

การจำแนกสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ  
ด้วยไมโครแซทเทลไลท์-มาร์กเกอร์

นาย เฉลิมชัย หอมตา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปีการศึกษา **2546**

**ISBN 974 533 276 3**

**IDENTIFICATION OF NATIVE CHICKENS IN THE NORTHEAST  
BY USING MICROSATELLITE MARKER**

**Mr.Chalemchai Homtar**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Degree of Master of Science in Animal Production Technology  
Suranaree University of Technology  
Academic Year 2008  
ISBN 974 533 276 3**

เฉลิมชัย หอมตา : การจำแนกสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ  
ด้วยไมโครแซทเทลไลท์-มาร์กเกอร์

(IDENTIFICATION OF NATIVE CHICKENS IN THE NORTHEAST BY USING  
MICROSATELLITE MARKER) อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร.พงษ์ชาญ ฅ  
ลำปาง, 76 หน้า. ISBN 974-533-276-3

การศึกษาลักษณะรูปพรรณสัณฐานภายนอกของไก่พื้นเมือง 5 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยการสัมภาษณ์แบบกึ่งโครงสร้าง พบว่าลักษณะรูปพรรณสัณฐานของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความหลากหลายมาก แต่ไม่สามารถใช้เป็นหลักในการในการจำแนกสายพันธุ์ได้อย่างชัดเจน การศึกษาพันธุกรรมจากกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น ชัยภูมิ สกลนคร และเลย จังหวัดละ 10 ตัวอย่าง รวม 50 ตัวอย่าง โดยการใช้ไมโครแซทเทลไลท์ มาร์กเกอร์เป็นไพรมอร์จำนวน 6 คู่ได้แก่ B45, B100, B144, B178, B271 และ B305 ด้วยโปรแกรม NTSYSpc โดยวิธี UPGMA พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในกลุ่มตัวอย่างไก่พื้นเมืองจังหวัดชัยภูมิมีค่าสูงสุดเท่ากับ  $0.583 \pm 0.293$  จังหวัดเลยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ  $0.317 \pm 0.293$  จำนวนของอัลลีลในแต่ละโลคัสอยู่ระหว่าง 5 – 9 อัลลีลต่อไพรมอร์ และมีค่าระหว่าง 1 – 6 อัลลีลต่อกลุ่มตัวอย่าง ค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมในกลุ่มไก่จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น ชัยภูมิ สกลนคร และเลย มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.31, 24.58, 23.78, 27.11 และ 21.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์  
ปีการศึกษา 2546

ลายมือชื่อนักศึกษา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

CHALERMCHAI HORMTAR : IDENTIFICATION OF NATIVE CHICKENS  
IN THE NORTHEAST BY USING MICROSATELLITE MARKER. THESIS  
ADVISOR : ASSOC. PROF. PONGCHAN NA - LAMPANG, Ph. D., 76 PP.  
ISBN 974-533-276-3

The study on morphology of native chickens in 5 provinces of Northeast by using Semi-structure Interview Technique show that the morphology of native chicken in the Northeast are highly different within population, but can not be used as a means to identify lines of native chicken. The genetic study of 50 chickens, 10 each from Nakhonratchasima, Khonkaen, Yasothon, Sakonnakhon and Loei provinces was done though 6 microsatellite markers consist of B45, B100, B144, B178, B271 and B305 respectively. Genetic similarity and Phylogenetic tree were also computed by NTSYSpc with UPGMA method. It was found that the highest average heterozygosity was obtained in Yasothon ( $0.583 \pm 0.293$ ) and lowest heterozygosity was obtained in Loei ( $0.317 \pm 0.293$ ). The number of DNA bands in each locus derived from its primer range between 5 - 9 alleles and the number of DNA bands within population, range between 1 - 6 alleles. The estimated genetic similarity from the DNA bands of Nakhonratchasima, Khonkaen, Yasothon, Sakonnakhon and Loei provinces were 17.31, 24.58, 23.78, 27.11 and 21.82% respectively.

School of Animal Production Technology  
Academic Year 2003

Student's signature .....  
Advisor's signature .....  
Co-advisor's signature .....  
Co-advisor's signature .....  
Co-advisor's signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก รองศาสตราจารย์ ดร.กนก ผลารักษ์ รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ฌ ลำปาง ที่ให้โอกาสในการศึกษา คำปรึกษาแนะนำ ช่วยเหลือ ในด้านวิชาการและการดำเนินงานวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์ รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ สิริพลวัฒน์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มารีนา เกตุทัต คารนส์ ที่ให้คำแนะนำ ปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ อย่างดียิ่ง ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย วนภู ที่ให้คำปรึกษาด้านวิชาการ ขอขอบคุณเพื่อนร่วมงานฟาร์มมหาวิทยาลัยที่ให้กำลังใจ

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนิช คำรบธนสาร ที่ให้คำแนะนำและแนวทางในการประเมินค่าทางพันธุกรรมและเป็นกำลังใจในการศึกษา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ผู้ให้กำเนิด อบรมสั่งสอนจนได้รับโอกาส และสิ่งที่ดีในชีวิตตลอดมา ขอขอบคุณ พี่ น้อง และหลานที่เป็นกำลังใจ ขอขอบคุณ นางประวีณา หอมตา เด็กชาย จิรเมธ หอมตา ที่ช่วยเหลือและเสียสละเวลาบางส่วนเพื่อการศึกษาของผู้วิจัย

เฉลิมชัย หอมตา

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ง
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) .....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
<b>บทที่</b>	
<b>1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 สมมุติฐานของการวิจัย.....	2
1.4 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	2
1.5 ขอบเขตและข้อจำกัดของการวิจัย.....	2
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	3
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>2 ปรัชญาวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>4</b>
2.1 การจำแนกลำดับวงศ์ (Classification) ของสัตว์ปีก.....	4
2.2 รูปแบบการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในประเทศไทย.....	4
2.3 พันธุ์ไก่พื้นเมือง.....	5
2.4 งานวิจัยทั่วไปด้านไก่พื้นเมือง.....	6
2.5 ลักษณะจีโนมของไก่.....	7
2.6 เครื่องหมายทางพันธุกรรม (Genetic marker).....	8
2.7 แผนที่ยีน (Genetic map).....	8
2.8 การตรวจสอบสายพันธุ์ไก่พื้นเมือง.....	9
2.10 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Polymerase Chain Reaction : PCR).....	11

## สารบัญ (ต่อ)

<b>3</b>	<b>วิธีการดำเนินการวิจัย.....</b>	<b>12</b>
3.1	การศึกษาลักษณะรูปพรรณสัณฐานที่สำคัญของไก่พื้นเมืองที่มีการเลี้ยงกระจาย ทั่วไปในท้องถิ่นต่าง ๆ ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.....	12
3.1.1	วิธีการวิจัย.....	12
3.1.2	ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง.....	12
3.1.3	เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	12
3.1.4	การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	12
3.1.5	การวิเคราะห์ข้อมูล.....	13
3.2	การศึกษาและเปรียบเทียบลักษณะสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองโดยวิธีอนุพันธุกรรม.....	13
3.2.1	วิธีการวิจัย.....	13
3.2.2	สัตว์ทดลอง.....	13
3.2.3	การเก็บตัวอย่างเลือด.....	13
3.2.4	วิธีการสกัดดีเอ็นเอ.....	13
3.2.5	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	14
3.2.6	การตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยวิธี Gel Electrophoresis.....	16
3.2.7	การวิเคราะห์ข้อมูล.....	16
<b>4</b>	<b>ผลการทดลอง.....</b>	<b>20</b>
4.1	ระบบการเลี้ยงไก่พื้นเมือง.....	20
4.1.1	โรงเรือนและอุปกรณ์.....	20
4.1.2	อาหารและการให้อาหาร.....	20
4.1.3	การเจริญเติบโต.....	20
4.1.4	โรคและการป้องกันโรค.....	21
4.1.5	การตลาด.....	21
4.2	ลักษณะรูปพรรณสัณฐานภายนอก (Morphology).....	21
4.3	การจำแนกพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองโดยวิธีอนุพันธุกรรม.....	23
4.3.1	ค่า Heterozygosity ของไก่พื้นเมือง.....	30
4.3.2	ความถี่อัลลีลของไก่พื้นเมือง (Allelic Frequency).....	31

## สารบัญ (ต่อ)

4.3.3 อัตราส่วนโพลิมอร์ฟิซึม (Polymorphism, P).....	33
4.3.4 เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมือง (Genetic Similarity)	34
<b>5 บทสรุป.....</b>	<b>43</b>
5.1 ลักษณะรูปร่างพื้นฐานภายนอก (Morphology) ของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตามการจำแนกโดยปัจจัยทางภูมิศาสตร์.....	43
5.2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตามการจำแนกโดยวิธีอณูพันธุกรรม.....	43
5.2.1 ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร (Heterozygosity).....	43
5.2.2 ความถี่ของอัลลีลในแต่ละโลคัส (Allelic Frequency).....	43
5.2.3 อัตราส่วนโพลิมอร์ฟิซึม (Polymorphism, P).....	44
5.2.4 เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Similarity).....	44
<b>รายการอ้างอิง.....</b>	<b>45</b>
<b>ภาคผนวก.....</b>	<b>51</b>
ภาคผนวก ก.....	52
ภาคผนวก ข.....	56
ภาคผนวก ค.....	68
ภาคผนวก ง.....	69
ภาคผนวก จ.....	71
ภาคผนวก ฉ.....	74
<b>ประวัติผู้เขียน.....</b>	<b>77</b>



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบสายพันธุ์ไก่พื้นเมือง.....	14
3.2	ส่วนประกอบของสารละลายที่ใช้ในกระบวนการ PCR.....	15
3.3	ส่วนประกอบของ Polyacrylamide Gel.....	16
4.1	ลักษณะสีขนของไก่พื้นเมืองในทั้ง 5 จังหวัด.....	22
4.2	ลักษณะหงอนของไก่พื้นเมืองในทั้ง 5 จังหวัด.....	22
4.3	ลักษณะสีของแข้งไก่พื้นเมืองในทั้ง 5 จังหวัด.....	22
4.4	ค่า Heterozygosity ของไก่พื้นเมืองในทั้ง 5 จังหวัด.....	31
4.5	ความถี่อัลลีลของไก่พื้นเมือง (Allelic Frequency).....	32
4.6	โลกัสของยีนและค่าอัตราส่วน โพลิมอร์ฟิกในไก่พื้นเมือง 5 จังหวัด.....	34

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
3.1 ลำดับปฏิบัติการเพิ่มขึ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธีการ PCR.....	19
4.1 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจด้วย Microsatellite Marker ในไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด ด้วย Primer B45.....	24
4.2 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจด้วย Microsatellite Marker ในไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด ด้วย Primer B100.....	25
4.3 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจด้วย Microsatellite Marker ในไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด ด้วย Primer B144.....	26
4.4 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจด้วย Microsatellite Marker ในไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด ด้วย Primer B178.....	27
4.5 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจด้วย Microsatellite Marker ในไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด ด้วย Primer B271.....	28
4.6 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจด้วย Microsatellite Marker ในไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด ด้วย Primer B305.....	29
4.7 Phylogenetic Tree ของไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา.....	35
4.8 Phylogenetic Tree ของไก่พื้นเมืองจังหวัดขอนแก่น.....	36
4.9 Phylogenetic Tree ของไก่พื้นเมืองจังหวัดยโสธร.....	36
4.10 Phylogenetic Tree ของไก่พื้นเมืองจังหวัดสกลนคร.....	37
4.11 Phylogenetic Tree ของไก่พื้นเมืองจังหวัดเลย.....	37
4.12 Phylogenetic Tree ของไก่พื้นเมืองทุกตัวที่เก็บตัวอย่าง.....	39

## บทที่ 1

### 1.1 ความสำคัญของปัญหา

ในอดีตที่ผ่านมาเพื่อตอบสนองความต้องการเนื้อสัตว์ที่เพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของประชากร ได้มีการนำเข้าพันธุ์สัตว์จากต่างประเทศในแต่ละปีเป็นปริมาณมาก โดยเฉพาะสัตว์ปีกไม่ว่าจะเป็น พ่อแม่พันธุ์ไก่เนื้อ ไก่ไข่ เป็ดหรือสัตว์ปีกชนิดอื่น ๆ และนอกจากนั้น ยังมีการผสมข้ามพันธุ์ โดยเฉพาะในไก่พันธุ์พื้นเมืองกับไก่พันธุ์ต่างประเทศ เช่น พันธุ์เล็กฮอร์น บาร์พลีมัธร็อค หรือ ไรต์ ไอซ์แลนด์เรด เพื่อผลิตไก่สามสายพันธุ์ออกสู่ตลาดทดแทนไก่พื้นเมือง ซึ่งมีการเจริญเติบโต ที่ช้ากว่า การกระทำลักษณะดังกล่าวมีผลทำให้ความสนใจในการพัฒนาไก่พื้นเมืองลดน้อยลงไป แต่ไก่พื้นเมืองยังมีการเลี้ยงกันอย่างกว้างขวางกระจายทั่วทุกภาคของประเทศ เนื่องจากไก่พื้นเมือง เลี้ยงง่าย และสามารถใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้ทางการเกษตรและเศษอาหารเหลือจากครัวเรือนได้เป็นอย่างดี สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2541) รายงานไว้ว่าในปี 2541 ในประเทศไทย มีจำนวนไก่พื้นเมืองทั้งหมดประมาณ 120 ล้านตัว แต่จำนวนการเลี้ยงไก่พื้นเมืองของเกษตรกรแต่ละรายโดยส่วนใหญ่มีจำนวนน้อยตัว (5 - 50 ตัว) รายที่เลี้ยงเป็นจำนวนมากตั้งแต่ 100 ตัวขึ้นไป มีไม่มากนัก ในปัจจุบันนักวิชาการและผู้ที่เกี่ยวข้องด้านการเลี้ยงสัตว์ของประเทศเริ่มตระหนักถึงความสำคัญของไก่พื้นเมืองมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นด้านกรอนุรักษ์ ด้านสุขภาพอนามัย หรือด้านเศรษฐกิจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านกีฬาไก่ชนได้รับความนิยมเป็นอย่างสูง ได้มีการศึกษาและหาทางพัฒนาด้านการจัดการ โภชนศาสตร์ พันธุกรรม และอื่นๆของไก่พื้นเมืองกันมากขึ้น ด้านพันธุกรรม ไก่พื้นเมืองหรือไก่บ้านยังมิได้มีการจำแนกสายพันธุ์ไว้ยกเว้นไก่ชนได้มีการจำแนกสายพันธุ์โดยใช้ความแตกต่างของรูปร่างลักษณะ (Morphology) เป็นเกณฑ์โดยเฉพาะสีของขนที่แตกต่างกันเป็นต้น ยังมีได้มีการจำแนกสายพันธุ์โดยใช้ความแตกต่างทางพันธุกรรม ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในไก่พื้นเมืองเป็นเกณฑ์ในการจำแนก อย่างไรก็ตาม งานวิจัยด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองยังมีน้อยมากทำให้การพัฒนาไก่พื้นเมืองเป็นไปด้วยความล่าช้า

ปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพรุดหน้าไปมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษา ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprint) ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบดีเอ็นเอที่สุ่มหรือจำเพาะเจาะจงจากโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตโดยใช้เทคนิคและวิธีการต่างๆทางชีวโมเลกุล ดีเอ็นเอซึ่งเป็นสารพันธุกรรม

ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆจะมีความจำเพาะเจาะจงสำหรับสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นๆ (Morris, 1994) อีกทั้งลายพิมพ์ดีเอ็นเอนี้จะไม่ขึ้นกับอิทธิพลของสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป จึงทำให้วิธีการจำแนกโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่เหมาะสมในการจำแนกสิ่งมีชีวิตและเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมือง อันจะนำไปสู่การพัฒนาทุกๆด้านของไก่พื้นเมืองและบรรลุเป้าหมายในด้านการอนุรักษ์และด้านเศรษฐกิจในที่สุด

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาลักษณะรูปร่างพื้นฐาน (Morphology) ของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตามการจำแนกโดยปัจจัยทางภูมิศาสตร์

1.2.2 เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบสายพันธุ์ของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตามการจำแนกโดยวิธีอนุพันธุกรรม

## 1.3 สมมุติฐานของการวิจัย

1.3.1 ลักษณะรูปร่างพื้นฐานไก่พื้นเมืองแตกต่างกันตามความแตกต่างทางภูมิศาสตร์

1.3.2 พันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกัน

## 1.4 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

Native Chicken : ไก่พื้นเมือง ไก่บ้าน หรือไก่อู่

PCR : Polymerase Chain Reaction (การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอแบบ)

Microsatellite Marker : เครื่องหมายบ่งชี้ความหลากหลายของดีเอ็นเอในแต่ละโลกัส

## 1.5 ขอบเขตและข้อจำกัดของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นการศึกษาและเปรียบเทียบความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในประชากร (Heterozygosity) ความถี่อัลลีล (Allelic Frequency) และความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Similarity) ของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 50 ตัวอย่าง

## 1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

1.6.1 ไก่พื้นเมืองในที่นี้หมายถึงไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงกันทั่วไปในท้องถิ่นชนบท โดยการเลี้ยงเพื่อเป็นแหล่งอาหารภายในครัวเรือนหรือเพื่อจำหน่ายเป็นรายได้เสริม

1.6.2 ไก่พื้นเมืองที่ศึกษาถูกสุ่มมาจากพื้นที่ 5 จังหวัดที่มีการเลี้ยง อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ถือว่าเป็นตัวแทนของประชากรไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

## 1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.7.1 ได้ทราบลักษณะรูปร่างพรรณสัณฐานที่สำคัญของไก่พื้นเมืองในพื้นที่ต่างๆของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

1.7.2 ได้ทราบว่าไก่พื้นเมืองตามพื้นที่ต่างๆในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด



## บทที่ 2

### ปรัทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 การจำแนกลำดับวงศ์ ( Classification ) ของสัตว์ปีก

ไก่พื้นเมือง (Domestic chicken) จัดอยู่ใน Species *Gallus domesticus* Genus *Gallus* Family *Phasianidae* Order *Galliformes* Sub-class *Carinatae* Class *Aves* (Smith, 1990) และออกดกตแทนออมทอง (2541) ได้รายงานไว้ว่าต้นตระกูลของไก่พื้นเมืองนั้นอยู่ในทวีปเอเชียตะวันตกเฉียงใต้ ซึ่งประกอบไปด้วยไก่ป่า 4 ชนิด คือ

1. ไก่ป่าสีแดง (*Gallus gallus*)
2. ไก่ป่าซีลอน (*Gallus lafayettii*)
3. ไก่ป่าสีเทา (*Gallus somerati*)
4. ไก่ป่าขาว (*Gallus varius*)

ไก่ป่าขาวจะมีลักษณะผิดกับไก่ป่าชนิดอื่น ๆ คือ มีเหนียงอันเดียว หงอนหวี ขนสร้อยคอไม่แหลม และมีขนหางพิเศษ 1 คู่ ไก่ป่าเหล่านี้มีการแพร่กระจายตัวอยู่เป็นส่วน ๆ ได้แก่ ไก่ป่าสีแดงพบอยู่ในประเทศไทย มาเลเซีย อินเดียและพม่า ไก่ป่าซีลอนพบในประเทศซีลอน ไก่ป่าสีเทาพบในภาคตะวันตกและใต้ของประเทศอินเดียและไก่ป่าขาวพบอยู่ในประเทศอินโดนีเซีย ไก่ป่าทั้ง 4 ชนิดนี้สามารถผสมพันธุ์กันได้ และไขฟักออกมาเป็นลูกไก่ได้

#### 2.2 รูปแบบการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในประเทศไทย

การเลี้ยงไก่พื้นเมืองสามารถกระทำได้หลายแบบ ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมกับสภาพความเป็นอยู่และสภาพพื้นที่ของผู้เลี้ยง โดยทั่วไปแบ่งได้ดังนี้

**2.2.1 การเลี้ยงแบบปล่อย** การเลี้ยงแบบนี้เป็นที่นิยมกันมาก โดยผู้เลี้ยงจะสร้างโรงเรือนหรือเล้าไว้ให้ไก่หลับนอนเฉพาะกลางคืนและปล่อยให้หากินอย่างอิสระตามธรรมชาติ (อภิชัย รัตนวราหะ, 2541) บางครั้งอาจมีการเสริมข้าวเปลือก ปลายข้าว หรือเศษอาหารอื่น ๆ เพื่อให้ไก่มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น

**2.2.2 การเลี้ยงแบบกึ่งขังกึ่งปล่อย** การเลี้ยงแบบนี้คล้ายกับการเลี้ยงแบบปล่อยแต่ต่างกันตรงที่มีรั้วรอบขอบชิดที่แน่นอน โดยภายในรั้วแบ่งพื้นที่เป็นโรงเรือนไก่ ร่มไม้ และลานวิ่ง เกษตรกรมี

หน้าที่เตรียมหน้าอาหาร และให้วัคซีนไก่ รูปแบบนี้จัดเป็นรูปแบบที่เหมาะสมแบบหนึ่งของการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในประเทศไทย (อภิชัย รัตนวราหะ, 2541)

### 2.3 พันธุ์ไก่พื้นเมือง

ไก่พื้นเมืองในประเทศไทย มีนักวิชาการและผู้มีประสบการณ์ด้านไก่พื้นเมืองได้จำแนกสายพันธุ์ไว้ดังนี้ คือ สวัสดิ์ ธรรมบุตร และคณะ (2541) ได้จำแนกออกเป็น 5 สายพันธุ์ได้แก่ ไก่แจ้ ไก่กู ไก่ตะเภา ไก่เบตง และไก่ชน อภิชัย รัตนวราหะ (2541) ได้จำแนกออกเป็น 5 สายพันธุ์ได้แก่ ไก่กู ไก่ตะเภา ไก่แจ้ ไก่กลายพันธุ์ และไก่ดำ โดยลักษณะทั่วไปของไก่แต่ละสายพันธุ์เป็นดังนี้

