รายงานฉบับสมบูรณ์

(Final Report)

โครงการย่อยที่ 2: โครงการศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมสำหรับบ่งชี้เอกลักษณ์ไก่กระดูกดำ

Sub Project 2: Identification of DNA Markers for Black Bone Chicken

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : วิจัยเชิงบูรณาการเพื่อเสริมสร้างประสิทธิภาพการผลิตไก่กระดูกดำบนพื้นที่สูง

แผนงานวิจัย: สนับสนุนการเสริมสร้างประสิทธิภาพการผลิตและการตลาด

โดย

ศุภมิตร เมฆฉาย และคณะ

สนับสนุนทุนวิจัยโดย สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

รายงานฉบับสมบูรณ์

(final Report)

โครงการย่อยที่ 2: โครงการศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมสำหรับบ่งชี้เอกลักษณ์ไก่กระดูกดำ

Sub Project 2: Identification of DNA Markers for Black Bone Chicken

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : วิจัยเชิงบูรณาการเพื่อเสริมสร้างประสิทธิภาพการผลิตไก่กระดูกดำบนพื้นที่สูง

แผนงานวิจัย: สนับสนุนการเสริมสร้างประสิทธิภาพการผลิตและการตลาด

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. รศ.ดร.ศุภมิตร เมฆฉาย	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ดร.กรวรรณ ศรีงาม	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. รศ.ดร.สุชน ตั้งทวีวิพัฒน์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กันยายน 2558

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์บำรุงพันธุ์เชียงใหม่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างเลือดไก่ประดู่หางดำ และไก่ชี้ฟ้า ขอขอบคุณนักศึกษาห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพด้านสัตว์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณธนาวดี ค้ำชู คุณนันทนา โปธาคำ คุณวรรักษ์ หน่อสีดา และ คุณนันทพร สุทธิ

คณะผู้วิจัย

กันยายน 2558

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

คณะผู้วิจัย

1. **หัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ และ E-mail**

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย)	นายศุภมิตร เมฆฉาย
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ)	Mr. SupamitMekchay
คุณวุฒิ	Dr. agr.
ตำแหน่ง (ทางวิชาการ/ราชการ)	รองศาสตราจารย์
หน่วยงาน	ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ที่อยู่	239 ถนนห้วยแก้ว ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
โทรศัพท์/โทรสาร	0-5394-4090 ต่อ 34 / 0-5322-5221
E-mail	supamitmekchay@gmail.com

2. **นักวิจัย หน่วยงานสังกัด ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ และ E-mail**

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย)	นางสาวกรวรรณ ศรีงาม
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ)	Miss KorawanSringarm
คุณวุฒิ	Dr.agr.
ตำแหน่ง (ทางวิชาการ/ราชการ)	อาจารย์
หน่วยงาน	ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ที่อยู่	239 ถนนห้วยแก้ว ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
โทรศัพท์/โทรสาร	0-5394-4091 ต่อ 21
E-mail	korawan.s@cmu.ac.th, kanok70@hotmail.com

3. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นายสุชน ตั้งทวีวิพัฒน์

ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ)	Mr.SuchonTangtaweewipat
คุณวุฒิ	Dr.
ตำแหน่ง (ทางวิชาการ/ราชการ)	รองศาสตราจารย์
หน่วยงาน	ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ที่อยู่	239 ถนนห้วยแก้ว ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
โทรศัพท์/โทรสาร	0-5394-4069 ถึง 74 ต่อ 111,112 / 0-5335-7601
E-mail	suchon.t@cmu.ac.th,agani002@gmail.com

