รายงานผลการวิจัย
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในพื้นที่ภาคเหนือ

A STUDY ON NATIVE CHICKEN GENETIC DIVERSITIES IN NORTHERN THAILAND

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2543
จำนวน 348,500.00 บาท

หัวหน้าโครงการ นายบัญชา พงศ์พิศาลธรรม
ผู้ร่วมโครงการ นางปิยะอร พงศ์พิศาลธรรม
นายจำเนียร ยศราช

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
วันที่ 30 มีนาคม 2545

789/46

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2543 และขอขอบคุณผู้ร่วมงานทุกๆท่าน ที่ได้ช่วยเหลือในการทำวิจัย ขอขอบคุณคุณปฏิคม ศรีวิชัย คุณเรือนแก้ว ประพฤติ คุณบุญช่วย เกสันเทียะ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพที่ได้ให้การช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณสำนักงานปศุสัตว์เขตภาคเหนือ และปศุสัตว์จังหวัดและอำเภอ ลำพูน แพร่ น่าน พะเยา เชียงราย ลำปาง แม่ฮ่องสอน และเชียงใหม่ในการอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างในการทำวิจัยครั้งนี้

รว 636.5 บ253ก
บัญชา พงศ์พิศาลธรรม
การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้น
35001001206000

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง ..... ก
สารบัญภาพ ..... ข
บทคัดย่อ 1
Abstract 2
คำนำ 2
การตรวจเอกสาร 3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 9
วัน เวลา และสถานที่ทำการวิจัย 9
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 9
อุปกรณ์การทำวิจัย 10
วิธีการวิจัย 12
ผลของการวิจัย 21
วิจารณ์ผลการวิจัย 34
สรุปผลการวิจัย 36
เอกสารอ้างอิง 37
ภาคผนวก 40

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงรายชื่อและแหล่งที่มาของอุปกรณ์ 10
ตารางที่ 2 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ชุด OPB ที่ใช้ในการวิจัย 11
ตารางที่ 3 แสดงที่มาของไก่พื้นเมืองภาคเหนือจากแหล่งต่าง ๆ 13
ตารางที่ 4 แสดงภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 19
ตารางที่ 5 แสดง primer ที่ใช้ในการหาลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ และแถบดีเอ็นเอที่เกิด 22
ตารางที่ 6 แถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของไก่พื้นเมือง (chick 01 – chick 61) โดยใช้ไพรเมอร์ Operon Kit B (B01- B20) การตั้งชื่อ loci ใช้ชื่อไพรเมอร์ (ตัวอักษรสามตำแหน่ง) ตามด้วยตำแหน่งของ locus เช่น B012 หมายถึง loci2 เกิดจากไพรเมอร์ B01 เลข 1 หมายถึงปรากฏแถบ ดีเอ็นเอ เลข 0 หมายถึงไม่ปรากฏแถบ ดีเอ็นเอ 23
ตารางที่ 7 แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (dissimilarity matrix) ของประชากรไก่พื้นเมืองแหล่งในภาคเหนือของประเทศไทย 27

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงภาพไก่พื้นเมืองที่ทำการเก็บตัวอย่าง รายละเอียดของชื่อย่อดูใน ตารางที่ 3 14
ภาพที่ 2 ตัวอย่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอในไก่ที่เกิดจากการใช้ RAPD primer OPB08 21
ภาพที่ 3 แผนภูมิ dendrogram ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไก่พันธุ์พื้นเมืองภาคเหนือของไทย 33

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำนักหอสมุด

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในพื้นที่ภาคเหนือ

A STUDY ON NATIVE CHICKEN GENETIC DIVERSITY IN NORTHERN THAILAND

บัญชา พงศ์พิศาลธรรม[1] ปิยะอร พงศ์พิศาลธรรม[2] จำเนียร ยศราช[1]

BUNCHA PONGPISANTOOM[1], PIYAORN PONGPISANTOOM[2], JOUMNEAN YOSRAJ[1]

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วิทยาเขตแพร่

.....

บทคัดย่อ

ในการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของไก่พื้นเมืองจากภาคเหนือของไทย ศึกษาตัวอย่างทั้งหมด 59 ตัวอย่าง โดยสุ่มจาก 8 จังหวัดทางภาคเหนือของประเทศไทย คือจังหวัดลำพูน 9 ตัวอย่าง จังหวัดลำปาง 7 ตัวอย่าง จังหวัดเชียงราย 5 ตัวอย่าง จังหวัดพะเยา 16 ตัวอย่าง จังหวัดแพร่ 1 ตัวอย่าง จังหวัดน่าน 8 ตัวอย่าง จังหวัดแม่ฮ่องสอน 7 ตัวอย่าง และ จังหวัดเชียงใหม่ 6 ตัวอย่าง เมื่อนำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา PCR มี ไพรเมอร์ 17 หมายเลข ที่สามารถสังเคราะห์ให้แถบดีเอ็นเอสายใหม่ จากตัวอย่างดีเอ็นเอไก่พื้นเมืองได้เกือบทุกตัวอย่าง

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอประมวลได้จากลักษณะของการปรากฏและไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอ จำนวน 5,251 ตำแหน่ง รูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สามารถใช้จำแนกความแตกต่างของไก่พื้นเมืองไทยได้

เมื่อนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาจัดกลุ่มด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SARS ด้วย cluster analysis โดยใช้ Ward's minimum variance method พบว่าตัวอย่างดีเอ็นเอไก่พื้นเมืองที่นำมาวิเคราะห์มีระดับความแตกต่างกันทางพันธุกรรมต่ำ โดยค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม อยู่ระหว่าง 0.01-0.40 ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มย่อยไก่พื้นเมืองได้จำนวน 2-6 กลุ่ม ขึ้นอยู่กับระดับที่แตกต่างกันทางพันธุกรรม

ABSTRACT

Ninety-two RAPD loci were analysed in 59 chicken lines derived from 8 Northern Thailand provinces, ie. 9 samples from Lampoon, 7 from Lampang, 5 from Chiangrai, 16 from Payao, 1 from Prae, 8 from Nan, 7 from Maehongsorn, and 6 from Chiangmai. Line-spec fic alleles among breeds and lines were detected. The genetic dissimilarity values were calculated and the proportion of shared alleles distances were estimated.

The phylogenetic consensus tree (dendrogram) that was constructed grouped these 59 chicken lines into 2 up to six different clusters. These results are in accordance with he origin and location of these chickens, which indicates that the use of RAPD for the s udy of genetic biodiversity is accurate and reliable

คำนำ

ไก่พื้นเมืองเป็นสัตว์คู่สังคมไทยมาแต่โบราณ ดังได้มีการบันทึกอยู่ในวรรณคดีไทยหลายเรื่อง และมีการละเล่นกีฬาชนไก่มาช้านานจวบจนปัจจุบัน นอกจากนั้นไก่พื้นเมืองยังเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญในชนบทของไทย ไก่พวกนี้มีจุดเด่นหลายประการคือ มีสัญชาตญาณในการหลบภัย มีความต้านทานความเครียดจากความร้อน หากินเก่ง และสามารถใช้อาหารที่มีคุณภาพต่ำได้ดีกว่าไก่ที่เลี้ยงแบบอุตรสาหกรรม สามารถต้านทานโรคระบาดที่สำคัญได้หลายโรค เช่น ฝีดาษไก่ อิ วาต์ไก่ และนิวคาสเซิล (เชิดชัย, 2525)

เกษตรกรไทยที่ทำนาทำไร่เป็นหลักในชนบทแทบทุกครัวเรือนก็มีการเลี้ยงไก่กันมาเนิ่นนานแล้ว ไก่ที่เลี้ยงในหมู่บ้านแทบทั้งหมดเป็นไก่พื้นเมือง จำนวนไก่ที่เลี้ยงแต่ละบ้านประมาณ 20 ตัว หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมปศุสัตว์ ได้กำหนดแนวทางพัฒนาการดำเนินงานในช่วงแผนพัฒนาฉบับที่ 8 (2540-2544) ในด้านไก่พื้นเมืองโดยมีโครงการส่งเสริมเกษตรกรรายย่อยเลี้ยงไก่พื้นเมืองเพื่อบริโภค และจำหน่ายในท้องถิ่น (เครือวัลย์, 2531) โดยไก่พื้นเมืองของไทยมีหลายพันธุ์จำแนกตามภูมิปัญญาท้องถิ่น เช่น ไก่ชน ไก่แจ้ ไก่เบตง ไก่คอร่อน ไก่ตะเภา เป็นต้น ซึ่งพันธุ์ต่างๆเหล่านี้มีการอพยพย้ายถิ่นตามการอพยพโยกย้ายของมนุษย์อยู่ตลอดเวลา

ในปัจจุบันการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับไก่พื้นเมืองได้รับความสนใจมากขึ้น จากสถานศึกษาและหน่วยงานราชการต่างๆ กรมปศุสัตว์ได้กำหนดแนวทางพัฒนาการดำเนินงานในช่วง

แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (2540-2544) ในส่วนของไก่พื้นเมือง โดยมีโครงการส่งเสริมเกษตรกรรายย่อยเลี้ยงไก่พื้นเมืองเพื่อบริโภคและจำหน่ายในท้องถิ่น อีกทั้งในแผนวิจัยของกรมปศุสัตว์ด้านความหลากหลายทางชีวภาพ จะมีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมหาดีเอ็นเอ เพื่อเป็นมาตรฐานนำไปสู่การจดทะเบียนพันธุ์ รับรองพันธุ์ การวิจัยและอนุรักษ์พันธุ์ และพัฒนาการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของไก่พื้นเมืองไทย (กรมปศุสัตว์, 2539) อย่างไรก็ตามในภาคเหนือของไทย ก็ยังมีไก่พื้นเมืองดั้งเดิมที่ชาวบ้านเลี้ยงประจำอยู่ตามครัวเรือน รวมทั้งลักษณะภูมิประเทศที่มีภูเขาสลับซับซ้อนมีราษฎรที่เลี้ยงสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองของตนเอง ทั้งหมดนี้ยังไม่มีการรวบรวมข้อมูลความหลากหลายด้านพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในเขตภาคเหนือเหล่านี้ไว้

การตรวจเอกสาร

ไก่พื้นเมืองหรือไก่บ้าน (*Gallus domesticus*) จัดอยู่ใน Family *Phasianiadae* Oder *Galliformes* Class *Aves* ต้นตระกูลมาจากไก่ป่า (*Gallus gallus*) มีถิ่นกำเนิดในเอเชียอาคเนย์รวมทั้งประเทศไทย โดยในประเทศไทยมีไก่ป่า 2 ชนิด คือ ไก่ป่าติ่งหูขาวหรือไก่ป่าอีสาน (Cochin Chinese Red Jungle Fowl) พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและตะวันตก และไก่ป่าติ่งหูแดงหรือไก่ป่าพันธุ์พม่า (Burmese Red Jungle Fowl) พบในภาคเหนือและตะวันออก ซึ่งไก่ป่าติ่งหูแดงนี้เป็นต้นตระกูลของไก่บ้านในปัจจุบัน มนุษย์รู้จักนำไก่ป่าชนิดนี้มาเลี้ยงเป็นไก่บ้านเมื่อหลายพันปีก่อน (Crawford, 1990) และได้แพร่หลายทั่วไปในหลายประเทศ ต่อมาได้มีการปรับปรุงพันธุ์จนกลายเป็นไก่ที่เลี้ยงเพื่อการค้า ในปี ค.ศ. 1864 พบว่ามีสายพันธุ์ไก่บ้านที่ได้รับการบันทึกไว้ 34 พันธุ์ และปัจจุบันพบว่ามีการบันทึกไว้ประมาณ 65 สายพันธุ์ โดย British Poultry Club

ในปี 19 80 FAO ได้จัดตั้งโปรแกรมการจัดการและอนุรักษ์ไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมในสัตว์พันธุ์ต่าง ๆ จุดใหญ่ที่ FAO เน้นคือการอนุรักษ์ไว้ซึ่งพันธุ์เก่าแก่ดั้งเดิม การคงไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรม และการปรับปรุงพันธุ์สัตว์เหล่านั้น (FAO, 1992)

ไก่พื้นเมืองไทยมักจำแนกออกตามลักษะสีขนเป็นหลัก และมีการเรียกชื่อแตกต่างกันไปตามภูมิภาค ในที่นี้จะยกตัวอย่างลักษณะของไก่ไทยที่เป็นที่รู้จักกันดีบางสายพันธุ์ ซึ่งในจำนวนนี้สมาคมอนุรักษ์และพัฒนาไก่พื้นเมืองไทย ได้รับรองพันธุ์ไว้ 7 สายพันธุ์ คือ ไก่นกกรด ไก่นกแดง ไก่ทองแดง ไก่เหลืองหางขาว ไก่ประดู่หางดำ ไก่เทาหางขาว และไก่เขียวหางดำ

ไก่เหลืองหางขาว

ลักษณะเด่นประจำพันธุ์คือ ตัวผู้จะมีขนสร้อยคอ สร้อยปีก และสร้อยหลัง ขนปิดหูเป็นสีเหลือง หางกระลวยคู่กลางขาวปลอด เส้นอื่นๆ เกือบขาวปลอด มีจุดดำอยู่ปลายหาง หางพัดมีสีดำ ปลายหางพัดมีสีขาว มีขนขาวแซมอยู่ 5 แห่ง คือที่ หัว บริเวณท้ายทอยหนึ่ง หัวปีกทั้งสองข้าง และที่ข้อขาทั้งสองข้าง ปากบนมีร่องน้ำ ลูกตาสีเหลืองอ่อนใส เห็นเส้นเลือดชัดในตาขาว เรียกว่า "ตาปลาหมอ" ไก่ตัวเมียพื้นตัวเป็นสีดำ มีสีขาวแซม 5 แห่งเหมือนตัวผู้ หางดำตลอด แต่ส่วนมากจะพบปลายขนพื้นตัวมีจุดขาวอยู่ทั่วไป ปาก แข้ง เล็บ จะมีสีขาวเหลืองคล้ายตัวผู้ ลูกตามีสีเหลืองอ่อน ตาปลาหมอเช่นกัน (วิเชียร, 2542)