**2.3.1 ไก่กูหรือไก่ชน** เป็นไก่พันธุ์หนักลำตัวใหญ่ ตัวเมียมีขนสีดำปกคลุมทั้งตัว ตัวผู้มีสีที่แตกต่างกันออกไป เช่น สีเหลืองออกขาว หางดำ เขียวไข่กา สีดำ สีเทา และสีลายอื่น ๆ ไก่ประเภทนี้ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี หากินเก่ง แต่มีข้อเสียคือให้ลูกน้อย การเจริญเติบโตช้า ไก่ประเภทนี้นิยมเลี้ยงไว้เป็นไก่กีฬากันมาก

**2.3.2 ไก่ตะเภา** เป็นไก่ขนาดใหญ่ ปัจจุบันค่อนข้างหายากเพราะไม่ค่อยมีใครคัดเลือกพันธุ์ไว้ส่วนมากจะปล่อยให้ผสมกับไก่สายพันธุ์อื่น ๆ จนทำให้ไก่ประเภทนี้ สูญพันธุ์ไปเกือบหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งไก่ตะเภาทอง ซึ่งมีสีสันสวยงาม มีขนาดใหญ่ ขนอ่อนนุ่มละเอียดสีทอง มีขนที่หน้าแข้ง และมีหงอนแบบหงอนหิน ส่วนไก่ตะเภาก็มีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกับไก่ตะเภาทอง แต่มีหงอนแบบหงอนชบา และมีสีขนเข้มกว่า สีขนมีลักษณะสีแดงแกมเหลืองมีเนื้อนุ่มและรสชาติดี

**2.3.3 ไก่ดำ** ไก่ประเภทนี้มีรูปร่างลักษณะเหมือนกับไก่บ้านที่เลี้ยงกันทั่วไป เช่น ขนาด น้ำหนักตัว หงอน และสีขน เป็นต้น แต่ลักษณะที่แตกต่างคือ จะมีขนสีดำทั้งตัว รวมทั้งปาก ลิ้น หน้าเนื้อ ผิวหนัง เล็บ แข็ง และกระดูก

**2.3.4 ไก่แจ้** ไก่ประเภทนี้มีลักษณะตัวเล็ก เตี้ย น้ำหนักประมาณ 0.5 - 0.6 กิโลกรัม ส่วนมากนิยมเลี้ยงเพื่อความสวยงาม ไม่นิยมรับประทาน เนื่องจากมีขนาดเล็ก แต่เดิมเชื่อกันว่าไก่แจ้เป็นสัตว์อัมภงคล จึงมักนำไปปล่อยตามวัดต่าง ๆ แต่ในปัจจุบันไก่แจ้ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก และมีราคาสูง

**2.3.5 ไก่กลายพันธุ์** ไก่ประเภทนี้เกิดจากการผสมข้ามระหว่างไก่พื้นเมืองด้วยกัน เช่น ไก่กูผสมกับไก่แจ้ ไก่กูผสมกับไก่ตะเภา ไก่กูผสมกับไก่ดำ เป็นต้น ทำให้ไก่ลูกผสมที่ได้มีรูปร่างลักษณะสีขน แตกต่างออกไปมากมาย



## 2.4 งานวิจัยทั่วไปด้านไก่พื้นเมือง

งานวิจัยส่วนใหญ่ที่ผ่านมามีเฉพาะการศึกษาทางด้านโภชนศาสตร์ อัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร อายุ เมื่อให้ไข่ฟองแรก น้ำหนักตัวที่อายุต่าง ๆ เป็นต้น ซึ่งรวบรวมได้ดังนี้

อาวุธ วณิชชาติ (2522) รายงานว่าลูกไก่พื้นเมืองอายุ 1 วันมีน้ำหนักเฉลี่ย  $31 \pm 1$  กรัม น้ำหนักเฉลี่ยที่อายุ 6, 12 และ 24 เดือนเท่ากับ  $1.78 \pm 0.21$ ,  $2.83 \pm 0.48$  และ  $3.74 \pm 0.58$  กิโลกรัม ตามลำดับ กนก ผลารักษ์ และคณะ (2528) รายงานว่า ไก่พื้นเมืองให้ไข่ฟองแรกที่อายุ 24 - 44 สัปดาห์ เฉลี่ย  $31 \pm 6$  สัปดาห์ (CV 22%) น้ำหนักตัวเมื่อให้ไข่ฟองแรก  $1.5 \pm 0.18$  กิโลกรัม น้ำหนักเฉลี่ยที่อายุ 4, 10, 16, 22, 28 และ 34 สัปดาห์เท่ากับ 130, 470, 870, 1,200, 1,460 และ 1,700 กรัม ตามลำดับ อภิชัย รัตนวราหะ และคณะ (2525) รายงานว่าไก่ที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 15 - 18% ที่อายุ 8 และ 10 สัปดาห์ จะมีน้ำหนักตัวเท่ากับ  $400 \pm 108$  กรัม และ  $500 \pm 82$  กรัม และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) เท่ากับ 3.03 และ 4.08 ตามลำดับ และมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 1.5 กิโลกรัมที่อายุ 6 เดือน อภิชัย รัตนวราหะ และคณะ (2528) ยังรายงานว่ไก่ที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 13% มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่ออายุ 16 สัปดาห์เท่ากับ 950 กรัม อายุ และน้ำหนักตัวเมื่อให้ไข่ฟองแรกเท่ากับ  $146.82 \pm 4.29$  วัน และ  $1579.33 \pm 5.07$  กรัม ตามลำดับ เกรียงไกร โชประการ และคณะ (2528) รายงานว่าไก่ที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 15 - 18% มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่ออายุ 8, 16 และ 20 สัปดาห์เท่ากับ 546.88, 1,513.93 และ 1,855.18 กรัม ส่วนไก่ที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีน 12 - 15% มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่ออายุ 8, 16 และ 20 สัปดาห์เท่ากับ 521.06, 1,428.67 และ 1,766.64 กรัม ตามลำดับ และมีน้ำหนักเพิ่มต่อวันเฉลี่ย (ADG) ที่อายุ 16 สัปดาห์เท่ากับ 13 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ เสาวคนธ์ โรจนสถิตย์ และคณะ (2526) กับสุวิทย์ ชีรพันธุ์วัฒน์ และคณะ (2532) โดยมีน้ำหนักเพิ่มต่อวันเฉลี่ย (ADG) ที่อายุ 16 สัปดาห์เท่ากับ 12 กรัม/ตัว/วัน บัญญัติ เหล่าไพบุลย์และคณะ (2526) รายงานว่าเปอร์เซ็นต์ซากไก่พื้นเมืองเท่ากับ 85.40%

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยด้านปรับปรุงพันธุ์ในลักษณะของไก่ลูกผสมระหว่างไก่พื้นเมืองกับไก่สายพันธุ์อื่น ๆ เช่น สวัสดิ์ ธรรมบุตรและคณะ (2541) รายงานว่า ไก่เนื้อพื้นเมืองลูกผสม 5 สายพันธุ์ ซึ่งเกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างไก่พันธุ์โรดไอซ์แลนด์เรด  $\times$  บาร์พลิมัธรีด  $\times$  เชียงไฮ้  $\times$  ไก่เนื้อกรมปศุสัตว์  $\times$  ไก่พื้นเมือง สามารถให้ไข่ 100 - 130 ฟอง/แม่/ปี น้ำหนักตัวที่อายุ 12 สัปดาห์เท่ากับ 1,820 กรัม FCR เท่ากับ 2.94 ไก่ลูกผสมสองพันธุ์ซึ่งเกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างไก่พื้นเมือง  $\times$  โรดไอซ์แลนด์เรด พื้นเมือง  $\times$  บาร์พลิมัธรีด พื้นเมือง  $\times$  เชียงใหม่ 1 และ พื้นเมือง  $\times$  เชียงใหม่ 2 ซึ่งมีน้ำหนักตัวที่อายุ 12 สัปดาห์เท่ากับ 808.9, 790.7, 781.7 และ 773.38 กรัม ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 9.16, 8.97, 8.84 และ 8.74 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ

## 2.5 ลักษณะจีโนมของไก่

ไก่มีโครโมโซม 39 คู่แบ่งออกเป็น Macrochromosome จำนวน 8 คู่ และ Microchromosome จำนวน 30 คู่กับ Sex Chromosome อีก 1 คู่ (Bitgood and Shortner, 1990 ; Smith and Burt, 1998) โครโมโซมเพศในไก่แทนด้วยสัญลักษณ์ Z และ W โดยไก่เพศผู้มีโครโมโซมเป็น ZZ ส่วนในไก่เพศเมียมีโครโมโซมเป็น ZW ซึ่งแตกต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่โครโมโซมเพศแทนด้วยสัญลักษณ์ X และ Y โดยสัตว์เพศผู้มีโครโมโซมเป็น XY ส่วนเพศเมียมีโครโมโซมเป็น XX (Robert and Avens, 1985) ภายในนิวเคลียสของเซลล์ในไก่จะมีปริมาณดีเอ็นเอจำนวน 2.5 พิ-โครกรัม (pg) ต่อดิพลอยด์ (Diploid, 2n) และมีขนาดจีโนม  $1.2 \times 10^9$  คู่เบสต่อแฮพลอยด์ (Haploid, n) (สุรินทร์ ปิยโชคณากุล, 2543)

จีโนม (Genome) หมายถึง โครโมโซม หรือดีเอ็นเอทั้งหมดที่อยู่ในเซลล์และมีความจำเพาะเจาะจงในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (สุรินทร์ ปิยโชคณากุล, 2539)

จีโนมของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีขนาดที่แตกต่างกัน ตั้งแต่จำนวน 1,000 คู่เบส เช่นในไวรัส จนถึง 10,000 ล้านคู่เบส ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง (สุรินทร์ ปิยโชคณากุล, 2539) โดยจีโนมในมนุษย์ (*Homo sapiens*) มีขนาด  $3.2 \times 10^9$  คู่เบส (Klug and Cummings., 2000) สุกร (*Sus scrofa*) มีขนาด  $2.8 \times 10^9$  คู่เบส (Cunningham, 1999) โค (*Bovis domesticus*) มีขนาด  $3.1 \times 10^9$  คู่เบส (สุรินทร์ ปิยโชคณากุล, 2543)

ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงจีโนมจะมีลำดับเบสที่ซ้ำๆกัน โดยแบ่งออกเป็น 3 ชนิดได้แก่ (1) แซทเทลไลท์ (Satellite) มีลำดับเบสซ้ำ 2 - 6 เบส จำนวนซ้ำกันแต่ละตำแหน่ง  $10^3 - 10^7$  ครั้งพบเพียง 1 - 2 ตำแหน่ง บนโครโมโซม (2) มินิแซทเทลไลท์ (Minisatellite) มีลำดับเบสซ้ำ 9 - 100 เบส จำนวนซ้ำกันแต่ละตำแหน่ง 10 - 1,000 ครั้ง และ (3) ไมโครแซทเทลไลท์ (Microsatellite) มีลำดับเบสซ้ำ 2 - 6 เบส จำนวนซ้ำกันแต่ละตำแหน่งน้อยกว่ามินิแซทเทลไลท์ (วุฒิพงษ์ อินทรธรรม และคณะ, 2544)

Microsatellite เป็นส่วนของดีเอ็นเอที่ไม่ถูกถอดรหัสเป็นอาร์เอ็นเอ จะมีบทบาทและหน้าที่เฉพาะในนิวเคลียส (Nucleus) (Satelling *etal*, 1991) และ Microsatellite ยังสามารถนำมาใช้เป็น Genetic Marker ได้เนื่องจากจำนวนเบสที่เป็น Tandem Repeat มีความหลายรูปแบบสูงมาก (Highly Polymorphic) โดยความหลายรูปแบบนี้เป็นตัวบ่งชี้ความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุล (Molecular Genetic) ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองได้อีกด้วย (Cheng *etal*, 1995)

## 2.6 เครื่องหมายทางพันธุกรรม (Genetic Marker)

เครื่องหมายทางพันธุกรรม (Genetic Marker) หมายถึง เครื่องหมายที่ใช้ในการทำแผนผังของยีนบนโครโมโซม เป็นการบอกตำแหน่งบนจีโนมของยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะต่างๆ และ Marker Allele จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงความหลากหลายของดีเอ็นเอในตำแหน่งที่พบนั้นๆ (Crooijmans *et al*, 1996) อย่างไรก็ตาม ในการทำแผนผังยีนจำเป็นต้องหา Marker ให้มากเพียงพอที่จะครอบคลุมพื้นที่บนโครโมโซมทุกคู่ในสิ่งมีชีวิตให้ได้เสียก่อน

## 2.7 แผนผังยีน (Genetic map)

แผนผังยีน (Genetic map) หมายถึง แผนผังที่แสดงตำแหน่งของยีนบนโครโมโซม เพื่อใช้ในการศึกษาจีโนมของพืชและสัตว์ (Alhorly *et al*, 1999) ซึ่งได้จากการศึกษาอัลลีลแบบต่างๆ (Allelic Variant) ณ โลกัสนหนึ่ง และมีผลต่อลักษณะทางปริมาณ (Quantitative Trait) เช่น การเจริญเติบโต สมรรถภาพการสืบพันธุ์ ความต้านทานต่อโรค ฯลฯ ทำให้เกิดผลดีต่อการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

Cheng *et al* (1995) ได้จัดทำแผนผังยีนของประชากรไก่อ้วนจาก Microsatellite จำนวน 219 clones โดยแบ่งกลุ่มของ Microsatellite เป็น 3 กลุ่มได้แก่ 1) Microsatellite ของยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคมาร์เร็กซ์ (Marek's Disease) 2) Microsatellite ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสะสมไขมันในช่องท้อง (Abdominal Fat) 3) Microsatellite ของยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการให้ผลผลิต (Productive Traits) และแผนผังยีนของ Cheng *et al* (1995) ยังครอบคลุมจีโนมของไก่อ้วนประมาณ 2,550 cM โดยระยะห่างระหว่าง Microsatellite Marker เท่ากับ 20 cM

Crooijmans *et al* (1996) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่อ้วนและไก่ไข่ โดยใช้ Microsatellite 17 คู่ พบว่าเกิดอัลลีลเฉลี่ย 5.8 อัลลีลต่อไพรเมอร์ และมีค่า Heterozygosity ในไก่อ้วนเท่ากับ 0.53 ส่วนในไก่ไข่เท่ากับ 0.27

Vanhala *et al* (1998) ทำการศึกษาเรื่องความผันแปรและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง ไก่อ้วน 8 สายพันธุ์โดย 9 Microsatellite Markers บนแผนผังยีนของ East Lansing ได้แก่ HUI5, HUI7, HUI10, HUI12, MCW03, MCW05, MCW07, MCE14 และ MCW16 ทุกโลกัสนพบความแตกต่าง ซึ่งจำนวนอัลลีลที่พบอยู่ระหว่าง 4 ถึง 13 อัลลีลต่อโลกัสนและ 1 ถึง 10 อัลลีลต่อสายพันธุ์ ส่วน Heterozygosity อยู่ระหว่าง 0.00 ถึง 0.91 โดยค่าเฉลี่ยของ Heterozygosity สูงสุดเป็น 0.67 ในไก่อ้วนและต่ำสุดเป็น 0.29 ในไก่ไข่

Emara *et al* (2002) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่อ้วน 3 สายพันธุ์ที่ตำแหน่งยีน MHC (Major Histocompatibility Complex (B)) โดยยีน MHC มีความสำคัญต่อความ

ต้านทานโรคและความอ่อนแอต่อโรคของสัตว์ปีก (Heller *et al.*, 1991 อ้างโดย Emara *et al.*, 2002) และจากการใช้ Microsatellite Marker จำนวน 41 Loci พบว่า Heterozygosity ของยีน MHC อยู่ระหว่าง 59 ถึง 67 เปอร์เซ็นต์ถือว่ามีความหลายรูปแบบสูง ส่วน Heterozygosity ของ Microsatellite 41 Loci อยู่ระหว่าง 0 ถึง 89 เปอร์เซ็นต์ในสายพันธุ์และมีจำนวนอัลลีลระหว่าง 1 ถึง 8 อัลลีลเฉลี่ย 3.5, 2.8 และ 3.1 อัลลีลของแต่ละสายพันธุ์ตามลำดับ

Kaiser *et al.* (2002a) ได้ศึกษาการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรค *Salmonella Enteritidis* (SE) ในไก่กระทอง ด้วย Microsatellites Marker 4 Loci ได้แก่ ADL0020, ADL0138, ADL0198 และ ADL0298 พบว่า ความสัมพันธ์ของ Microsatellite allele ของ Microsatellite Marker แต่ละ Loci แสดงการตอบสนองต่อการทำวัคซีนป้องกันโรค *Salmonella Enteritidis* ในไก่กระทองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ในปีเดียวกัน Kaiser *et al.* (2002b) ยังได้ศึกษาวิธีการของโรค *Salmonella Enteritidis* ของไก่กระทองจากม้ามและไส้ติ่งโดยใช้ Microsatellite Marker 4 Loci ได้แก่ ADL0020, ADL0138, ADL0198 และ ADL0298 พบว่า Microsatellite Marker ทั้ง 4 Loci สนองต่อการเกิดโรค *Salmonella Enteritidis* ในไก่กระทองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

## 2.8 การตรวจสอบสายพันธุ์ไก่พื้นเมือง

ได้มีการใช้หลักฐานทางดีเอ็นเอกันอย่างกว้างขวางในต่างประเทศตั้งแต่ปี พ.ศ. 2530 (นิคย์ศรี แสงเดือน, 2540) โดยหลักฐานที่กล่าวนั้นคือลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprint) ซึ่งใช้เป็นรูปแบบลักษณะประจำพันธุ์ ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมระดับโมเลกุลซึ่งเทคนิคดังกล่าวจะมีประโยชน์ต่อการเก็บรวบรวมลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ไว้เป็นมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบต่อไปเพราะในสิ่งมีชีวิตจะมีการเรียงตัวในดีเอ็นเอแตกต่างกัน โดยการเรียงตัวของเบสเป็นลักษณะพิเศษที่มีแบบซ้ำๆกันอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นลำดับเบสที่มีจำนวนซ้ำแตกต่างกันทำให้เกิดความหลากหลายรูปแบบ (Polymorphism) ทำให้เราสามารถศึกษาการเกิดรูปแบบเฉพาะที่แตกต่างกันได้

ปัจจุบันมีเทคนิคหลายอย่างในการศึกษาความหลากหลายทางชีวโมเลกุลได้แก่ Protein Polymorphism, Allozyme, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) และ Microsatellite Polymorphism (Zhang *et al.*, 2002), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) และ Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) (Vos *et al.*, 1995) โดยวิธีดังกล่าวข้างต้นใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่ที่เรียกว่า PCR (Polymerase Chain Reaction) เพื่อขยายจำนวนดีเอ็นเอให้เพียงพอในการศึกษาแถบของดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสิ่งมีชีวิตด้วยวิธี Gel Electrophoresis ต่อไป

Zhang *et al* (2002a) ได้ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของไก่พื้นเมืองจีน 5 สายพันธุ์ ไก่เนื้อ 2 สายพันธุ์และไก่ไข่ 1 สายพันธุ์ด้วยเทคนิค Allozyme, RAPD และ Microsatellite Polymorphism พบว่าเทคนิค Allozyme จากการใช้เอนไซม์ Alkalinephosphatase-1 (Akp-1), Alkalinephosphatase-2 (Akp - 2), Amylase-1 (Amy - 1), Amylase - 2 (Amy - 2), Esterase - 1 (Es - 1), Esterase - 2 (Es - 2), Albumin (Alb), Transferrin (Tf) และ Pre-albumin (Pa) ค่าเฉลี่ยของ Heterozygosity หรือ Gene Diversity มีค่าต่ำสุดเป็น 0.2209 เทคนิค RAPD จากการใช้ Primer 20 คู่ ได้แก่ OPA04, A06, A11, B08, B17, C02, C05, C06, D01, D02, D11, E01, E02, E12, E19, F19, F20, G14, G16, L08 และ L20 ค่าเฉลี่ย Heterozygosity มีค่าปานกลางเป็น 0.2632 และมีค่าเฉลี่ยสูงสุดจากเทคนิค Microsatellite Polymorphism จากการใช้ 9 Microsatellite Markers ของ East Lansing's Population Kit4 เป็น 0.759 ในปีเดียวกัน Zhang *et al* (2002b) ยังได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic Diversity) ของไก่พื้นเมืองจีนด้วยเทคนิค Protein Polymorphism, RAPD และ Microsatellite Polymorphism ในไก่พื้นเมืองจีน 11 กลุ่มและไก่พันธุ์ต่างประเทศ 5 พันธุ์ พบว่าผลจากการใช้เทคนิค Protein Polymorphism ไม่พบความแตกต่างระหว่างไก่พื้นเมืองกับไก่พันธุ์เนื้อ เทคนิค RAPD จากการใช้ Primer 20 Primers พบความหลายรูปแบบสูงมากในประชากรไก่พื้นเมือง ปานกลางในไก่พันธุ์เนื้อและต่ำในไก่พันธุ์ไข่และพบความแตกต่างเพียงเล็กน้อยระหว่างไก่ทั้ง 3 กลุ่ม เทคนิค Microsatellite Polymorphism จากการใช้ Microsatellite Marker 9 Loci จากแผนผังยีนของ Cheng (Cheng *et al*, 1995) ได้แก่ ADL0210, ADL0136, ADL0158, ADL0171, ADL0172, ADL0176, ADL0181, ADL0210 และ ADL0267 พบความแตกต่างทางพันธุกรรม (Genetic Diversity) สูงในไก่พื้นเมืองจีนและต่ำในไก่พันธุ์เนื้อ นอกจากนั้นไก่พันธุ์พื้นเมืองจีนยังมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับไก่พันธุ์เนื้อแต่มีความสัมพันธ์ห่างกันกับไก่พันธุ์ไข่

เยาวลักษณ์ เตไพจิตร (2544) ได้ศึกษาการประมาณค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างไก่พื้นเมือง ไก่ไข่ ไก่เนื้อ และไก่เบตงด้วย Microsatellite PCR จากการใช้ Microsatellite Primer จำนวน 20 Loci ได้แก่ B39, B42, B45, B55, B71, B76, B85, B132, B154, B194, B206, B259, B269, B271, B292, B305, IL86 และ IL181 พบจำนวนแถบดีเอ็นเอจากทุกกลุ่มตัวอย่างในแต่ละ Primer มีค่าระหว่าง 2 - 9 อัลลิล และค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในพันธุ์ของไก่พื้นเมือง ไก่ไข่ ไก่เนื้อ และไก่เบตง มีค่าเฉลี่ยเป็น 37, 36, 34 และ 51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