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

ไก่กระดูกดำ เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีศักยภาพสูงในเชิงการค้า และมีมูลค่าทางการตลาดมากกว่าไก่พื้นเมืองและไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้าประมาณ 2-3 เท่าตัว สำหรับการผลิตไก่กระดูกดำในเชิงการค้าบนพื้นที่สูงยังประสบปัญหาลักษณะปรากฏภายนอกไม่ตรงตามสายพันธุ์ กล่าวคือไก่พ่อแม่พันธุ์กระดูกดำ ที่ถูกคัดเลือกเอาไว้ไปผสมพันธุ์ แต่กลับให้ลูกไก่ที่มีลักษณะไม่ตรงตามลักษณะของไก่กระดูกดำ ทำให้ไก่ที่ผลิตได้ไม่สามารถจำหน่ายเป็นไก่กระดูกดำ ส่งผลกระทบให้สูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจ และทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค ซึ่งปัญหาเหล่านี้เป็นอุปสรรคที่สำคัญต่อการพัฒนาทางด้านการตลาดของไก่กระดูกดำเป็นอย่างมาก ลักษณะสีดำของไก่กระดูกดำ เกิดมาจากการสะสมเม็ดสีของเมลานิน (melanin) หรือกระบวนการ fibromelanosis (dermal hyperpigmentation) ใน connective tissue (หนัง กล้ามเนื้อ และกระดูก) ซึ่งลักษณะที่เกิดขึ้นอาจมีความเกี่ยวข้องกับยีน fibromelanosis gene (*Fm* gene) หรือ endothelin 3 (*END* gene) และยีน sex-linked inhibitor of dermal pigment gene (*Id* gene) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสะสมเม็ดสีของเมลานิน (Dermal hyperpigmentation หรือ Fibromelanosis) จากหลักฐานทางวิชาการที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้มีแนวคิดที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการค้นหาเครื่องหมายทางพันธุกรรมสำหรับใช้คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ไก่กระดูกดำ เพื่อผลิตลูกไก่กระดูกดำที่มีลักษณะตรงตามพันธุ์ไก่กระดูกดำ ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมของยีน *FM* และ *Id* สำหรับคัดเลือกลักษณะไก่กระดูกดำ

วิธีการศึกษางานวิจัยในครั้งนี้มีรายละเอียดดังนี้ ไก่กระดูกดำ จำนวน 169 ตัว จากพื้นที่ดำเนินการของมูลนิธิโครงการหลวง และไก่กระดูกไม่ดำ (กลุ่มควบคุม) จำนวน 24 ตัว ประกอบด้วยไก่ประดู่หางดำ ไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า และไก่ชี้ฟ้า ถูกบันทึกลักษณะปรากฏภายนอก เก็บตัวอย่างเลือด และ ตัวอย่างกล้ามเนื้ออก ตัวอย่างเลือดถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอ และวิเคราะห์จีโนไทป์ของไก่ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* จำนวน 6 ชุดเครื่องหมาย ประกอบด้วย *FM* assay A, *FM* assay B, *Id*000, *Id*542, *Id*603 และ *Id*881 ข้อมูลจีโนไทป์ดังกล่าวถูกนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับลักษณะของไก่กระดูกดำ

ผลการศึกษาพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* ยีน *Id* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญสถิติ โดยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* ในรูปแบบโมเดล additive มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมากที่สุด จำนวน 6 ชุดเครื่องหมาย ในขณะที่โมเดล recessive ให้ผลความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวน 4 ชุดเครื่องหมาย ส่วนโมเดล dominance ให้ผลความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติน้อยที่สุด จำนวน 2 ชุดเครื่องหมาย เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าว สามารถแยกไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำกลุ่มควบคุมด้วยวิธี principal component analysis อย่างชัดเจน ทั้งนี้เครื่องหมายโมเลกุล *FM* assay A และ *FM* assay B สามารถจำแนกไก่กระดูกดำได้ถูกต้องเท่ากับ 92-95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกันเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าว สามารถจำแนกไก่สายพันธุ์ที่มีลักษณะกระดูกไม่ดำได้ถูกต้องเท่ากับ 85-

90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* ทั้งหมดไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออก อย่างไรก็ตามเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *Id542* มีแนวโน้มสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออกไก่ (P=0.08) โดยไก่ที่มีจีโนไทป์ AA มีกล้ามเนื้ออกสีเข้มกว่าไก่ที่จีโนไทป์ AB

สรุปผลการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำ สามารถใช้จำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำได้ และเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวไม่มีความสัมพันธ์กับระดับสีกล้ามเนื้ออกของไก่กระดูกดำ

เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* สามารถนำใช้ประโยชน์ในการคัดแยกไก่กระดูกดำออกจากไก่ที่มีลักษณะไก่กระดูกไม่ดำได้ อย่างไรก็ตามเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวยังไม่สามารถใช้จำแนกระดับสีกล้ามเนื้ออกของไก่กระดูกดำได้ สำหรับการศึกษาครั้งต่อไปควรศึกษายีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับลักษณะสีกล้ามเนื้ออกของไก่กระดูกดำ