ไก่ประดู่หางดำ

ตัวผู้ขนสร้อยคอ สร้อยปีก สร้อยหลัง ขนหูเป็นสีประดู่แบบเม็ดมะขามแห้ง ถ้ามีสีเข้มเรียกว่า ประดู่มะขามไหม้ ถ้าสีอ่อน เรียกว่า ประดู่แดง จะไม่มีขนอื่นแซมเลย หางพัดและหางกระลวยสีดกดำ หางกระลวยพุ่มยาวเป็นฟอน ขนแข้งเป็นมัน ปาก แข้ง เล็บ เดือย เป็นสีน้ำตาล พื้นตัวเป็นสีดำตลอด ตาเป็นสีไพล หนังหน้าอกสีแดง ตัวเมียพื้นตัวมีสีดำ อมน้ำตาลเล็กน้อย ปาก หน้าตา แข่ง เล็บ จะเหมือนตัวผู้ (วิเชียร,2542) บางคนเชื่อว่าแสมดำก็เป็นประดู่หางดำชนิดหนึ่ง (ลิขิต,. 2527; ยอด, 2529)

ไก่เขียวแมลงภู่หางดำ หรือเขียวไข่กา

ลักษณะตัวผู้สร้อยจะเขียวทั้งหมด ขนหูมีสีเขียวอมดำคล้าแมลงภู่ พื้นตัวขนสีดำเป็นมัน หางพัดและหางกะลวยยาวดำ ปาก แข้ง เล็บ สีน้ำตาลอมดำ ตาสีเขียว หรือดำก็มี หน้าหงอนบาง กลางหงอนสูง ท้างหงอนตกกดกระหม่อม ตัวเมียพื้นสีตัวเป็นสีดำ ปลายขนเป็นเงาออกเขียว ปาก แข้ง เล็บ ตา มีสีเดียวกับตัวผู้ (วิรัช, 2534)

ไก่ลายข้าวตอก

ทางภาคกลางเรียกไก่เบี้ย ทางภาคเหนือเรียก ไก่ข่อย ลักษณะตัวผู้ขนสร้อยคอ สร้อยปีก สร้อยหลัง และขนหู เป็นสีลายแบบนกกระทา หรือลายแบบพลีมัทร็อค มีลายขาวปนดำ ปนน้ำตาลและเขียว ปาก แข้ง เล็บ เดือย เป็นสีขาวอมเหลือง หรืออมน้ำตาล สีพื้นตัวเป็นสีลายข้าวตอกหมด ตัวเมียเป็นสีลายข้าวตอกทั้งตัว ปาก แข้ง เล็บ สีเหลือง อมน้ำตาล (วิรัช, 2534)

ไก่สีดอกหมากหางขาว

ลักษณะคล้ายเหลืองหางขาว ต่างกันตรงที่ ตัวผู้สร้อยคอ ปีก หลัง หู เป็นสีขาวอมเหลืองคล้ายสีดอกหมาก หางกะลวยยาวตรงสีขาวเกือบ ปลอด มีสีดำที่ปลายหางเท่านั้น หางพัดสีดำตลอด สีพื้นตัวดำ ปาก แข้ง เล็บ เดือย และก้านขนปีกสีขาว อมเหลือง ตัวเมียพื้นตัวจะเป็นสีดำขนบริเวณสร้อยคอมีสีขาวอมเหลือง คล้ายสร้อยไก่ตัวผู้ (วิเชียร, 2542)

ไก่เขียวเลาหางขาว

ลักษณะคล้ายประดู่เลา ตัวผู้ ขนสร้อยคอ สร้อยหลัง สร้อยปีก และขนหูเป็นสีเขียวลายขาว คือ โคนขนขาว ปลายขนเขียว หางพัดสีดำ ปลายขาว หางกะลวยคู่กลางขาวปลอด คู่อื่นๆ ขาวปลายดำ สีตัวดำอมเขียว ปาก แข้ง เล็บ เดือยสีขาวอมน้ำตาล ตาสีน้ำตาล ตัวเมียพื้นตัวสีดำ โคนขนสีขาว ปลายสีดำ ปาก แข้ง เล็บ ตาสีเดียวกับตัวผู้ (วิเชียร, 2542)

ไก่ทองแดง

ตัวผู้ ขนสร้อยคอ ปีก หลัง หู เป็นสีทองแดง สีพื้นตัวสีทองแดงแบบไก่โรด หางพัดและกะลวยสีดำ ดก และยาว ปาก แข้ง เล็บ สีน้ำตาลออกแดง ตาสีแดง ตัวเมียมีสีทองแดงอ่อนๆ เหมือนสีกาบอ้อย (วิเชียร, 2542)

ไก่แดงนกกรด

ลักษณะคล้ายเหลืองหางขาว แต่สร้อยคอ ปีก หน้าอกจะลาย แดงเหมือนนกกระปูด พื้นตัวสีดำ สีปีกช่วงล่างหรือท่อนปลายมีสีคล้ายแมลงสาบ หางพัดและหางกะลวย สีดำ ตาสีแดง ปาก แข้ง เดือย เล็บ สีน้ำตาล ตัวเมียสีน้ำตาลคล้ายปลายปีกตัวผู้ (วิเชียร, 2542)

ไก่เหลืองโนรี

สร้อยคอ ปีก หลัง เป็นสีเหลืองสด ขนพื้นตัวที่ คอ หน้าอก บริเวณสะโพก ใต้ปีก ใต้หาง เป็นขนสร้อยสีเหลืองสดเหมือนสร้อย คอและสร้อยหลัง พื้นขนส่วนอื่นสีดำ ก้านขนที่เป็น

สร้อยเป็นสีเหลืองอมแดง หางพัดสีดำคล้ายนกกรด แต่ไก่เหลืองโนรี มีก้านขนแดงและสร้อยรอบตัวตัว ปาก แข้ง เล็บ เดือย สีขาวอมเหลือง ขอบเกล็ดเคลือบสีแดงคล้ำ ตาสีเหลืองอมแดง ตัวเมียขนพื้นตัวสีดำก้านออกสีเหลืองแดงคล้ายตัวผู้ (วิเชียร, 2542)

ไก่เทา

แบ่งเป็น 3 ชนิดคือ

เทาหม้อ หรือเทาดำ หรือเทาขี้ควาย สร้อยต่างๆ สีประดู่ปนดำ หางกะลวยสีเทาดำ หางพัดเทาปนดำ ปากและหน้าแข้งสีตะกั่วตัด

เทาขาวหรือ เทาขี้เถ้า พื้นตัวสีเทา ขนสร้อย ปีก หลัง หู สะเทาอ่อน หางพัดเทา หางกะลวยขาว ปาก แข้ง เล็บ สีขาว

เทาเหลือง บางทีเรียก เคราฤาษี สร้อยต่างๆ สีเหลือง พื้นตัวสีเทา หางพัดสีเทา หางกะลวยสีขาว ปากแข้ง เล็บ สีขาว ไก่เทาตัวเมีย จะมีสีเทาเหมือนสีพื้นตัวผู้ (วิเชียร, 2542)

พันธุ์ไก่ตะเภาทองและไก่ตะเภา

สันนิษฐานว่าเป็นไก่ที่มีถิ่นกำเนิดจากประเทศจีน เข้าใจว่าเป็นไก่ที่ติดมากับเรือสำเภาจีนที่มาค้าขายกับไทย ในสมัยรัชกาลที่ 5 ถึงรัชกาลที่ 6 ซึ่งคำว่า ตะเภา น่าจะมาจาก สำเภา ไก่ตะเภาทองเป็นไก่ที่มีความสวยงามมาก มีขนาดใหญ่ ขนอ่อนนุ่มละเอียด สีทอง มีขนหน้าแข้งและหงอนที่มีลักษณะเป็นหงอนหิน ส่วนไก่ตะเภามีรูปร่างและขนาดคล้ายไก่ตะเภาทอง แต่มีหงอนชบาหรือหงอนจักรเหมือนไก่แจ้ น้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 2 กิโลกรัม รูปร่างเตี้ยล่ำ ไก่ตะเภาและตะเภาทองมีเนื้อนุ่ม รสหวาน (ดำรง, 2542)

พันธุ์ไก่คอล่อน

ไก่คอล่อนเป็นไก่ที่มีรูปร่างลักษณะหลายส่วนคล้ายไก่บ้านทั่วไป แต่จะมีลักษณะพิเศษที่แตกต่างได้แก่ ที่บริเวณคอไปถึงหัวไม่มีขน (คอล่อน) ตรงบริเวณหัวจะมีขนเป็นกระจุกคล้ายหมวก และบริเวณต้นคอทั้งซ้ายและขวาจะมีปอยขนอยู่ข้างละกระจุกเล็กๆ โคนขนมักมีสีดำทั้งตัวเป็นส่วนใหญ่ บริเวณหน้าอก หน้าขา หลัง ไม่มีขน รูปทรงคล้ายไก่อูแต่มีลักษณะเด่นกว่า คือ หน้าอกกว้างเป็นมัดใหญ่ (ดำรง, 2542)

พันธุ์ไก่เบตง

ไก่เบตงมีลักษณะคล้ายไก่จีน เพราะขนไม่กอดกับลำตัวเหมือนไก่บ้าน ลักษณะรูปร่าง มีหงอนเดี่ยว ขนสีเหลืองอ่อนทั้งตัว ตัวผู้เมื่อยังเล็กขนงอกช้า โตเต็มที่มีขนเต็มตัว หงอนจักรตั้งตรง มี

ตุ้มหู อกกว้างแข็งแรง เกล็ดเป็นมันวาวและมีสีเหลือง ส่วนตัวเมีย มีหงอนจักรเล็ก ไม่มีตุ้มหู ตาโปน แจ่มใส หางสั้นกลมมนเป็นจุกเกล็ดเป็นมันวาวสีเหลืองอ่อนวางเป็นระเบียบ (ประจิม, 2531; สังวาล , 2533; ทวี และอรพิน, 2538)

พันธุ์เก้าชั่ง

เป็นไก่ที่มีขนาดใหญ่ ชื่อเก้าชั่งนั้นมาจากที่มีน้ำหนักตัวถึง 9 ชั่ง (แต่ละชั่งหนัก 6 ขีดหรือ 600 กรัม) ซึ่งหนักมากถึง 5,400 กรัม ลักษณะทั่วไปมีหงอนเดี่ยวขนาดใหญ่ เหนียงใหญ่ยาน โครงร่างใหญ่ดูอุ้ยอ้าย สีขนไม่แน่นอน เป็นไก่ที่มีถิ่นฐานเดิมในประเทศมาเลเซีย (ดำรง, 2542)

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยโปรตีนและลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสัตว์เป็นผลที่เกิดมาจากการกลายพันธุ์ (Mutation) ของสารพันธุกรรม ซึ่งสะสมและผ่านวิวัฒนาการมายาวนาน จนสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่ม พวก สายพันธุ์ หรือพันธุ์ เมื่อนำมาจัดจำแนกพันธุกรรมก็จะทราบว่าสัตว์ดังกล่าวมีความสัมพันธ์ หรือมีวิวัฒนาการมาจากสัตว์กลุ่มใดเป็นต้น เทคนิคที่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกพันธุกรรม เช่น DNA Fingerprint, Restriction Fragment Length Polymorphism, Protein Polymorphism, Random Amplified Polymorphic DNA, Microssatellite Polymorphism และ Polymerase Chain Reaction (Dunnington, et al., 1994; Zhang et al., 2002)

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมมักศึกษาโดยความแตกต่างของโปรตีน (protein polymorphism) ซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างของสารพันธุกรรม (genetic polymorphism) นั่นเอง หรือศึกษาความแตกต่างกันทางพันธุกรรม หรือยีนส์ โดยตรง ยกตัวอย่างเช่น Zhang et a .(2002) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พันธุ์พื้นเมืองจีน โดยใช้ Protein Polymorphism เปรียบเทียบกับวิธี genetic polymorphism (เช่นวิธี RAPD, Microsatellite Polymorphism) พบว่าวิธี Protein Polymorphism ไม่แสดงถึงความแตกต่างระหว่างไก่พันธุ์ พื้นเมืองจีนกับไก่พันธุ์เนื้อจากต่างประเทศ โดยมีความแตกต่างทางนัยสำคัญน้อยระหว่างไก่ทั้งสอง พันธุ์ ส่วนวิธี RAPD ชี้ให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมที่สูงในไก่พันธุ์พื้นเมืองจีน ปาน กลางในไก่พันธุ์เนื้อ และต่ำในไก่พันธุ์ไข่ มีความแตกต่างกันเล็กน้อยระหว่างไก่พันธุ์พื้นเมืองจีนกับ ทั้งไก่พันธุ์เนื้อและพันธุ์ไข่ ส่วนวิธี Microsatellite Polymorphism ความหลากหลายทางพันธุกรรมมี สูงในไก่พันธุ์พื้นเมืองจีน แต่ต่ำในไก่พันธุ์ไข่ นอกจากนี้ไก่พันธุ์พื้นเมืองจีนยังมีความสัมพันธ์กัน อย่างใกล้ชิดกับไก่พันธุ์เนื้อ แต่มีความสัมพันธ์กันแบบห่าง ๆกับไก่พันธุ์ไข่

Khatib et al (1998) พบว่าวิธี direct PCR เป็นวิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดไก่เพื่อศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธี Microsatellite วิธี direct PCR ถูกใช้เพื่อจัดการกับความผันแปรของค่า Hematocrit ในไก่แต่ละตัว และถูกใช้เพื่อลดขั้นตอนของการเตรียมดีเอ็น.อ จากการศึกษาถึงความถี่ของ Polymorphic allele ของเซลล์เม็ดเลือดแดงไก่ทั้งแบบสดและแบบแช่แข็ง พบว่ามีค่าที่เหมือนกัน โดยค่าที่ได้มาจากการคำนวณความถี่ของแต่ละยีน เมื่อจะนำแบบแช่แข็งมาใช้ควรทำให้ละลายเสียก่อน