## 2.9 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Polymerase Chain Reaction : PCR)

วิธีการ PCR เป็นวิธีการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเอนไซม์ DNA Polymerase โดย Crooijmans *et al.* (1996) และ Bujó *et al.* (1996) ได้ศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยวิธีการ PCR ในไก่กระทงและไก่ไข่ และได้อธิบายวิธีการทาง PCR ไว้ดังนี้

ส่วนประกอบสำคัญในการเพิ่มสาย DNA สายใหม่ของขบวนการ PCR ได้แก่

(1) ดีเอ็นเอแม่แบบ (DNA Template)

(2) ไพรมเมอร์ (Primer) ซึ่งจะต้องจับคู่กับ DNA Template สำหรับการตั้งต้นสังเคราะห์ DNA สายใหม่โดย Primer จะจับกับ DNA Template และขยายจำนวน DNA จากปลาย 3' ไปยัง 5'

(3) Enzyme DNA Polymerase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทนความร้อนสูง โดยสกัดได้จากแบคทีเรีย เทอร์มัส อควาทิคัส (*Thermus aquaticus*, Taq) ที่ได้จากบ่อน้ำพุร้อนในอุทยานแห่งชาติ เยลโลสโตน (Yellow Stone National Park) และใช้เทคนิค Recombination เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น

(4) นิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 แบบ ได้แก่ dATP, dCTP, dGTP และ dTTP นอกจากนั้นยังต้องมีเกลือพวก  $MgCl_2$ , KCl และ Buffer

โดยขั้นตอนของ PCR ประกอบด้วย

(1) Denaturation เป็นการให้ความร้อนแก่ดีเอ็นเอแม่แบบที่อุณหภูมิ 90 - 95 องศาเซลเซียส เพื่อให้ดีเอ็นเอเกลียวคู่คลายตัวออกเป็นสายเดี่ยว

(2) Primer Annealing เป็นขั้นตอนลดอุณหภูมิลงให้เหมาะสำหรับการจับกันระหว่าง Primer ซึ่งเป็น DNA สายสั้นๆที่มีลำดับเบสจำเพาะกับบริเวณของ DNA แม่แบบที่ต้องการศึกษากับ DNA สายเดี่ยว โดยใช้อุณหภูมิ 40 - 60 องศาเซลเซียส

(3) Primer Extension เป็นการปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์เพื่อให้เกิดการสร้าง DNA ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียสจากนั้นเข้าสู่ปฏิกิริยารอบใหม่ต่อไป



## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การศึกษาลักษณะรูปร่างพื้นฐานที่สำคัญของไถ่พื้นเมืองที่มีการเลี้ยงกระจายทั่วไปในท้องถิ่นต่าง ๆ ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

##### 3.1.1 วิธีการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงสำรวจเพื่อให้ทราบลักษณะรูปร่างพื้นฐานที่สำคัญและระบบการเลี้ยงไถ่พื้นเมืองในระดับหมู่บ้านหรือระดับท้องถิ่น โดยการสำรวจข้อมูลการเลี้ยงจากสำนักงานปศุสัตว์เขตปศุสัตว์จังหวัด ชุมรมผู้เลี้ยงไถ่พื้นเมืองและเกษตรกร

##### 3.1.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

พื้นที่ทำการศึกษแบ่งออกเป็น 5 จังหวัด คือ นครราชสีมา ขอนแก่น ชัยภูมิ สกลนคร และเลย แหล่งที่เก็บข้อมูลกำหนดให้มีระยะห่างประมาณ 180 - 200 กิโลเมตร และไม่เป็นที่ที่ใกล้ชายแดน ซึ่งอาจมีการเคลื่อนย้ายไถ่พื้นเมืองจากประเทศเพื่อนบ้านเข้ามาปะปนได้ นอกจากนั้นต้องเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงไถ่พื้นเมืองอย่างต่อเนื่องมาเป็นเวลานานทั้งหมู่บ้านหรือทั้งตำบล และไม่มีหลักฐานปรากฏว่ามีการนำไถ่พันธุ์ต่างประเทศเข้ามาเลี้ยงปะปนในช่วงเวลา 5 ปีที่ผ่านมา ซึ่งได้แก่ ไถ่พื้นเมืองจากอำเภอเมือง อำเภอสีกี้ว จังหวัดนครราชสีมา อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น อำเภอมหาชนะชัย จังหวัดชัยภูมิ อำเภอวานรนิวาส อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร และอำเภอท่าลี่ อำเภอเมือง จังหวัดเลย จังหวัดละ 10 ตัวอย่าง รวม 50 ตัวอย่าง

##### 3.1.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษครั้งนี้ได้แก่ สมุดบันทึก เครื่องชั่ง กล้องถ่ายรูป กล้องถ่ายภาพดิจิทัล Disket และ คอมพิวเตอร์

##### 3.1.4 การเก็บรวบรวมข้อมูล

การวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีการเก็บข้อมูลช่วงเวลาเดียว (Cross-sectional Approach) คือระหว่างเดือนพฤษภาคม 2544 ถึงเดือนพฤษภาคม 2545 โดยการสุ่มศึกษาและเก็บข้อมูลด้านรูปแบบการเลี้ยง การผสมพันธุ์ การให้อาหาร รูปร่างพื้นฐาน (Morphology) และข้อมูลที่สำคัญอื่น ๆ โดยการสัมภาษณ์ การสังเกตและการถ่ายภาพ

##### 3.1.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้วิธีการเชิงอธิบายถึงรูปร่างพื้นฐานและการเลี้ยงแบบต่างๆ



## 3.2 การศึกษาและเปรียบเทียบสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยวิธี อณูพันธุกรรม

### 3.2.1 วิธีการวิจัย

นำตัวอย่างเลือดไก่พื้นเมืองจากทั้ง 5 จังหวัดมาทำการวิเคราะห์เพื่อจำแนกสายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการที่ศูนย์เครื่องมือและวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยากำแพงแสน

### 3.2.2 สัตว์ทดลอง

ตัวอย่างเลือดไก่พื้นเมืองที่ใช้ในการศึกษาได้มาจาก

ไก่พื้นเมืองเทศเมียจากจังหวัดนครราชสีมา	จำนวน 10 ตัว
ไก่พื้นเมืองเทศเมียจากจังหวัดขอนแก่น	จำนวน 10 ตัว
ไก่พื้นเมืองเทศเมียจากจังหวัดยโสธร	จำนวน 10 ตัว
ไก่พื้นเมืองเทศเมียจากจังหวัดสกลนคร	จำนวน 10 ตัว
ไก่พื้นเมืองเทศเมียจากจังหวัดเลย	จำนวน 10 ตัว

### 3.2.3 การเก็บตัวอย่างเลือด

สุ้มเจาะเลือดจากไก่พื้นเมืองในพื้นที่ทำการเก็บข้อมูลการเลี้ยงตามข้อ 3.1 โดยการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณโคนปีก (Ulnar Vein) จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Microcentrifuge Tube ที่บรรจุ 0.5 M EDTA 0.1 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด เก็บในถังใส่น้ำแข็งแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสเพื่อรอการสกัดดีเอ็นเอ

### 3.2.4 วิธีการสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอโดย DNA Trap Kit ของ DNA TEC ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

- นำตัวอย่างเลือดจำนวน 100  $\mu$ l ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 ml
- เติม Extraction buffer 1,000  $\mu$ l ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
- นำหลอดตัวอย่างจากตู้บ่มวางบนน้ำแข็งนาน 5 นาที เติม Neutralizer 100  $\mu$ l ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex นำไปวางบนน้ำแข็งต่อ 5 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm. เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
- ใช้ Micropipette ดึงของเหลวส่วนบนที่ใสใส่หลอด 1.5 ml หลอดใหม่ เติมของ Trapping Buffer 500  $\mu$ l ผสมให้เข้ากันโดยเขย่าเบา ๆ แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm. นาน 3 - 5 วินาทีแล้วเทส่วนใสทิ้ง
- เติม Washing buffer I 500  $\mu$ l ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm. นาน 3 - 5 วินาทีแล้วเทส่วนใสทิ้ง

6. เติม Washing buffer II 500  $\mu$ l ผสมให้เข้ากัน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm. นาน 3 - 5 วินาทีแล้วเทส่วนใสทิ้ง เปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าของเหลวจะระเหยออกจากตะกอนจนหมด

7. เติม Elution Buffer 100  $\mu$ l ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (เพื่อให้ดีเอ็นเอละลายออกมา) ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm. นาน 3 - 5 วินาที

8. ดึงส่วนใสที่เป็นดีเอ็นเอใส่หลอด 1.5 ml หลอดใหม่ แล้วละลายดีเอ็นเอด้วย TE Buffer นำดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจสอบคุณภาพและปริมาณ โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ส่วนที่เหลือนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ โดยวิธี PCR ต่อไป

### 3.2.5 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

นำสารละลายดีเอ็นเอ (Genomic DNA) ที่ได้ไปเจือจางให้มีความเข้มข้น 5 ng/ $\mu$ l มาเพิ่มปริมาณด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ DNA Marker เป็น Microsatellites ที่เรียกว่า Primer จำนวน 6 Primers ซึ่งคัดเลือก Primer ที่มีความสามารถในการตรวจ Heterozygosity สูง ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ไพร์เมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบสายพันธุ์ไก่พื้นเมือง

ลำดับ	Clone	Sequence (5' to 3')		Tm ( $^{\circ}$ C)	Size (bp)
		Forward primer	Reverse primer		
1	B45	GACCTGCATTGTCAGTGACC	TGCTTCCTACCCATTCTCCT	51	164
2	B100	TGCCAGCCCGTAATCATAGG	AAGCACCACGACCCAATCTA	53	136
3	B144	CATGGCAGCTGACTCCAGAT	AGCGTTACCTGTTGGTTTGC	52	137
4	B178	ATTTTGTGTGTGGGATTAT	GCCTTGATTGGTGTATTAC	49	218
5	B271	GCTTGTGCCTAAGAATGAAC	TGTATGGAGTCTCAGCAAAT	48	153
6	B305	CTCTGTTGTGTGTCTTGTG	TGCATGTTGTCAGTTTTTCAG	47	167

ที่มา : Cheng *et al.* (1995)

การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR ขั้นตอนดังนี้

1. นำสารละลายดีเอ็นเอ (DNA Template) จำนวน 1  $\mu$ l ใส่ลงใน Eppendorf ขนาด 0.5 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายที่ใช้สำหรับกระบวนการทาง PCR จำนวน 4  $\mu$ l ส่วนประกอบของสารละลายต่าง ๆ ดังกล่าวแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของสารละลายที่ใช้ในกระบวนการ PCR

สาร	ปริมาณ ( $\mu$ l)
-----	-------------------

10 X PCR Buffer	0.5
200 $\mu$ M dNTPs	0.5
0.25 $\mu$ M Primer F	0.25
0.25 $\mu$ M Primer R	0.25
0.4 U Taq DNA Polymerase	0.25
dH <sub>2</sub> O	2.25
<b>Total Volume</b>	<b>4</b>

3 นำหลอดทดลองที่บรรจุดีเอ็นเอและสารละลาย PCR เข้าเครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ (Applied Biosystem) รุ่น Gene Amp 9700 โดยการตั้งอุณหภูมิแต่ละรอบที่ทำได้ดังนี้

94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที

94 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

Tm องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที

72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

ตั้งเครื่องให้ปรับอุณหภูมิตาม  
3 ขั้นตอนนี้จำนวน 35 รอบ

หมายเหตุ : Tm คือ Annealing Temperature ของ Primer แต่ละคู่ โดยตั้งอุณหภูมิที่ต่ำกว่า Tm ของ Primer -5 องศาเซลเซียส

: ตัวอย่างการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยกระบวนการ PCR แสดงไว้ในภาพที่ 3.1

4 เก็บรักษาดีเอ็นเอที่ได้จากกระบวนการ PCR (PCR Product) ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

**ตาราง 3.3 ส่วนประกอบของ Polyacrylamide Gel**

สารเคมี	ปริมาตร ( μ l )
4.5% Acrylamide gel(ประกอบด้วย Acrylamide + Bis – acrylamide)	50 ml
10% APS (Ammoniumpersulfate)	300
TEMED	100

### 3.2.6 การตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี Gel Electrophoresis

การแยกขนาดของดีเอ็นเอด้วยวิธี Gel Electrophoresis โดยใช้ Polyacrylamide Gel ซึ่งมีส่วนประกอบของสารเคมีดังแสดงในตารางที่ 3.3

การเตรียม Gel

1. ทำความสะอาดกระจกด้วย Binding Solution ซึ่งประกอบด้วย Bind Silane 3 μ l และ 95% Ethanol ใน 0.5% Glacial acetic acid อัตราส่วน 3 μ l : 1 ml โดยใช้กระดาษ Kimwipes

2. หลังจากนั้น 4 - 5 นาที เช็ดด้วย 95% Ethanol อีกครั้งหนึ่ง

3. ทำความสะอาด Chamber, Spacer และอุปกรณ์ทั้งหมด ด้วย 95% Ethanol

4. นำส่วนผสมของ Polyacrylamide Gel เทลงในกระจกแล้วปล่อยให้เจลโพลิเมอร์แห้งตัวเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

### 3.2.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวัดความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยนำรูปแบบการเกิดแถบดีเอ็นเอของแต่ละอัลลีลในทุกโลโก้จาก 6 คู่ Primer นำมาแปลงเป็นรูปตัวเลขโดยกำหนดให้เลข 0 แทนการไม่เกิดแถบ ณ บริเวณที่เป็นแถวเดียวกันและให้เลข 1 แทนการเกิดแถบดีเอ็นเอแล้วทำการวิเคราะห์ดังนี้

1. การวิเคราะห์ความถี่ของจีโนไทป์ (Genotype Frequency) ของแต่ละโลโก้ทั้ง Primer 6 คู่ โดยการนับจากจำนวนจริงตามวิธีการของ Hendrick (2000)

$$\bar{H} = \frac{1}{Nm} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M H_{ij}$$

$\bar{H}$  = ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีเฉลี่ย

$H_{ij}$  = ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีของแต่ละ Primer

$N_m$  = จำนวนโลโก้ทั้งหมด

จากนั้นหาค่าความแตกต่างของค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีโดยการทดสอบ Analysis of Molecular Variance (AMOVA) ตามวิธีของ Weir (1996) ให้ค่า Heterozygous เป็น “ 1 ” Homozygous เป็น “ 0 ” ของไก่พื้นเมืองในแต่ละโลโก้ ในแต่ละประชากรนำข้อมูลมาคำนวณแบบ Split - plot โดยกำหนดให้ประชากรเป็น Main - plot และโลโก้เป็น Sup - plot ให้แผน

การทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) กำหนดให้กลุ่มตัวอย่างไก่พื้นเมืองเป็น Random Model และโลกัสเป็น Fixed Model

2. จำนวนอัตราส่วนโพลิมอร์ฟิซึม (Polymorphism , P) ตามวิธีของ Nei (1978) ตามสูตร

$$P = \frac{\text{จำนวน โลกัสที่มีความถี่ของอัลลีลใดอัลลีลหนึ่ง} \leq 0.95}{\text{จำนวน โลกัสทั้งหมด}}$$

3. จำนวนความถี่อัลลีล (Allelic Frequency) ของแต่ละ Loci ตามวิธีของ Nei (1978) ตามสูตร

$$X_i = \frac{2H_o + H_e}{2N}$$

$X_i$  = ความถี่ของอัลลีลที่ I

$H_o$  = จำนวนตัวอย่างที่มี Genotype แบบ Homozygote

$H_e$  = จำนวนตัวอย่างที่มี Genotype แบบ Heterozygote

$N$  = จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

4. การคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Similarity) โดยการแปลงข้อมูลแถบ DNA มาเป็นข้อมูลแบบ Binary ตำแหน่งที่มีแถบ DNA จะให้ค่าเท่ากับ 1 ตำแหน่งที่ไม่มีแถบ DNA ให้ค่าเท่ากับ 0 ข้อมูลที่ได้นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเหมือนโดยการเปรียบเทียบจำนวนแถบของ DNA (Band Sharing , BS) ตามวิธีของ Zhu *et al* (1996). และ Haberfeld *et al* (1996). ดังสูตร

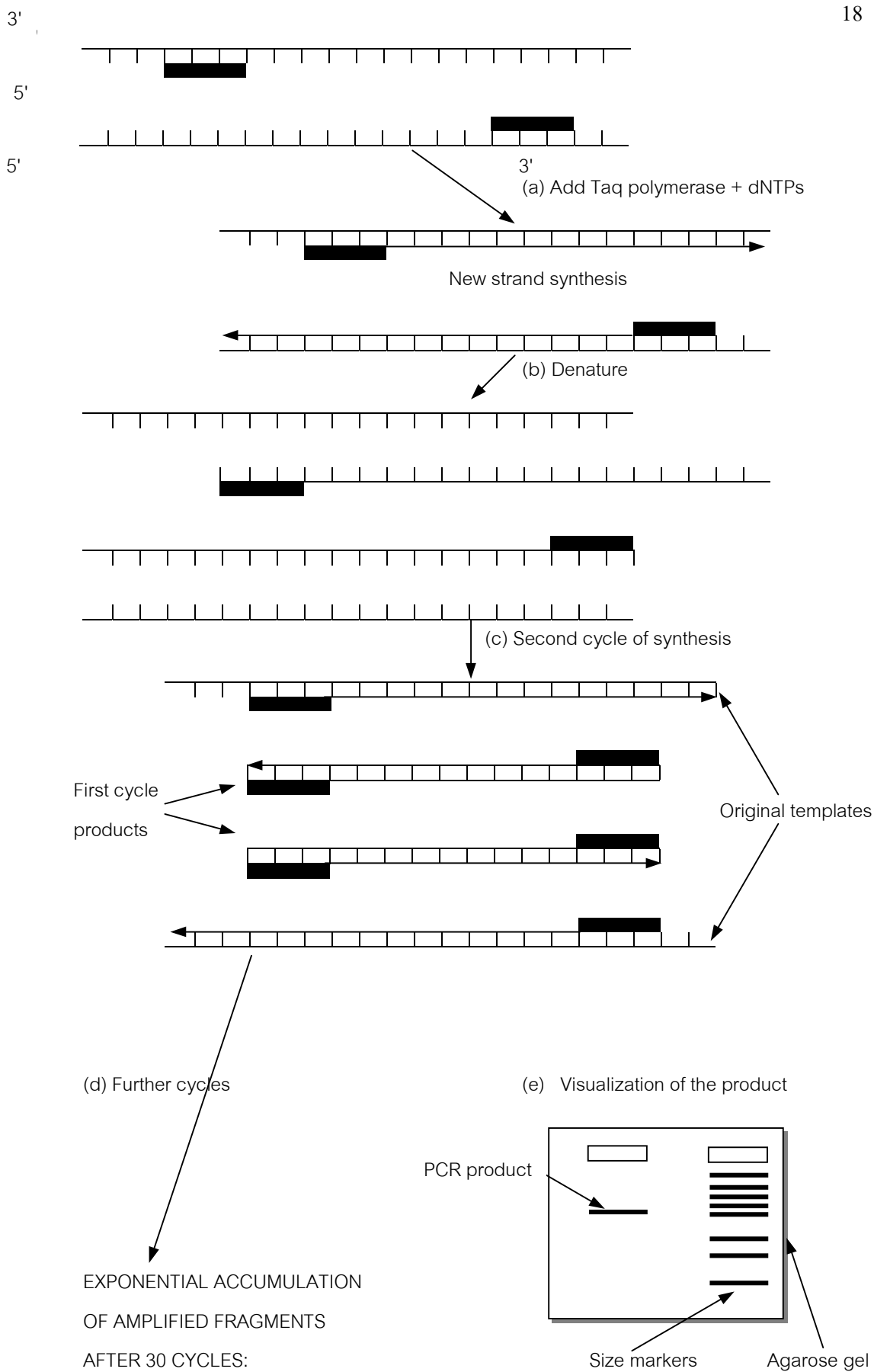
$$\text{Band Sharing (BS)} = \frac{2N_{ab}}{N_a + N_b}$$

$N_{ab}$  = จำนวนแถบ DNA ที่เกิดขึ้นเหมือนกันระหว่างตัวอย่าง a และ b

$N_a$  = จำนวนแถบของ DNA ที่เกิดขึ้นทั้งหมดในตัวอย่าง a

$N_b$  = จำนวนแถบของ DNA ที่เกิดขึ้นทั้งหมดในตัวอย่าง b

วิเคราะห์หาเมตริกซ์ความเหมือนโดยวิธี UPGMA (Unweigh Pair Group Method with Arithmetic Mean) ตามวิธีของ Hendrick (2000) และหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัดได้เป็น Phylogenetic Tree โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc Version 2.1c (Rohlf, 2000)



EXPONENTIAL ACCUMULATION  
OF AMPLIFIED FRAGMENTS

AFTER 30 CYCLES:

$$2^{28} = 268\ 435\ 456 \text{ FRAGMENTS}$$

ภาพที่ 3.1 ลำดับปฏิบัติการเพิ่มขึ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธีการ PCR

ที่มา : การประชุมเชิงปฏิบัติการพันธุวิศวกรรม (2540)



## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 ระบบการเลี้ยงไก่พื้นเมือง