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

Executive Summary

Black boned chicken is one economically important species and it has higher market values (2-3 times) than the indigenous and commercial broiler chickens. The major problem of the black boned chicken production in highland area is high variation of characteristics. The selected sire and dam of black boned chickens could be not produced the purebred black boned chicks. The growing chickens could not sell as the black boned chickens. It has effects on economic losses and unacceptability for consumers. This problem is still a major constraint on market development of black boned chickens. The black color trait of the black boned chickens is related with melanin pigmentation or fibromelanosis (dermal hyperpigmentation) in connective tissues (dermal, muscle and bone). The characteristic of the black boned chickens was controlled with the fibromelanosis gene (*Fm* gene) or endothelin 3 (*END* gene) and sex-linked inhibitor of dermal pigment gene (*Id* gene). From this information leading to apply the molecular marker for selection the parent stock of black boned chickens to product the black boned chick. The objective of this study was to association study of molecular marker of *FM* and *Id* genes with the black boned chicken characteristics.

The method was carried out as follows: a total of 169 black boned chickens from the implement areas of the Royal project foundation and 24 non-black boned chickens (control group) consisting of Pradhuhangdum, commercial broiler and CheePha breeds were recorded the characteristic phenotypes. Blood samples and breast muscles were taken. DNAs were isolation from blood samples. Genotypes of these chickens were identified with six DNA markers, consisting of *FM* assay A, *FM* assay B, *Id*000, *Id*542, *Id*603 and *Id*881. Association study of genotype markers with black boned chicken characterization was analysis.

The results showed that the molecular DNA markers of *FM* and *Id* genes were significantly associated with characteristics of the black boned chicken. The analysis of additive model showed six markers were significantly associated with characteristics of the black boned chicken. The analysis of recessive model revealed four markers were significantly associated with characteristics of the black boned chicken. The analysis of dominance model showed two markers were associated with characteristics of the black boned chicken. These molecular markers could be clearly clustered the black boned

chickens from the non-black boned chickens with principal component analysis. The *FM* assay A and *FM* assay B markers could be identified the black boned chicken with 92-95 % accuracy and identified the non-black boned chickens with 85-90 %. No significant association of these molecular markers with the breast muscle color trait of the black boned chickens was observed. However, the *Id542* marker tended toward an association with the breast muscle color trait (P=0.08). The chickens with AA genotype had the breast muscle color trait darker than those the chickens with AB genotype.

In conclusion, the molecular markers of *FM* and *Id* genes were found significantly association with the characteristics of the black boned chickens. It could be clearly classified the black boned chickens from the non-black boned chickens. No association of these molecular markers with the breast muscle color trait was observed in this study.

These results indicated that the molecular markers of *FM* and *Id* genes can be applied for classification the black boned chicken from non- black boned chickens. However, these molecular DNA markers could not be identified the breast muscle color levels of black boned chickens. Further association studies should be conducted on more candidate genes for the breast muscle color trait of the black boned chickens.

Highland Research and Development Institute (Public Organization)

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
คณะผู้วิจัย	ข
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	ค
Executive summary	ช
สารบัญ	-1-
สารบัญตาราง	-2-
สารบัญภาพ	-3-
สารบัญภาพภาคผนวก	-4-
บทคัดย่อ	-5-
Abstract	-6-
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	2
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	4
บทที่ 4 ผลการวิจัย	11
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการวิจัย	21
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	23
ข้อเสนอแนะ	24
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	27
ตารางสรุปเปรียบเทียบแผนงานวิจัยกับผลงานวิจัย	31

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยา PCR ของยีนเป้าหมายในไก่กระดูกดำ 7

ตารางที่ 2 ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีนเป้าหมายในไก่แต่ละพันธุ์ 17

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอกับลักษณะไก่กระดูกดำ 18

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* กับลักษณะสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำ 20

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)
Highland Research and Development Institute (Public Organization)