Zhou และ Lamont (1999) ได้ใช้ microsatellite ในการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสายพันธ์ของไก่ 23 สายพันธุ์ที่มีต้นตระกูลจากไก่เล็กฮอร์น และไก่ป่า พบว่าเป็นวิธีที่เหมาะสมและแม่ยำสุง Siegel et al (1992) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของไก่ป่าและไก่พื้นบ้าน โดยวิธีการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อสำรวจถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมในกลุ่มของไก่ป่าและไก่พื้นบ้าน ซึ่งสามารถอธิบายถึงแหล่งที่มาเมื่อหลายสิบปีก่อนจนถึงปัจจุบันของไก่พันธุ์เนื้อและไก่พันธุ์ไข่ได้ พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างไก่ป่าและไก่พันธุ์ไข่ และก็เป็นความแตกต่างที่เหมือนกับความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างไก่ป่าและไก่พันธุ์เนื้อเช่นกัน ยังพบอีกว่าไก่สายพันธุ์ทางการค้าในปัจจุบันมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พันธุ์เนื้อน้อยกว่าไก่พันธุ์ไข่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสำรวจความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทย
2. เพื่อจัดจำแนกและแบ่งกลุ่มของพันธุ์ไก่พื้นเมือง
3. เพื่อเป็นการใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ไก่พื้นเมือง

วัน เวลา และสถานที่ทำการวิจัย

เวลา เริ่มดำเนินการ เดือน มีนาคม 2543
เสร็จสิ้น เดือน มีนาคม 2545

สถานที่ ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
หมู่บ้านในเขตจังหวัดภาคเหนือ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการรวบรวมข้อมูลและหมวดหมู่ของความหลากหลายทางพันธุกรรมในไก่พื้นเมือง
2. เป็นการปกป้อง อนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทย
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวิจัยต่อไป

อุปกรณ์การทำวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1 Operon Primer Kit แสดงในตารางที่ 2 ส่วนสารเคมีที่ใช้และการเตรียม แสดงในภาคผนวก

ตารางที่ 1 แสดงรายชื่อและแหล่งที่มาของอุปกรณ์

ชื่อ	แหล่ง
เครื่องช่วยผสม (Touch Mixer)	Kika ; Malaysia
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง	Mettler toledo ; Switzerland
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	Mettler toledo ; Switzerland
เครื่องช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ	Perkin elmer ; USA
เครื่องหมุนเหวี่ยง	Hettich : Germany
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง	Genesys ^{TM}2 ;USA
เครื่องมือดูดสารละลาย	Gilson : France
เครื่องให้ความร้อน (Heater)	Kika ; Germany
ชุดอิเลคโตรโฟรีซีส	Phamacia ; Sweden
ตู้อบฆ่าเชื้อ	Memmert ; Germany
หม้อนึ่งความดันไอน้ำ	Hirayama ; Japan
เครื่องแก้ว	Pyrex ; USA, Duran ; Germany
ทิป	Gilson ; France
เครื่องฉายแสงอุลตราไวโอเลต	
หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร	Brand ; Germany
หลอดทดลองขนาด 0.2 มิลลิลิตร	Sorenson ; USA
pH meter	Cyberscan ; Singapore
เข็มฉีดยา	
ไซริงค์	
หลอดเก็บตัวอย่างเลือด	Plastibrand, Germany
กล้องโพลารอยด์	Polaroid Gel Cam, USA
กล้องถ่ายรูป	Nikon, Japan

ตารางที่ 2 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ชุด OPB ที่ใช้ในการวิจัย

หมายเลขไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'-3')
OPB-01	GTTTCGCTCC
OPB-02	TGATCCCTGG
OPB-03	CATCCCCCTG
OPB-04	GGACTGGAGT
OPB-05	TGCGCCCTTC
OPB-06	TGCTCTGCCC
OPB-07	GGTGACGCAG
OPB-08	GTCCACACGG
OPB-09	TGGGGGACTC
OPB-10	CTGCTGGGAC
OPB-11	GTAGACCCGT
OPB-12	CCTTGACGCA
OPB-13	TTCCCCCGCT
OPB-14	TCCGCTCTGG
OPB-15	GGAGGGTGTT
OPB-16	TTTGCCCGGA
OPB-17	AGGGAACGAG
OPB-18	CCACAGCAGT
OPB-19	ACCCCCGAAG
OPB-20	GGACCCTTAC

วิธีการวิจัย

1. วางแผนการสำรวจเก็บข้อมูล
2. เก็บตัวอย่างเลือด และข้อมูล
3. วิเคราะห์ DNA เพื่อตรวจสอบความเหมือน (similarity) ทางพันธุกรรม
4. รวบรวมข้อมูลและเสนอผลงานวิจัย

การเก็บตัวอย่างเลือดไก่เพื่อสกัดดีเอ็นเอ

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดไก่พื้นเมือง 59 ตัวอย่างเพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ (ดังตารางที่ 3) จาก 24 อำเภอใน 8 จังหวัด ได้แก่ จาก 2 ถิ่นอาศัยในจังหวัด ลำพูน คือจากอำเภอเมือง 6 ตัวอย่าง และจากอำเภอป่าซาง 3 ตัวอย่าง 2 ถิ่นอาศัยในจังหวัดลำปาง คือจากอำเภอเกาะคา 3 ตัวอย่าง และจากอำเภอแม่ทา 4 ตัวอย่าง 2 ถิ่นอาศัยในเชียงราย คือจากอำเภอแม่สาย 5 ตัวอย่าง และจากอำเภอเมือง 1 ตัวอย่าง 5 ถิ่นอาศัยในจังหวัด พะเยา คือจากอำเภอจุน 2 ตัวอย่าง จากอำเภอเมือง 3 ตัวอย่าง จากอำเภอภูกามยาว 1 ตัวอย่าง จากอำเภอปง 5 ตัวอย่าง จากอำเภอแม่สะเรียง 1 ตัวอย่าง และจากอำเภอเชียงคำ 5 ตัวอย่าง 1 ถิ่นอาศัยในจังหวัด แพร่คือ จากอำเภอเมือง 1 ตัวอย่าง 4 ถิ่นอาศัยในจังหวัด น่านคือจากอำเภอปัว 2 ตัวอย่าง จากอำเภอท่าวังผา 1 ตัวอย่าง จากกิ่ง อ.ภูเพียง 1 ตัวอย่าง และจากอำเภอเมือง 3 ตัวอย่าง 4 ถิ่นอาศัยในจังหวัด แม่ฮ่องสอน คือจากอำเภอเมือง 4 ตัวอย่าง จากอำเภอแม่สะเรียง 1 ตัวอย่าง จากอำเภอแม่ลาน้อย 1 ตัวอย่าง จากอำเภอสบเมย 1 ตัวอย่าง และ 4 ถิ่นอาศัยในจังหวัด เชียงใหม่ คือจากอำเภอเมือง 1 ตัวอย่าง จากอำเภอแม่แตง 1 ตัวอย่าง จากอำเภอแม่อาย 1 ตัวอย่าง จากอำเภอสันทราย 3 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 59 ตัวอย่าง การเก็บเลือดโดยทำโดยการเจาะบริเวณ wing vein ด้วยเข็มเบอร์ 21 ขนาด 1 นิ้ว และเก็บเจือดในหลอดสะอาดที่มีสารกันการแข็งตัวของเลือด .ทำการแช่ตัวอย่างเลือดในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งเพื่อนำกลับมาสกัด ดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการต่อไป

ตารางที่ 3 แสดงที่มาของไก่พื้นเมืองภาคเหนือจากแหล่งต่าง ๆ

รหัส	อำเภอ	จังหวัด	อายุ (เดือน)	นน	ความยาวแข้ง(ซม)	ความยาวปีก(ซม)
chick0	เมือง	ลำพูน	12	2100	8	19
chick0	เมือง	ลำพูน	12	1.9	7	18.5
chick0	เมือง	ลำพูน	12	1.8	7.6	16
chick0	ป่าซาง	ลำพูน	24	2.1	8	20
chick0	ป่าซาง	ลำพูน	8	1.9	6.5	17
chick0	ป่าซาง	ลำพูน	12	1.1	6	15
chick0	เกาะคา	ลำปาง	15	2.8	7	21
chick0	เกาะคา	ลำปาง	12	2.7	7	19
chick0	เกาะคา	ลำปาง	24	3	7	20
chick1	แม่ทา	ลำปาง	12	1.8	5.5	17
chick1	แม่ทา	ลำปาง	16	2.7	7.5	19
chick12	แม่ทา	ลำปาง	36	2.2	7	18
chick13	แม่ทา	ลำปาง	24	1.2	4	13
chick14	แมสาย	เชียงราย	15	2.3	7	18
chick15	แมสาย	เชียงราย	24	1.9	6	16
chick16	แมสาย	เชียงราย	8	2.3	7	18
chick17	เมือง	เชียงราย	18	2.2	6	19
chick18	เมือง	พะเยา	11	1.9	6.5	9
chick19	เมือง	พะเยา	3	1	5	16
chick20	เมือง	พะเยา	24	2	5.5	18
chick21	ภูกามยาว	พะเยา	24	2.9	5	17
chick22	จุน	พะเยา	13	2.2	6.5	19
chick23	จุน	พะเยา	36	3	6.5	19
chick24	เชียงคำ	พะเยา	24	3.1	7.5	20
chick25	เชียงคำ	พะเยา	1.6	2.4	5.5	18
chick26	เชียงคำ	พะเยา	12	2	5.2	18
chick27	เชียงคำ	พะเยา	12	2.8	5.5	17
chick28	เชียงคำ	พะเยา	12	1.9	4.3	17
chick29	กิ่ง อ.ภูซาง	พะเยา	12	0.4	2.5	8
chick30	กิ่ง อ.ภูซาง	พะเยา	2.6	0.4	2	8

CHICK 01

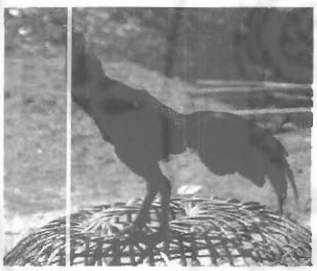
CHICK02

CHICK 03

CHICK 04

CHICK05

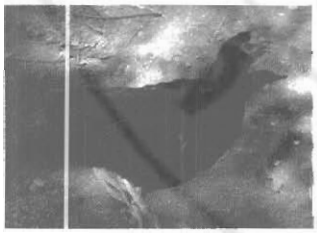
CHICK 06



CHICK 07

CHICK 08

CHICK09



CHICK10

CHICK11

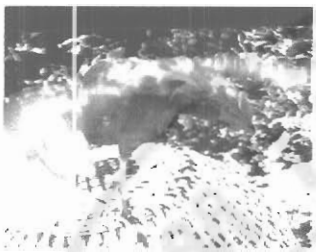
CHICK 12

ภาพที่ 1 แสดงภาพไก่พื้นเมืองที่ทำการเก็บตัวอย่าง รายละเอียดของชื่อย่อดูใน ตารางที่ 3

CHICK13

CHICK14

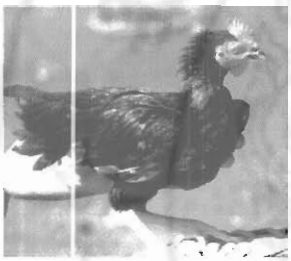
CHICK 15



CHICK16

CHICK17

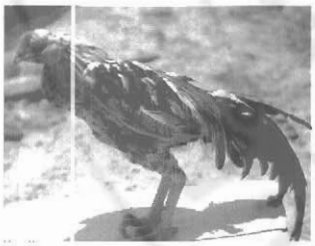
CHICK18



CHICK19

CHICK20

CHICK21



CHICK22

CHICK23

CHICK24

CHICK25

CHICK26

CHICK27

ภาพที่ 1 (ต่อ)

CHICK28

CHICK29

CHICK30

CHICK31

CHICK32

CHICK33

CHICK34

CHICK35

CHICK36

CHICK37

CHICK38

CHICK39

CHICK40

CHICK41

CHICK42

ภาพที่ 1 (ต่อ)

CHICK43

CHICK44

CHICK45

CHICK46

CHICK47

CHICK48

CHICK49

CHICK50

CHICK51

CHICK52

CHICK53

CHICK54

ภาพที่ 1 (ต่อ)

CHICK55

CHICK56

CHICK57

CHICK58

CHICK59

ภาพที่ 1 (ต่อ)

การสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอจากเลือดไก่ทำตามวิธีของ Petitte *et al* .(1994) ขั้นตอนคือ เจาะเลือดไก่จากบริเวณเส้นเลือดดำบริเวณปีก เก็บในหลอดเก็บเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งตัว (EDTA) แบ่งเลือดมา 50 µl แล้วเจือจางด้วย PBS 1 ml นำสารละลายเลือดที่ได้นี้ 0.6 ml ย้ายลงหลอดใหม่เติม lysis buffer (10 mM Tris HCl, pH 7.5, 5mM MgCl2, 0.32 M Sucrose และ 1% Triton X-100) ทำการ vortex เล็กน้อย แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ด้วยความเร็ว 10,000 g เป็นเวลา 5 วินาที ทิ้งส่วนที่เป็นสารละลายข้างบนไป และทำการเจือจางตะกอนใหม่ด้วย lysis buffer 1 ml ผสมให้เข้ากันดีโดยการ vortex แล้วจึงนำสารละลายที่ได้ไปปั่นใหม่ แล้วเทส่วนสารละลายทิ้ง นำตะกอนที่ได้ไปเติม TEN 1 ml (0.01 Tris-HCl, pH, pH 8.0, 2 mM EDTA และ 0.4 M NaCl) ดีดหลอดให้ตะกอนละลาย เติม proteinase K (10 mg/ml) และ 50 µl sodium dodecyl sulfate 10 % (w/v) นำส่วนผสมไปอุ่นที่ 37 C ข้ามคืน โดยเขย่าเบาๆ เมื่อโปรตีนถูกย่อยหมดแล้วให้เติม NaCl อิ่มตัวจำนวน 250 µl แล้วเขย่าแรงๆ ก่อนที่จะนำไปปั่น ที่ 10,0000 x g เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายข้างบนประมาณ 1 ml ไปตกตะกอนด้วย absolute ethanol

ด้วยปริมาตร 2 เท่า แล้วนำตอน ดีเอ็นเอที่ได้ ล้างด้วย ethanol 70 % สลับกับ ethanol 100 % 5 ครั้ง ปล่อยให้ดีเอ็นเอที่ได้ แห้งในอากาศ แล้วละลายด้วย Tris –EDTA buffer (10 mM Tris-HCl, 0.2 mM EDTA, pH 8.0)

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธี Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

ดีเอ็นเอที่ได้นำมาเพิ่มปริมาณของชิ้นส่วนในปฏิกริยา PCR โดยต้องหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการทำปฏิกริยาซึ่งในการวิจัยครั้งนี้สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ มีดังนี้

