รายงานฉบับสมบูรณ์

(Final Report)

โครงการย่อยที่ 2:

โครงการศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมสำหรับบ่งชี้เอกลักษณ์ไก่กระดูกดำ

Sub-Project 2: Identification of molecular markers for black boned chicken

ภายใต้ชุดโครงการ : วิจัยเชิงบูรณาการเพื่อเสริมสร้างประสิทธิภาพการเลี้ยงไก่บนพื้นที่สูง

แผนงานวิจัย: เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของผลผลิตเกษตร

โดย ศุภมิตร เมฆฉาย และคณะ

สนับสนุนทุนวิจัยโดย สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

รายงานฉบับสมบูรณ์

(Final Report)

โครงการศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมสำหรับบ่งชี้เอกลักษณ์ไก่กระดูกดำ

Sub-Project 2: Identification of molecular markers for black boned chicken

ภายใต้ชุดโครงการ : วิจัยเชิงบูรณาการเพื่อเสริมสร้างประสิทธิภาพการเลี้ยงไก่บนพื้นที่สูง

แผนงานวิจัย: เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของผลผลิตเกษตร

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

พฤศจิกายน 2559

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณศูนย์บำรุงพันธุ์เชียงใหม่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างเลือดไก่ประดู่หางดำ ไก่ชี และไก่ชี้ฟ้า ขอขอบคุณภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างเลือดไก่เนื้อและไก่ไข่ และขอขอบคุณนักศึกษาห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพด้านสัตว์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณธนาวดี ค้ำชู คุณนันทนา โปธาคำ และคุณวรรักษ์ หน่อสีดา

คณะผู้วิจัย

ตุลาคม 2559

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. Supamit Mekchay
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 Korawan Sringarm
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.Suchon Tangtaweewipat
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

ความเป็นมาของโครงการ

ไก่กระดูกดำ เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีศักยภาพในเชิงการค้า และมีมูลค่าทางการตลาดสูงกว่าไก่พื้นเมืองและไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้าหลายเท่าตัว อย่างไรก็ตาม การผลิตไก่กระดูกดำในพื้นที่โครงการหลวง ยังประสบปัญหาทางด้านสายพันธุ์ของไก่กระดูกดำ ซึ่งมีความแปรปรวนสูง กล่าวคือ เมื่อนำไก่พ่อแม่พันธุ์กระดูกดำ ที่ถูกคัดเลือกเอาไว้ไปผสมพันธุ์ แต่กลับให้ลูกไก่ที่มีลักษณะไม่ตรงตามลักษณะของไก่กระดูกดำ ทำให้ไก่ที่ผลิตได้ ไม่สามารถจำหน่ายเป็นไก่กระดูกดำ ส่งผลกระทบให้สูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจ และทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค ซึ่งปัญหาเหล่านี้เป็นอุปสรรคที่สำคัญต่อการพัฒนาตลาดของไก่กระดูกดำเป็นอย่างมาก จากการศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมสำหรับบ่งชี้เอกลักษณ์ไก่กระดูกดำในงบประมาณปี 2558 ที่ผ่านมา พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญ การจำแนกสายพันธุ์ไก่กระดูกดำด้วยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ โดยวิเคราะห์แบบ principal component analysis สามารถจำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำได้อย่างชัดเจนเครื่องหมายโมเลกุล *FM* assay A และ*FM* assay B สามารถจำแนกไก่กระดูกดำได้ถูกต้อง 92-95 เปอร์เซ็นต์ และเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวสามารถจำแนกไก่สายพันธุ์ที่มีลักษณะกระดูกไม่ดำได้ถูกต้อง 85-90 เปอร์เซ็นต์ เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *Id542* มีแนวโน้มสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออกไก่ (P=0.08) โดยไก่ที่มีจีโนไทป์ AA มีกล้ามเนื้ออกสีเข้มกว่าไก่ที่จีโนไทป์ AB ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *FM* assay A, *FM* assay B และ *Id603* ไม่มีความสัมพันธ์กับสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *FM* และ *Id* สามารถใช้จำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำได้ อย่างไรก็ตาม เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าวไม่สามารถใช้จำแนกระดับสีกล้ามเนื้ออกของไก่กระดูกดำได้

ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้ จึงได้ทำการศึกษาต่อเนื่อง เพื่อค้นหาเครื่องหมายทางพันธุกรรม (DNA marker) สำหรับบ่งชี้เอกลักษณ์ไก่กระดูกดำและจำแนกระดับสีกล้ามเนื้ออกของไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำได้ จากหลักฐานทางวิชาการระบุว่ายีน promelanin 17 (*PMEL17*) และ melanocortin 1 receptor (*MC1R*) มีบทบาทที่สำคัญต่อการสร้างเม็ดสีในเซลล์ของไก่ โดยความผันแปรของยีนดังกล่าวมีผลต่อการสร้างรงควัตถุ eumelanin และ phaeomelanin จึงทำให้ต้องการศึกษายีนดังกล่าวเพื่อเพิ่มความสามารถในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ไก่กระดูกดำได้ถูกต้องแม่นยำมากขึ้น ซึ่งก็เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่

อาจจะใช้แก้ปัญหาได้ และส่งผลต่อความสามารถในการผลิตไก่กระดูกดำให้ตรงตามลักษณะสายพันธุ์ไก่กระดูกดำได้อย่างยั่งยืน

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาและค้นหาเครื่องหมายทางพันธุกรรม (DNA marker) สำหรับบ่งชี้เอกลักษณ์ไก่กระดูกดำ

ผลการวิจัย

การศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอบนยีน *PMEL17* และ *MC1R* กับลักษณะไก่กระดูกดำ ได้ทำการศึกษาในไก่กระดูกดำ จำนวน 166 ตัว จากพื้นที่ดำเนินการของมูลนิธิโครงการหลวง และไก่กระดูกไม่ดำ (กลุ่มควบคุม) จำนวน 54 ตัว ประกอบด้วยไก่ประดู่หางดำ ไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า ไก่ไข่ ไก่ชี และไก่ชี้ฟ้า ซึ่งถูกเก็บข้อมูลลักษณะปรากฏภายนอก เก็บตัวอย่างเลือด และลักษณะการให้คะแนนสีกล้ามเนื้ออก ตัวอย่างเลือดถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอ ด้วยวิธี phenol-chloroform ข้อมูลจีโนไทป์ของไก่กระดูกดำถูกตรวจสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุล *PMEL17* และ *MC1R* ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอกับลักษณะไก่กระดูกดำถูกศึกษา โดยมีผลดังนี้

1. **การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลของยีน *PMEL17* และ *MC1R* ในไก่กระดูกดำ**

เครื่องหมายโมเลกุลของยีน *PMEL17* ในไก่พบว่ามีความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์แบบเพิ่มขึ้นและสูญหายไป จำนวน 9 bp ในส่วนของ exon 10 ซึ่งสามารถตรวจสอบได้ด้วยการแยกขนาดแถบดีเอ็นเอด้วยเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส สำหรับเครื่องหมายโมเลกุล *MC1R* ของไก่กระดูกดำ ถูกเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ จำนวน 5 คู่ และตรวจคัดกรองความผันแปรด้วยเทคนิค SSCP ทั้งนี้เครื่องหมายโมเลกุล *MC1R-2* สามารถตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Msc*I

2. **ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอเป้าหมายกับลักษณะไก่กระดูกดำ**

ผลการศึกษาพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *PMEL17* และ *MC1R-2* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเครื่องหมายโมเลกุล *PMEL17* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำแบบโมเดล recessive อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมากที่สุด ในขณะที่เครื่องหมายโมเลกุล *MC1R-2* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำแบบโมเดล additive อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมากที่สุด เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอดังกล่าว สามารถใช้จำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่กระดูกไม่ดำได้ โดยความแม่นยำของ

เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีนเป้าหมายพบว่า ยีน *PMEL17* สามารถแยกไก่กระดูกดำได้ถูกต้อง 72.84 เปอร์เซ็นต์ สำหรับยีน *MC1R* สามารถแยกไก่กระดูกดำได้ถูกต้อง 82.03 เปอร์เซ็นต์

3. ความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *PMEL17 และ MC1R*-2 กับลักษณะสีกล้ามเนื้อออกของไก่กระดูกดำ

ลักษณะสีกล้ามเนื้ออกของไก่กระดูกดำในพื้นที่ของโครงการหลวง ถูกบันทึกจากตัวอย่างไก่กระดูกดำที่ถูกชำแหละซาก จำนวน 60 ตัว พบว่าสีกล้ามเนื้อมีการกระจายตัว และได้มีการให้คะแนนสีกล้ามเนื้ออก 3 ระดับ ซึ่งผันแปรจากสีชมพู เทา และดำ เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *PMEL17 และ MC1R*-2 ถูกใช้ศึกษาความสัมพันธ์กับลักษณะสีกล้ามเนื้ออกของไก่ดังกล่าว พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *PMEL17* ในกลุ่มตัวอย่างดังกล่าว พบจีโนไทป์เพียงรูปแบบเดียว ทำให้ไม่สามารถใช้ศึกษาความสัมพันธ์กับสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำได้ สำหรับเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *MC1R*-2 มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออกไก่ (P=0.0002) โดยไก่ที่มีจีโนไทป์ E/E มีกล้ามเนื้ออกสีเข้มกว่าไก่ที่จีโนไทป์ E/e (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *MC1R*-2 กับลักษณะสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำ

Markers	Pigmentation levels of breast muscles			*P*-value
	E/E	E/e	e/e	
MC1R-2	2.19±0.09	1.00±0.28	-	0.0002

บทสรุป

1) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *PMEL17* และ *MC1R* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญ

2) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *PMEL17* และ *MC1R* สามารถแยกไก่กระดูกดำได้ถูกต้อง 72.84 และ 82.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3) เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ *MC1R* มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออกไก่ (P=0.0002) โดยไก่ที่มีจีโนไทป์ E/E มีกล้ามเนื้ออกสีเข้มกว่าไก่ที่จีโนไทป์ E/e

ข้อเสนอแนะ

ลักษณะสีผิวและสีกล้ามเนื้ออกของไก่ มีความซับซ้อน (complex traits) และถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไป ควรศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลยีน *MC1R* ตำแหน่งอื่น (*MC1R-1*, *MC1R-4*, *MC1R-5* และ *MC1R-6*) เพิ่มเติม รวมถึงยีนเป้าหมายอื่นๆ อาทิเช่น tyrosinase (*TYR*) หรือ agouti signaling protein (*ASIP*) เป็นต้น

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

Executive Summary

Introduction

Black boned chicken is one economically important species and it has higher market values 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 obstacle on market development of black boned chickens. In previous study, the molecular markers of *FM* and *Id* genes were analyzed in the black boned chicken. The *FM* and *Id* markers could be classified the black boned and non- black boned chickens with 92-95 and 85-90%, respectively. However, no significant association of these molecular markers with the breast muscle color trait of the black boned chickens was observed.

In this study, the molecular markers of coat color genes were more characterized in the black boned chickens. The melanocortin 1 receptor (*MC1R*) and promelanin 17 (*PMEL17*) play a major role of melanin pigmentation in animals. It has been reported that the genetic variation of these genes was related to the expression levels of eumelanin and phaeoelanin in cells. Then the *MC1R* and *PMEL17* can be regarded as candidate genes for the black boned chicken characteristics.

Objective

To study the molecular markers of *MC1R* and *PMEL17* genes for indicating the black boned chicken characteristics.

Results

Association study between the DNA markers of *MC1R* and *PMEL17* genes and the black boned chicken characterization was examined in a total of 166 black boned chickens from the implement areas of the Royal project foundation and 54 non-black boned chickens

(control group) consisting of Pradhuhangdum, commercial broiler, Chee, and Chee-Pha breeds. Phenotypes of chicken characteristics were recorded. Blood samples and breast muscles were collected. DNAs were extracted from blood samples with phenol-chloroform method. Genotypes of these chickens were detected with *MC1R* and *PMEL17* markers. Association study of genotype markers with black boned chicken characterization was analysis. These results were described as follows.