##### 4.1.1 โรงเรือนและอุปกรณ์

ลักษณะของโรงเรือนเลี้ยงไก่พื้นเมืองในทั้ง 5 จังหวัดคล้ายกัน คือ เป็นโรงเรือนที่มีหลังคาแบบเพิงหมาแหงนความสูงประมาณ 2 - 2.5 เมตร หลังคามุงด้วยสังกะสีหรือหญ้าคาผนังด้านข้างทำด้วยลวดตาข่ายหรือไม้ไผ่ ภายในมีโครงไม้สำหรับเป็นคอนให้ไก่นอนหรือติดตั้งรังไข่ โรงเรือนส่วนใหญ่สร้างอยู่ใกล้กับบริเวณที่พักอาศัยหรือบริเวณใต้ยุงข้าว เช่นที่อำเภอวานรนิวาส จังหวัดสกลนคร และอำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น รูปแบบของการเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นแบบกึ่งขังกึ่งปล่อย โดยในตอนเช้าจะปล่อยไก่ออกหากินโดยอิสระแล้วตอนให้เข้าไปนอนในคอกหรือโรงเรือนในตอนเย็น ส่วนรูปแบบการเลี้ยงแบบปล่อยหรือขังตลอดเวลาพบเป็นส่วนน้อย โดยเกษตรกรที่เลี้ยงแบบปล่อย มักจะทำรังไข่หรือที่นอนไก่ไว้บริเวณคอกสุกร ใต้ถุนบ้านหรือบริเวณต้นไม้ส่วนเกษตรกรที่เลี้ยงแบบขังส่วนมากมักเป็นเกษตรกรที่เลี้ยงไก่ชน เนื่องจากเป็นไก่ที่มีราคาสูงและต้องมีการจัดการที่ดี

##### 4.1.2 อาหารและการให้อาหาร

เนื่องจากรูปแบบการเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นแบบกึ่งขังกึ่งปล่อย อาหารของไก่พื้นเมืองมักเป็นอาหารตามธรรมชาติ ได้แก่ แมลง ผักบุง หญ้า ใบกระถิน เมล็ดข้าวที่หล่นตามทุ่งนาหรือยุงฉาง เป็นต้น นอกจากนั้นอาจเป็นเศษอาหารตามครัวเรือนหรือข้าวเปลือก ปลายข้าว รำหยาบ รำอ่อน ข้าวโพดบดที่ผู้เลี้ยงให้เสริมอีกทางหนึ่ง และผู้เลี้ยงบางรายซึ่งเป็นส่วนน้อยมีการซื้ออาหารไก่สำเร็จรูปมาผสมกับรำหยาบและปลายข้าวเลี้ยงไก่พื้นเมืองเพื่อช่วยเร่งให้เจริญเติบโตเร็วขึ้น จะเห็นได้ว่าอาหารไก่พื้นเมืองส่วนใหญ่อาศัยความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรธรรมชาติ และอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยของฤดูกาลและการเพาะปลูก เช่น ฤดูฝนมีการทำนาและปลูกพืชเป็นโอกาสให้ไก่พื้นเมืองได้รับอาหารทั้งจากพืชและแมลงได้มากพอสมควร

##### 4.1.3 การเจริญเติบโต

จากการที่ไก่พื้นเมืองได้รับอาหารในปริมาณและคุณค่าทางโภชนาการไม่เพียงพอต่อความต้องการ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) และอัตราการเจริญเติบโตต่ำ



(ADG) ต่ำ ทำให้ต้องใช้เวลาในการเลี้ยงยาวนาน โดยจากการสุ่มชั่งน้ำหนักไก่พื้นเมืองจาก 5 จังหวัด พบว่ามีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ  $1.765 \pm 0.174$  กิโลกรัม ที่อายุเฉลี่ย 10.76 เดือน (ดังแสดงในตารางที่ ก.1) ซึ่งน้อยกว่ารายงานของ สุวิทย์ ชีร์พันธุ์วัฒน์ และคณะ (2532) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.744 กิโลกรัมที่อายุ 5 เดือน แต่มีค่าใกล้เคียงกับ กนก ผลารักษ์ และคณะ (2528) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.700 กิโลกรัมที่อายุ 8.5 เดือน

#### 4.1.4 โรคและการป้องกันโรค

โรคที่พบโดยทั่วไปเป็นประจำ ได้แก่ โรคคอหิวคัต ซึ่งพบในช่วงฤดูร้อน โรคฝีดาษ พบในช่วงฤดูฝน ช่วงที่มีฝูงชุกชุม โรคหวัดหน้าบวม โรคนิวคาสเซิล และโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกัน เป็นต้น จากรูปแบบของการเลี้ยงไก่พื้นเมืองแบบกึ่งขังกึ่งปล่อย และเกษตรกรขาดความรู้ความเข้าใจเรื่องการสุขาภิบาลและการป้องกันโรค เกษตรกรมักจะรักษาไก่พื้นเมืองที่ป่วยตามอาการ เช่น การใช้ใบตะไคร้ หรือใบหญ้าสับให้ไก่จิกกิน หรือซื้อยาปฏิชีวนะผสมวิตามิน ละลายน้ำให้ไก่กิน เพื่อรักษาโรคหวัด หรืออาการท้องเสีย เป็นต้น

#### 4.1.5 การตลาด

ภาวะการตลาดของไก่พื้นเมืองจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ดี มีการผันผวนของราคาราคาไม่มากนัก ราคาไก่พื้นเมืองในช่วงการศึกษา กิโลกรัมละ 40 – 50 บาท โดยเกษตรกรมักจะขายไก่ที่อายุ 4 เดือนขึ้นไป น้ำหนักระหว่าง 0.9 – 1.3 กิโลกรัม ใกล้เคียงกับรายงานของ อารุช วนิชาติ (2522), สวัสดิ์ ธรรมบุตร และเกรียงไกร โขประการ (2525) เกรียงไกร โขประการ (2531) พิทยา นามแดง (2534) อำนวย เลี้ยวธารากุล และคณะ (2540) ซึ่งเกษตรกรนิยมขายไก่พื้นเมืองที่น้ำหนักประมาณ 0.8 – 1.2 กิโลกรัม ที่อายุประมาณ 4 เดือน (อ้างถึงใน เกรียงไกร โขประการ และคณะ, 2543) เกษตรกรบางรายขายเป็นตัว ๆ ละประมาณ 50 - 60 บาท การขายมีทั้งที่ขายให้พ่อค้าคนกลางที่มารับซื้อถึงหมู่บ้านหรือนำไปขายที่ตลาด หรือร้านค้าโดยตรง

#### 4.2 ลักษณะรูปร่างพื้นฐานภายนอก (Morphology)

ลักษณะของไก่พื้นเมืองในแต่ละจังหวัดที่ทำการศึกษาคือ

ตารางที่ 4.1 ลักษณะสีขนของไก่พื้นเมืองในทั้ง 5 จังหวัด

กลุ่มตัวอย่าง	อัตราการพบ (%)					
	สีดำแกมเขียว	สีดำ	สีดำสลับขาว	สีเทา	สีน้ำตาลปนแดง	สีน้ำตาลปนเหลือง
นครราชสีมา	20	50	10	10	10	-
ขอนแก่น	10	50	30	-	10	-
ยโสธร	10	40	30	10	10	-
สกลนคร	10	60	20	-	-	10
เลย	10	40	10	10	-	30

ตารางที่ 4.2 ลักษณะหงอนของไก่พื้นเมืองในทั้ง 5 จังหวัด

กลุ่มตัวอย่าง	อัตราการพบ (%)		
	หงอนถั่ว	หงอนหวี	หงอนจักร
นครราชสีมา	30	70	-
ขอนแก่น	20	80	-
ยโสธร	-	100	-
สกลนคร	-	100	-
เลย	20	70	10

ตารางที่ 4.3 ลักษณะสีของแข้งไก่พื้นเมืองในทั้ง 5 จังหวัด

กลุ่มตัวอย่าง	อัตราการพบ (%)		
	สีดำ	สีขาว	สีเหลือง
นครราชสีมา	60	40	-
ขอนแก่น	10	80	10
ยโสธร	40	60	-
สกลนคร	40	60	-
เลย	-	60	40

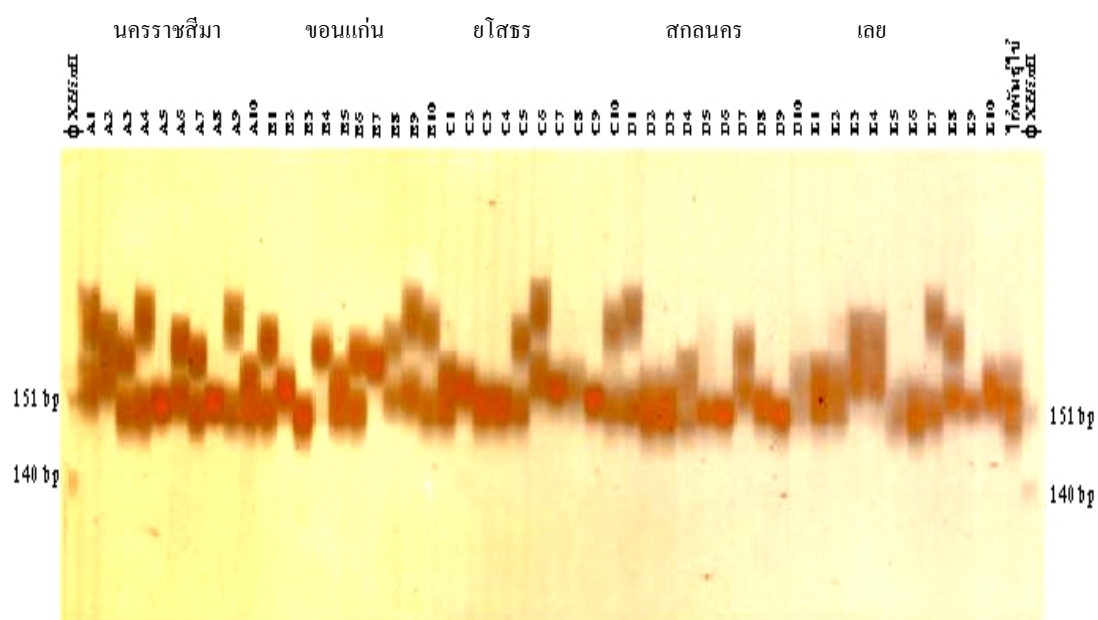
จากการศึกษารูปพรรณสัณฐานภายนอกของไก่อพื้นเมืองในครั้งนี้ (ดังแสดงในภาพที่ ฉ.1 – ฉ.5 ตารางที่ 4.1 ตารางที่ 4.2 และตารางที่ 4.3) พบว่า สีขนของไก่อพื้นเมืองมีหลายแบบ เช่น สีดำ สีดำแกมเขียว สีดำสลับขาว สีน้ำตาลปนแดง สีน้ำตาลปนเหลือง และสีเทา ส่วนใหญ่ที่พบมีสีดำ ส่วนที่พบน้อย ได้แก่สีเทา สีน้ำตาลปนแดง และสีน้ำตาลปนเหลือง โดยสีดำแกมเขียว สีดำ และ สีดำสลับขาวพบในทั้ง 5 จังหวัด สีน้ำตาลปนแดงพบที่จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น และยโสธร ส่วนสีน้ำตาลปนเหลืองพบที่จังหวัดสกลนครและเลย ลักษณะของหงอนไก่อพบว่ามีหงอนแบบหวีคือ หงอนมีลักษณะบางและนูนจากหัวขึ้นมาเล็กน้อยประมาณ 0.2 – 0.5 เซนติเมตร หงอนแบบถั่วพบปานกลาง ส่วนหงอนจักรพบน้อยมากซึ่งพบที่จังหวัดเลย ส่วนลักษณะสีของแข้ง สีขาวพบในทั้ง 5 จังหวัด สีดำไม่พบในจังหวัดเลย และสีเหลืองพบมากในจังหวัดเลย

จากการศึกษาลักษณะรูปพรรณสัณฐานภายนอกของไก่อพื้นเมืองจากทั้ง 5 จังหวัด พบว่า ลักษณะภายนอกของไก่อแต่ละจังหวัดมีการกระจายของลักษณะสีขน สีแข้งและแบบของหงอน หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นสีขนแบบสีดำ สีดำสลับขาว สีดำแกมเขียว สีเทา สีน้ำตาลปนเหลือง สีน้ำตาลปนแดง แข็งสีดำ แข็งสีขาว แข็งสีเหลือง หงอนจักร หงอนหวี และหงอนถั่ว โดยจากการศึกษา ในครั้งนี้จะพบว่าลักษณะสีขนที่เป็นสีน้ำตาลปนแดงของไก่อพื้นเมืองในจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น และยโสธร แตกต่างจากจังหวัดสกลนครและเลยซึ่งมีสีน้ำตาลปนเหลืองจากความหลาย รูปแบบดังกล่าว อาจมาจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่อพื้นเมืองที่มีอยู่ตามธรรมชาติ และจากความแตกต่างทางภูมิศาสตร์เช่นจังหวัดสกลนครและเลยที่เป็นพื้นที่สูงและบางส่วนเป็นภูเขา ต่างจากจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น และยโสธร ซึ่งส่วนใหญ่เป็นที่ราบและที่ราบสูง อาจมีผลต่อการเลี้ยง การผสมพันธุ์ และการเคลื่อนย้ายไก่อพื้นเมือง ทำให้ลักษณะรูปพรรณสัณฐานที่พบ ในทั้ง 5 จังหวัดแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามความแตกต่างที่พบไม่สามารถใช้จำแนกสายพันธุ์ของไก่อพื้นเมืองได้ชัดเจน เนื่องจากความแตกต่างของรูปพรรณสัณฐานที่พบภายในแต่ละจังหวัดมีลักษณะ คล้ายกัน (ดังแสดงในตารางที่ ก.1, 4.1, 4.2 และ 4.3)

#### 4.3 การจำแนกพันธุกรรมของไก่อพื้นเมืองโดยวิธีอณูพันธุกรรม

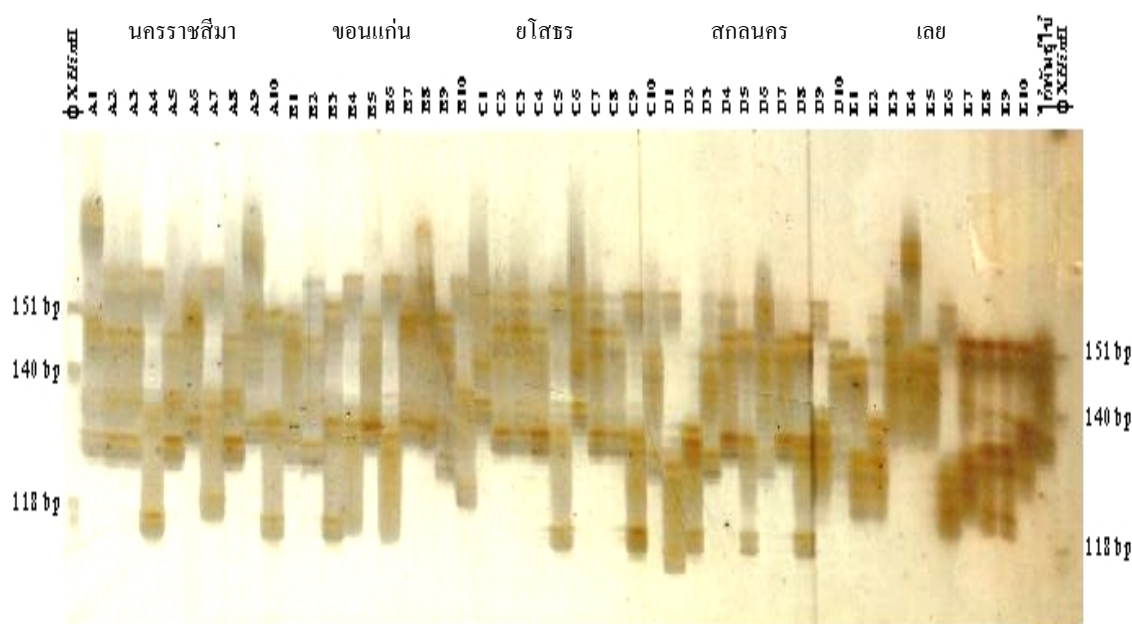
จากการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดไก่อพื้นเมือง 5 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา ขอนแก่น สกลนคร และยโสธร จำนวน 50 ตัวอย่าง พบแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันทั้งหมดจำนวน 39 แบบ จำนวนแบบ หรืออัลลีลอยู่ระหว่าง 5 – 9 อัลลีล เฉลี่ย 6.5 อัลลีลต่อ 1 ไซเทอเมอร์ แถบดีเอ็นเอจากการย่อยเอนไซม์แล้ว พบว่าที่ Locus B45 เกิดแถบดีเอ็นเอหรืออัลลีลทั้งหมด 6 อัลลีล เมื่อพิจารณาถึงจำนวนอัลลีลของไก่อพื้นเมืองแต่ละจังหวัด พบว่าไก่อพื้นเมืองจากจังหวัดนครราชสีมา มีจำนวนอัลลีลมาก

ที่สุด คือ 6 อัลลีล จังหวัดขอนแก่น ยโสธร สกลนคร เลย มีจำนวนอัลลีลเท่ากันคือ 5 อัลลีล ไม้พื้นเมืองจากทุกจังหวัดมีการกระจายของอัลลีลสูงและอัลลีลส่วนใหญ่อยู่ในสภาพ Heterozygous (ดังแสดงในภาพที่ 4.1) สัญลักษณ์ A1 – A10 แทนตัวอย่างเลือดไม้พื้นเมืองจากจังหวัดนครราชสีมา สัญลักษณ์ B1 – B10 แทนตัวอย่างเลือดไม้พื้นเมืองจังหวัดขอนแก่น สัญลักษณ์ C1 – C10 แทนตัวอย่างเลือดไม้พื้นเมืองจากจังหวัดยโสธร สัญลักษณ์ D1 – D10 แทนตัวอย่างเลือดไม้จากจังหวัดสกลนครและสัญลักษณ์ E1 – E10 แทนตัวอย่างเลือดไม้จากจังหวัดเลย



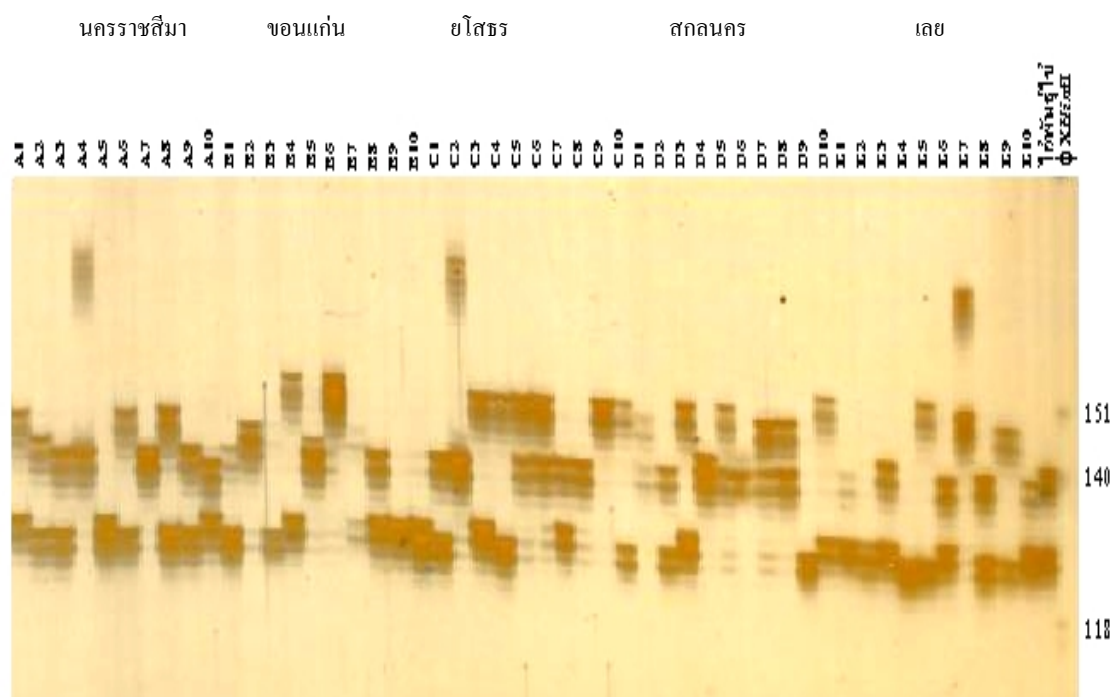
ภาพที่ 4.1 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบด้วย Microsatellite Marker ในกลุ่มไม้พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด □ Loc u s B45

ที่ Locus B100 เกิดอัลลีลได้สูงถึง 6 อัลลีล เมื่อพิจารณาถึงจำนวนอัลลีลของไก่อพื้นเมืองแต่ละจังหวัด พบว่า ไก่อพื้นเมืองจากจังหวัดนครราชสีมามีจำนวนอัลลีลมากที่สุดคือ 6 อัลลีล รองลงมาได้แก่ยโสธร ขอนแก่น สกลนคร และเลย ซึ่งมีจำนวนอัลลีลเท่ากับ 5, 5, 4 และ 4 อัลลีล ตามลำดับ ไก่อพื้นเมืองทุกจังหวัดมีการกระจายของอัลลีลสูงมากและอัลลีลส่วนใหญ่อยู่ในสภาพ Heterozygous (ดังแสดงในภาพที่ 4.2)



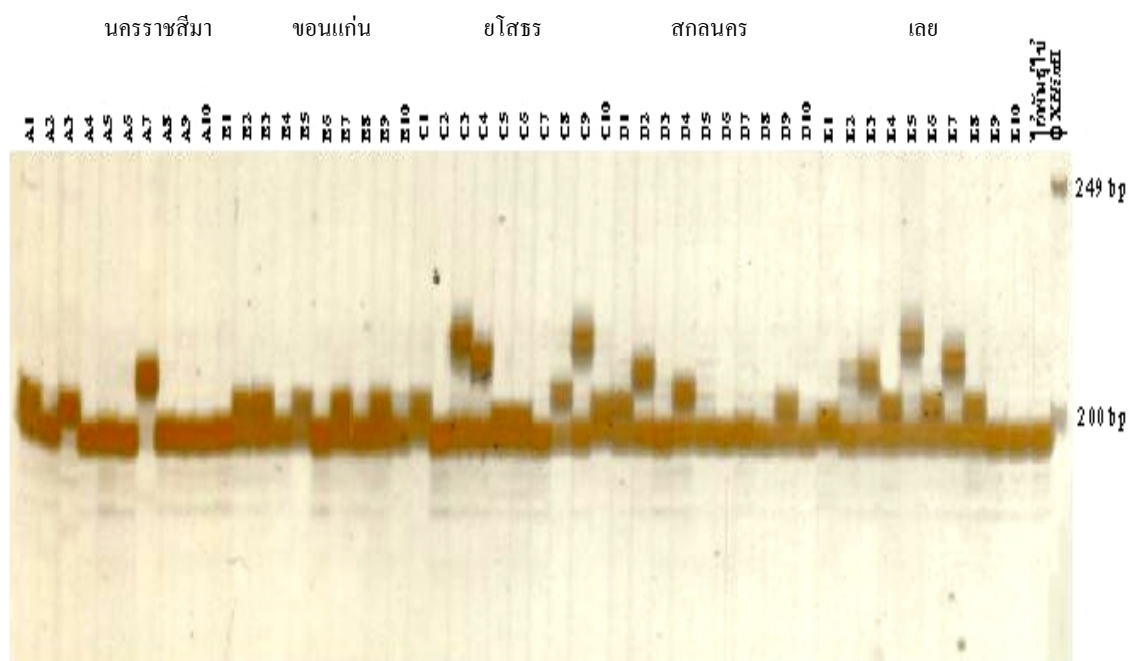
ภาพที่ 4.2 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบด้วย Microsatellite Marker ในกลุ่มไก่อพื้นเมือง ทั้ง 5 จังหวัดที่ Locus B100