Deionize Water	3.42	µl
10X PCR buffer	1.00	µl
Primer (5 pmol/µl)	1.00	µl
50 mM $MgCl_2$	0.38	µl
dNTPs (100 µM each)	0.10	µl
Taq DNA Polymerase (5 units/µl)	0.10	µl
DNA Template (10 ng/µl)	4.00	µl
ปริมาตรรวม	10.0	µl

ส่วนผสมทั้งหมดถูกบรรจุในหลอดทดลองขนาด 0.2 ml ดีดหลอดทดลองเบา ๆ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วต่ำด้วยเวลาสั้นๆ จากนั้นนำไปใส่ในเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Perkin Elmer) โดยใช้โปรแกรมระดับความร้อนดังแสดงใน **ตารางที่** 4

ตารางที่ 4 แสดงภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

	จำนวนรอบ		
ขั้นตอน	1	40	1
Pre-denaturation	94 °C : 2 นาที		
Denaturation		92 °C : 45 วินาที	
Annealing		36 °C : 1 นาที	
Extention		72 °C : 2 นาที	
Post-extension			72 °C : 5 นาที

การตรวจสอบดีเอ็นเอ

นำดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่อง PCR มาทำการตรวจสอบโดยวิธีอิเลคโตรโฟรีซีส ดังนี้

1. นำผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มปริมาณ DNA โดยผสมกับ 2X TE Dye ผสมให้เข้ากัน

2. ทำการละลายผงวุ้น Agarose gel ด้วย TBE buffer ให้ได้ความเข้มข้น 1.6 % แล้วหลอมเหลวด้วยความร้อน นำวุ้นที่ละลายแล้วเทลงในแบบพิมพ์ เมื่อแห้งวางลงบนชุด อิเลคโตรโฟรีซีส เติม TBE buffer ให้ท่วมวุ้นเล็กน้อย ฉีด DNA ที่ได้ลงในหลุมบนวุ้น

3. ผ่านกระแสไฟฟ้าบนวุ้น โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 80 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง

4. เมื่อทำอิเลคโตรโฟรีซีสเสร็จแล้ว นำวุ้นไปแช่ใน 10 mg/ml Ethidium Bromide เป็นเวลา 10 นาที

5. ทำการบันทึกภาพด้วยกล้องโพลาลอยด์ภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต

การวิเคราะห์ DNA จาก PCR เพื่อตรวจสอบความแตกต่าง (dissimilarity) ทางพันธุกรรม

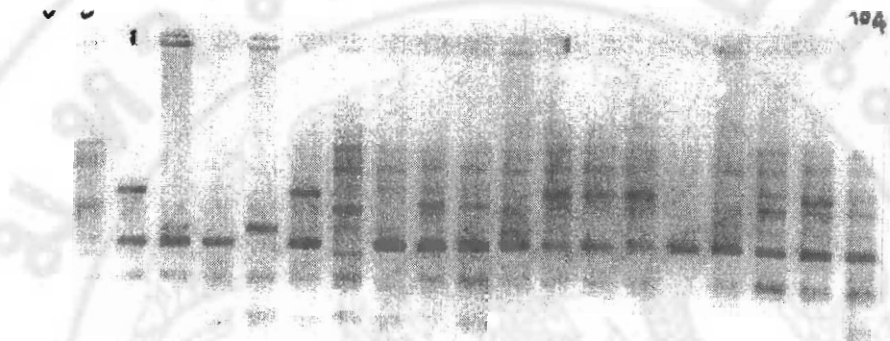
ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ แปรผลได้จากการบันทึกแตกต่างของแถบดีเอ็นเอซึ่งเป็นผลิตผลของ PCR โดยพิจารณาจากการปรากฏของแถบของดีเอ็นเอบนเจลให้ค่าเท่ากับ 1 และการไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งเดียวกัน ให้ค่าเท่ากับ 0 primer ใดที่ให้แถบไม่ถึง 75 % ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมดจะไม่นำมาใช้ในการคำนวณ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลและจัดกลุ่มความแตกต่างทางพันธุกรรม โดยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SAS โดยทำคำนวณหาระยะห่างทางพันธุกรรมของไก่แต่ละคู่ด้วยวิธี Jaccard's dissimilarity coefficient

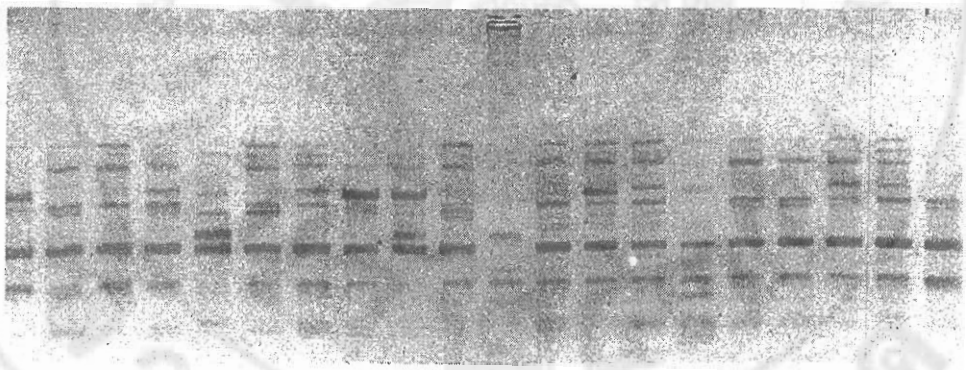
จากข้อมูลความแตกต่างทางพันธุกรรม นำมาจัดกลุ่มโดย Cluster analysis คำนวณตามวิธี Ward's minimum variance method (Ward, 1963) ซึ่งผลที่ได้อยู่ในรูป Dendrogram

ผลของการวิจัย

จากจำนวนตัวอย่างดีเอ็นเอไก่พื้นเมือง 59 ตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบด้วย random primer เพื่อหาลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ จำนวน 20 primer พบว่ามี 17 primer ที่ polymorphic สามารถใช้ในการจำแนกลายพิมพ์ดีเอ็นเอไก่ที่นำมาตรวจได้ โดยprimer OPB 11 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอที่อ่านได้สูงสุด 8 แถบ (ตารางที่ 5)



chick 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38



Chick 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59

ภาพที่ 2 ตัวอย่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอในไก่ที่เกิดจากการใช้ RAPD primer OPB08

ตัวอย่างของแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของไก่พื้นเมืองโดยใช้ไพรเมอร์ Operon Kit B (B01-B20) แสดงใน ภาพที่ 2 เมื่อทำการอ่านผลลายพิมพ์จะได้ดังตารางที่ 6 ผลที่เป็นเลข 1 ในตารางหมายถึงบนเจลที่นำมาตรวจปรากฏแถบ ดีเอ็นเอ เลข 0 หมายถึงไม่ปรากฏแถบ ดีเอ็นเอ

ตารางที่ 5 แสดง primer ที่ใช้ในการหาลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ และแถบดีเอ็นเอที่เกิดจาก PCR

ชื่อ primer	ชื่อแถบดีเอ็นเอที่เกิด
OPB01	B011B012, B013, B014, B015
OPB02	B021, B022, B023, B024, B025, B026
OPB03	B031, B032, B033, B034, B035
OPB04	B041, B042,B043, B044, B045
OPB05	B051, B052, B053, B054, B055
OPB06	B061, B062, B063, B064, B065, B066
OPB07	B071, B072, B073, B074
OPB08	B081, B082, B083, B084, B085
OPB09	B091, B092, B093, B094
OPB11	B111, B112, B113, B114, B115, B116, B117, B118
OPB12	B121, B122, B123, B124, B125
OPB13	B131 B132,B133, B134, B135, B136, B137
OPB14	B141 B142, B143, B144, B145
OPB15	B151, B152, B153, B154, B155, B156
OPB16	B161, B162, B163, B164, B165
OPB19	B191, B192, B193, B194
OPB20	B201, B202, B203, B204

ผลจากตารางที่ 6 เมื่อนำไปคำนวณหาระยะห่างทางพันธุกรรมของไก่แต่ละคู่ ด้วยวิธี Jaccard's dissimilarity coefficient ในโปรแกรมย่อย (มาโคร) ของ SAS ที่ชื่อว่า the Distance Macro (Kuo, A., 1997) ผลของระยะห่างทางพันธุกรรมในตาราง dissimilarity matrix ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 6 แถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของไก่พื้นเมือง (chick 01 – chick 61) โดยใช้ไพรเมอร์ Operon Kit B (B01- B20) การตั้งชื่อ loci ใช้ชื่อไพรเมอร์ (ตัวอักษรสามตำแหน่ง) ตามด้วยตำแหน่งของ locus เช่น B012 หมายถึง loci2 เกิดจากไพรเมอร์ B01 เลข 1 หมายถึงปรากฏแถบ ดีเอ็นเอ เลข 0 หมายถึงไม่ปรากฏแถบ ดีเอ็นเอ . หมายถึงไม่มีข้อมูล

loci	chick01	chick02	chick03	chick04	chick05	chick06	chick07	chick08	chick09	chick10	chick11	chick12	chick13	chick14	chick15	chick16	chick17	chick18	chick19	chick20	chick21	chick22	chick23	chick24	chick25	chick26	chick27	chick28	chick29	chick30	chick31	chick32	chick33	chick34	chick35	chick36	chick37	chick38	chick39	chick40	chick41	chick42	chick43	chick44	chick45	chick46	chick47	chick48	chick49	chick50	chick51	chick52	chick53	chick54	chick55	chick56	chick57	chick58	chick59
B011	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	.	
B012	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.
B013	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	
B014	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	
B015	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	.	.
B021	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	0		1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
B022	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	0		1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
B023	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
B024	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	.	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
B025	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	.	1	1	1	1		1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
B026	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0		1	0	1	0	.	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
B031	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1		1	1	.	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
B032	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	1	1		1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
B033	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	.	0	1		1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
B034	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	.	0	1		1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1
B035	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	.	0	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1
B041		0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
B042		1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
B043	.	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0		1	0	1	1	0	1	1	1	1	0		1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1
B044	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0		1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B045		0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0		1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0
B061	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1			1	1	1	1	1		1	1	1		1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
B052	1	1	0	1	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1	1		1	1	1		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B053	1	1	0	0		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1	1	1	1	1		1	1	1		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0

Loc	chick01	chick02	chick03	chick04	chick05	chick06	chick07	chick08	chick09	chick10	chick11	chick12	chick13	chick14	chick15	chick16	chick17	chick18	chick19	chick20	chick21	chick22	chick23	chick24	chick25	chick26	chick27	chick28	chick29	chick30	chick31	chick32	chick33	chick34	chick35	chick36	chick37	chick38	chick39	chick40	chick41	chick42	chick43	chick44	chick45	chick46	chick47	chick48	chick49	chick50	chick51	chick52	chick53	chick54	chick55	chick56	chick57	chick58	chick59
B054	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	.	0	0	0	.	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B055	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	.	.	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
B061	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B062	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B063	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B064	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B065	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B066	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B071	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B072	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B073	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B074	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B081	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B082	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B083	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B084	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B085	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B091	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B092	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B093	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B094	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B111	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B112	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B113	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B114	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B115	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B116	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 6 (ต่อ)

Loci	chick01	chick02	chick03	chick04	chick05	chick06	chick07	chick08	chick09	chick10	chick11	chick12	chick13	chick14	chick15	chick16	chick17	chick18	chick19	chick20	chick21	chick22	chick23	chick24	chick25	chick26	chick27	chick28	chick29	chick30	chick31	chick32	chick33	chick34	chick35	chick36	chick37	chick38	chick39	chick40	chick41	chick42	chick43	chick44	chick45	chick46	chick47	chick48	chick49	chick50	chick51	chick52	chick53	chick54	chick55	chick56	chick57	chick58	chick59
B117	1	1	1	0	1	1	.	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
B118	1	0	0	1	1	1	.	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1
B121	1	1	.	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	.	1	1	1	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
B122	0	0	.	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	.	0	0	0	.	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
B123	1	0	.	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	.	0	0	0	.	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0
B124	1	1	.	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	.	1	0	0	.	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
B125	0	1	.	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	.	0	1	1	.	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
B131	0	0	0	.	0	0	0	0	1	.	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
B132	0	0	0	.	0	0	1	1	1	.	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
B133	1	0	0	.	0	0	0	0	1	.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
B134	1	0	0	.	0	0	0	0	0	.	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
B135	0	0	0	.	0	0	0	0	1	.	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
B136	0	0	0	.	0	1	0	0	0	.	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B137	1	0	0	.	0	1	0	1	1	.	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
B141	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	.	.	1	1	.	1	1	.	.	1	.	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
B142	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	.	.	0	0	.	0	0	.	.	0	.	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
B143	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	.	.	0	0	.	0	0	.	.	0	.	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1
B144	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	.	.	0	0	.	0	0	.	.	0	.	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0
B145	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	.	.	0	0	.	0	0	.	.	0	.	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
B151	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
B152	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
B153	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1
B154	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B155	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1
B156	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B161	1	0	.	0	.	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	.	1	1	1	1	1	.	1	1	1	.	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	.	.	0	1	0	0

ตารางที่ 6 (ต่อ)

Loci	chick01	chick02	chick03	chick04	chick05	chick06	chick07	chick08	chick09	chick10	chick11	chick12	chick13	chick14	chick15	chick16	chick17	chick18	chick19	chick20	chick21	chick22	chick23	chick24	chick25	chick26	chick27	chick28	chick29	chick30	chick31	chick32	chick33	chick34	chick35	chick36	chick37	chick38	chick39	chick40	chick41	chick42	chick43	chick44	chick45	chick46	chick47	chick48	chick49	chick50	chick51	chick52	chick53	chick54	chick55	chick56	chick57	chick58	chick59
B162	0	0		0		0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0		0	0	0	1	0		1	1	1		1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		.	0	0	0	1
B163	1	0		1		1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1		1	1	1	1	1		1	1	1		1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0			1	0	0	1
B164	0	0		0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		0	0	1	0	0		0	0	0		0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0			0	1	0	0
B165	0	1		1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	0	1		1	1	1	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		.	0	1	1	1
B191	0	0	.	0		0	0	0	1	0	.	1	1	0	0		1	0	0	0	0	1	1		1	0	0		0		1	1	0		1	0	0	0	.	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
B192	1	0	.	1	.	0	0	1	1	1	.	1	1	1	1		0	1	1	0	1	1	1		0	1	0		0		1	1	1		1	1	1	1	.	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1
B193	1	0		1	.	0	0	0	0	1		0	1	0	1		0	1	0	0	0	0	0		0	0	0		0		0	1	0	.	0	0	0	1		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
B194	1	1	.	1	.	1	1	1	0	0		0	0	1	1		1	1	0	1	1	0	1		1	0	1		1		1	1	0	.	1	0	0	1	.	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0
B201	1	1			.	1	1	1	1	1		1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	.	0	1	1	0	0
B202	1	1			.	1	1	1	1			1	1	1	1	.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	.	0	0	1	0	0
B203	0	0				0	0	0	0	0		0	0	0	0		0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	.	1	1	0	1	1
B204	0	0	.			0	0	0	0	0		0	0	0	0		0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	.	0	0	1	0	0

ตารางที่ 7 แสดงค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (dissimilarity matrix) ของประชากรไก่พื้นเมือง แหล่งในภาคเหนือของประเทศไทย

CHICK	CHICK01	CHICK02	CHICK03	CHICK04	CHICK05	CHICK06	CHICK07	CHICK08	CHICK09	CHICK10	CHICK11	CHICK12
chick01	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick02	0.39286	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick03	0.53846	0.46154	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick04	0.34615	0.37037	0.31818	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.
chick05	0.50000	0.36842	0.44444	0.29412	0.00000	.	.	.	.	.	.	.
chick06	0.31034	0.27586	0.38462	0.29630	0.45455	0.00000	.	.	.	.	.	.
chick07	0.17857	0.39394	0.50000	0.41935	0.52000	0.22581	0.00000	.	.	.	.	.
chick08	0.43750	0.36364	0.54839	0.52941	0.61538	0.40000	0.36111	0.00000	.	.	.	.