1. Identification of polymorphisms of *PMEL17* and *MC1R* in black boned chicken.

The *PMEL17* polymorphisms were 9 bp insertion/deletion in exon 10 and were detected with polyacrylamide gel electrophoresis. The *MC1R* fragments of the black boned chicken were amplified with 5 primers and the polymorphisms were screened using SSCP methods. The polymorphisms of *MC1R-2* fragment were detected with restriction enzyme *Msc*I.

2. Analysis of association between the *MC1R* and *PMEL17* markers and the black boned chicken characterization.

The results revealed that the *PMEL17* and *MC1R-2* markers were significantly associated with characteristics of the black boned chicken. The analysis of recessive model of *PMEL17* marker showed highest significantly associated with characteristics of the black boned chicken. The analysis of additive model of *MC1R-2* marker revealed highest significantly associated with characteristics of the black boned chicken. Moreover, the *PMEL17* and *MC1R*-2 markers could be identified the black boned chicken with 72.84 and 82.03 % accuracy, respectively.

3. Association of the DNA markers of *FM* and *Id* genes with breast muscle color of the black boned chickens.

A total of 60 animals of the black boned chickens were obtained from the Royal Project and the breast muscle colors were observed. The breast muscles colors were classified as 3 levels (pink, gray, and black). The *PMEL17* marker revealed only one genotype (no polymorphism) in these samples. This marker could be not used for association study

with the breast muscle color trait. The *MC1R-2* marker showed significant association with the breast muscle color trait (*P*=0.0002). The chickens with E/E genotype had the breast muscle color trait darker than those the chickens with E/e genotype (Table 1).

Table 1. Association of the DNA markers of *MC1R-2* with breast muscle color of the black boned chickens.

Markers	Pigmentation levels of breast muscles			*P*-value
	E/E	E/e	e/e	
MC1R-2	2.19±0.09	1.00±0.28	-	0.0002

Conclusion

1) The significant association of molecular markers of *PMEL17* and *MC1R* genes with black boned chicken characterization was found.
2) The *PMEL17* and *MC1R* marker could be identified the black boned chicken with 74.84 and 82.03% accuracy, respectively.
3) The *MC1R-2* marker showed significant association with the breast muscle color trait (*P*=0.0002). The chickens with E/E genotype had the breast muscle color trait darker than those the chickens with E/e genotype

Suggestion

Skin and meat color of chicken are complex traits and influenced by a number of genes. Further analysis should be study of another genetic variation of the *MC1R* gene (*MC1R-1*, *MC1R-4*, *MC1R-5* and *MC1R-6*) as well as the potential candidate genes such as, tyrosinase (*TYR*) or agouti signaling protein (*ASIP*) genes.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
คณะผู้วิจัย	ข
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	ค
Executive summary	ช
สารบัญ	ญ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฏ
สารบัญภาพภาคผนวก	ฐ
บทคัดย่อ	ฑ
Abstract	ฒ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	6
บทที่ 4 ผลการวิจัย	12
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการวิจัย	23
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง	26
เอกสารอ้างอิง	27
ตารางสรุปเปรียบเทียบแผนงานวิจัยกับผลงานวิจัย	30
ภาคผนวก	31

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

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างไก่ที่มีลักษณะตรงตามพันธุ์ และ ไก่ที่มีลักษณะไม่ตรงตามพันธุ์ 12

ตารางที่ 2 แสดงการกระจายตัวของสีกล้ามเนื้ออกไก่ 14

ตารางที่ 3 ไพรเมอร์ที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกิริยา PCR ของยีนเป้าหมายในไก่กระดูกดำ 15

ตารางที่ 4 ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีนเป้าหมายในไก่กระดูกดำและไก่กระดูกไม่ดำ 19

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอกับลักษณะไก่กระดูกดำ 20

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *MC1R*-2 กับลักษณะสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำ 21