ที่ Locus B144 เกิดอัลลีลได้สูงถึง 9 อัลลีล โดยเมื่อพิจารณาถึงจำนวนอัลลีลของไก่อพื้นเมืองแต่ละจังหวัด พบว่า ไก่อพื้นเมืองจากจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น และเลยมีจำนวนอัลลีลเท่ากันคือ 6 อัลลีล รองลงมาได้แก่ ยโสธร และสกลนคร ซึ่งมีจำนวนอัลลีลเท่ากับ 5 และ 4 อัลลีล ไก่อพื้นเมืองจากทุกจังหวัดมีการกระจายของอัลลีลสูงมากและอัลลีลส่วนใหญ่อยู่ในสภาพ Heterozygous (ดังแสดงในภาพที่ 4.3)



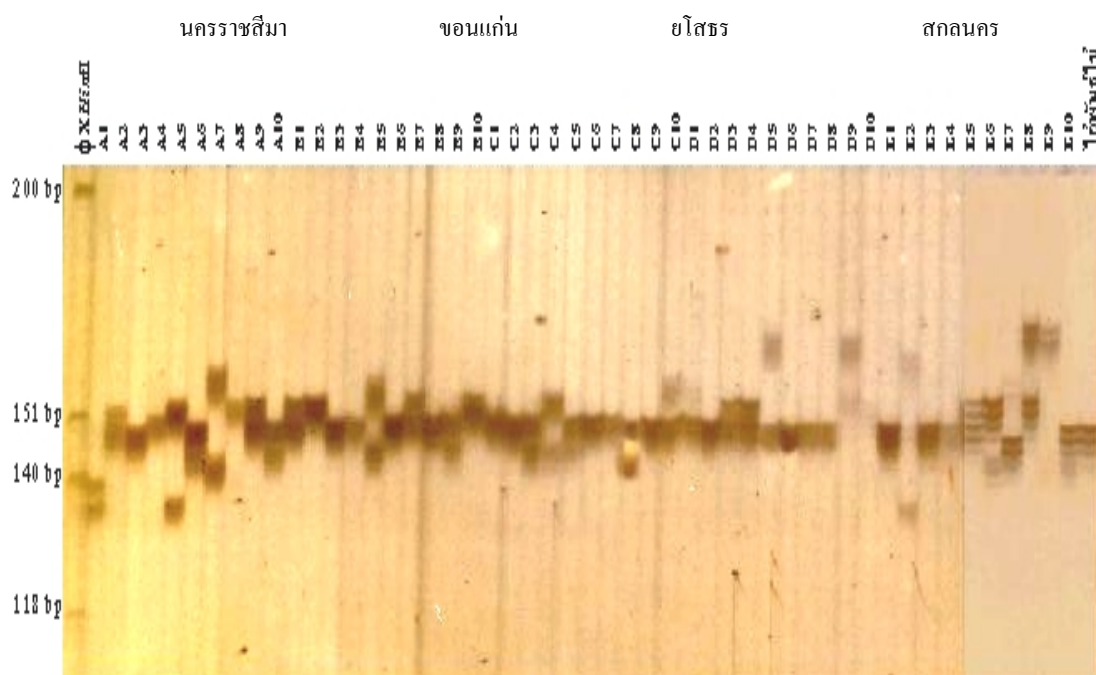
ภาพที่ 4.3 แถบดีเอ็นเอจากการตรวจสอบด้วย **Microsatellite Marker** ในกลุ่ม ไก่อพื้นเมือง ทั้ง 5 จังหวัดที่ **Locus B144**

ที่ Locus B178 เกิดอัลลีลทั้งหมดจำนวน 5 อัลลีล เมื่อพิจารณาถึงจำนวนอัลลีลของอัลลีลไก่อพื้นเมืองแต่ละจังหวัดพบว่า ไก่อพื้นเมืองจากจังหวัดยโสธร และเลย มีจำนวนอัลลีลเท่ากัน คือ 4 อัลลีล จังหวัดนครราชสีมาและสกลนครมี 3 อัลลีล ส่วนไก่อพื้นเมืองจากจังหวัดขอนแก่นมีเพียง 1 อัลลีลเท่านั้น นอกจากนี้ไก่อพื้นเมืองจากทุกจังหวัดยังมีการกระจายของอัลลีลค่าและอัลลีลส่วนใหญ่อยู่ในสภาพ Homozygous (ดังแสดงในภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 แอปดีเอ็นเอจากการตรวจสอบด้วย Microsatellite Marker ในกลุ่มไก่อพื้นเมือง  
ทั้ง 5 จังหวัดที่ Locus B178

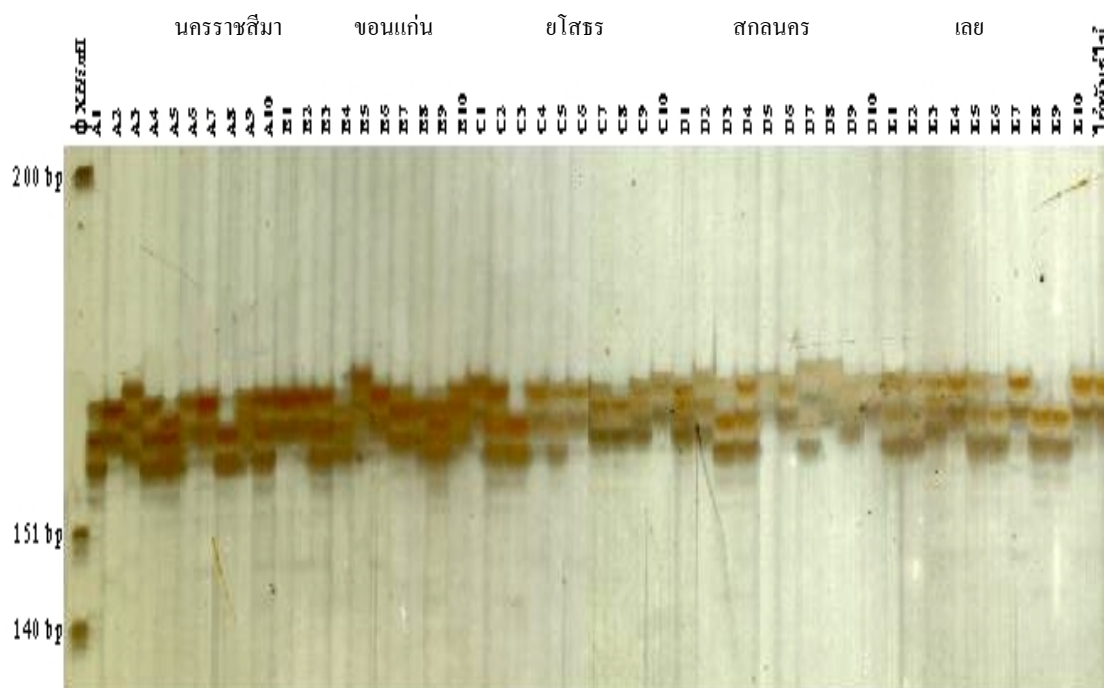
ที่ Locus B271 เกิดอัลลีลได้สูงถึง 7 อัลลีล เมื่อพิจารณาถึงจำนวนอัลลีลของไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัดพบว่า ไก่พื้นเมืองจากจังหวัดนครราชสีมา มีจำนวนอัลลีลมากที่สุดคือ 6 อัลลีล รองลงมาได้แก่ เลย ขอนแก่น ยโสธร และสกลนคร ซึ่งมีจำนวนอัลลีลเท่ากับ 5, 4, 4 และ 3 อัลลีลตามลำดับ ไก่พื้นเมืองจากจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น และเลย มีการกระจายของอัลลีลสูง ส่วนจังหวัดยโสธรและสกลนครมีการกระจายของอัลลีลค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตามอัลลีลส่วนใหญ่อยู่ในสภาพ Homozygous (ดังแสดงในรูปที่ 4.5)



ภาพที่ 4.5 แถบดีเอ็นเอ จากการตรวจสอบด้วย Microsatellite Marker ในกลุ่มไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดที่ Locus B271



ที่ Locus B305 เกิดอัลลีลได้ 6 อัลลีล เมื่อพิจารณาถึงจำนวนอัลลีลของไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัดพบว่า ไก่พื้นเมืองจากจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น และสกลนคร มีจำนวนอัลลีลเท่ากันคือ 5 อัลลีล จังหวัดยโสธร และเลย มีจำนวนอัลลีลเท่ากับ 4 และ 2 อัลลีล ไก่พื้นเมืองจากทุกจังหวัดมีการกระจายของอัลลีลสูงและอัลลีลส่วนใหญ่อยู่ในสภาพ Heterozygous (ดังแสดงในภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.6 แลบดีเอ็นเอ จากการตรวจสอบด้วย Microsatellite Marker ในกลุ่มไก่พื้นเมือง ทั้ง 5 จังหวัดที่ Locus B305

จากการใช้ Microsatellite Marker ทุก Loci เมื่อเปรียบเทียบจำนวนอัลลีลกับ Cheng *et al* (1995) และเขาวลัษณ์ เลไพจิตร (2544) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน โดยที่ Loci B45, B144, B178 และ B271 จากผลการทดลองพบจำนวนอัลลีล 6, 9, 5 และ 7 แบบ Cheng *et al* (1995) พบจำนวนอัลลีลเท่ากับ 5, 8, 7 และ 6 แบบ และเขาวลัษณ์ เลไพจิตร (2544) พบจำนวนอัลลีลที่ Locus B45 และ B271 เท่ากับ 5, และ 8 แบบตามลำดับ ส่วนที่ Loci B100 และ B305 ผลการทดลองพบจำนวนแบบของอัลลีลใกล้เคียงกับ เขาวลัษณ์ เลไพจิตร (2544) แต่มากกว่า Cheng *et al* (1995) ซึ่ง Microsatellite Marker ทุก Loci มีความหลายรูปแบบสูงถึงสูงมาก แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดที่มีอยู่สูง

#### 4.3.1 ค่า Heterozygosity ของไก่พื้นเมือง

ค่า Heterozygosity ของไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาที่ Locus B45 มีค่าเท่ากับ 0.5 โดยคำนวณจากจำนวนประชากรไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาที่พบแถบดีเอ็นเอหรืออัลลีลที่เป็น Heterozygous ซึ่งได้แก่ ไก่พื้นเมืองตัวที่ A1, A3, A4, A7, และ A9 จำนวน 5 ตัวอย่าง หากด้วยจำนวนตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 10 ตัวอย่าง ดังนั้นค่า Heterozygosity ไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาที่ Locus B45 จึงมีค่าเท่ากับ  $5/10 = 0.5$  หลังจากนั้นนำค่า Heterozygosity ของแต่ละกลุ่มตัวอย่างนำไปคำนวณหาความแตกต่างทางสถิติแบบ Split - plot โดยกำหนดให้ไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัดเป็น Main - plot ดังนั้นหมายเลข "1, 2, 3, 4 และ 5" แทนจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น ยโสธร สกลนคร และเลย ตามลำดับ ให้โลกัส เป็น Sup-plot จาก Primer ทั้งหมด 6 คู่ ตัวอย่างเช่น ที่ Locus B45 ทั้ง 6 อัลลีล ของไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ตัวที่ A2, A5, A6, A8 และ A10 เป็น Homozygous แทนด้วยสัญลักษณ์ตัวเลข "0" ส่วนตัวที่ A1, A3, A4, A7 และ A9 เป็น Heterozygous แทนด้วยสัญลักษณ์ตัวเลข "1" ทำจนครบทุกประชากรและทุก Locus แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Heterozygosity (Analysis of Molecular Variance (AMOVA)) ตามวิธีของ Weir (1996) ดังแสดงค่าตามตารางที่ 4.1 และค่า Heterozygosity ของประชากรของไก่พื้นเมืองใน 5 จังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่า Heterozygosity ของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด

ประชากร	B45	B100	B144	B178	B271	B305	เฉลี่ย	SD	เฉลี่ยทั้งหมด
นครราชสีมา	0.50	1.00	0.80	0.00	0.30	0.80	0.567 <sup>a</sup>	0.372	= 0.480 ± 0.326
ขอนแก่น	0.50	0.90	0.30	0.00	0.10	1.00	0.467 <sup>ab</sup>	0.413	
ยโสธร	0.30	0.80	0.70	0.40	0.30	1.00	0.583 <sup>a</sup>	0.293	
สกลนคร	0.20	0.90	0.70	0.30	0.20	0.50	0.467 <sup>ab</sup>	0.287	
เลย	0.20	0.50	0.80	0.30	0.10	0.00	0.317 <sup>b</sup>	0.293	

จากตารางที่ 4.4 ค่า Heterozygosity ของไก่พื้นเมืองจังหวัดยโสธรมีค่าสูงสุดคือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.583 \pm 0.293$  รองลงมาได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น และสกลนคร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.567 \pm 0.372$ ,  $0.467 \pm 0.413$  และ  $0.467 \pm 0.287$  ตามลำดับ ส่วนจังหวัดเลยมีค่า Heterozygosity เฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ  $0.317 \pm 0.293$  ค่า Heterozygosity เฉลี่ยรวมของประชากรไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดมีค่าเท่ากับ  $0.480 \pm 0.326$  จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Heterozygosity ในกลุ่มไก่พื้นเมือง ทั้ง 5 จังหวัด พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P < 0.01$ ) (ตารางที่ ง.1) โดยเมื่อนำไปวิเคราะห์เปรียบเทียบทีละคู่ด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) แล้วปรากฏว่ากลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาและขอนแก่นแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดเลย กลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น ยโสธรและ สกลนครไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ ง.2)

#### 4.3.2 ความถี่อัลลีลของไก่พื้นเมือง (Allelic Frequency)

ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขที่แปลงมาจากแถบของ DNA สามารถนำมาคำนวณหาความถี่อัลลีลของแต่ละ Locus ในกลุ่มไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดได้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ความถี่ของอัลลีลของกลุ่มตัวอย่างไก่ 5 จังหวัด

Locus	อัลลีล	ความถี่อัลลีล				
		นครราชสีมา	ขอนแก่น	ยโสธร	สกลนคร	เลย
B45	1	0.15	0.05	0.10	0.05	0.05
	2	0.20	0.40	0.05	0.10	0.05
	3	0.10	0.00	0.00	0.05	0.20
	4	0.05	0.10	0.35	0.10	0.00
	5	0.20	0.20	0.20	0.00	0.20
	6	0.30	0.25	0.30	0.70	0.45
B100	1	0.10	0.20	0.05	0.00	0.05
	2	0.25	0.00	0.30	0.20	0.00
	3	0.25	0.30	0.05	0.25	0.55
	4	0.35	0.40	0.50	0.25	0.55
	5	0.05	0.05	0.00	0.00	0.05
	6	0.10	0.05	0.10	0.15	0.00
B144	1	0.05	0.00	0.05	0.00	0.00
	2	0.00	0.0	0.00	0.00	0.00
	3	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00
	4	0.15	0.11	0.35	0.30	0.10
	5	0.05	0.00	0.00	0.00	0.05
	6	0.30	0.17	0.40	0.45	0.25
	7	0.20	0.33	0.05	0.00	0.00
	8	0.25	0.22	0.15	0.10	0.25
	9	0.00	0.00	0.00	0.15	0.30
B178	1	0.00	0.00	0.10	0.00	0.05
	2	0.00	0.00	0.05	0.00	0.05
	3	0.10	0.00	0.00	0.05	0.05
	4	0.10	0.00	0.05	0.05	0.00
	5	0.80	1.00	0.80	0.90	0.85

ตารางที่ 4.5 ความถี่ของอัลลีลของกลุ่มตัวอย่างไก่ 5 จังหวัด (ต่อ)

Locus	อัลลีล	ความถี่อัลลีล				
		นครราชสีมา	ขอนแก่น	ยโสธร	สกลนคร	เลย
B271	1	0.00	0.00	0.00	0.17	0.15
	2	0.25	0.05	0.10	0.00	0.00
	3	0.15	0.00	0.00	0.06	0.00
	4	0.15	0.40	0.10	0.00	0.25
	5	0.40	0.50	0.75	0.78	0.40
	6	0.05	0.05	0.05	0.00	0.10
	7	0.20	0.00	0.00	0.00	0.10
B305	1	0.00	0.05	0.00	0.10	0.00
	2	0.05	0.10	0.40	0.40	0.70
	3	0.40	0.30	0.10	0.10	0.00
	4	0.20	0.45	0.40	0.25	0.30
	5	0.20	0.10	0.10	0.15	0.00
	6	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00

จากตารางที่ 4.5 ความถี่ของอัลลีลส่วนใหญ่ในแต่ละ Locus ของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด มีค่าระหว่าง 0.00 – 0.90 แสดงว่าลักษณะของอัลลีลที่พบเป็น Polymorphic Loci หรือมีลักษณะของอัลลีลเป็นมัลติเปิลอัลลีล (Multiple Allele) โดยดูได้จากค่าความถี่ของอัลลีลใดอัลลีลหนึ่ง ณ Locus นั้นมีค่า  $\leq 0.95$  ยกเว้นกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดขอนแก่นที่มีความถี่ของอัลลีลที่ Locus B178 เท่ากับ 1.00 หมายถึงอัลลีลที่ Locus นี้มีลักษณะเป็นอัลลีลเดี่ยว (Single Allele) และจากการศึกษาในครั้งนี้พบความหลายรูปแบบของอัลลีลระหว่าง 5 – 9 อัลลีลและมีน้ำหนักโมเลกุลของอัลลีลระหว่าง 118 – 249 คู่เบส (base pair, bp)

#### 4.3.3 อัตราส่วน โพลิมอร์ฟิซึม (Polymorphism, P)

จากตารางที่ 4.5 ซึ่งแสดงความถี่ของอัลลีลของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดทุก ๆ Locus สามารถนำมาหาค่าอัตราส่วนโพลิมอร์ฟิซึมของไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัดได้ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 โลกัษของยีนและค่าอัตราส่วนโพลิมอร์ฟิกโลไซ ในไก่พื้นเมือง 5 จังหวัด

กลุ่มตัวอย่าง	โลกัษที่เป็นโพลิมอร์ฟิก	จำนวนโลกัษที่เป็นโพลิมอร์ฟิก	จำนวนโลกัษทั้งหมด	อัตราส่วนโพลิมอร์ฟิก
นครราชสีมา	B45, B100, B144, B178, B271, B305	6	6	1.00
ขอนแก่น	B45, B100, B144, B271, B305	5	6	0.83
ยโสธร	B45, B100, B144, B178, B271, B305	6	6	1.00
สกลนคร	B45, B100, B144, B178, B271, B305	6	6	1.00
เลย	B45, B100, B144, B178, B271, B305	6	6	1.00

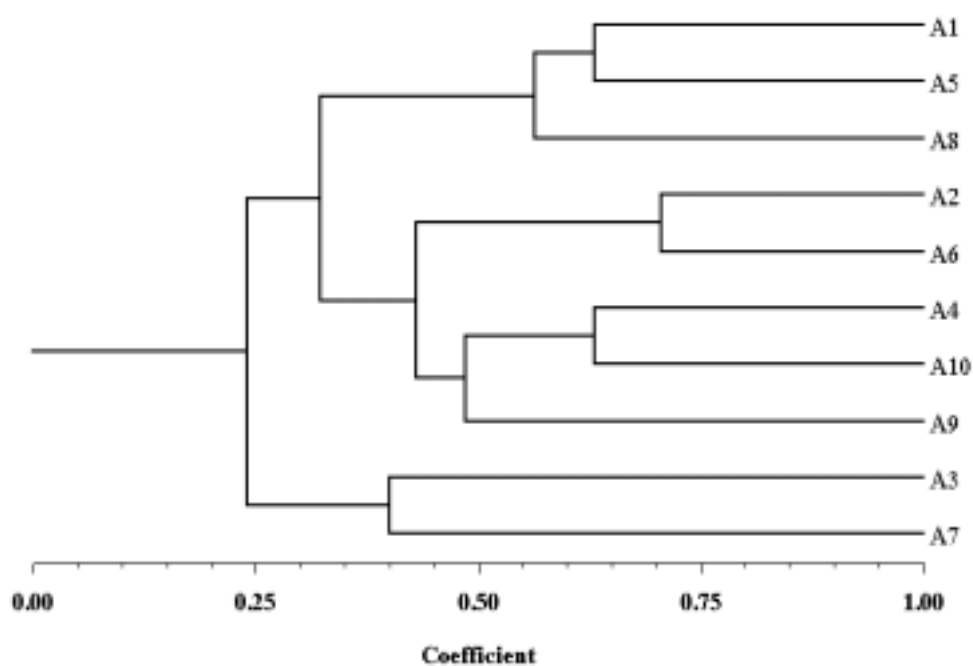
จากตารางที่ 4.6 ค่าอัตราส่วนโพลิมอร์ฟิกโลไซจากการใช้ Primer จำนวน 6 Loci พบว่ากลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ยโสธร สกลนคร และเลย มีจำนวน Locus ที่เป็นโพลิมอร์ฟิกโลไซเท่ากับ 6 Loci คิดเป็นอัตราส่วนเท่ากับ 1.00 ส่วนกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดขอนแก่นมีจำนวน Locus ที่เป็นโพลิมอร์ฟิกโลไซเท่ากับ 5 Loci คิดเป็นอัตราส่วนเท่ากับ 0.83 และมีค่าเฉลี่ยของโพลิมอร์ฟิกโลไซของกลุ่มไก่พื้นเมืองจากทั้ง 5 จังหวัดเท่ากับ 0.97

