บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ไก่กระดูกดำ (Black-bone chicken) มีรูปร่างลักษณะคล้ายกับไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงกันอยู่ทั่วไป และเป็นที่นิยมเลี้ยงของเกษตรกรบนพื้นที่สูง เนื่องจากเลี้ยงง่าย โตเร็ว ต้านทานโรค และใช้ในพิธีกรรมต่างๆ (ศุภศิษฏ์, 2550) ไก่กระดูกดำมีลักษณะสีดำอยู่ 3 ส่วน คือ หนัง เนื้อ และกระดูก และยังมีการศึกษาลักษณะภายนอกของไก่กระดูกดำเพื่อคัดเป็นพ่อแม่พันธุ์ประกอบไปด้วย 5 ลักษณะ คือ หงอนและใบหน้า แข้งและเล็บ ผิวหนัง ลิ้น และเพดาน (ณัฐกานต์ และคณะ, 2558) และยังมีการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเนื้อไก่ อาทิเช่น การวัดสีของเนื้อไก่ เป็นการนำตัวอย่างกล้ามเนื้ออกไก่ไปตรวจวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี ซึ่งจะรายงานค่าในระบบ CIE (Complete International Commission on Illumination) เป็นค่า L* (lightness) a* (redness) และ b* (yellowness) จากรายงานวิชาการมีการศึกษาลักษณะสีของเนื้ออกไก่ในรูปแบบการเลี้ยงที่แตกต่างกันในไก่เบตง พบว่าการเลี้ยงไก่ในรูปแบบต่างๆไม่มีผลต่อสีของเนื้ออกไก่ แต่สีของเนื้ออกไก่แบบปล่อยอิสระมีความเหลืองสูงกว่าการเลี้ยงแบบคอกและกึ่งปล่อย (สุนีย์ และคณะ, 2556) และยังมีการศึกษาลักษณะทางกายภาพของเนื้อไก่คอล่อนและเนื้อไก่พื้นเมือง พบว่าไก่ทั้งสองสายพันธุ์มีความสว่าง (L*) ของกล้ามเนื้อส่วนอกและกล้ามเนื้อส่วนสะโพกไม่แตกต่างกัน แต่กล้ามเนื้อทั้งสองส่วนของไก่คอล่อนมีค่าความแดง (a*) และความเหลือง (b*) น้อยกว่าเนื้อไก่พื้นเมือง และเนื้อไก่เพศผู้มีค่า L* สูงกว่า แต่มีค่าสี a* และ b* ไม่แตกต่างกับไก่เพศเมีย (ไชยวรรณ และคณะ, 2547) รวมทั้งยังมีการศึกษาคุณภาพเนื้อด้านสีของเนื้อไก่ลูกผสมพื้นเมือง (ซี) พบว่ามีค่า L*(ความสว่าง) ใกล้เคียงกับไก่พื้นเมืองซีพันธุ์แท้ และไก่กระทง ค่าความแดง (a*) และค่าความเหลือง (b*) ในไก่ลูกผสมพื้นเมือง(ซี) มีค่าสูงกว่าไก่พื้นเมืองซีพันธุ์แท้ และไก่กระทง (ทัศน์วรรณ และคณะ, 2557) การเลี้ยงไก่ในปัจจุบันเกษตรกรยังมีการเลี้ยงไก่แบบปล่อยอิสระ ส่งผลให้ไก่กระดูกดำเกิดการผสมข้ามระหว่างไก่กระดูกดำกับไก่สายพันธุ์อื่นๆ อาทิเช่น ไก่พื้นเมือง ทำให้ลักษณะประจำพันธุ์บางลักษณะหายไป ปัจจุบันมีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับลักษณะไก่กระดูกดำเพื่อต้องการคัดเลือกไก่กระดูกดำที่มีลักษณะตรงตามสายพันธุ์ หนึ่งในนั้นคือการศึกษาทางด้านพันธุกรรมของไก่กระดูกดำที่ส่งผลต่อลักษณะสีดำที่เกิดขึ้น

เครื่องหมายทางพันธุกรรม หรือที่เรียกว่า genetic markers เป็นเครื่องมือที่สามารถใช้ในการชี้วัดความแตกต่าง ในการจำแนกลักษณะที่ปรากฏ (phenotype) และลักษณะทางพันธุกรรม (genetics) ของสิ่งมีชีวิตได้ ซึ่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมดังกล่าว สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปสู่รุ่นลูกรุ่นหลานได้ ปัจจุบันในทางปศุสัตว์ได้มีการศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอสำหรับบ่งชี้ลักษณะสำคัญทางเศรษฐกิจ และการจำแนกชนิดและสายพันธุ์ของสัตว์ ในการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมีหลากหลายวิธีด้วยกัน อาทิเช่น PCR-AFLP, PCR-RFLP, DNA sequence เป็นต้น จากหลักฐานทางวิชาการ มีการศึกษาการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการประเมินความหลากหลายของไก่พื้นเมืองไทยและไก่เนื้อ (Mekchay *et al*., 2005) การใช้เทคนิค AFLP fingerprinting เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของไก่ (Gao *et al*., 2008) การใช้ mitochondrial DNA markers ศึกษาลักษณะโมเลกุล (Yacoub *et al*., 2014) รวมไปถึงปัจจุบันได้มีการใช้ microsatellite markers เพื่อศึกษาความหลายหลาย