CHICK	CHICK01	CHICK02	CHICK03	CHICK04	CHICK05	CHICK06	CHICK07	CHICK08	CHICK09	CHICK10	CHICK11	CHICK12
chick09	0.34375	0.41667	0.54545	0.48571	0.62069	0.36111	0.32432	0.29730	0.00000	.	.	.
chick10	0.36667	0.31250	0.44828	0.43750	0.56000	0.40000	0.36111	0.33333	0.29730	0.00000	.	.
chick11	0.22222	0.34375	0.44828	0.41935	0.53846	0.28125	0.24242	0.36111	0.22857	0.26471	0.00000	.
chick12	0.30000	0.47222	0.51613	0.50000	0.64286	0.37143	0.33333	0.30556	0.22222	0.39474	0.28571	0.00000
chick13	0.40625	0.42857	0.56250	0.50000	0.62963	0.41667	0.42105	0.35135	0.22222	0.35135	0.33333	0.22857
chick14	0.38235	0.43243	0.55882	0.50000	0.63333	0.33333	0.29730	0.22222	0.23684	0.31579	0.29730	0.24324
chick15	0.38235	0.40541	0.57143	0.47222	0.62069	0.35135	0.31579	0.24324	0.25641	0.28947	0.31579	0.30769
chick16	0.32353	0.42105	0.58333	0.48649	0.63333	0.36842	0.28947	0.26316	0.23077	0.26316	0.28947	0.32500

CHICK	CHICK13	CHICK14	CHICK15	CHICK16	CHICK17	CHICK18	CHICK19	CHICK20	CHICK21	CHICK22	CHICK23	CHICK24
chick13	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick14	0.24324	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick15	0.30769	0.18421	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick16	0.28205	0.10811	0.08108	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.

CHICK	CHICK01	CHICK02	CHICK03	CHICK04	CHICK05	CHICK06	CHICK07	CHICK08	CHICK09	CHICK10	CHICK11	CHICK12
chick17	0.35294	0.44737	0.61111	0.51351	0.63333	0.39474	0.31579	0.24324	0.21053	0.37500	0.31579	0.26316
chick18	0.20690	0.34375	0.48276	0.36667	0.54167	0.28125	0.24242	0.36111	0.22857	0.31429	0.24242	0.28571
chick19	0.34483	0.33333	0.39130	0.34615	0.50000	0.18519	0.30000	0.38710	0.34375	0.31034	0.28571	0.30000
chick20	0.40000	0.39394	0.43333	0.43750	0.57692	0.38235	0.38889	0.34286	0.35135	0.34286	0.29412	0.36111
chick21	0.47222	0.44737	0.60000	0.58974	0.65517	0.43590	0.43902	0.37500	0.30000	0.41463	0.40000	0.35000
chick22	0.38889	0.50000	0.56757	0.56098	0.66667	0.41463	0.38095	0.35714	0.32558	0.43182	0.34146	0.20513
chick23	0.38710	0.47222	0.52941	0.51429	0.64706	0.38889	0.30556	0.30556	0.24324	0.39474	0.27778	0.25000
chick24	0.59259	0.58621	0.48000	0.55556	0.69231	0.53333	0.53125	0.41379	0.38710	0.56250	0.45161	0.40000

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ตารางที่ 7 (ต่อ)

CHICK	CHICK13	CHICK14	CHICK15	CHICK16	CHICK17	CHICK18	CHICK19	CHICK20	CHICK21	CHICK22	CHICK23	CHICK24
chick17	0.30769	0.13514	0.20513	0.13158	0.00000	.	.	.	.	.	.	.
chick18	0.28571	0.25000	0.27027	0.19444	0.27027	0.00000	.	.	.	.	.	.
chick19	0.40625	0.28125	0.28125	0.27273	0.35294	0.26667	0.00000	.	.	.	.	.
chick20	0.36111	0.32432	0.25000	0.27027	0.29730	0.32353	0.37931	0.00000	.	.	.	.
chick21	0.21622	0.35714	0.33333	0.30952	0.33333	0.35897	0.42857	0.27778	0.00000	.	.	.
chick22	0.33333	0.26190	0.31818	0.29545	0.23810	0.38095	0.34286	0.26316	0.23810	0.00000	.	.
chick23	0.32432	0.21622	0.28947	0.26316	0.16667	0.37838	0.40625	0.26471	0.28947	0.10811	0.00000	.
chick24	0.48387	0.45455	0.38710	0.45455	0.45455	0.44828	0.53846	0.32143	0.41935	0.36364	0.35294	0.00000

CHICK	CHICK01	CHICK02	CHICK03	CHICK04	CHICK05	CHICK06	CHICK07	CHICK08	CHICK09	CHICK10	CHICK11	CHICK12
chick25	0.43243	0.46341	0.56757	0.56098	0.65625	0.45238	0.41860	0.31707	0.28571	0.39535	0.38095	0.29268
chick26	0.40000	0.43590	0.52778	0.53846	0.65625	0.46341	0.42857	0.32500	0.33333	0.36585	0.35000	0.30000
chick27	0.32143	0.37500	0.46667	0.43750	0.56000	0.42424	0.38235	0.32353	0.28571	0.24242	0.25000	0.31429
chick28	0.50000	0.55556	0.60606	0.60000	0.75862	0.57895	0.53846	0.37143	0.42105	0.45946	0.45946	0.38889
chick29	0.34286	0.45000	0.56757	0.55000	0.65625	0.40000	0.36585	0.38095	0.30952	0.41860	0.36585	0.27500
chick30	0.42857	0.42105	0.59459	0.56410	0.65625	0.45000	0.41463	0.39024	0.27500	0.35000	0.33333	0.36585
chick31	0.38235	0.44737	0.54286	0.55263	0.64516	0.35135	0.31579	0.37500	0.25641	0.41463	0.31579	0.26316
chick32	0.42857	0.44737	0.57143	0.58974	0.63333	0.43590	0.40000	0.41463	0.30000	0.41463	0.35897	0.30769

CHICK	CHICK13	CHICK14	CHICK15	CHICK16	CHICK17	CHICK18	CHICK19	CHICK20	CHICK21	CHICK22	CHICK23	CHICK24
chick25	0.33333	0.30233	0.31818	0.29545	0.23810	0.38095	0.43243	0.21622	0.19512	0.09756	0.13514	0.29032
chick26	0.30000	0.30952	0.32558	0.30233	0.28571	0.39024	0.48649	0.26316	0.28571	0.19048	0.13889	0.29032
chick27	0.26471	0.25714	0.20588	0.17647	0.27778	0.30303	0.35714	0.16129	0.30556	0.26316	0.21875	0.33333
chick28	0.43243	0.39474	0.32432	0.34211	0.41026	0.44444	0.53125	0.31429	0.39474	0.28947	0.34286	0.16000
chick29	0.35714	0.36364	0.34091	0.31818	0.30233	0.36585	0.38889	0.26316	0.17500	0.12195	0.16216	0.34375
chick30	0.36585	0.33333	0.30952	0.28571	0.26829	0.41463	0.42857	0.33333	0.30952	0.25581	0.18919	0.39394
chick31	0.35000	0.31707	0.33333	0.30952	0.29268	0.35897	0.38235	0.31579	0.25000	0.19512	0.16667	0.32258
chick32	0.35000	0.35714	0.37209	0.34884	0.37209	0.40000	0.47222	0.38462	0.29268	0.23810	0.26316	0.35484

CHICK	CHICK25	CHICK26	CHICK27	CHICK28	CHICK29	CHICK30	CHICK31	CHICK32	CHICK33	CHICK34	CHICK35	CHICK36
chick25	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick26	0.14634	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick27	0.21622	0.14286	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick28	0.24324	0.19444	0.21875	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.
chick29	0.12195	0.17073	0.22222	0.28947	0.00000	.	.	.	.	.	.	.
chick30	0.17073	0.17500	0.14706	0.31579	0.19512	0.00000	.	.	.	.	.	.
chick31	0.15000	0.20000	0.20588	0.34211	0.12821	0.13158	0.00000	.	.	.	.	.
chick32	0.19512	0.20000	0.22857	0.32432	0.17500	0.17949	0.10811	0.00000	.	.	.	.

ตารางที่ 7 (ต่อ)

CHICK	CHICK01	CHICK02	CHICK03	CHICK04	CHICK05	CHICK06	CHICK07	CHICK08	CHICK09	CHICK10	CHICK11	CHICK12
chick33	0.52632	0.47619	0.47368	0.44444	0.52941	0.50000	0.56000	0.64286	0.51852	0.56000	0.52000	0.57692
chick34	0.35714	0.40625	0.56667	0.57576	0.61538	0.34375	0.33333	0.35294	0.29412	0.32353	0.22581	0.27273
chick35	0.38235	0.41667	0.45161	0.48571	0.59259	0.31429	0.36842	0.29730	0.26316	0.34211	0.36842	0.31579
chick36	0.42424	0.48649	0.57576	0.59459	0.65517	0.38889	0.35135	0.36842	0.24324	0.36842	0.35135	0.29730
chick37	0.40000	0.39474	0.60526	0.57500	0.62500	0.46341	0.39024	0.32500	0.25000	0.32500	0.30769	0.34146
chick38	0.38710	0.32258	0.37037	0.34483	0.47826	0.25806	0.37143	0.34286	0.35135	0.34286	0.37143	0.36111
chick39	0.39394	0.43243	0.46875	0.54054	0.58621	0.37838	0.29730	0.27027	0.28205	0.31579	0.29730	0.24324
chick40	0.32258	0.37143	0.46875	0.48571	0.57143	0.36111	0.27778	0.29730	0.26316	0.29730	0.22857	0.22222

CHICK	CHICK13	CHICK14	CHICK15	CHICK16	CHICK17	CHICK18	CHICK19	CHICK20	CHICK21	CHICK22	CHICK23	CHICK24
chick33	0.50000	0.66667	0.60714	0.62069	0.62069	0.58333	0.44444	0.62963	0.50000	0.56667	0.54839	0.61538
chick34	0.38235	0.29412	0.31429	0.28571	0.23529	0.41176	0.32143	0.31250	0.28571	0.19444	0.16129	0.46429
chick35	0.27027	0.28205	0.25641	0.23077	0.30000	0.27778	0.33333	0.30556	0.25641	0.32558	0.34211	0.45161
chick36	0.42500	0.35000	0.36585	0.34146	0.28205	0.43590	0.32258	0.42105	0.32500	0.26829	0.27027	0.46875
chick37	0.34146	0.30952	0.28571	0.26190	0.24390	0.39024	0.48649	0.35000	0.32558	0.27273	0.16216	0.41176
chick38	0.31429	0.32432	0.34211	0.35897	0.38462	0.37143	0.27586	0.32353	0.38462	0.40476	0.36111	0.50000
chick39	0.33333	0.21053	0.27500	0.25000	0.18421	0.34211	0.39394	0.22857	0.31707	0.21951	0.16667	0.45455
chick40	0.31579	0.23684	0.30000	0.27500	0.21053	0.32432	0.42424	0.22857	0.34146	0.24390	0.17143	0.43750

CHICK	CHICK25	CHICK26	CHICK27	CHICK28	CHICK29	CHICK30	CHICK31	CHICK32	CHICK33	CHICK34	CHICK35	CHICK36
chick33	0.53333	0.53333	0.47826	0.68966	0.51724	0.48276	0.46429	0.46429	0.00000	.	.	.
chick34	0.22222	0.20588	0.21429	0.39394	0.17143	0.12500	0.12500	0.21212	0.54167	0.00000	.	.
chick35	0.28571	0.25000	0.21212	0.37838	0.26829	0.27500	0.25641	0.30000	0.50000	0.27273	0.00000	.
chick36	0.26829	0.35714	0.38889	0.44737	0.25000	0.25641	0.18919	0.28205	0.51852	0.12500	0.33333	0.00000
chick37	0.23256	0.15000	0.17143	0.33333	0.21429	0.12821	0.20000	0.15385	0.50000	0.15152	0.29268	0.27500
chick38	0.36585	0.33333	0.25000	0.48649	0.35000	0.31579	0.34211	0.38462	0.47826	0.34375	0.20588	0.42105
chick39	0.21951	0.26829	0.25714	0.43590	0.28571	0.29268	0.23077	0.31707	0.58621	0.21212	0.28205	0.26316
chick40	0.24390	0.20513	0.20588	0.39474	0.26829	0.27500	0.21053	0.25641	0.57143	0.18750	0.30769	0.28947

CHICK	CHICK37	CHICK38	CHICK39	CHICK40	CHICK41	CHICK42	CHICK43	CHICK44	CHICK45	CHICK46	CHICK47	CHICK48
chick37	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick38	0.37500	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick39	0.26829	0.36842	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick40	0.20513	0.35135	0.08571	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.

