832.1	Sus scrofa isolate zjwb05 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	232	232	100%	5e-58	99%
GU135798.1	Sus scrofa isolate 84dc cytochrome b (cytb) gene, complete cds; m	232	232	100%	5e-58	99%
GU135797.1	Sus scrofa isolate 83dc cytochrome b (cytb) gene, complete cds; m	232	232	100%	5e-58	99%
GU135796.1	Sus scrofa isolate 82pi cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	232	232	100%	5e-58	99%
GU135795.1	Sus scrofa isolate 81pi cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	232	232	100%	5e-58	99%
AK344285.1	Sus scrofa mRNA, clone:BKFL10119G06, expressed in back fat	232	232	100%	5e-58	99%
GU211931.1	Sus scrofa breed Landrace cytochrome b gene, complete cds; mitoc	232	232	100%	5e-58	99%
GU211930.1	Sus scrofa breed Synthetic Line LS-345 Peris cytochrome b gene, cc	232	232	100%	5e-58	99%
GU211929.1	Sus scrofa breed Duroc cytochrome b gene, complete cds; mitochor	232	232	100%	5e-58	99%

ภาพผนวกที่ ง4 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK9 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK9 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ > emb|Z50088.1| *Sus scrofa majori* mitochondrial *cytochrome b* gene

Length = 1140

Score = 237 bits (262), Expect = 1e-59

Identities = 131/131 (100%), Gaps = 0/131 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGTTGGCTCTAGTAGC  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  828  CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGTTGGCTCTAGTAGC  887

Query  61   CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  888  CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  947

Query  121  ATTTCGACCAC  131
            |||||||||||
Sbjct  948  ATTTCGACCAC  958
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ตัวอย่าง PTK10

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
FR873741.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	237	237	100%	1e-59	100%
FR873739.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	237	237	100%	1e-59	100%
FR873740.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	232	232	100%	5e-58	99%
DQ534707.2	Sus scrofa breed Taoyuan mitochondrion, complete genome	228	228	100%	6e-57	98%
GU135837.1	Sus scrofa isolate zjwb10 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135836.1	Sus scrofa isolate zjwb09 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135835.1	Sus scrofa isolate zjwb08 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135834.1	Sus scrofa isolate zjwb07 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135831.1	Sus scrofa isolate zjwb04 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135830.1	Sus scrofa isolate zjwb03 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135829.1	Sus scrofa isolate zjwb02 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135828.1	Sus scrofa isolate zjwb01 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135827.1	Sus scrofa isolate MSH42 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135826.1	Sus scrofa isolate lawb11 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135824.1	Sus scrofa isolate jxwb04 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135823.1	Sus scrofa isolate jxwb03 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135821.1	Sus scrofa isolate jshwb1 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135807.1	Sus scrofa isolate dbwb02 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135806.1	Sus scrofa isolate XSHWB1 cytochrome b (cytb) gene, complete cds	228	228	100%	6e-57	98%
GU135805.1	Sus scrofa isolate tZwb12 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135804.1	Sus scrofa isolate 90ld cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135803.1	Sus scrofa isolate 89ld cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135800.1	Sus scrofa isolate 86lw cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135799.1	Sus scrofa isolate 85lw cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%

ภาพผนวกที่ ง5 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK10 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK10 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ > emb|FR873741.1| *Sus scrofa* mitochondrial partial *cytb* gene for *cytochrome b*, exon 1, breed Nagaland local

Length = 131

Score = 237 bits (262), Expect = 1e-59

Identities = 131/131 (100%), Gaps = 0/131 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGCTAGCTCTAATAGC  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGCTAGCTCTAATAGC  60

Query  61   CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61   CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120

Query  121  ATTTCGACCAC  131
            |||||||||||
Sbjct  121  ATTTCGACCAC  131
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. ตัวอย่าง PTK11

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
FR873741.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	232	232	100%	5e-58	99%
FR873739.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	232	232	100%	5e-58	99%
GU937814.1	Sus scrofa voucher Su13 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
FR873740.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	228	228	100%	6e-57	98%
GU135820.1	Sus scrofa isolate hnwb98 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135819.1	Sus scrofa isolate hnwb97 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135818.1	Sus scrofa isolate hnwb18 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135817.1	Sus scrofa isolate hnwb17 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135816.1	Sus scrofa isolate hnwb15 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135815.1	Sus scrofa isolate hnwb11 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135814.1	Sus scrofa isolate hnwb10 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135813.1	Sus scrofa isolate hnwb08 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135812.1	Sus scrofa isolate hnwb05 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135811.1	Sus scrofa isolate hnwb03 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135810.1	Sus scrofa isolate hnwb02 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135809.1	Sus scrofa isolate hnwb01 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135808.1	Sus scrofa isolate dbwb07 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135802.1	Sus scrofa isolate 88stx cytochrome b (cytb) gene, complete cds; n	228	228	100%	6e-57	98%
GU135801.1	Sus scrofa isolate 87stx cytochrome b (cytb) gene, complete cds; n	228	228	100%	6e-57	98%
GU135789.1	Sus scrofa isolate 72bhnwb cytochrome b (cytb) gene, complete cd:	228	228	100%	6e-57	98%
GU135788.1	Sus scrofa isolate 72ahnwb cytochrome b (cytb) gene, complete cd:	228	228	100%	6e-57	98%
GU135784.1	Sus scrofa isolate 67azzhu cytochrome b (cytb) gene, complete cds	228	228	100%	6e-57	98%
GU135762.1	Sus scrofa isolate 56all cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135743.1	Sus scrofa isolate 46bpth cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	score 228 00%	6e-57	98%