ทางพันธุกรรม (Michalska *et al*., 2012; Wei *et al*., 2013) และใช้ในการตรวจสอบโมเลกุลของประชากร (Gruszczynska and Michalska, 2012)

การศึกษาการแสดงออกของลักษณะไก่กระดูกดำ พบว่าลักษณะสีดำที่ปรากฏขึ้น เกิดมาจากการสะสมเม็ดสีเมลานิน (melanin) หรือกระบวนการ fibromelanosis (dermal hyperpigmentation) ใน connective tissue (เนื้อ หนัง และกระดูก) จากรายงานทางวิชาการบ่งชี้ว่าลักษณะที่เกิดขึ้นมีความเกี่ยวข้องกับยีน fibromelanosis gene (*Fm* gene) หรือ endothelin 3 (*EDN3* gene) และ sex-linked inhibitor of dermal pigment gene (*Id* gene) ซึ่งทำหน้าที่สัมพันธ์กับการสะสมเม็ดสีของเมลานิน (dermal hyperpigmentation หรือ fibromelanosis), กระบวนการเกิด melanoblast proliferation และ melanocytic regulation (Arora *et al*., 2011; Dorshorst *et al*., 2011; Shinomiya *et al*., 2012; Lukanov and Genchev *et al*., 2013) จากข้อมูลศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน fibromelanosis (*FM*) และ sex-linked inhibitor of dermal melanin gene (*Id*) สำหรับบ่งชี้ลักษณะไก่กระดูกดำ โดยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ จำนวน 6 ชุดเครื่องหมาย (*FM* assay A, *FM* assay B, *Id*000, *Id*542, *Id*603 และ *Id*881) ถูกใช้วิเคราะห์จีโนไทป์ไก่กระดูกดำ (n=169) และไก่กลุ่มควบคุม (n=24) ประกอบด้วย ไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า ไก่ประดูหางดำ และไก่ชี้ฟ้า เครื่องหมายโมเลกุล *FM* assay A และ *FM* assay B สามารถจำแนกไก่กระดูกดำและไก่ที่มีลักษณะกระดูกไม่ดำ ได้ถูกต้อง 92-95 และ 85-90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *Id542* มีแนวโน้มสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออกไก่ (P=0.08) ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *FM* assay A, *FM* assay B และ *Id603* ไม่มีความสัมพันธ์กับสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* สามารถใช้จำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำได้ อย่างไรก็ตามเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าว ยังไม่สามารถใช้จำแนกระดับความเข้มของสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำได้ (ศุภมิตร และคณะ, 2558) นอกจากนี้ ศุภมิตร และคณะ (2559) ยังมีการศึกษาเครื่องหมายพันธุกรรมของยีน *MC1R* และ *PMEL17* ในไก่กระดูกดำจำนวน 166 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับไก่กระดูกไม่ดำ (กลุ่มควบคุม) จำนวน 54 ตัวอย่าง พบว่าเครื่องหมายพันธุกรรมของยีน *MC1R* และ *PMEL17* สามารถแยกไก่กระดูกดำได้ถูกต้อง 82.03 และ 72.84 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และพบว่าเครื่องหมายพันธุกรรมของยีน *MC1R* มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออกไก่ อย่างไรก็ตามลักษณะสีขนและเม็ดสีของไก่ ถูกควบคุมด้วยยีนจำนวนหลายคู่ และมีความซับซ้อน (complex) สูง จากหลักฐานทางวิชาการระบุว่ายีน melanocortin 1 receptor (*MC1R*) และ promelanin 17 (*PMEL17*), tyrosinase (TYR), agouti signaling protein (*ASIP*), KIT tyrosine kinase receptor (*KIT*) และ KIT ligand (*KITLG*) เป็นต้น มีบทบาทที่สำคัญต่อการสร้างเม็ดสีในเซลล์ของไก่ โดยความผันแปรยีนดังกล่าวมีผลต่อการสร้างรงควัตถุ eumelanin และ phaeomelanin (Kerje et al., 2004; Chang et al., 2007; Liu et al., 2010; Chi et al., 2012; Dávila et al., 2014) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ ต้องการศึกษาค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลของยีน *TYR* กับลักษณะไก่กระดูกดำ และลักษณะสีเนื้อของไก่กระดูกดำ และศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลของยีน *MC1R* เพิ่มเติม รวมถึงศึกษาการแสดงออกของยีน (mRNA expression) *MC1R* และ *TYR* ใน

กล้ามเนื้อไก่กระดูกดำ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ไก่กระดูกดำ เพื่อผลิตลูกไก่กระดูกดำที่มีลักษณะตรงตามสายพันธุ์ไก่กระดูกดำ