ตารางที่ 7 (ต่อ)

CHICK	CHICK01	CHICK02	CHICK03	CHICK04	CHICK05	CHICK06	CHICK07	CHICK08	CHICK09	CHICK10	CHICK11	CHICK12
chick41	0.32143	0.26667	0.37037	0.40000	0.50000	0.25806	0.27273	0.34286	0.35135	0.24242	0.16129	0.36111
chick42	0.50000	0.32258	0.56667	0.54545	0.58333	0.45714	0.45946	0.38889	0.43590	0.29412	0.41667	0.48718
chick43	0.34375	0.43243	0.55882	0.57895	0.58621	0.37838	0.29730	0.31579	0.23684	0.35897	0.25000	0.24324
chick44	0.39394	0.43243	0.55882	0.57895	0.66667	0.37838	0.34211	0.40000	0.32500	0.35897	0.29730	0.33333
chick45	0.52778	0.37143	0.53125	0.52778	0.59259	0.44737	0.45000	0.34211	0.35000	0.34211	0.45000	0.43902
chick46	0.40000	0.35135	0.55556	0.53846	0.60000	0.38462	0.39024	0.23684	0.25000	0.28205	0.30769	0.30000
chick47	0.38235	0.33333	0.55556	0.52632	0.60000	0.36842	0.33333	0.26316	0.27500	0.30769	0.33333	0.32500
chick48	0.40000	0.35135	0.54286	0.53846	0.58621	0.38462	0.39024	0.28205	0.29268	0.32500	0.35000	0.30000

CHICK	CHICK13	CHICK14	CHICK15	CHICK16	CHICK17	CHICK18	CHICK19	CHICK20	CHICK21	CHICK22	CHICK23	CHICK24
chick41	0.40541	0.32432	0.29730	0.31579	0.38462	0.32353	0.19231	0.21875	0.38462	0.36585	0.33333	0.46667
chick42	0.36111	0.41026	0.34211	0.35897	0.46341	0.41667	0.34483	0.40000	0.38462	0.44186	0.44737	0.58065
chick43	0.33333	0.25641	0.27500	0.25000	0.18421	0.34211	0.34375	0.27778	0.27500	0.21951	0.21622	0.45455
chick44	0.37500	0.30000	0.31707	0.29268	0.31707	0.38462	0.44118	0.27778	0.31707	0.26190	0.28947	0.48485
chick45	0.40000	0.32500	0.25641	0.27500	0.34146	0.41026	0.39394	0.33333	0.34146	0.36364	0.35897	0.54545
chick46	0.25641	0.22500	0.20000	0.17500	0.24390	0.30769	0.35294	0.24324	0.24390	0.23256	0.23684	0.42424
chick47	0.32500	0.25000	0.17949	0.20000	0.22500	0.37500	0.38235	0.24324	0.30952	0.29545	0.21622	0.47059
chick48	0.30000	0.26829	0.20000	0.21951	0.24390	0.35000	0.35294	0.22222	0.24390	0.23256	0.28205	0.45455

CHICK	CHICK25	CHICK26	CHICK27	CHICK28	CHICK29	CHICK30	CHICK31	CHICK32	CHICK33	CHICK34	CHICK35	CHICK36
chick41	0.36585	0.37500	0.22581	0.48649	0.35000	0.31579	0.29730	0.38462	0.50000	0.25806	0.35135	0.37838
chick42	0.40476	0.41463	0.28125	0.51351	0.42857	0.35897	0.42500	0.42500	0.40909	0.41176	0.35135	0.50000
chick43	0.21951	0.26829	0.23529	0.43590	0.24390	0.20513	0.18421	0.27500	0.53571	0.09677	0.23684	0.21622
chick44	0.21951	0.26829	0.23529	0.39474	0.24390	0.20513	0.18421	0.18421	0.58621	0.18750	0.28205	0.30769
chick45	0.32558	0.37209	0.28571	0.48718	0.34884	0.31707	0.38095	0.34146	0.55556	0.37143	0.26316	0.41463
chick46	0.19048	0.19512	0.09091	0.31579	0.21429	0.17500	0.20000	0.20000	0.51724	0.20588	0.15789	0.31707
chick47	0.25581	0.21951	0.17647	0.40000	0.23810	0.20000	0.22500	0.22500	0.51724	0.18182	0.23077	0.30000
chick48	0.19048	0.23810	0.20000	0.38462	0.21429	0.21951	0.24390	0.20000	0.50000	0.20588	0.20513	0.31707

CHICK	CHICK37	CHICK38	CHICK39	CHICK40	CHICK41	CHICK42	CHICK43	CHICK44	CHICK45	CHICK46	CHICK47	CHICK48
chick41	0.37500	0.25000	0.27778	0.25714	0.00000	.	.	.	.	.	.	.
chick42	0.37500	0.30303	0.45000	0.47500	0.30303	0.00000	.	.	.	.	.	.
chick43	0.22500	0.36842	0.16216	0.18919	0.27778	0.41026	0.00000	.	.	.	.	.
chick44	0.26829	0.36842	0.21053	0.18919	0.27778	0.45000	0.21053	0.00000	.	.	.	.
chick45	0.29268	0.30556	0.32500	0.35000	0.35135	0.30556	0.32500	0.28205	0.00000	.	.	.
chick46	0.15000	0.28947	0.22500	0.25000	0.28947	0.24324	0.17949	0.22500	0.20513	0.00000	.	.

ตารางที่ 7 (ต่อ)

CHICK	CHICK37	CHICK38	CHICK39	CHICK40	CHICK41	CHICK42	CHICK43	CHICK44	CHICK45	CHICK46	CHICK47	CHICK48
chick47	0.12821	0.27027	0.20513	0.18421	0.27027	0.31579	0.20513	0.20513	0.18421	0.12821	0.00000	.
chick48	0.19512	0.28947	0.22500	0.25000	0.28947	0.28947	0.17949	0.17949	0.15789	0.10256	0.07895	0.00000

CHICK	CHICK01	CHICK02	CHICK03	CHICK04	CHICK05	CHICK06	CHICK07	CHICK08	CHICK09	CHICK10	CHICK11	CHICK12
chick49	0.48571	0.47368	0.54545	0.57895	0.65517	0.42105	0.38462	0.31579	0.28205	0.40000	0.38462	0.28947
chick50	0.47222	0.53659	0.61111	0.66667	0.68750	0.48780	0.37500	0.39024	0.31707	0.39024	0.37500	0.40476
chick51	0.37500	0.53846	0.61765	0.60526	0.73333	0.48718	0.41026	0.38462	0.30769	0.42500	0.32432	0.31579
chick52	0.41667	0.48780	0.59459	0.58537	0.72727	0.43902	0.40476	0.34146	0.26829	0.38095	0.40476	0.31707
chick53	0.44000	0.37037	0.48000	0.48148	0.61905	0.46667	0.51515	0.41935	0.42424	0.36667	0.36667	0.38710
chick54	0.50000	0.45833	0.47368	0.45000	0.38462	0.45833	0.57143	0.62500	0.59375	0.44444	0.51852	0.55172
chick55	0.41935	0.50000	0.54839	0.57143	0.70370	0.52632	0.48718	0.42105	0.34211	0.37838	0.36111	0.35135
chick56	0.44000	0.44444	0.58333	0.59259	0.65000	0.42857	0.37931	0.48387	0.43750	0.45161	0.37931	0.45161

CHICK	CHICK13	CHICK14	CHICK15	CHICK16	CHICK17	CHICK18	CHICK19	CHICK20	CHICK21	CHICK22	CHICK23	CHICK24
chick49	0.37500	0.25641	0.27500	0.29268	0.23077	0.42500	0.39394	0.25714	0.31707	0.21951	0.24324	0.41935
chick50	0.44186	0.33333	0.34884	0.32558	0.30952	0.45238	0.51351	0.34211	0.34884	0.25581	0.25641	0.42424
chick51	0.43902	0.40476	0.30000	0.31707	0.30000	0.36842	0.42424	0.28571	0.34146	0.24390	0.31579	0.40000
chick52	0.35714	0.28571	0.21951	0.23810	0.26190	0.40476	0.37143	0.28947	0.30233	0.20930	0.25641	0.42424
chick53	0.43750	0.48571	0.41176	0.47222	0.50000	0.45161	0.41667	0.30000	0.48571	0.45946	0.50000	0.44000
chick54	0.55172	0.59375	0.60606	0.61765	0.68571	0.57143	0.42857	0.58621	0.65714	0.61111	0.65625	0.72000
chick55	0.39474	0.40000	0.37500	0.35000	0.37500	0.36111	0.46875	0.18750	0.33333	0.27500	0.33333	0.33333
chick56	0.58824	0.50000	0.47059	0.48571	0.47059	0.48387	0.41667	0.46667	0.57143	0.48571	0.43333	0.50000

CHICK	CHICK25	CHICK26	CHICK27	CHICK28	CHICK29	CHICK30	CHICK31	CHICK32	CHICK33	CHICK34	CHICK35	CHICK36
chick49	0.17500	0.30952	0.30556	0.42105	0.28571	0.29268	0.23077	0.27500	0.57143	0.26471	0.32500	0.26316
chick50	0.21429	0.26190	0.32432	0.36842	0.27907	0.24390	0.26829	0.26829	0.58065	0.28571	0.31707	0.30000
chick51	0.24390	0.33333	0.36111	0.31429	0.26829	0.31707	0.34146	0.38095	0.60714	0.31429	0.35000	0.33333
chick52	0.20930	0.25581	0.31579	0.31579	0.23256	0.27907	0.30233	0.30233	0.56667	0.29730	0.26829	0.29268
chick53	0.41667	0.45946	0.36667	0.38710	0.45946	0.48649	0.47222	0.50000	0.63636	0.45161	0.51429	0.45455
chick54	0.63158	0.57143	0.50000	0.64516	0.61111	0.60000	0.58824	0.55882	0.55556	0.53571	0.51613	0.59375
chick55	0.23077	0.28205	0.26471	0.21875	0.30000	0.35000	0.33333	0.37500	0.71429	0.35294	0.38462	0.36842
chick56	0.52778	0.50000	0.48276	0.55172	0.42424	0.50000	0.43750	0.43750	0.63158	0.37037	0.57143	0.34483

CHICK	CHICK37	CHICK38	CHICK39	CHICK40	CHICK41	CHICK42	CHICK43	CHICK44	CHICK45	CHICK46	CHICK47	CHICK48
chick49	0.30952	0.36842	0.16216	0.18919	0.32432	0.45000	0.21053	0.16216	0.23684	0.26829	0.20513	0.17949
chick50	0.26190	0.47619	0.25000	0.27500	0.40000	0.47619	0.20513	0.20513	0.35714	0.26190	0.28571	0.26190
chick51	0.37209	0.51220	0.32500	0.35000	0.39474	0.51220	0.28205	0.28205	0.42857	0.33333	0.35714	0.29268

ตารางที่ 7 (ต่อ)

CHICK	CHICK37	CHICK38	CHICK39	CHICK40	CHICK41	CHICK42	CHICK43	CHICK44	CHICK45	CHICK46	CHICK47	CHICK48
chick52	0.29545	0.39024	0.28571	0.30952	0.39024	0.42857	0.28571	0.24390	0.26829	0.25581	0.19512	0.17073
chick53	0.50000	0.45161	0.44118	0.39394	0.34483	0.48387	0.48571	0.44118	0.54286	0.44444	0.44444	0.42857
chick54	0.61111	0.40000	0.60606	0.54839	0.46154	0.48148	0.64706	0.57576	0.60606	0.57143	0.55882	0.57143
chick55	0.36585	0.47368	0.31579	0.29730	0.38889	0.51282	0.35897	0.35897	0.46341	0.32500	0.39024	0.36585
chick56	0.3750	0.5483	0.4705	0.40625	0.41379	0.58065	0.45455	0.48571	0.54286	0.48571	0.39394	0.45714

CHICK	CHICK49	CHICK50	CHICK51	CHICK52	CHICK53	CHICK54	CHICK55	CHICK56	CHICK57	CHICK58
chick49	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.	.
chick50	0.25000	0.00000	.	.	.	.	.	.	.	.
chick51	0.32500	0.23077	0.00000	.	.	.	.	.	.	.
chick52	0.20000	0.19512	0.17949	0.00000	.	.	.	.	.	.
chick53	0.42424	0.54054	0.40625	0.44444	0.00000	.	.	.	.	.
chick54	0.61765	0.64865	0.64706	0.58333	0.50000	0.00000	.	.	.	.
chick55	0.35897	0.39024	0.29730	0.34146	0.31034	0.61290	0.00000	.	.	.
chick56	0.47059	0.51429	0.52941	0.50000	0.48000	0.65217	0.46667	0.00000	.	.

