

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

รหัสโครงการ : MRG5680142

ชื่อโครงการ : ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการและสถานภาพทางอนุกรมวิธานของสปีชีส์ย่อยของไ้ฟ้าหลังขาว (*Lophura nycthemera*) และไ้ฟ้าหลังเทา (*L. leucomelana*) ในประเทศไทยโดยลำดับดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

ชื่อหลักวิจัย : อัมพร วิเวกแก้ว, วิภา เมฆวิชัย, ฉัตรพร ชัยวนนท์

สถาบัน : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address : amporn.w@chula.ac.th, ampornwivegweaw@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี (3 มิถุนายน 2556 - 2 มิถุนายน 2558)

เนื้อหาของวิจัย : ไ้ฟ้าหลังขาวและไ้ฟ้าหลังเทามีความแตกต่างกันในลักษณะของขน สีของแข้งและตีน ในอดีต ไ้ฟ้าหลังขาวถูกแบ่งออกเป็น 2 ชนิดย่อย ได้แก่ ไ้ฟ้าหลังขาวโจนส์และไ้ฟ้าหลังขาวจันทบูร และไ้ฟ้าหลังเทาถูกแบ่งออกเป็น 2 ชนิดย่อย ได้แก่ ไ้ฟ้าหลังเทาแข่งเทาและไ้ฟ้าหลังเทาแข่งแดง แต่ในปัจจุบันได้มีการจัดให้ไ้ฟ้าหลังเทาเป็นชนิดย่อยของไ้ฟ้าหลังขาว ส่งผลให้การจัดลำดับอนุกรมวิธานของไ้ฟ้าทั้งสองชนิดนี้ในประเทศไทยยังมีความสับสนและไม่ชัดเจน วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างชนิดย่อยของไ้ฟ้าหลังขาวและไ้ฟ้าหลังเทา จากกรงเลี้ยงในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย โดยวิเคราะห์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ทำการเก็บขนของไ้ฟ้าหลังขาวโจนส์ จากสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าเขาซอยดาว จังหวัดจันทบุรี จำนวน 25 ตัวอย่าง และจากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง จังหวัดอุทัยธานี จำนวน 18 ตัวอย่าง, ไ้ฟ้าหลังขาวจันทบูร จากสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าเขาซอยดาว จำนวน 21 ตัวอย่าง, ไ้ฟ้าหลังเทาแข่งแดง จากสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าเขาสน จังหวัดราชบุรี จำนวน 20 ตัวอย่าง และ ไ้ฟ้าหลังเทาแข่งเทา จากเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง จำนวน 38 ตัวอย่าง, จากสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าเขาสน จำนวน 20 ตัวอย่าง และจากสวนสัตว์เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 154 ตัวอย่าง จากนั้นนำตัวอย่างขนไ้ฟ้าที่เก็บมาได้ทั้งหมดมาสกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณยีนดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์และหาลำดับเบสโดยการทำให้ DNA sequencing ผลการวิจัยพบว่ามี 152 ตัวอย่าง ที่ให้ลำดับนิวคลีโอไทด์ชัดเจนและน่าเชื่อถือ โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีความยาว 1,113 คู่เบส มีความแปรผันทางพันธุกรรมจำนวน 54 (4.85%) ตำแหน่ง และมีจำนวนแฮพโลไทป์ที่แตกต่างกัน 15 แฮพโลไทป์ โดยมีค่าความหลากหลายของแฮพโลไทป์เฉลี่ยเท่ากับ 0.898 ± 0.009 และค่าความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์เฉลี่ยเท่ากับ 0.01807 ± 0.00067 นอกจากนี้ จากการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยการสร้าง neighbor-joining tree และ maximum likelihood tree พบว่า tree ที่ได้สามารถแบ่งไ้ฟ้าหลังขาวและไ้ฟ้าหลังเทาออกเป็น 2 clade ใหญ่ๆ อย่างชัดเจน ด้วยค่า bootstrap probability ที่สนับสนุนถึง 100% ผลการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าไ้ฟ้าหลังขาวและไ้ฟ้าหลังเทามีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่าไ้ฟ้าทั้ง 4 ชนิดย่อยมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมของยีนดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ และแยกออกเป็นกลุ่มย่อยๆ 4 กลุ่มตามลักษณะสัณฐานภายนอกของชนิดย่อย จากผลการศึกษาที่ได้แสดงว่าไ้ฟ้าหลังขาวและไ้ฟ้าหลังเทามีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเป็นแบบ monophyletic group อีกทั้งยังแสดงให้เห็นว่าไ้ฟ้าหลังเทาแข่งเทาและไ้ฟ้าหลังเทาแข่งแดงมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกับไ้ฟ้าหลังเทามากกว่าไ้ฟ้าหลังขาว ดังนั้นจึงควรจัดให้เป็นชนิดย่อยของไ้ฟ้าหลังเทา การตรวจพบการเกิดยีนโพลีระหว่างประชากรไ้ฟ้าหลังเทาแข่งเทาและไ้ฟ้าหลังเทาแข่งแดงที่สถานเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าเขาสน แสดงว่าไ้ฟ้าทั้งสองชนิดย่อยนี้สามารถผสมข้ามสายพันธุ์กันได้ในสภาพกรงเลี้ยง