ภาพผนวกที่ ง6 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK11 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK11 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ > emb|FR873741.1| *Sus scrofa* mitochondrial partial *cytb* gene for *cytochrome b*, exon 1, breed Nagaland local

Length = 131

Score = 232 bits (256), Expect = 5e-58

Identities = 130/131 (99%), Gaps = 0/131 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGCTAGCTCTAGTAGC  60
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| ||||
Sbjct  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGCTAGCTCTAATAGC  60

Query  61   CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61   CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120

Query  121  ATTTCGACCAC  131
            |||||||||||
Sbjct  121  ATTTCGACCAC  131
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. ตัวอย่าง PTK13

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
Z50088.1	S.scrofa majori mitochondrial cytochrome b gene	232	232	100%	5e-58	99%
AK394618.1	Sus scrofa mRNA, clone: MLTL10017F11, expressed in longissimus mu	228	228	100%	6e-57	98%
AK399730.1	Sus scrofa mRNA, clone: BMWN10047H11, expressed in bone marrow	228	228	100%	6e-57	98%
GU937819.1	Sus scrofa voucher Su23 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937818.1	Sus scrofa voucher Su19 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937817.1	Sus scrofa voucher Su5 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	228	228	100%	6e-57	98%
GU937816.1	Sus scrofa voucher Su1 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	228	228	100%	6e-57	98%
GU937813.1	Sus scrofa voucher Su16 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937812.1	Sus scrofa voucher Su10 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937811.1	Sus scrofa voucher Su9 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	228	228	100%	6e-57	98%
GU937810.1	Sus scrofa voucher Su17 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937807.1	Sus scrofa voucher Su14 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mit	228	228	100%	6e-57	98%
GU937806.1	Sus scrofa voucher Su2 cytochrome b (cytb) gene, partial cds; mito	228	228	100%	6e-57	98%
FR873741.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	228	228	100%	6e-57	98%
FR873739.1	Sus scrofa mitochondrial partial cytB gene for cytochrome B, exon 1,	228	228	100%	6e-57	98%
GQ338965.1	Sus scrofa cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mitochondrial	228	228	100%	6e-57	98%
GU135833.1	Sus scrofa isolate zjwb06 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135832.1	Sus scrofa isolate zjwb05 cytochrome b (cytb) gene, complete cds;	228	228	100%	6e-57	98%
GU135798.1	Sus scrofa isolate 84dc cytochrome b (cytb) gene, complete cds; m	228	228	100%	6e-57	98%
GU135797.1	Sus scrofa isolate 83dc cytochrome b (cytb) gene, complete cds; m	228	228	100%	6e-57	98%
GU135796.1	Sus scrofa isolate 82pi cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
GU135795.1	Sus scrofa isolate 81pi cytochrome b (cytb) gene, complete cds; mi	228	228	100%	6e-57	98%
AK344285.1	Sus scrofa mRNA, clone:BKFL10119G06, expressed in back fat	228	228	100%	6e-57	98%
GU211931.1	Sus scrofa breed Landrace cytochrome b gene, complete cds; mitoc	228	228	100%	6e-57	98%

ภาพผนวกที่ ง7 แสดงผล Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK13 ด้วยโปรแกรม Blast

Sequences producing significant alignments ที่ได้จากการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง PTK13 ด้วยโปรแกรม Blast ตัวแรก คือ > emb|Z50088.1| *Sus scrofa majori* mitochondrial *cytochrome b* gene

Length = 1140

Score = 232 bits (256), Expect = 5e-58

Identities = 130/131 (99%), Gaps = 0/131 (0%)

Strand = Plus/Plus

```
Query  1    CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGCTGGCTCTAGTAGC  60
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| |||||||||||||
Sbjct  828  CGCCTACGCTATTCTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGTTGGCTCTAGTAGC  887

Query  61   CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  888  CTCCATCCTAATCCTAATTTTAATGCCCATACTACACACATCCAAACAACGAGGCATAAT  947

Query  121  ATTTCGACCAC  131
            |||||||||||
Sbjct  948  ATTTCGACCAC  958
```

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวมัทธนา วรรณจักร
วัน เดือน ปี ที่เกิด	3 มีนาคม พ.ศ. 2528
สถานที่เกิด	อำเภอพญาไท จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยรังสิต
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์ (ทุน PRF) และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ เพื่อการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2554)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์