#### 4.3.4 เปรอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมือง (Genetic Similarity)

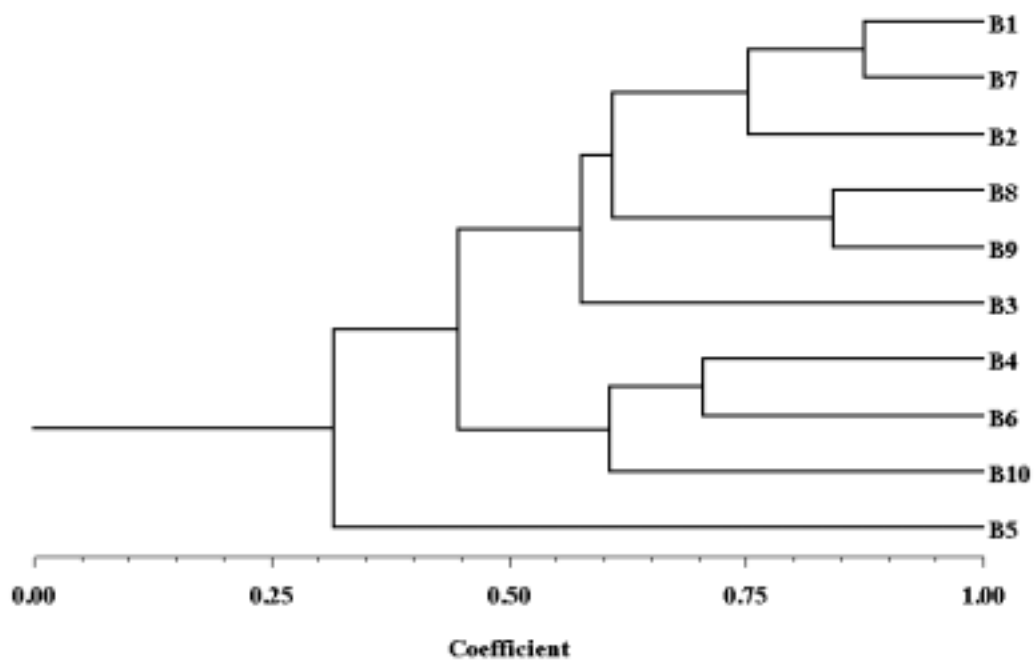
แถบ DNA ที่ได้จากการทดลองนำมาคำนวณหาความเหมือนหรือความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมภายในกลุ่มไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัดได้โดยการเปรียบเทียบจำนวนแถบ DNA ที่เกิดขึ้นเหมือนกันในทุก Locus แล้วนำมาคำนวณตามวิธีของ Zhu *et al* (1996) จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมดังแสดงไว้ในตารางที่ จ.1 – จ.5 พบว่า เปรอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมในไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น ยโสธร สกลนคร และเลย มีค่าระหว่าง 0 – 35, 6 – 44, 20 – 41, 12 – 42 และ 7 – 40 ถือได้ว่ามีค่าต่ำถึงปานกลาง และมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 17.31, 24.58, 23.78, 27.11 และ 21.82 เปรอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองจังหวัดสกลนครมีค่าสูงสุดและจังหวัดนครราชสีมามีค่าต่ำสุด หากพิจารณาเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองแต่ละ

จังหวัด พบว่า ไม้พื้นเมืองจังหวัดขอนแก่นมีความเหมือนทางพันธุกรรมของไม้พื้นเมืองแต่ละคู่มากกว่าจังหวัดอื่นๆ ซึ่งไม้พื้นเมืองที่มีความเหมือนทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ ตัวอย่างไม้พื้นเมืองตัวที่ B1 กับ B7 มีค่าเท่ากับ 44 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม้พื้นเมืองที่มีความเหมือนทางพันธุกรรมน้อยที่สุด คือตัวอย่างไม้พื้นเมืองตัวที่ A1 กับ A7, A2 กับ A7 และ A5 กับ A7 มีค่าเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์

เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมสามารถนำมาเขียนเป็นแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic Tree) ตามวิธีการคำนวณแบบ UPGMA ของ Hendrick (2000) และใช้โปรแกรม NTSYSpc. Version 2.1c ของ Rohlf (2000) (ดังแสดงในภาพที่ 4.7 – 4.11)

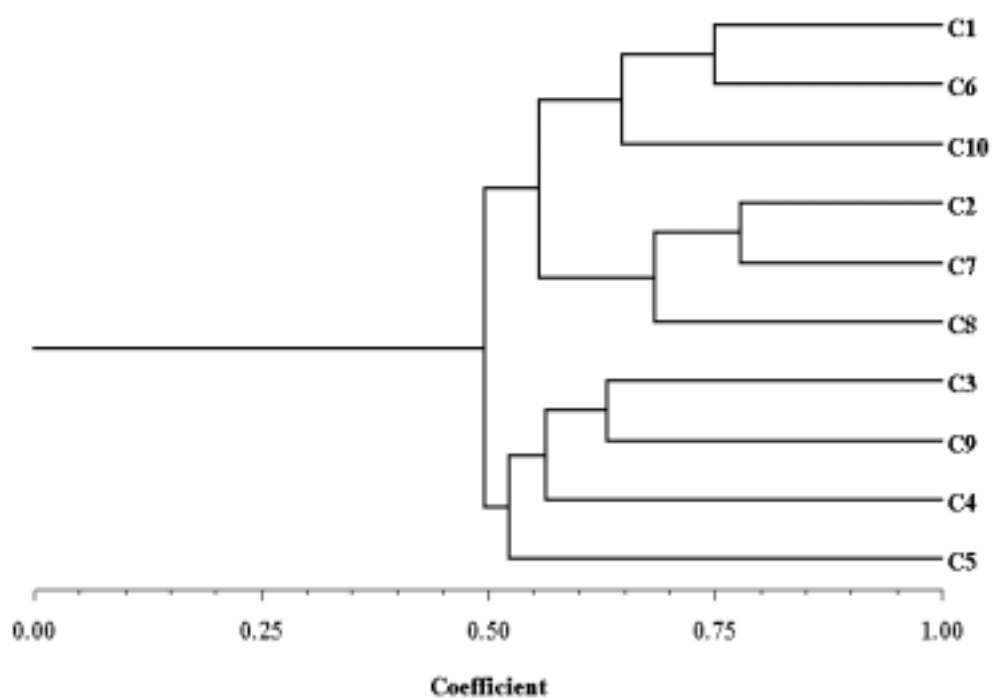


ภาพที่ 4.7 ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในไม้พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา

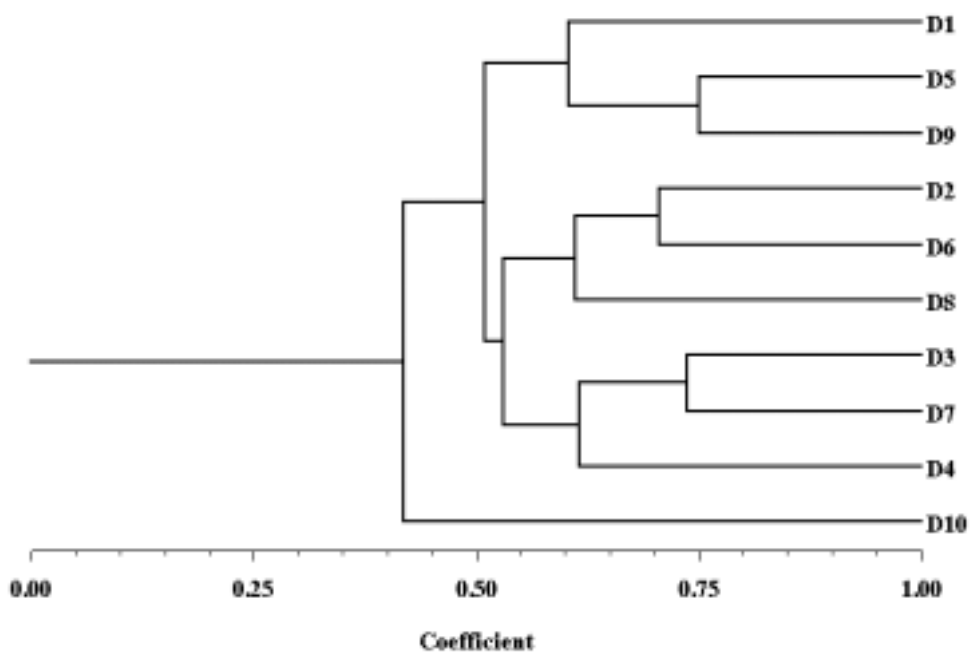


ภาพที่ 4.8 ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในโกพื้นเมืองจังหวัดขอนแก่น

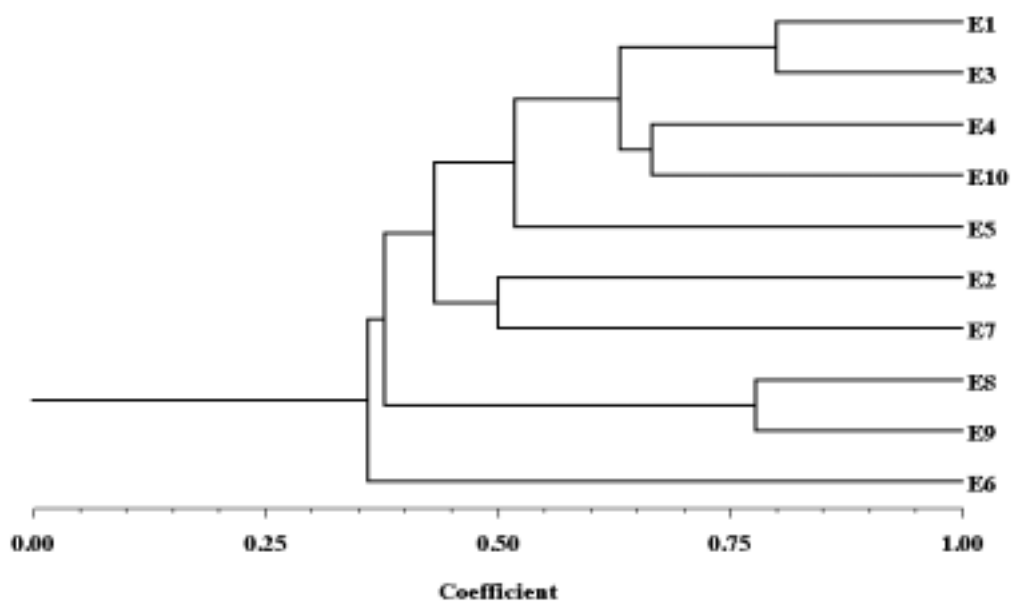




ภาพที่ 4.9 ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในไก่พื้นเมืองจังหวัดยโสธร

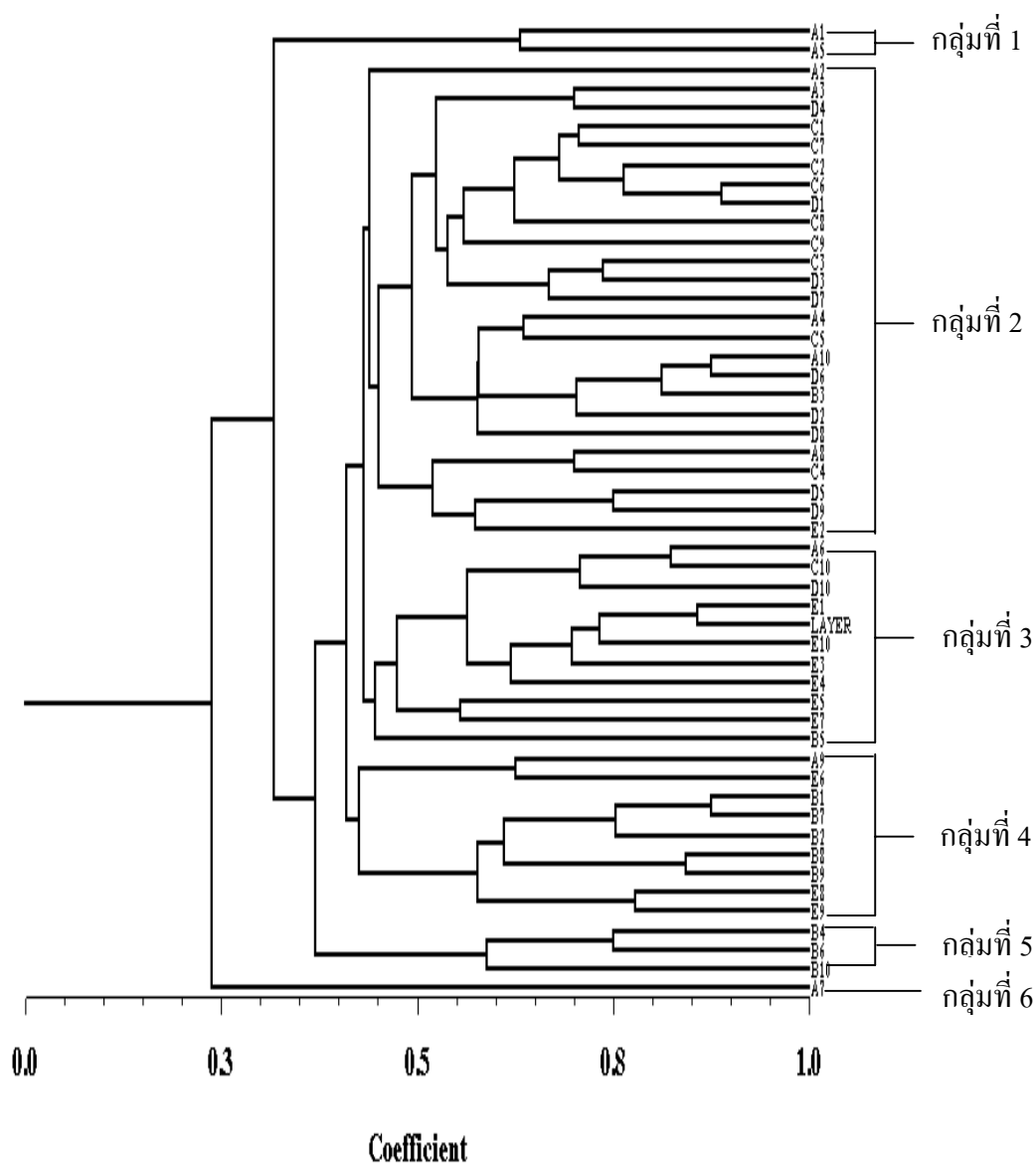


ภาพที่ 4.10 ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในไก่พื้นเมืองจังหวัดสกลนคร



ภาพที่ 4.11 ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในไก่พื้นเมืองจังหวัดเลย

จากแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่คำนวณโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc. (Rohlf , 2000)เป็นค่าสัมประสิทธิ์ทางพันธุกรรม ดังแสดงไว้ในภาพที่ 4.7 – 4.11 โดยค่าสัมประสิทธิ์ที่มีค่ามากแสดงถึงความใกล้ชิดกันมากทางพันธุกรรม มีความหมายในทำนองเดียวกับค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมของ Zhu *et al* (1996) ความเหมือนทางพันธุกรรมจากแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรม โดยดูได้จากความห่างทางพันธุกรรมของไก่อพื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ตัวที่ A1 กับ A7, A2 กับ A7 และ A5 กับ A7 และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของไก่อพื้นเมืองจังหวัดขอนแก่น ตัวที่ B1 กับ B7 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไก่อพื้นเมืองแต่ละจังหวัด พบว่า ไก่อพื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาขอนแก่น ยโสธร สกลนคร และเลย มีค่าความสัมพันธ์ความสัมพันธทางพันธุกรรมระหว่าง 0.25 – 0.70, 0.30 – 0.85, 0.52 - 0.80, 0.50 - 0.80 และ 0.40 - 0.75 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.12 **Phylogenetic Tree** ของไคฟีนเมืองทุกตัวที่เก็บตัวอย่าง  
 หมายเหตุ แหล่งที่มาของตัวอย่าง A1 - A5 = ต.หนองน้ำใส อ.สีคิ้ว จ.นครราชสีมา ,  
 A6 -A10 = ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา ,  
 B1 - B10 = ต.คำแคน อ.มัญจาคีรี จ.ขอนแก่น ,  
 C1 - C10 = อ.มหาชนะชัย จ.ยโสธร ,  
 D1 - D5 = อ.วานรนิวาส จ.สกลนคร,  
 D6 - D10 = อ.เมือง จ.สกลนคร ,  
 E1 - E5 = อ.ท่าลี่ จ.เลย และ E6 - E10 = อ.เมือง จ.เลย

จากแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองแยกเป็นรายตัว แสดงเป็นค่าสัมประสิทธิ์ทางพันธุกรรม (แสดงในภาพที่ 4.12) จากโครงสร้างของแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่า ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองมีการกระจายเป็นกลุ่ม และมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง 0.3 ถึง 0.9 โดยสามารถแบ่งกลุ่มของไก่พื้นเมืองตามโครงสร้างของแผนภูมิได้เป็น 6 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยตัวอย่างไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ตัวที่ A1 และ A5

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ตัวที่ A2, A3, A4, A5, A8 และ A10 จังหวัดขอนแก่นตัวที่ B3 จังหวัดยโสธรที่ C1, C2, C3 ถึง C9 จังหวัดสกลนครตัวที่ D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8 และ D9 และจังหวัดเลยตัวที่ E2

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยตัวอย่างไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาตัวที่ A6 จังหวัดขอนแก่น ตัวที่ B5, จังหวัดยโสธร ตัวที่ C10, จังหวัดสกลนครตัวที่ D10, จังหวัดเลยตัวที่ E1, E3, E4, E5, E7 และ E10

กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยตัวอย่างไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาตัวที่ A9 จังหวัดขอนแก่นตัวที่ B1, B2, B7, B8 และ B9 และจังหวัดเลยตัวที่ E6, E8 และ E9

กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วยตัวอย่างไก่พื้นเมืองจังหวัดขอนแก่นตัวที่ B4, B6 และ B10

กลุ่มที่ 6 ประกอบด้วยตัวอย่างไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาตัวที่ A7

ลักษณะรูปร่างลักษณะภายนอก (Morphology) ของไก่พื้นเมืองที่ศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถจำแนกสายพันธุ์ไก่พื้นเมือง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ เนื่องจากลักษณะปรากฏของไก่ในพื้นที่เดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสีของขนมีความแตกต่างกันมาก แต่ Heterozygosity, Allelic Frequency, Genetic Similarity และ Phylogenetic Tree ที่ได้มาจากการคำนวณจำนวนอัลลีลของ Microsatellite Marker แต่ละ Locus สามารถใช้จำแนกความแตกต่างระหว่างไก่พื้นเมืองจากทั้ง 5 จังหวัดได้

การศึกษาเปรียบเทียบสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองในครั้งนี้ ใช้ Microsatellite Marker จำนวน 6 Loci โดยเป็น Primer ที่อยู่ในกลุ่มของโครโมโซมร่างกาย (Autosome) และเป็น Primer ที่สามารถตรวจสอบความหลากหลายรูปแบบของอัลลีลได้สูง (High Polymorphic) ซึ่งได้แก่ตัวที่ B45, B100, B144, B178, B274 จากผลการทดลองจะพบว่าจำนวนแบบของอัลลีลที่พบระหว่าง 5 - 9 อัลลีล ถือว่ามีค่าสูง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการที่ไก่พื้นเมืองมีการผสมพันธุ์กันเองตามธรรมชาติ

ไม่ได้ถูกคัดเลือก หรือถูกจับคู่ผสมโดยการกระทำของมนุษย์ ทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองสูง เมื่อเปรียบเทียบกับไก่พันธุ์ที่มีการคัดเลือกพันธุ์อย่างต่อเนื่องมาเป็นเวลานาน

ค่าเฉลี่ยของ Heterozygosity ของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P < 0.01$ ) แสดงให้เห็นว่า สภาพของอัลลีลของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดในทุก Loci แตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย Heterozygosity เป็นคู่แล้ว (จากตาราง ง.2 ) พบว่าไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาและยโสธร มีสภาพของอัลลีลแตกต่างกับจังหวัดเลย แต่ไม่แตกต่างกับจังหวัดขอนแก่นและสกลนคร และค่าเฉลี่ยของ Heterozygosity ของไก่พื้นเมืองจังหวัดสกลนคร ขอนแก่น และเลยไม่แตกต่างกัน ความแตกต่างที่พบระหว่างไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาและจังหวัดยโสธร กับจังหวัดเลย อาจมีสาเหตุมาจากความแตกต่างของพื้นที่ โดยจังหวัดนครราชสีมาและจังหวัดยโสธรเป็นจังหวัดที่มีการคมนาคมสะดวก อาจเป็นสาเหตุให้มีการเคลื่อนย้ายไก่จากจังหวัดอื่นๆ เข้ามาปะปนเป็นผลทำให้ค่าเฉลี่ย Heterozygosity สูง และแตกต่างกับจังหวัดเลย ซึ่งเป็นจังหวัดที่มีพื้นที่สูงและเป็นภูเขา การคมนาคมยากลำบากกว่าทำให้โอกาสในการเคลื่อนย้ายไก่อมีน้อยและมีโอกาสในการผสมเลือดชิดสูงกว่าไก่พื้นเมืองจังหวัดอื่นๆ

จากสภาพอัลลีลของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดที่มีการกระจายของอัลลีลปานกลางถึงสูงนั้น เมื่อนำมาคำนวณหาความถี่ของอัลลีลในไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัด ณ Locus ใดๆ พบว่า ความถี่ของอัลลีลมีค่าต่ำถึงปานกลาง โดยเมื่อพิจารณาความถี่ของอัลลีลแต่ละจังหวัดพบว่า ความถี่ของ อัลลีลไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมาที่ Locus B45, B100, B144, B271 และ B305 มีการกระจายของอัลลีลสูง ค่าความถี่อัลลีลที่คำนวณได้ มีค่าต่ำถึงปานกลาง โดยมีค่าระหว่าง 0.00-0.40 ส่วนที่ Locus B178 การกระจายของอัลลีลต่ำ ค่าความถี่ของอัลลีลของไก่พื้นเมืองจังหวัดขอนแก่น ยโสธร สกลนคร และเลย ที่ Locus B45, B100, B144, B271 และ B305 ค่าความถี่อัลลีลมีค่าใกล้เคียงกับไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.00-0.78 และพบว่าความถี่ของอัลลีล แบบที่ 5 ที่ Locus B178 ของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดมีค่าสูง โดยเฉพาะไก่พื้นเมืองจังหวัดเลยมีความถี่อัลลีลเท่ากับ 1.00 โดยพบอัลลีลเพียง 1 อัลลีลในตัวอย่างไก่ 10 ตัว โดยสันนิษฐานว่าไก่พื้นเมืองจังหวัดเลยมีการเลี้ยงที่ยาวนานและเกิดการผสมเลือดชิดในฝูงทำให้ความถี่อัลลีลที่ Locus B178 มีค่าสูงมาก และจากความถี่อัลลีลที่คำนวณได้ สังเกตได้ว่าถ้าการกระจายของอัลลีลสูงและจำนวนอัลลีลในแต่ละแบบ ณ Locus ใดๆ สม่่าเสมอกัน ความถี่อัลลีลจะมีค่าปานกลาง หากการกระจายของอัลลีล มีค่าต่ำและจำนวนอัลลีลในแต่ละแบบ ณ Locus ใดๆ ไม่สม่่าเสมอ ความถี่ของอัลลีลจะมีค่าต่ำมากและสูงมาก

จากเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Similarity) และแผนภูมิกวามสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic Tree) ไก่พื้นเมืองจังหวัดยโสธรจะมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันมากที่สุดคือมีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่าง 20 - 41 เปอร์เซ็นต์ โดยไก่พื้นเมืองตัวที่ C2 กับ C7 มีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมสูงสุดคือ 41 เปอร์เซ็นต์ และตัวที่ C4 กับ C8 มีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมต่ำสุดคือ 20 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด มีค่าต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของเขาวลัทธิ เลไพจิตร (2544) และ Zhou *et al* (1999) ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองและไก่ป่า เท่ากับ 37 และ 36 เปอร์เซ็นต์ โดยอาจเนื่องมาจากความแตกต่างของการเลี้ยง การคัดเลือก และเป็นกลุ่มตัวอย่างจากคนละประชากร ซึ่งไก่พื้นเมืองที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เป็นธรรมชาติ และมีความอิสระมากกว่า





## บทที่ 5

### บทสรุป

#### สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยสามารถสรุปผลได้ตามวัตถุประสงค์ดังนี้

#### 5.1 ลักษณะรูปร่างพรรณสัณฐานภายนอก (Morphology) ของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตามการจำแนกโดยปัจจัยทางภูมิศาสตร์

##### ลักษณะภายนอกของไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัดมีความแตกต่างของสีขน สีแข้ง และหงอน

ได้แก่ สีขนสีดำ สีดำสลับขาว สีดำแกมเขียว สีเทา สีน้ำตาลปนแดง สีน้ำตาลปนเหลือง แข็งสีเหลือง แข็งสีดำ และสีขาว หงอนหวี หงอนถั่วและหงอนจักร สรุปได้ว่า ลักษณะภายนอกของไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือแตกต่างกัน

#### 5.2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตามการจำแนกโดยวิธีอณูพันธุกรรม

##### 5.2.1 ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร (Heterozygosity)

Heterozygosity ซึ่งแสดงถึงความหลากหลายภายในประชากรของกลุ่มไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา ขอนแก่น ยโสธร สกลนคร และเลย พบว่ากลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดยโสธรมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ  $0.583 \pm 0.293$  ส่วนจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น สกลนคร และเลย มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.567 \pm 0.372$ ,  $0.467 \pm 0.413$ ,  $0.467 \pm 0.287$  และ  $0.317 \pm 0.293$  ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยจากทุกกลุ่มตัวอย่างมีค่าเท่ากับ  $0.480 \pm 0.326$  โดยส่วนใหญ่ถือว่ามี ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรสูง สรุปได้ว่าประชากรไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดมีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรสูง

##### 5.2.2 ความถี่ของอัลลีลในแต่ละโลคัส (Allelic Frequency)

จากความถี่ของอัลลีลในแต่ละ Locus พบว่าจำนวนแบบของอัลลีลที่เกิดขึ้นในแต่ละ Locus อยู่ระหว่าง 5 – 9 อัลลีลต่อโลคัสและมีจำนวน 1 – 6 อัลลีลต่อกลุ่มไก่พื้นเมือง โดยที่ Locus

B45, B100 และ B305 พบ 6 อัลลีล Locus B144 พบ 9 อัลลีล Locus B178 พบ 5 อัลลีล และ Locus B271 พบ 7 อัลลีล

### 5.2.3 อัตราส่วนโพลิมอร์ฟิซึม (Polymorphism, P)

จากการทดลองพบว่าจำนวนโพลิมอร์ฟิซึมในโกลไกโซในไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น ชัยภูมิ สกลนคร และเลยมีค่าเท่ากับ 6, 5, 6, 6 และ 6 Loci และมีค่าอัตราส่วนโพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ 1, 0.83, 1, 1 และ 1 ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยอัตราส่วนโพลิมอร์ฟิซึมเท่ากับ 0.97

### 5.2.4 เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Similarity)

เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมในไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดมีค่าต่ำถึงปานกลาง โดยไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น ชัยภูมิ สกลนคร และเลย มีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่าง 0 – 35, 6 – 44, 20 – 41, 12 – 42 และ 7 – 40 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าเฉลี่ยความเหมือนทางพันธุกรรมเท่ากับ 17.31, 24.58, 23.78, 27.11 และ 21.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการศึกษาในครั้งนี้ค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (Genetic Similarity) และแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Phylogenetic Tree) ที่คำนวณได้จากแถบ DNA จากการใช้ Microsatellite Marker จำนวน 6 Loci สามารถแบ่งกลุ่มไก่พื้นเมืองได้เป็น 3 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มมีการกระจายของตัวอย่างไก่พื้นเมืองทั้ง 5 จังหวัดอยู่ภายในกลุ่มซึ่งแสดงให้เห็นว่าความแตกต่างของพื้นที่การเลี้ยงและระยะทาง อาจไม่มีอิทธิพลต่อการจำแนกสายพันธุ์ของไก่พื้นเมือง อย่างไรก็ตาม การศึกษาในครั้งนี้มีข้อจำกัดด้านงบประมาณ ทำให้ตัวอย่างในการศึกษามีน้อย แต่ผู้วิจัยพยายามทำการศึกษาวิจัยให้ได้คุณภาพ โดยการเลือก Microsatellite Marker ที่มีความสามารถในการตรวจสอบความหลายรูปแบบได้สูง (Highly Polymorphic) และกำหนดพื้นที่ทำการศึกษาให้มีการกระจายอย่างเหมาะสมซึ่งในการศึกษาวิจัยที่ต่อเนื่องต่อไปจากครั้งนี้ ควรมีการเก็บตัวอย่างไก่พื้นเมืองให้ครอบคลุมพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากยิ่งขึ้นและเพิ่มจำนวนของ Microsatellite Marker อย่างน้อย 30 Loci ขึ้นไป (Takezaki and Nei, 1996) จะทำให้การศึกษาวิจัยครอบคลุมทั้งจีโนมของไก่พื้นเมือง และทำให้สามารถจำแนกสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ดียิ่งขึ้น

รายการอ้างอิง

- กนก ผลารักษ์. (2528). การปรับปรุงการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในระดับหมู่บ้านในนิคมสร้างตนเอง. รายงานผลงานวิจัย โครงการเร่งรัดจัดที่ดินในนิคมสร้างตนเองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ กรมประชาสัมพันธ์และมหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- กฤษณี เวชสาร. (2540). การวิจัยการตลาด. กรุงเทพมหานคร. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เกรียงไกร โช้ประการ วรพงษ์ สุริยจันทร์ทอง โอสถ นาคสกุล พิสมัย นามแดง และอุดร เสนากัสป์. (2528). การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับอัตราการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองและลูกผสมระหว่างไก่พื้นเมืองกับโรดไอส์แลนด์เรด. รายงานประจำปี 2528 กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- เกรียงไกร โช้ประการ กิตติ วงศ์วิเศษฐ วัชรพงษ์ วัฒนกุล และวรพงษ์ สุริยจันทร์ทอง. (2543). ไก่พื้นเมืองและไก่ลูกผสมพื้นเมือง. : อดีตและปัจจุบัน. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว).
- กาญจนา บันสิทธิ์ ชีรพล บันสิทธิ์, อภิชัย ศิวประภากร สมพงษ์ นายพุทธ, พรรณศรี สาภิยะ และสาโรจน์ ศิริจรพันธ์. (2531). การศึกษาหาระดับความต้องการโปรตีนและพลังงานสำหรับไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- นิตยศรี แสงเดือน. (2540). DNA กับการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ก. 15 (1) : 12 - 23.
- บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ อัมพน ห่อนาค และทวิสุข แสนทวิสุข. (2526). การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงไก่กระทง ไก่ชน และลูกผสมในแง่ของการผลิตเนื้อ. รายงานสัมมนาการเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 1, 19 - 21 ก. ค. 2526.
- ปรีชา ประเทพา. (2543). พันธุศาสตร์ยุคใหม่ : เทคโนโลยีดีเอ็นเอเพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรม. มหาสารคาม : อภิชาติการพิมพ์.
- พิทยา นามแดง. (2534). ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการตายของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- เขวลักษณ์ เลไปจิตร. (2544). การประมาณค่าความเหมือนทางพันธุกรรม ระหว่างไก่พื้นเมืองและไก่พันธุ์ทางการค้าด้วยเทคนิคไมโครแซทเทลไลท์-พีซีอาร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วุฒิพงษ์ อินทรธรรม เกรียงเดช สำแดง และ อัญชลี ณ เชียงใหม่. (2544). การปรับปรุงพันธุกรรมของสัตว์ในเขตร้อน. กรุงเทพมหานคร. กรมปศุสัตว์.

- ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. (2540). **การประชุมเชิงปฏิบัติการพันธุวิศวกรรม.** สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติกระทรวง วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม
- สวัสดิ์ ธรรมบุตร. (2522). **รายงานความก้าวหน้าของโครงการผสมพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมือง อำเภอพล จังหวัดขอนแก่น.** รายงานประจำปีสำนักงานเกษตรและสหกรณ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปี 2521 - 2522.
- สวัสดิ์ ธรรมบุตร บุญศักดิ์ เกลียวกมลทัต อัมพร ธรรมบุตร และ ศิริพันธ์ โมราถบ. (2541). **การเลี้ยงไก่พื้นเมือง 5 สายพันธุ์.** สถาบันวิจัยและพัฒนาสัตว์ปีกแห่งชาติ กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สวัสดิ์ ธรรมบุตร บุญศักดิ์ เกลียวกมลทัต อัมพร ธรรมบุตร และศิริพันธ์ โมราถบ. (2541). **การเลี้ยงไก่ 3 สายพันธุ์.** สถาบันวิจัยและพัฒนาสัตว์ปีกแห่งชาติ กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและ สหกรณ์.
- สุรินทร์ ปิยโชคณากุล. (2539). **พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น.** ภาควิชาพันธุศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุรินทร์ ปิยโชคณากุล. (2543). **พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น.** ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุวิทย์ ชีรพันธุ์วัฒน์ พิทักษ์ ศรีประยา และสมพงษ์ ฉายพุทธ. (2532) **อิทธิพลของอาหารที่มีต่อส่วนประกอบของซากไก่พื้นเมือง.** การพัฒนาและปรับปรุงประสิทธิภาพการเลี้ยงสัตว์เล็กสำหรับกสิกรรายย่อยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คณะเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ USAID.
- อภิชัย รัตนวราหะ. (2541). **พันธุ์และการขยายพันธุ์ไก่พื้นเมือง.** ไก่พื้นเมือง สัตว์เศรษฐกิจระดับชาวบ้าน. สำนักพิมพ์มติชน.
- อภิชัย รัตนวราหะ สมจิตต์ บุญสุขใจ สุทัศน์ ศิริ และสกล ไข่คำ. (2525) **การศึกษาศมรรถภาพการเจริญเติบโตและการให้ไข่ของไก่พื้นเมืองและลูกผสม.** สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ เชียงใหม่.
- อภิชัย รัตนวราหะ สุทัศน์ ศิริ และสมจิตต์ บุญสุขใจ. (2528). **การศึกษานเบื้องต้นเกี่ยวกับสมรรถภาพของไก่พื้นเมือง ไก่พันธุ์ต่างประเทศ และไก่ลูกผสมภายใต้สภาพปล่อยทุ่งแบบชาวบ้าน.** รายงานประจำปี 2528 กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- อาวุธ วนิชาติ. (2522). **การศึกษเกี่ยวกับสัตว์กระเพาะเดี่ยวในหมู่บ้านของอำเภอกำแพงแสน.** วิทยานิพนธ์. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

อลงกต แทนอมทอง. (2541). ที่มาของต้นตระกูลไก่. **สารานุกรม**. ฉ. 4. : 33-36.

- Atherly, A.G., J. R. Girton, and J. F. McDonald. (1999). **The Science of Genetics**. Philadelphia. Saunder College Publishing.
- Bitgood, J. J. and R. N. Shortner. (1990). Cytology and Cytogenetics, pp. 401-427. In R. D. Crawford (ed.). **Poultry Breeding and Genetics**. Eiesvier, Amsterdam, Natherland.
- Bujo, H., R. G. Elkin, K. A. Lindstedt, J. Nimpf, J. J. Bitgood, and W. J. Scheider. (1996). A rapid chain reaction-base procedere for identifying mutant restricted ovulator chickens. **Poultry Science**. 75 : 1113-1117.
- Cheng, H. H. (1997). Mapping the chicken genome. **Poultry Science**. 76 (8) : 1101 - 1107.
- Cheng, H. H., I. Levin, R. L. Vallejo, H. Khatib, J. B. Dodgson, L. B. Crittenden, and J. Hillel, (1995). Development of a genetic map of the chicken with markers of high utility. **Poultry Science**. 74 : 1855 - 1874.
- Crooijmans, R. P. M. A. , AB. F. Groen, A. J. A. Van Kampen, S. Van Der Beek, J. J. Van Der Poel, and M. A. M. Groenen. (1996). Microsatellite polymorphism in commercial broiler and layer lines estimated using pooled blood samples. **Poultry Science**. 75 : 904 - 909.
- Cunningham, E. P. (1999). The application of biotechnologies to enhance animal production in different farming systems. **Livestock Production Science**. 58 : 1 - 24.
- Emara, M. G., H. Kim, J. Zhu, R. R. Lapierre, N. Lakshmanan, and H. S. Lillehoj. (2002). Genetic diversity at the major histocompatibility complex (B) and microsatellite loci in three commercial broiler pure lines. **Poultry Science**. 81 : 1609 - 1617.
- Geldermann, H. and F. Ellendorff. (1990). **Genome Analysis in Domestic Animal**. VCH Publishers Inc., Weinheim. 337 p.
- Heller, E. D., Z. Uni, and L. D. Bacon. (1991). Serological evidence for major histocompatibility complex (B complex) antigens in broilers selected for humoral immune response. **Poultry Science**. 70 : 726 - 732.

- Hendrix, P. W. (2000). **Genetics of Populations (2<sup>nd</sup> ed.)**. Sudbury : Jones and Bartlett Publishers.
- Kaiser, M. G., N. Deeb, and S. J. Lamont. (2002a). Microsatellite marker linked to salmonella enterica serovar enteritidis vaccine response in young fl broiler-cross chicks. **Poultry Science**. 81 : 193 - 201.
- Kaiser, M. G. and S. J. Lamont. (2002b). Microsatellite linked to salmonella enterica serovar enteritidis burden in spleen and cecal content of young fl broiler-cross chicks. **Poultry Science**. 81 : 657 - 663.
- Klug, W. S. and Cummings, S. M. R. (2000). **Concepts of Genetics**. (6<sup>th</sup> ed.). New Jersey : Prentice Hall.
- Morris, B. (1994). **Science and our future biotechnology**. Cambridge University. Australia. 92 p.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**. 89 : 583 – 590.
- Rochambeau, H. D. (1999). Genetic diversity in animal domestic species : description and management. **Animal Breeding Abstract**. 67 (7) : 555.
- Rohlf, F.J. (2002). **NTSYSpc : Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System version 2.1 user guide**. New York. : Applied Biostatistics Inc.
- Smith, J.A. (1990). **Poultry**. The Tropical Agriculturalist.
- Smith, E. J., and D. W. Burt. (1998). Parameter of the chicken genome (*Gallus domesticus*). **Animal Genetic**. 29 : 290 - 294.
- Takezaki, N. and M. Nei. (1998). Genetic distances of phylogenetic trees from microsatellite DNA. **Genetic**. 144 : 389 – 399.
- Vanhala, T., M. Tuiskula-Haavisto, K. Elo, J. Vilkki, and A. Maki-Tanila. (1998). Evaluation of genetic variability and genetic distance between eight chicken lines using microsatellite markers. **Poultry Science**. 77 : 783 - 790.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de lee, M. Home, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. (1995). **AFLP : A New Technique for DNA Fingerprinting**. Nucleic Acids Res. 23 : 4407 - 4414.
- Weir, B. S. (1996). **Genetic Data Analysis II**. MA : Sinauer Associates.

- Zhang, X., F. C. Leung, D. K. D. Chan, Y. Chen, and C. Wu. (2002a). Comparative analysis of allozyme, random amplified polymorphic DNA and microsatellite polymorphism on Chinese native chicken. **Poultry Science**. 81 : 1093-1098.
- Zhang, X., F. C. Leung, D. K. D. Chan, G. Yang, and C. Wu. (2002b). Genetic diversity of chinese native chicken breeds base on protein polymorphism, randomly amplified polymorphic DNA, and microsatellite polymorphism. **Poultry Science**. 81 : 1463-1472.
- Zhou, H. and S. J. Lamontt. (1999). Genetic characterization of biodiversity in high inbred chicken lines by microsatellite markers. **Animal Genetic**. 30 : 256 – 264.
- Zhu, J., K. E. Nester and Y. Moritsu. (1996). Relationship between band sharing levels of DNA fringerprints and inbreeding coefficients and estimation of true inbreeding in turkey lines. **Poultry Science**. 75 : 25 – 28.



ภาคผนวก

**ภาคผนวก ก**  
**ลักษณะภายนอกของตัวอย่างไก่พื้นเมือง**

ตารางที่ ก.1 ลักษณะภายนอกของไก่พื้นเมืองแยกตามจังหวัดทั้ง 5 จังหวัด

จังหวัด	ตัวที่	อำเภอ	ลักษณะภายนอก	อายุ (เดือน)	น้ำหนัก ตัว (kg)
นครราชสีมา	1	เมือง	ขนสีดำแกมเขียวทั้งตัว แข็งสีดำ หงอน ถั่ว	10	1.8
	2	เมือง	ขนสีน้ำตาลปนแดงทั้งตัว ปลายขน ปีกสีดำ ขนหางสีดำ แข็งสีขา ว หงอนหวี	12	1.6
	3	เมือง	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขา ว หงอนถั่ว	12	2.0
	4	เมือง	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีดำ หงอนหวี	14	2.0
	5	เมือง	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีขา ว หงอนหวี	8	1.65
	6	สีคิ้ว	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีดำ หงอนหวี	9	1.75
	7	สีคิ้ว	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีดำ หงอนหวี	12	1.9
	8	สีคิ้ว	ขนสีดำแกมเขียวทั้งตัว แข็งสีดำ หงอน ถั่ว	10	1.9
	9	สีคิ้ว	ขนสีเทาทั้งตัว แข็งสีดำ หงอนหวี	8	1.8
	10	สีคิ้ว	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขา หงอนหวี	11	1.8
ขอนแก่น	1	มัญจาคีรี	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขา ว หงอนถั่ว	10	1.8
	2	มัญจาคีรี	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขา ว หงอนหวี	14	2.0
	3	มัญจาคีรี	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีเหลือง หงอนถั่ว	8	1.7
	4	มัญจาคีรี	ขนสีดำแกมเขียวทั้งตัว แข็งสีขา ว หงอนหวี	16	2.2
	5	มัญจาคีรี	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขา ว หงอนรูปหวี	7	1.5
	6	มัญจาคีรี	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีดำ หงอนรูปหวี	9	1.85

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

จังหวัด	ตัวที่	อำเภอ	ลักษณะทั่วไป	อายุ (เดือน)	น้ำหนัก ตัว (kg)
	7	มัญจาคีรี	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีขา วงอนหวี	8	1.65
	8	มัญจาคีรี	ขนสีน้ำตาลปนแดง ปลายขนปีกสีดำ ขนหางสีดำ แข็งสีขา วงอนหวี	12	1.8
	9	มัญจาคีรี	ขนสีดำสลับขาวเล็กน้อยบริเวณลำตัว แข้งสีขา วงอนหวี	10	1.8
	10	มัญจาคีรี	ขนสีดำทั้งตัว ปลายขนสร้อยคอสีน้ำตาล แดง แข็งสีขา วงอนหวี	8	1.75
ยโสธร	1	มหาชนะชัย	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขา วงอนหวี	14	1.9
	2	มหาชนะชัย	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีขา วงอนหวี	18	2.4
	3	มหาชนะชัย	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีดำ วงอนหวี	15	2.0
	4	มหาชนะชัย	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขา วงอนหวี	12	1.8
	5	มหาชนะชัย	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีขา วงอนหวี	15	1.85
	6	มหาชนะชัย	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีดำ วงอนหวี	9	1.6
	7	มหาชนะชัย	ขนสีดำแกมเขียวทั้งตัว แข็งสีดำ วงอน หวี	11	1.7
	8	มหาชนะชัย	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีขา วงอนหวี	13	1.75
	9	มหาชนะชัย	ขนสีเทาทั้งตัว แข็งสีดำ วงอนหวี	10	1.7
	10	มหาชนะชัย	ขนสีน้ำตาลปนแดงทั้งตัว ปลายขนปีก สีดำ ขนหางสีดำ แข็งสีขา วงอนหวี	12	1.7
สกลนคร	1	วานรนิวาส	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีดำ วงอนหวี	8	1.7
	2	วานรนิวาส	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีขา วงอนหวี	9	1.85