คำหลัก: ไ้ฟ้าหลังขาว, ไ้ฟ้าหลังเทา, การแปรผันทางพันธุกรรม, ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ, ยีนดีเอ็นเอ

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)

Project Code : MRG5680142

Project Title : Phylogenetic relationships and taxonomic status of the subspecies of the Silver and Kalij pheasants, *Lophura nycthemera* and *L. leucomelana* in Thailand based on mitochondrial D-loop sequences

Investigator : Amporn Wiwegweaw, Wina Meckvichai, Chatraporn Chaiwanon

Affiliation : Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University

E-mail Address : amporn.w@chula.ac.th, ampornwiwegweaw@yahoo.com

Project Period : 2 years (3 June 2013- 2 June 2015)

Abstract : The Silver pheasant (*Lophura nycthemera* Linnaeus, 1758) and the Kalij pheasant (*L. leucomelana* Latham, 1790) are closely related species of gallopheasants. They differ from each other by patterns of feathers and the color of legs. *Lophura nycthemera* in Thailand is composed of two subspecies: *L. n. jonesi* and *L. n. lewisi*, and *L. leucomelana* consists of two subspecies as well; they are *L. l. lineata* and *L. l. crawfordii*. In the past, the taxa *lineata* and *crawfordii* were treated as the subspecies of *L. leucomelana*. However, their taxonomic status is currently unclear because some authors treat them as the subspecies of *L. nycthemera*. Thus, this study aimed to assess genetic variation and investigate evolutionary relationships of the subspecies of the Silver and Kalij pheasants in captive breeding in Thailand by using polymerase chain reaction and DNA sequencing strategies. The feathers of *L. n. jonesi* were collected from Khao Soi Diao Wildlife Sanctuary, Chanthaburi province (n=25) and Huai Kha Khaeng Wildlife Sanctuary, Uthai Thani province (n=18); those of *L. n. lewisi* were collected from Khao Soi Diao Wildlife Sanctuary (n=21); those of *L. l. crawfordii* were collected from Khao Zon Wildlife Breeding Center, Ratchaburi province (n=20); and those of *L. l. lineata* were collected from Khao Zon Wildlife Breeding Center (n=20), Huai Kha Khaeng Wildlife Sanctuary (n=38) and Chiang Mai Zoo, Chiang Mai province (n=2). About 20-30 feather samples of each subspecies were subjected to DNA extraction, amplification of mtDNA D-loop region and DNA sequencing. A total of 1,113 bps were successfully sequenced from 152 pheasant individuals. There were 54 (4.85%) variable sites, defining 15 unique haplotypes. On average, the haplotype diversity (0.898 ± 0.009) and the nucleotide diversity (0.01807 ± 0.00067) were high. In addition, the phylogenetic analyses of the mtDNA haplotypes revealed that both neighbor-joining and maximum likelihood trees showed similar tree topology in which *L. nycthemera* and *L. leucomelana* can be divided into 2 major clades with a bootstrap value of 100% indicating that their evolutionary relationship is monophyly. Moreover, the four pheasant subspecies exhibited genetic differences as they can be divided into 4 subgroups, regarding to their morphological traits. Furthermore, the data also revealed that the taxa *crawfordii* and *lineata* are more closely related to *L. leucomelana* than to *L. nycthemera* suggesting that these two taxa should be classified as the subspecies of *L. leucomelana*. Furthermore, the detections of gene flows between *L. l. lineata* and *L. l. crawfordii* in Khao Zon Wildlife Breeding Center may indicate the occurrence of historical hybridization between these two subspecies in the captivity.

Keywords: Silver pheasant, Kalij pheasant, genetic variation, phylogeny, D-loop gene