ตารางที่ 7 ตารางสรุปเปรียบเทียบผลงานวิจัยกับแผนงานวิจัย 30

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

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงการควบคุมกระบวนการสร้างเมลามิน (*Melanogenesis*) ในเซลล์เมลาโนไซต์ (*Melanocyte*) 4
ภาพที่ 2 แสดงการพัฒนาของ pheomelanosomes และ eumelanosomes ใน melanocyte 5
ภาพที่ 3 ตัวอย่างไก่กระดูดำ 13
ภาพที่ 4 แสดงระดับสีกล้ามเนื้ออกไก่กระดูกดำ 13
ภาพที่ 5 ผลการตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอของไก่กระดูกดำที่สกัดได้บน Agarose gel ที่ความเข้มข้น 1.2% 14
ภาพที่ 6 ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลของยีน *MC1R* จำนวน 5 เครื่องหมาย 16
ภาพที่ 7 แสดงรูปแบบ SSCP บนยีน *MC1R* 17
ภาพที่ 8 ผลการตรวจสอบความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทป์บนยีน *PMEL17* 18
ภาพที่ 9 ผลการตรวจสอบจีโนไทป์เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอของยีน *MC1R*-2 19
ภาพที่ 10 การจำแนกไก่กระดูกดำออกจากไก่ที่มีกระดูกไม่ดำ ตามวิธี principal component analysis 21

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

สารบัญภาพภาคผนวก

หน้า

ภาพภาคผนวกที่ 1 ตัวอย่างไก่กระดูกดำ 31
ภาพภาคผนวกที่ 2 การตรวจสอบรูปแบบ SSCP ด้วย non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis 35
ภาพภาคผนวกที่ 3 การตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ ด้วย polyacrylamide gel electrophoresis 35
ภาพภาคผนวกที่ 4 การเผยแพร่ผลงานวิจัย 36

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

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายทางพันธุกรรมบนยีน promelanin 17 (*PMEL17*) และ melanocortin 1 receptor (*MC1R*) สำหรับบ่งชี้เอกลักษณ์ไก่กระดูกดำ เครื่องหมายพันธุกรรมของยีน *MC1R* และ *PMEL17* ถูกนำมาวิเคราะห์จีโนไทป์ในไก่กระดูกดำจำนวน 166 ตัวอย่าง และไก่กระดูกไม่ดำ (กลุ่มควบคุม) จำนวน 54 ตัวอย่าง พบว่าเครื่องหมายพันธุกรรมของยีน *PMEL17* และ *MC1R* มีความสัมพันธ์กับลักษณะไก่กระดูกดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เครื่องหมายพันธุกรรมของยีน *PMEL17 และ MC1R* สามารถแยกไก่กระดูกดำได้ถูกต้อง 72.84 และ 82.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เครื่องหมายพันธุกรรมของยีน *MC1R* มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีของกล้ามเนื้ออกไก่ (P=0.0002) โดยไก่ที่มีจีโนไทป์ E/E มีกล้ามเนื้ออกสีเข้มกว่าไก่ที่มีจีโนไทป์ E/e ผลการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่าเครื่องหมายทางพันธุกรรมของยีนดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับลักษณะของไก่กระดูกดำ

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

Abstract

The objective of this study was to study the association of promelanin 17 (*PMEL17*) and melanocortin 1 receptor (*MC1R*) gene with characteristics of black boned chicken. Two molecular DNA markers (*PMEL17 and MC1R*) were used to genotyping in 166 black boned chickens and 54 control group chickens. The results showed that the molecular DNA markers were significantly associated with characteristics of black boned chicken. The *PMEL17* and *MC1R* markers could be identified the black boned chicken with 72.84 and 82.02% accuracy, respectively. Moreover, the *MC1R* marker was significantly associated with breast muscle color trait of black boned chickens (P=0.0002). The chickens with the E/E genotype had darker the breast muscular color values than those the chickens with the E/e genotype. The results indicate that these genetic markers are related to the black boned chicken characteristics.

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