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะรูปร่างของไก่กระดูดำในพื้นที่โครงการหลวง 11
ภาพที่ 2 ลักษณะปรากฏไก่กระดูดำ 12
ภาพที่ 3 การเก็บตัวอย่างเลือดไก่กระดูกดำจากบริเวณเส้นเลือดใต้ปีก 12
ภาพที่ 4 ผลการตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอของไก่กระดูกดำที่สกัดได้บน Agarose gel electrophoresis 13
ภาพที่ 5 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลของยีน *FM* จำนวน 4 เครื่องหมาย 14
ภาพที่ 6 แสดงตัวอย่างผลผลิต PCR จากเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีนเป้าหมาย 14
ภาพที่ 7 ผลของความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทป์บนยีน *FM* 15
ภาพที่ 8 ผลการตรวจสอบจีโนไทป์เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *Id* ในไก่กระดูกดำ 16
ภาพที่ 9 การจำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่ที่มีกระดูกไม่ดำ 19

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

สารบัญภาพภาคผนวก

หน้า

ภาพภาคผนวกที่ 1 แสดงลักษณะสีของเพดานปาก 30
ภาพภาคผนวกที่ 2 แสดงลักษณะสีของกล้ามเนื้อออก 30

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน fibromelanosis(*FM*) และ sex-linked inhibitor of dermal melanin gene (*Id*) สำหรับบ่งชี้ลักษณะไก่กระดูกดำเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ จำนวน 6 ชุดเครื่องหมาย (*FM* assay A, *FM* assay B, *Id*000, *Id*542, *Id*603 และ *Id*881) ถูกใช้วิเคราะห์จีโนไทป์ไก่กระดูกดำ จำนวน 169 ตัว และไก่กลุ่มควบคุม จำนวน 24 ตัว ประกอบด้วย ไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า (n=10 ตัว) ไก่ประดู่หางดำ (n=10) และไก่ชี้ฟ้า (n=4) พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM*และ *Id* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญการจำแนกสายพันธุ์ไก่กระดูกดำด้วยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ โดยวิเคราะห์แบบ principal component analysis สามารถจำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำได้อย่างชัดเจนเครื่องหมายโมเลกุล *FM* assay A และ*FM* assay B สามารถจำแนกไก่กระดูกดำได้ถูกต้อง 92-95 เปอร์เซ็นต์ และเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวสามารถจำแนกไก่สายพันธุ์ที่มีลักษณะกระดูกไม่ดำได้ถูกต้อง85-90 เปอร์เซ็นต์เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *Id542* มีแนวโน้มสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออกไก่ (*P*=0.08) โดยไก่ที่มีจีโนไทป์ AA มีกล้ามเนื้ออกสีเข้มกว่าไก่ที่จีโนไทป์ AB ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *FM* assay A, *FM* assay B และ*Id603*ไม่มีความสัมพันธ์กับสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM*และ *Id*สามารถใช้จำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำได้อย่างไรก็ตามเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวไม่สามารถใช้จำแนกระดับสีกล้ามเนื้ออกของไก่กระดูกดำได้

Abstract

The objective of this study was to study the association of fibromelanosis(*FM*) andsex-linked inhibitor of dermal melanin gene (*Id*) with characteristics of black boned chicken. Six molecular DNA markers (*FM* assay A, *FM* assay B, *Id*000, *Id*542, *Id*603 and*Id*881) were used to genotyping in 169 black boned chickens, 10 commercial broilers, 10 Pradhuhangdum and 4 Chee-Pha chickens. The results showed that the molecular DNA markers were significantly associated with characteristics of black boned chicken. The principal component analysis showed molecular DNA markers could be clearly classified the black boned chicken from non-black boned chickens. The *FM* assay A และ*FM* assay B markers could be identified the black boned chicken with 92-95 % accuracy and could be identified the non-black boned chicken with 85-90 % accuracy. Moreover, the *Id542* marker tended toward an association with the breast muscle color trait of black boned chickens (*P*=0.08).The chickens with the AA genotype had darker the breast muscular color values than those the chickens with the AB genotype. No association of *FM*assay A, *FM* assay B and*Id603* markers with the breast muscle color of black boned chickens were observed. These results indicated that the molecular markers of *FM* and *Id* genes could be classified the black boned chicken from non-black boned chickens. However, these molecular DNA markers could not be identified the breast muscle color levels of black boned chickens.