CHICK	CHICK01	CHICK02	CHICK03	CHICK04	CHICK05	CHICK06	CHICK07	CHICK08	CHICK09	CHICK10	CHICK11	CHICK12
chick57	0.45000	0.38095	0.41176	0.33333	0.33333	0.40909	0.52000	0.57692	0.57143	0.45833	0.48000	0.50000
chick58	0.40000	0.31818	0.60000	0.56522	0.56250	0.41667	0.40000	0.29167	0.40741	0.36000	0.36000	0.32000

CHICK	CHICK13	CHICK14	CHICK15	CHICK16	CHICK17	CHICK18	CHICK19	CHICK20	CHICK21	CHICK22	CHICK23	CHICK24
chick57	0.50000	0.58621	0.60000	0.61290	0.64516	0.52000	0.33333	0.51852	0.54839	0.56250	0.62069	0.73913
chick58	0.39286	0.37037	0.34483	0.37931	0.42857	0.42308	0.26316	0.48148	0.41935	0.41935	0.44444	0.54545

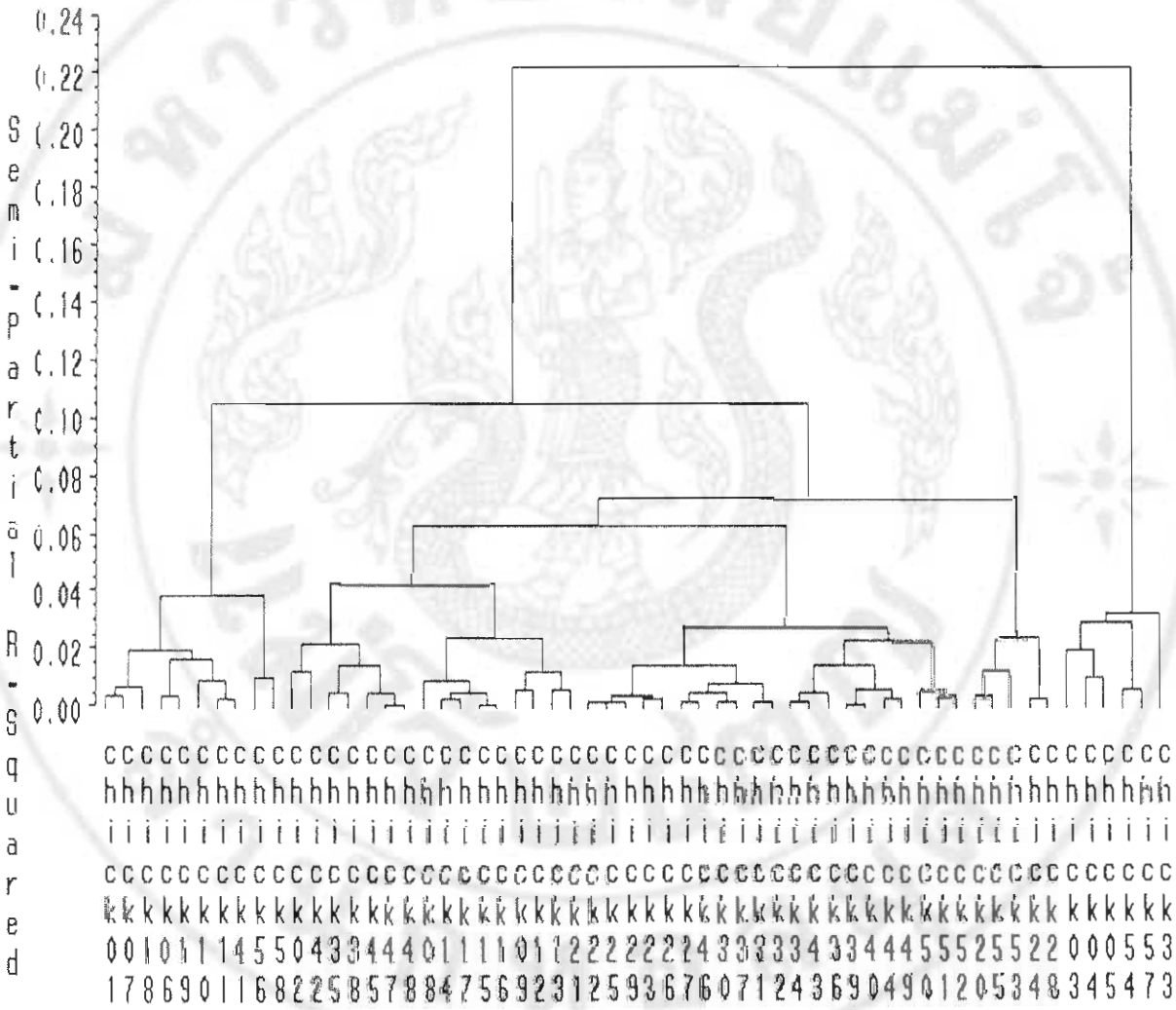
CHICK	CHICK25	CHICK26	CHICK27	CHICK28	CHICK29	CHICK30	CHICK31	CHICK32	CHICK33	CHICK34	CHICK35	CHICK36
chick57	0.60606	0.60606	0.50000	0.70000	0.56250	0.63636	0.58065	0.56667	0.35714	0.57692	0.53571	0.55556
chick58	0.46875	0.48387	0.44000	0.51852	0.45161	0.51613	0.44828	0.44828	0.50000	0.34783	0.48276	0.36000

CHICK	CHICK37	CHICK38	CHICK39	CHICK40	CHICK41	CHICK42	CHICK43	CHICK44	CHICK45	CHICK46	CHICK47	CHICK48
chick57	0.59375	0.39130	0.53571	0.48148	0.39130	0.48000	0.60000	0.60000	0.55556	0.54839	0.53333	0.53333
chick58	0.41379	0.51852	0.40741	0.38462	0.36000	0.40741	0.33333	0.48276	0.42857	0.34483	0.35714	0.34483

CHICK	CHICK49	CHICK50	CHICK51	CHICK52	CHICK53	CHICK54	CHICK55	CHICK56	CHICK57	CHICK58
chick57	0.57143	0.68750	0.66667	0.62500	0.47619	0.23077	0.55556	0.50000	0.00000	.
chick58	0.42857	0.51613	0.50000	0.45161	0.38095	0.65000	0.46429	0.29412	0.47368	0

การจัดกลุ่ม Dendrograms

ผลจาก dissimilarity matrix เมื่อนำความแตกต่างทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองแต่ละแหล่งมาจัดกลุ่ม ด้วย Cluster analysis และแสดงผลออกเป็นแผนภูมิโครงสร้าง dendrogram โดยวิธี Ward's method โดย SAS software ผลดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งแสดงให้เห็นการจัดกลุ่มประชากรไก่พื้นเมืองดังต่อไปนี้



ภาพที่ 3 แผนภูมิ dendrogram ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไก่พันธุ์พื้นเมืองภาคเหนือของไทย

วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของไก่พื้นเมืองที่สุ่มตัวอย่างจากภาคเหนือของไทยโดยใช้ RAPD ไพรเมอร์จำนวน 20 หมายเลข จากตัวอย่างที่สุ่มมาศึกษาทั้งหมด 59 ตัวอย่าง ใน 8 จังหวัดทางภาคเหนือของประเทศไทย คือจังหวัดลำพูน 9 ตัวอย่าง จังหวัดลำปาง 7 ตัวอย่าง จังหวัดเชียงราย 5 ตัวอย่าง จังหวัดพะเยา 16 ตัวอย่าง จังหวัดแพร่ 1 ตัวอย่าง จังหวัดน่าน 8 ตัวอย่าง จังหวัดแม่ฮ่องสอน 7 ตัวอย่าง และ จังหวัดเชียงใหม่ 6 ตัวอย่าง เมื่อนำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา PCR มี ไพรเมอร์ 17 หมายเลขที่สามารถสังเคราะห์ให้แถบดีเอ็นเอสายใหม่จากตัวอย่างดีเอ็นเอไก่พื้นเมืองได้เกือบทุกตัวอย่าง

จากการวิเคราะห์ cluster analysis โดยใช้ Ward's minimum variance method (Ward, 1963) โดยใช้ลักษณะของการปรากฏและไม่ปรากฏของแถบดีเอ็นเอจำนวน 5,251 ตำแหน่ง ดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่าตัวอย่างที่นำมาวิจัยมีระดับความหลากหลายทางพันธุกรรม มีค่าระหว่าง 0.01- 0.40 มีกลุ่มย่อยจำนวน 2-6 กลุ่ม (ภาพที่ 3)

เมื่อระยะห่างไม่ถึง 0.04 มีกลุ่มประชากรแบ่งเป็น 6 กลุ่มย่อยคือ

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ chick 01 (ลำพูน), 06 (ลำพูน), 07 (ลำปาง), 10 (ลำปาง), 11 (ลำปาง), 18 (พะเยา), 19 (พะเยา), 41 (แม่ฮ่องสอน), 56 (ลำพูน), 58 (น่าน)

กลุ่มที่2 ได้แก่ chick 02 (ลำพูน), 35 (น่าน), 42 (แม่ฮ่องสอน), 38 (แม่ฮ่องสอน), 45 (แม่ฮ่องสอน), 47 (เชียงใหม่), 48 (เชียงใหม่)

กลุ่มที่3 ได้แก่ chick 08 (ลำปาง), 09 (ลำปาง), 12 (ลำปาง), 13 (ลำปาง), 14 (เชียงราย), 15 (เชียงราย), 16 (เชียงราย), 17 (เชียงราย), 21 (พะเยา)

กลุ่มที่4 ได้แก่chick 22 (พะเยา), 23 (พะเยา), 25 (พะเยา),26 (พะเยา), 27 (พะเยา), 29 (พะเยา), 30 (พะเยา), 31 (แพร่), 32 (แพร่), 34 (น่าน), 37 (น่าน), 39 (แม่ฮ่องสอน), 40 (แม่ฮ่องสอน), 43 (แม่ฮ่องสอน), 44 (แม่ฮ่องสอน), 46 (เชียงใหม่), 49 (เชียงใหม่), 50 (เชียงใหม่), 51 (พะเยา), 52 (พะเยา)

กลุ่มที่5 ได้แก่chick 20 (พะเยา), 24 (พะเยา), 28 (พะเยา), 53 (พะเยา), 55 (ลำพูน)

กลุ่มที่6 ได้แก่chick 03 (ลำพูน), 04 (ลำพูน), 05 (ลำพูน), 33 (น่าน), 54 (ลำพูน), 57(เชียงราย)

เมื่อระยะห่าง 0.10 มี 3 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 ได้แก่chick 01 (ลำพูน), 06 (ลำพูน), 07 (ลำปาง), 10 (ลำปาง), 11 (ลำปาง), 18 (พะเยา), 19 (พะเยา), 41 (แม่ฮ่องสอน), 56 (ลำพูน), 58 (น่าน)

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ chick 02 (ลำพูน), 08 (ลำปาง), 09 (ลำปาง), 12 (ลำปาง), 13 (ลำปาง), 14 (เชียงราย), 15 (เชียงราย), 16 (เชียงราย), 17 (เชียงราย), 20 (พะเยา), 21 (พะเยา), 22 (พะเยา), 23 (พะเยา), 24 (พะเยา), 25 (พะเยา), 26 (พะเยา), 27 (พะเยา), 28 (พะเยา), 29 (พะเยา), 30 (พะเยา), 31 (แพร่), 32 (แพร่), 34 (น่าน), 35 (น่าน), 37 (น่าน), 38 (แม่ฮ่องสอน), 39 (แม่ฮ่องสอน), 40 (แม่ฮ่องสอน), 42 (แม่ฮ่องสอน), 43 (แม่ฮ่องสอน), 44 (แม่ฮ่องสอน), 45 (แม่ฮ่องสอน), 46 (เชียงใหม่), 47 (เชียงใหม่), 48 (เชียงใหม่), 49 (เชียงใหม่), 50 (เชียงใหม่), 51 (พะเยา), 52 (พะเยา), 53 (พะเยา), 55 (ลำพูน),

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ 03 (ลำพูน), 04 (ลำพูน), 05 (ลำพูน), 33 (น่าน), 54 (ลำพูน), 57(เชียงราย)

เมื่อระยะห่างไม่ถึง 0.22 สามารถจัดแบ่งประชากรเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ chick 01 (ลำพูน), 02 (ลำพูน), 06 (ลำพูน), 07 (ลำปาง), 08 (ลำปาง), 09 (ลำปาง), 10 (ลำปาง), 11 (ลำปาง), 12 (ลำปาง), 13 (ลำปาง), 14 (เชียงราย), 15 (เชียงราย), 16 (เชียงราย), 17 (เชียงราย), 18 (พะเยา), 19 (พะเยา), 20 (พะเยา), 21 (พะเยา), 22 (พะเยา), 23 (พะเยา), 24 (พะเยา), 25 (พะเยา), 26 (พะเยา), 27 (พะเยา), 28 (พะเยา), 29 (พะเยา), 30 (พะเยา), 31 (แพร่), 32 (แพร่), 34 (น่าน) (น่าน), 35 (น่าน), 37 (น่าน), 38 (แม่ฮ่องสอน), 39 (แม่ฮ่องสอน), 40 (แม่ฮ่องสอน), 41 (แม่ฮ่องสอน), 42 (แม่ฮ่องสอน), 43 (แม่ฮ่องสอน), 44 (แม่ฮ่องสอน), 45 (เชียงใหม่), 46 (เชียงใหม่), 47 (เชียงใหม่), 48 (เชียงใหม่), 49 (เชียงใหม่), 50 (เชียงใหม่), 51 (พะเยา), 52 (พะเยา), 53 (พะเยา), 55(ลำพูน), 56 (ลำพูน), 58 (น่าน) ,

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ 03 (ลำพูน), 04 (ลำพูน), 05 (ลำพูน), 33 (น่าน), 54 (ลำพูน), 57 (เชียงราย)

แนวโน้มของความคล้ายกันทางพันธุกรรมเป็นไปตามความคาดหมายนั่นคือ ไก่พื้นเมืองจากจังหวัดเดียวกันส่วนใหญ่มักจะมีโครงสร้างทางพันธุกรรมคล้ายกัน จึงมักจะอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ถึงแม้จะมีบางตัวอย่างที่มีโครงสร้างทางพันธุกรรมเหมือนกับไก่พื้นเมืองในจังหวัดอื่นๆ ทั้งนี้แสดงให้เห็นถึงการอพยพโยกย้ายของไก่พื้นเมืองโดยมีมนุษย์เป็นผู้พาไป เนื่องจากไก่พื้นเมืองนั้นรวมถึงไก่ชนเป็นสัตว์ที่มีการอพยพย้ายถิ่นในปริมาณสูงด้วยฝีมือมนุษย์

ประชากรไก่พื้นเมืองทั้งสามกลุ่มมีโครงสร้างทางพันธุกรรมโดยรวมที่คล้ายคลึงกัน เนื่องจาก genetic distance และ genetic dissimilarity มีค่าค่อนข้างต่ำ ประชากรไก่พื้นเมืองจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนมีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมกับไก่พื้นเมืองจากจังหวัดอื่นๆหลายจังหวัด อาจเป็นเพราะประชาชนในจังหวัดแม่ฮ่องสอนส่วนใหญ่มักอพยพมาจากจังหวัดอื่นจึงมีการนำไก่พื้นเมืองจากที่อื่นๆเข้าไปเลี้ยงเป็นจำนวนมาก

ประชากรไก่พื้นเมืองบางแหล่งจากจังหวัดลำพูน น่าน และ เชียงราย มีความต่างกันทางพันธุกรรมกับไก่กลุ่มอื่นๆมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองในบริเวณดังกล่าวเป็นพันธุ์ดั้งเดิมที่ไม่ได้โยกย้ายมาจากที่อื่นอย่างน้อยในช่วงระยะเวลาหนึ่ง

