การอนุรักษ์พันธุกรรมไก่พื้นเมืองไทย โดยการแช่แข็ง blastodermal cells และการสร้าง germline chimeras

Thai Native Chicken Genetic Conservation by Blastodermal Cell Cryopreservation and Germline Chimera Creation

บัญชา พงศ์พิศาลธรรม[1] ปิยะอร พงศ์พิศาลธรรม[2] [1]

BUNCHA PONGPISANTHAM[1], PIYAORN PONGPISANTHAM[2], [1]

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วิทยาเขตแพร่

.....

บทคัดย่อ

การทดลองได้ทำการแยกเซลล์ตัวอ่อนของไก่ประดู่หางดำ (ไก่ตัวให้) จากไข่มีเชื้ออายุ 0 วัน ด้วยวิธี Tyrpsinization และทดสอบความเข้มข้นของเซลล์ตัวอ่อนตัวให้ที่เหมาะสมเพื่อฉีดให้แก่ตัวอ่อนตัวรับในการผลิต chimeric chicken จากนั้นใช้เซลล์ตัวอ่อนของไก่ประดู่หางดำทั้งในรูปเซลล์สดและเซลล์ที่ผ่านการแช่แข็ง ฉีดให้แก่ตัวอ่อนไก่ตัวรับ แล้วนำไข่ที่ได้รับการฉีดเข้าฟักที่อุณหภูมิ 100°F เป็นเวลา 21-22 วัน ตรวจการเจริญเป็นระยะ นำลูกไก่ที่รอดชีวิตและฟักเป็นตัวไปเลี้ยงต่อจนเข้าวัยเจริญพันธุ์ เพื่อตรวจความเป็น germline chimerism

จากการทดลองฉีดเซลล์ตัวอ่อนของไก่ประดู่หางดำให้แก่ตัวอ่อนในไข่ของไก่พันธุ์โรด พบว่าอัตราการฟักออกของไข่ที่ได้รับการฉีดเซลล์สดจำนวน 5000 เซลล์ เท่ากับ 3.04 % (10/329) จากตัวอ่อนที่ได้รับการฉีดเซลล์จำนวน 10000 เซลล์เท่ากับ 2.27% (3/127) ส่วนการฉีดเซลล์ที่ผ่านการแช่แข็งและละลายแล้วจำนวน 5000 เซลล์ มีอัตราการฟักออกเท่ากับ 2.72 % (8/292) ทั้งหมดมีลักษณะภายนอก(phenotype) ~ของไก่พันธุ์โรดปกติ ยกเว้นไก่หมายเลข B537 ตาบอด 1 ข้าง และ F123 หางเบี้ยว แต่บางตัวไม่แข็งแรงและตายไปในระยะแรกของการเลี้ยง เหลือไก่ที่มีชีวิตอยู่รอ

พิสูจน์การเป็น germline chimerism ทั้งหมด 15 ตัว ไก่ทั้ง 15 ตัวนี้แสดงลักษณะ phenotype ของไก่ไข่

ในการพิสูจน์ความเป็น germline chimerism โดยนำไก่ chimera ซึ่งมีลักษณะของไก่ไข่ไปผสมกับไก่ไข่พันธุ์โรด แล้วดูลักษณะของลูกที่เกิดว่าเป็นลูกผสมประดู่หางดำหรือไม่ มีไก่ 6 ตัวที่โตพอและเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์จนสามารถผสมกับไก่ไข่ได้ พบว่าไก่ 3 ตัว เป็น germline chimera คือ B138, B417 และ B471 โดยB138 ให้ลูกไก่ขนดำ 1 ตัวจากลูกไก่ 100 ตัว B417 ให้ลูกไก่ขนดำ 3 ตัวจากลูกไก่ 97 ตัว B471 ให้ลูกไก่ขนดำ 1 ตัวจากลูกไก่ 100 ตัว ไก่ที่เหลือตายก่อนผสม บางตัวติดโรคจากไก่อื่นและตายไป ทำให้ไม่ได้ผสมเพื่อทดสอบความเป็น germline chimera

ABSTRACT

Blastodermal cells of Thai native chicken (Pradoo Hangdam) were extracted from zero day old chick embryo by trypsinisation technique. Blastodermal cell concentration was optimized for chimeric production before both fresh and frozen blastoderms were injected in to 0 day old Rhode Island Red chick embryos. The injected eggs were incubated at 100 °F for 21- 22 days. The incubated eggs were candled regularly. The embryoes that can fully developed and hatched were tested for chimerism later on.

The result of injecting Pradoo Hangdam blastodermal cells in to Rhode embryoes showed that the hatchabilities of recipient eggs receiving 5000 and 10000 fresh donor blastodermal cells were 3.04% (10/329) and 2.27% (3/127) respectively. Whereas the hatchabilities of recipients receiving 5000 frozen donor blastodermal cells was 2.72% (8/292). The hatched chicks expressed normal Rhode Island Red phenotype. However one chick (B537) was blinded on one eye. Some of chimeric chicks died at early age. Fifteen chimeric chicks survived until mature stage.

Testing for germ line chimerism, Six healthy survived chimeric chicken were tested by mating with Rhode island red chickens. The result showed that three chimeric chickens, B138, B417 and B471 produced some of offspring that have black Thai native chicken feather (1/100, 3/97 and 1/100 of chik tested respectively).