สรุปผลการวิจัย

1. การใช้เทคนิค RAPD ตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอไก่พื้นเมืองในเขตภาคเหนือของไทยจำนวน 59 ตัวอย่าง ใน แหล่งของจังหวัดลำพูน จังหวัดลำปาง จังหวัดเชียงราย จังหวัดพะเยา จังหวัดแพร่ จังหวัดน่าน จังหวัดแม่ฮ่องสอน และ จังหวัดเชียงใหม่ พบว่า ไพรเมอร์ชุด OPB แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ที่มีความชัดเจน เป็นจำนวน 17 ไพรเมอร์ เมื่อนำมาวิเคราะห์จัดกลุ่มพบว่าสามารถ จัดกลุ่มตามความแตกต่างทางพันธุกรรมได้

2. ประชากรไก่พื้นเมืองทั้ง 59 แหล่งมีโครงสร้างทางพันธุกรรมโดยรวมที่คล้ายคลึงกัน ทั้งนี้เพราะ genetic distance มีค่าต่ำ ประชากรไก่พื้นเมืองจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนมีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมกับไก่พื้นเมืองจากจังหวัดอื่นๆหลายจังหวัด ส่วนประชากรไก่พื้นเมืองจากจังหวัดลำพูน น่าน และ เชียงราย มีความต่างกันทางพันธุกรรม จากประชากรในจังหวัดอื่นมากที่สุด

3. จากผลการสำรวจ แสดงว่าแตกต่างทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทยในพื้นที่ภาคเหนือของไทยมีค่าน้อย ทั้งนี้เพราะมีการอพยพโยกย้ายของประชากรสูง และไก่พื้นเมืองที่ชาวบ้านเลี้ยงมักปล่อยให้หากินโดยอิสระ ไก่มีโอกาสผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ต่างถิ่นกับพันธุ์ท้องถิ่นตามแหล่งที่ไก่ย้ายเข้าไปได้มาก โดยเฉพาะในบ้านที่มีการนำไก่จากหลายๆแหล่งมาเลี้ยงรวมกัน และไก่เป็นสัตว์ที่มีการผสมข้ามสายพันธุ์ได้ง่าย

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2543. ความหลากหลายทางชีวภาพด้านปศุสัตว์. วารสารสาส์นไก่และการเกษตร ปีที่ 48 ฉบับที่ 7, น. 22-27.

เคี่ยวัลย์ หุตานุวัตร. 2531. บทบาทของไก่พื้นเมืองต่อการแก้ปัญหาโรคขาดสารอาหาร. รายงานการประชุมสัมมนาการเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 2 ระหว่างวันที่ 17 – 19 สิงหาคม 2531. น. 162 – 171.

เชิดชัย รัตนเศรษฐกุล. 2525. การศึกษาความต้านทานโรคไก่พื้นเมือง 2 : ความต้านทานต่อโรคนิวคาสเซิล. วารสารสัตวแพทย์ (3). น. 82 – 86.

ดำรง คงประเสริฐสุข 2542 ไก่บ้าน พิมพ์ครั้งที่ 2 บีบีบุค กรุงเทพฯ

ดำรง คงประเสริฐสุข. 2542. ไก่บ้าน (2). บีบีบุ๊ค พับลิเคชั่น กรุงเทพฯ.

ทวี อบอุ่น และอรพิน เวชชบุษกร. 2538. ไก่เบตงและลูกผสมเบตง. วารสารสัตวบาล 5 (30) : น. 85 – 88.ปฐพีชล วายุอัคคี. 2533. ไก่แจ้. Pet นนทบุรี.

ประจิม สุขุประการ. 2531. ไก่เบตงของดีหายากเมืองยะลา. สัตว์เศรษฐกิจ 6 (114) : น. 21 – 23.

ยอด ณ ชัยนาท. 2529. พันธุ์ไก่ดำ. วารสารสัตว์ปีกแม่โจ้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 1 (2) : น. 24 – 27.

ลิขิต สูจิมระ. 2527. แสมดำ ไก่ดำดั้งเดิมของไทย. สัตว์เศรษฐกิจ 2 (5) : น. 7 – 12.

วิเชียร สันตคีรี. 2542. การเลี้ยงไก่ชน เพื่อนเกษตร กรุงเทพฯ.

วิรัช ศิวะรุฬห์เทพ. 2534. คุณลักษณะสำคัญในไก่พื้นเมืองและไก่พันธุ์แท้. สาส์นไก่. น. 25 – 27.

สังวาล ภูมิพฤกษ์. 2533. ไก่เบตงยอดไก่ใต้สุดแดนสยาม. วารสารสัตว์ปีกแม่โจ้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 5 (3) : น. 6 – 11.

Crawford, R D. (1990) Origin and history of poultry species. In Poultry Breeding and Genetics, ed. R.D. Crawford, pp. 1-42. Amsterdam: Elsevier

Dunnington, E.A., Stallard, L.C., Hillel, J. and Siegel, P.B. (1994). Genetic diversity among commercial chicken populations estimated from DNA fingerprints. *Poultry Science*. 73 : 1218-1225.

Khatib H, Sagiv N, Gruenbaum Y. (1998) Fresh and frozen pools of chicken red blood cells as substrates for direct polymerase chain reaction. *Poult Sci.* Jun;77(6):902-4.

Kuo, A. (1997) The Distance Macro: Preliminary Documentation Multivariate & Numerical R&D Application Division SAS Instutute Inc.

Pet tte, J.N., Kegelmeyer, A.E. and Kulik, M.J. (1994) Isolation of genomic DNA from avian whole blood Biotechniques 17:664-666

Siegel, P.B., Haberfeld, A., Mukherjee, T.K., Stallard, L.C., Marks, H.L., Anthony, N.B. and Dunnington, E.A. (1992). Jungle fowl-domestic fowl relationship : a use of DNA fingerprint. *World's Poultry Science Journal.* 48 : 147-155.

Ward,J.H. (1963) Hierachical Grouping to Optimize an Objective Function, Journal of the American Statistical Association, 58, 236-244

Zhang, X., Leung, F.C., Chan, D.K.O., Yang, G. and Wu, C. (2002). Genetic diversity of Chinese native chicken breeds based on protein polymorphism, randomly amplified polymorphic DNA and microsatellite polymorphism. *Poultry Science.* 81 : 1463-1472.

Zhou H and Lamont S.J. (1999) Genetic characterization of biodiversity in highly inbred chicken lines by microsatellite markers Anim Genet. 30(4):256-64.

ภาคผนวก

การสกัดดีเอ็นเอจากเลือดไก่

การวัดปริมาณดีเอ็นเอ โดยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

1. นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเจือจาง X ด้วยน้ำกลั่น

2. วัดค่าของ Blank (น้ำกลั่น) ปรับค่าอยู่ที่ 0

3. วัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ 260 และ 280 นาโนเมตร

4. นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาปริมาณดีเอ็นเอ

ปริมาณดีเอ็นเอ (ng/µl) = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร X จำนวนเท่าของเจือจาง X Dilution Factor

5. ค่าปริมาณดีเอ็นเอที่ได้ นำมาคำนวณเพื่อเจือจางดีเอ็นเอตั้งต้นให้ได้ความเข้มข้น 10 ng/µl ดังนี้

ปริมาตรดีเอ็นเอที่จะใช้เจือจาง (µl) = [ปริมาตรที่ต้องการเตรียม (µl) X ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม (ng/µl)] / ปริมาณดีเอ็นเอที่คำนวณได้ (ng/µl)

การเจือจางดีเอ็นเอตั้งต้นให้ได้ความเข้มข้น 10 ng/µl

1. นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ และผ่านการตรวจสอบผลการสกัดดีเอ็นเอ นำมาปรับความเข้มข้นให้ได้ความเข้มข้นของตัวอย่าง 10 ng/µl โดยใช้น้ำกลั่น

2. ผสมดีเอ็นเอที่ปรับความเข้มข้นแล้วกับ 2X TE Dye

3. ฉีดตัวอย่างดีเอ็นเอ ลงบน 1% Agarose gel ในTBE buffer และใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 80 โวลต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในการทำอิเลคโตรโฟรีซีส

4. จากนั้นนำเจลมาแช่ใน 10 mg/ml Ethidium Bromide เป็นเวลา 10 นาที

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียม 1.0 % agarose gel

ส่วนผสม :

agarose	0.3 g
50X TAE buffer	0.6 ml
น้ำกลั่น	29.4 ml
ปริมาตรรวม	30.0 ml

ภาคผนวก

4. การเตรียม 0.5 M EDTA (pH 8.0)

ส่วนผสม :

EDTA (Ethylenedisminetetraacitic Acid,Disodium Salt, $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2.2H_2O$)	186.12	g
น้ำกลั่น	800	ml
ปริมาตรรวม	1,000	ml

วิธีการเตรียม ผสม EDTA ในน้ำกลั่นปริมาตร 800 ml กวนด้วย Magnetic Stirrer (EDTA ไม่สามารถละลายน้ำ) ปรับ pH ให้ได้ 8.0 โดยเติมเกล็ด NaOH เมื่อpH ได้ 8.0 แล้ว EDTA จะสามารถละลายได้เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 ml แล้วจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

5. การเตรียม Ethidium Bromide

ส่วนผสม :

Ethidium Bromide	100	mg
1X TAE	10	ml
น้ำกลั่น	10	ml

วิธีการเตรียม ผสม Ethidium Bromide กับน้ำกลั่นจนได้ความเข้มข้น 10 µg/µl นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เมื่อจะนำมาใช้ จะผสม Ethidium Bromide กับ 1X TAE อัตราส่วน 7:150 แล้วเก็บไว้ที่มืด ข้อควรระวัง สารนี้เป็นสารก่อมะเร็ง

6. การเตรียม 1 M $MgCl_2$

ส่วนผสม :

$MgCl_2.6H_2O$	20.33	g
น้ำกลั่น	100	ml

วิธีการเตรียม ละลายสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นนำมาแบ่งใส่ไว้ในหลอดทดลอง สารละลายที่ได้เก็บที่อุณหภูมิห้อง

7. การเตรียม 10X TBE

ส่วนผสม :

Tris base	108 g
Boric acid	55 g
0.5 M EDTA (pH 8.8)	40 ml
เติม H_2O เป็น	1000 ml

8. การเตรียม *Taq* DNA Polymerase (1 unit/µl)

ส่วนผสม :

Taq DNA Polymerase (5 units/µl)

Taq DNA Polymerase Dilution buffer

วิธีการเตรียม *Taq* DNA Polymerase (5 units/µl) ด้วย *Taq* DNA Polymerase Dilution buffer อัตราส่วน1 : 4 สารละลายที่ได้เก็บที่อุณหภูมิ -20 °C

9. การเตรียม 2xTE-Dye

ส่วนผสม :

10X Dye	1 ส่วน
TE buffer	4 ส่วน

วิธีการเตรียม ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากันด้วยเครื่อง Tuch Mixer แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที สารละลายที่ได้เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

10. การเตรียม 2 M Tris-HCl buffer (pH 8.0)

ส่วนผสม :

Tris (Hydroxymethyl) Aminomethane Hydrochloride	242.28 g
น้ำกลั่น	800.00 ml
ปริมาตรรวม	1,000 ml

วิธีการเตรียม ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากันกวนด้วย Magnetic Stirrer และใช้ความร้อนช่วยในการละลายปรับความเป็นกรดเบสให้ได้ 8.0 ด้วยการเติม HCl แล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 ml จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ สารละลายที่ได้เก็บที่อุณหภูมิห้อง

11. **การเตรียม** Tris-HCl buffer (pH 8.3)

ส่วนผสม :

Tris (Hydroxymethyl) Aminomethane Hydrochloride	121.14	g
น้ำกลั่น	80.00	ml
ปริมาตรรวม	1,000	ml

วิธีการเตรียม ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากันกวนด้วย Magnetic Stirrer และใช้ความร้อนช่วยในการละลายปรับความเป็นกรดเบสให้ได้ 8.0 ด้วยการเติม HCl แล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 ml จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ สารละลายที่ได้เก็บที่อุณหภูมิห้อง

12. **การเตรียม** 75% Ethanol

ส่วนผสม :

Absolute Ethanol
น้ำกลั่น

วิธีการเตรียม ผสม 75 ml Absolute Ethanol กับน้ำกลั่น 25 ml สารละลายที่ได้เก็บที่อุณหภูมิห้อง

13 **การเตรียม** PCR Master Mix (1 Sample)

ส่วนผสม :

Deionize Water	3.42	µl
10X PCR buffer	1.00	µl
Primer (5 pmol/µl)	1.00	µl
50 mM $MgCl_2$	0.38	µl
dNTPs (100 µM each)	0.10	µl
Taq DNA Polymerase (5 units/µl)	0.10	µl
DNA Template (10 ng/µl)	4.00	µl
ปริมาตรรวม	10.0	µl

<u>วิธีการเตรียม</u> ส่วนผสมทั้งหมดบรรจุในหลอดทดลอง ดีดหลอดทดลองเบาๆ แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงเล็กน้อย จากนั้นนำไปใส่เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

14. การเตรียม PBS (gram/litre)

<u>ส่วนผสม</u> :

KCl	0.20 g
KH_2PO_4	0.20 g
NaCl	8.00 g
$Na_2HPO_4.7H_2O$	2.16 g
Deionize Water	

<u>วิธีการเตรียม</u> ชั่งสารแต่ละชนิดเติมลงในน้ำกลั่นปั่นจนสารละลายหมด จึงเติมสารตัวต่อไป นำไปปรับให้ได้ pH 7.4 ปรับปริมาตร แล้วนำไปกรองเพื่อ sterile และ autoclave ต่อไป

15. การเตรียม Trypsin solution

<u>ส่วนผสม</u> :

Trypsin

PBS solution

<u>วิธีการเตรียม</u> เจือจาง Trypsin ด้วย PBS solution ให้ได้ความเข้มข้น 0.25% Trypsin นำไปกรองเพื่อ sterile

16. Primer (เก็บที่ -20° C)

ใช้ Operon's primer kit ละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 10 µM ควรแยกใส่หลายหลอด แล้วเก็บไว้ที่ -20° C เวลาใช้นำมาเจือจาง