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

จังหวัด	ตัวที่	อำเภอ	ลักษณะภายนอก	อายุ (เดือน)	น้ำหนัก ตัว (kg)
	3	วานรนิวาส	ขนสีน้ำตาลปนเหลืองทั้งตัว ปลายขน ปีกสีดำ ขนหางสีดำ แข็งสีขาว หงอนหวี	12	1.9
	4	วานรนิวาส	ขนสีดำแกมเขียวทั้งตัว แข็งสีดำ หงอนหวี	8	1.65
	5	วานรนิวาส	ขนสีดำทั้งตัว ปลายขนปีกสีขาว แข็ง สีดำ หงอนหวี	10	1.85
	6	เมือง	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีขาว หงอนหวี	7	1.55
	7	เมือง	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีดำ หงอนหวี	10	1.8
	8	เมือง	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขาว หงอนหวี	8	1.7
	9	เมือง	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขาว หงอนหวี	8	1.65
	10	เมือง	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขาว หงอนหวี	9	1.75
เลย	1	ท่าลี่	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขาว หงอนหวี	12	1.6
	2	ท่าลี่	ขนสีน้ำตาลปนเทาทั้งตัว แข็งสีขาว หงอน หวี	6	1.45
	3	ท่าลี่	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขาว หงอนถั่ว	8	1.6
	4	ท่าลี่	ขนสีน้ำตาลปนน้ำตาลแดงบริเวณลำตัว แข้งสีขาว หงอนจักร	7	1.65
	5	ท่าลี่	ขนสีดำสลับขาวทั่วตัว แข็งสีขาว หงอนหวี	10	1.8
	6	เมือง	ขนสีดำทั้งตัว แข็งสีขาว หงอนหวี	8	1.6
	7	เมือง	ขนสีน้ำตาลปนเหลืองทั้งตัว ปลายขน ปีกสีดำ ขนหางสีดำ แข็งสีเหลือง หงอนหวี	6	1.45
	8	เมือง	ขนสีน้ำตาลปนเหลืองทั้งตัว ปลายขน ปีกสีดำ แข็งสีเหลือง หงอนหวี	12	1.7

ตารางที่ ก.1 (ต่อ)

จังหวัด	ลำดับ	อำเภอ	ลักษณะภายนอก	อายุ (เดือน)	น้ำหนัก ตัว (kg)
	9	เมือง	ขนสีน้ำตาลปนเหลืองทั้งตัว ปลายขน ปีกสีดำ แข็งสีเหลือง หงอนหวี	12	1.65
	10	เมือง	ขนสีดำแกมเขียวทั้งตัว แข็งสีเหลือง หงอนถั่ว	8	1.7
ค่าเฉลี่ยอายุและน้ำหนักตัว			10.3 เดือน	1.765 ± 0.174 kg	

## ภาคผนวก ข.

## ตารางแสดงสัญลักษณ์ตัวเลขตัวอย่างไก่พื้นเมืองที่พบแถบดีเอ็นเอ

ตารางที่ ข. 1 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B45

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band					
		1	2	3	4	5	6
A1	นครราชสีมา	1	0	0	1	0	0
A2	นครราชสีมา	0	1	0	0	0	0
A3	นครราชสีมา	0	0	1	0	0	1
A4	นครราชสีมา	1	0	0	0	0	1
A5	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	0
A6	นครราชสีมา	0	1	0	0	0	0
A7	นครราชสีมา	0	0	1	0	0	1
A8	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	0
A9	นครราชสีมา	1	0	0	0	0	1
A10	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	1
B1	ขอนแก่น	0	1	0	0	0	1
B2	ขอนแก่น	0	0	0	1	0	0
B3	ขอนแก่น	0	0	0	0	0	1
B4	ขอนแก่น	0	1	0	0	0	0
B5	ขอนแก่น	0	0	0	0	1	0
B6	ขอนแก่น	0	1	0	0	0	1
B7	ขอนแก่น	0	1	0	0	0	0
B8	ขอนแก่น	0	1	0	0	1	0
B9	ขอนแก่น	1	0	0	0	1	0
B10	ขอนแก่น	0	1	0	0	0	1
C1	ยโสธร	0	0	0	0	1	0
C2	ยโสธร	0	0	0	1	0	0
C3	ยโสธร	0	0	0	0	0	1
C4	ยโสธร	0	0	0	0	0	1
C5	ยโสธร	0	1	0	0	0	1

ตารางที่ ข.1 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B45 (ต่อ)

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band					
		1	2	3	4	5	6
C6	ยโสธร	1	0	0	1	0	0
C7	ยโสธร	0	0	0	1	0	0
C8	ยโสธร	0	0	0	1	0	0
C9	ยโสธร	0	0	0	0	1	0
C10	ยโสธร	1	0	0	0	0	1
D1	สกลนคร	1	0	0	0	0	1
D2	สกลนคร	0	0	0	0	0	1
D3	สกลนคร	0	0	0	0	0	1
D4	สกลนคร	0	0	1	0	0	1
D5	สกลนคร	0	0	0	0	0	1
D6	สกลนคร	0	0	0	0	0	1
D7	สกลนคร	0	1	0	0	0	0
D8	สกลนคร	0	0	0	0	0	1
D9	สกลนคร	0	0	0	0	0	1
D10	สกลนคร	0	0	0	1	0	0
E1	เลย	0	0	0	0	0	1
E2	เลย	0	0	0	0	0	1
E3	เลย	0	0	1	0	0	0
E4	เลย	0	0	1	0	0	0
E5	เลย	0	0	0	0	0	1
E6	เลย	0	0	0	0	0	1
E7	เลย	1	0	0	0	0	1
E8	เลย	0	1	0	0	1	0
E9	เลย	0	0	0	0	1	0
E10	เลย	0	0	0	0	1	0
Layer	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	1

ตารางที่ ข. 2 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B100

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band					
		1	2	3	4	5	6
A1	นครราชสีมา	0	1	0	1	0	0
A2	นครราชสีมา	0	1	0	1	0	0
A3	นครราชสีมา	0	1	0	1	0	0
A4	นครราชสีมา	1	0	0	0	0	1
A5	นครราชสีมา	0	0	1	1	0	0
A6	นครราชสีมา	0	0	1	1	0	0
A7	นครราชสีมา	1	0	0	0	1	0
A8	นครราชสีมา	0	1	0	1	0	0
A9	นครราชสีมา	0	1	1	0	0	0
A10	นครราชสีมา	0	0	0	1	0	1
B1	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B2	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B3	ขอนแก่น	0	0	0	1	0	1
B4	ขอนแก่น	1	0	0	0	0	0
B5	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B6	ขอนแก่น	1	0	0	1	0	0
B7	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B8	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B9	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B10	ขอนแก่น	1	0	0	0	1	0
C1	ยโสธร	0	0	0	1	0	0
C2	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C3	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C4	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C5	ยโสธร	1	0	0	0	0	1
C6	ยโสธร	0	0	0	1	0	0



ตารางที่ ข. 2 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B100 (ต่อ)

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band					
		1	2	3	4	5	6
C7	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C8	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C9	ยโสธร	0	1	0	0	0	1
C10	ยโสธร	0	0	1	1	0	0
D1	สกลนคร	0	1	0	1	0	0
D2	สกลนคร	0	0	0	1	0	1
D3	สกลนคร	0	0	1	1	0	0
D4	สกลนคร	0	1	0	1	0	0
D5	สกลนคร	0	1	0	1	0	0
D6	สกลนคร	0	0	0	1	0	1
D7	สกลนคร	0	0	1	1	0	0
D8	สกลนคร	0	0	1	0	0	1
D9	สกลนคร	0	1	0	1	0	0
D10	สกลนคร	0	0	1	0	0	0
E1	เลย	0	0	1	0	0	0
E2	เลย	0	0	0	1	0	0
E3	เลย	0	0	1	0	0	0
E4	เลย	1	0	1	0	0	0
E5	เลย	0	0	1	0	0	0
E6	เลย	0	0	0	0	1	0
E7	เลย	0	0	1	1	0	0
E8	เลย	0	0	1	1	0	0
E9	เลย	0	0	1	1	0	0
E10	เลย	0	0	1	1	0	0
Layer	นครราชสีมา	0	0	1	1	0	0

ตารางที่ ข. 3 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B144

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
A1	นครราชสีมา	0	0	0	1	0	0	1	0	0
A2	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	0	0	1	0
A3	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	1	0	1	0
A4	นครราชสีมา	1	0	0	0	0	1	0	0	0
A5	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	0	1	0	0
A6	นครราชสีมา	0	0	0	1	0	0	0	1	0
A7	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	1	0	0	0
A8	นครราชสีมา	0	0	0	1	0	0	0	1	0
A9	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	1	0	1	0
A10	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	1	1	0	0
B1	ขอนแก่น	0	0	0	0	0	0	0	1	0
B2	ขอนแก่น	0	0	0	1	1	0	0	0	0
B3	ขอนแก่น	0	0	0	0	0	0	0	1	0
B4	ขอนแก่น	0	0	1	0	0	0	1	0	0
B5	ขอนแก่น	0	0	0	0	0	1	0	0	0
B6	ขอนแก่น	0	0	1	0	0	0	0	0	0
B7	ขอนแก่น	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B8	ขอนแก่น	0	0	0	0	0	1	1	0	0
B9	ขอนแก่น	0	0	0	0	0	0	1	0	0
B10	ขอนแก่น	0	0	0	0	0	0	1	0	0
C1	ยโสธร	0	0	0	0	0	1	0	1	0
C2	ยโสธร	1	0	0	0	0	1	0	0	0
C3	ยโสธร	0	0	0	1	0	0	1	0	0
C4	ยโสธร	0	0	0	1	0	0	0	1	0
C5	ยโสธร	0	0	0	1	0	1	0	0	0
C6	ยโสธร	0	0	0	1	0	1	0	0	0
C7	ยโสธร	0	0	0	0	0	1	0	0	0

ตารางที่ ข.3 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B144 (ต่อ)

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
C8	ยโสธร	0	0	0	0	0	1	0	0	0
C9	ยโสธร	0	0	0	1	0	0	0	0	0
C10	ยโสธร	0	0	0	1	0	0	0	1	0
D1	สกลนคร	0	0	0	1	0	1	0	0	0
D2	สกลนคร	0	0	0	0	0	1	0	0	1
D3	สกลนคร	0	0	0	1	0	0	0	1	0
D4	สกลนคร	0	0	0	0	0	1	0	0	0
D5	สกลนคร	0	0	0	1	0	1	0	0	0
D6	สกลนคร	0	0	0	0	0	1	0	0	0
D7	สกลนคร	0	0	0	1	0	1	0	0	0
D8	สกลนคร	0	0	0	1	0	1	0	0	0
D9	สกลนคร	0	0	0	0	0	0	0	0	1
D10	สกลนคร	0	0	0	1	0	0	0	1	0
E1	เลย	0	0	0	0	0	1	0	1	0
E2	เลย	0	0	0	0	0	0	0	1	0
E3	เลย	0	0	0	0	0	1	0	1	0
E4	เลย	0	0	0	0	0	0	0	0	1
E5	เลย	0	0	0	1	0	0	0	0	1
E6	เลย	0	0	0	0	0	1	0	1	0
E7	เลย	0	1	0	1	0	0	0	0	0
E8	เลย	0	0	0	0	0	1	0	0	1
E9	เลย	0	0	0	0	1	0	0	0	1
E10	เลย	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Layer	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	1	0	1	0

ตารางที่ ข. 4 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B178

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band				
		1	2	3	4	5
A1	นครราชสีมา	0	0	0	0	1
A2	นครราชสีมา	0	0	0	0	1
A3	นครราชสีมา	0	0	0	1	0
A4	นครราชสีมา	0	0	0	0	1
A5	นครราชสีมา	0	0	0	0	1
A6	นครราชสีมา	0	0	0	0	1
A7	นครราชสีมา	0	0	1	0	0
A8	นครราชสีมา	0	0	0	0	1
A9	นครราชสีมา	0	0	0	0	1
A10	นครราชสีมา	0	0	0	0	1
B1	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B2	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B3	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B4	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B5	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B6	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B7	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B8	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B9	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
B10	ขอนแก่น	0	0	0	0	1
C1	ยโสธร	0	0	0	0	1
C2	ยโสธร	0	0	0	0	1
C3	ยโสธร	1	0	0	0	1
C4	ยโสธร	0	1	0	0	1
C5	ยโสธร	0	0	0	0	1
C6	ยโสธร	0	0	0	0	1

ตารางที่ ข. 4 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B178 (ต่อ)

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band				
		1	2	3	4	5
C7	ยโสธร	0	0	0	0	1
C8	ยโสธร	0	0	0	1	1
C9	ยโสธร	1	0	0	0	1
C10	ยโสธร	0	0	0	0	1
D1	สกลนคร	0	0	0	0	1
D2	สกลนคร	0	0	1	0	1
D3	สกลนคร	0	0	0	0	1
D4	สกลนคร	0	0	0	1	1
D5	สกลนคร	0	0	0	0	1
D6	สกลนคร	0	0	0	0	1
D7	สกลนคร	0	0	0	0	1
D8	สกลนคร	0	0	0	0	1
D9	สกลนคร	0	0	0	0	1
D10	สกลนคร	0	0	0	0	1
E1	เลย	0	0	0	0	1
E2	เลย	0	0	0	0	1
E3	เลย	0	0	1	0	1
E4	เลย	0	0	0	0	1
E5	เลย	1	0	0	0	1
E6	เลย	0	0	0	0	1
E7	เลย	0	1	0	0	1
E8	เลย	0	0	0	0	1
E9	เลย	0	0	0	0	1
E10	เลย	0	1	0	0	1
Layer	นครราชสีมา	0	0	0	0	1

ตารางที่ ข. 5 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B271

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band						
		1	2	3	4	5	6	7
A1	นครราชสีมา	0	0	0	0	0	0	1
A2	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	0	0
A3	นครราชสีมา	0	0	1	0	0	0	0
A4	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	0	0
A5	นครราชสีมา	0	0	1	0	0	0	1
A6	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	0	0
A7	นครราชสีมา	0	1	0	0	0	1	0
A8	นครราชสีมา	0	0	0	1	0	0	1
A9	นครราชสีมา	0	0	0	1	0	0	0
A10	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	0	0
B1	ขอนแก่น	0	0	0	1	0	0	0
B2	ขอนแก่น	0	0	0	1	0	0	0
B3	ขอนแก่น	0	0	0	0	1	0	0
B4	ขอนแก่น	0	0	0	0	1	0	0
B5	ขอนแก่น	0	1	0	0	0	1	0
B6	ขอนแก่น	0	0	0	0	1	0	0
B7	ขอนแก่น	0	0	0	1	0	0	0
B8	ขอนแก่น	0	0	0	0	1	0	0
B9	ขอนแก่น	0	0	0	0	1	0	0
B10	ขอนแก่น	0	0	0	1	0	0	0
C1	ยโสธร	0	0	0	0	1	0	0
C2	ยโสธร	0	0	0	0	1	0	0
C3	ยโสธร	0	0	0	0	1	0	0
C4	ยโสธร	0	1	0	1	0	0	0
C5	ยโสธร	0	0	0	0	1	0	0
C6	ยโสธร	0	0	0	0	1	0	0

ตารางที่ ข. 5 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B271 (ต่อ)

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band						
		1	2	3	4	5	6	7
C7	ยโสธร	0	0	0	0	1	0	0
C8	ยโสธร	0	0	0	0	1	1	0
C9	ยโสธร	0	0	0	0	1	0	0
C10	ยโสธร	0	1	0	0	1	0	0
D1	สกลนคร	0	0	0	0	1	0	0
D2	สกลนคร	0	0	0	0	1	0	0
D3	สกลนคร	0	0	0	0	1	0	0
D4	สกลนคร	0	0	0	0	1	0	0
D5	สกลนคร	1	0	0	0	1	0	0
D6	สกลนคร	0	0	0	0	1	0	0
D7	สกลนคร	0	0	0	0	1	0	0
D8	สกลนคร	0	0	0	0	1	0	0
D9	สกลนคร	1	0	0	0	0	0	0
D10	สกลนคร	0	0	0	0	1	0	0
E1	เลย	0	0	0	0	1	0	0
E2	เลย	0	0	0	0	0	0	1
E3	เลย	0	0	0	0	1	0	0
E4	เลย	0	0	0	0	1	0	0
E5	เลย	0	0	0	1	0	0	0
E6	เลย	0	0	0	1	0	0	0
E7	เลย	0	0	0	0	0	1	0
E8	เลย	1	0	0	1	0	0	0
E9	เลย	1	0	0	0	0	0	0
E10	เลย	0	0	0	0	1	0	0
Layer	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	0	0

ตารางที่ ข. 6 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B305

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band					
		1	2	3	4	5	6
A1	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	1
A2	นครราชสีมา	0	0	1	0	1	0
A3	นครราชสีมา	0	1	0	1	0	0
A4	นครราชสีมา	0	0	1	0	1	0
A5	นครราชสีมา	0	0	0	0	1	1
A6	นครราชสีมา	0	0	1	0	0	0
A7	นครราชสีมา	0	0	1	1	0	0
A8	นครราชสีมา	0	0	0	1	0	1
A9	นครราชสีมา	0	0	1	0	0	0
A10	นครราชสีมา	0	0	1	1	0	0
B1	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B2	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B3	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B4	ขอนแก่น	0	0	0	1	1	0
B5	ขอนแก่น	1	0	0	0	1	0
B6	ขอนแก่น	0	1	0	1	0	0
B7	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B8	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B9	ขอนแก่น	0	0	1	1	0	0
B10	ขอนแก่น	0	0	1	0	1	0
C1	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C2	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C3	ยโสธร	0	0	0	1	1	0
C4	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C5	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C6	ยโสธร	0	1	0	1	0	0



ตารางที่ ข. 6 ค่าสัญลักษณ์ตัวเลขจากแถบดีเอ็นเอที่ใช้ Primer B305 (ต่อ)

เลขที่ไก่	จังหวัด	Band					
		1	2	3	4	5	6
C7	ยโสธร	0	1	0	0	1	0
C8	ยโสธร	0	0	1	1	0	0
C9	ยโสธร	0	1	0	1	0	0
C10	ยโสธร	0	1	1	0	0	0
D1	สกลนคร	0	1	0	1	0	0
D2	สกลนคร	0	1	0	1	0	0
D3	สกลนคร	0	0	0	1	1	0
D4	สกลนคร	0	0	0	1	1	0
D5	สกลนคร	0	1	0	0	0	0
D6	สกลนคร	0	0	1	0	0	0
D7	สกลนคร	0	0	0	1	1	0
D8	สกลนคร	1	0	0	0	0	0
D9	สกลนคร	0	1	0	0	0	0
D10	สกลนคร	0	1	0	0	0	0
E1	เลย	0	1	0	0	0	0
E2	เลย	0	1	0	0	0	0
E3	เลย	0	1	0	0	0	0
E4	เลย	0	1	0	0	0	0
E5	เลย	0	1	0	0	0	0
E6	เลย	0	0	0	1	0	0
E7	เลย	0	1	0	0	0	0
E8	เลย	0	0	0	1	0	0
E9	เลย	0	0	0	1	0	0
E10	เลย	0	1	0	0	0	0
Layer	นครราชสีมา	0	1	0	0	0	0

## ภาคผนวก ค.

## ตารางการคำนวณจำนวนตัวอย่างไ้พื้นเมืองที่เป็น Heterozygous

ตารางที่ ค.1 จำนวนตัวอย่างไ้พื้นเมืองแต่ละ Locus ที่มีสภาพอัลลีล เป็น Heterozygous  
ของทั้ง 5 จังหวัด

จังหวัด	B45	B100	B144	B178	B271	B305
นครราชสีมา	5	10	8	0	3	8
ขอนแก่น	5	9	3	0	1	10
ยโสธร	3	8	7	4	3	10
สกลนคร	2	9	7	2	2	5
เลย	2	5	8	3	1	0

## ภาคผนวก ง.

## ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Heterozygosity

ตารางที่ ง 1. วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Heterozygosity ของกลุ่มตัวอย่างไก่พื้นเมือง

SOV	d.f.	SS	MS	F-Test
Pop	4	2.213	0.553	3.75 <sup>**</sup>
ID (Pop)	45	8.883	0.197	1.14
Locus	5	18.137	3.627	24.57
Pop X Locus	20	12.147	0.607	4.11
Error	225	33.217	0.148	

ตารางที่ ๓.2 เปรียบเทียบความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่างไก่พื้นเมืองแต่ละจังหวัดด้วยวิธี Duncan

Multiple Range Test (DMRT)

ลำดับที่	1	2	3	4	5
กลุ่มตัวอย่าง	ยโสธร	นครราชสีมา	ขอนแก่น	สกลนคร	เลย
ค่าเฉลี่ย	0.583 <sup>a</sup>	0.567 <sup>a</sup>	0.467 <sup>ab</sup>	0.467 <sup>ab</sup>	0.317 <sup>b</sup>
$\bar{S}_x = 0.148/60 = 0.0497$					
	2	3	4	5	
SSR	2.77	2.92	3.02	3.09	
LSR	0.138	0.145	0.150	0.154	
3 - 5	0.583-0.317=0.266 <sup>*</sup>				
3 - 4	0.583-0.467=0.116 <sup>ns</sup>				
3 - 2	0.583-0.467=0.116 <sup>ns</sup>				
3 - 1	0.583-0.567=0.016 <sup>ns</sup>				
1 - 5	0.567-0.317=0.250 <sup>*</sup>				
1 - 4	0.567-0.467=0.100 <sup>ns</sup>				
1 - 2	0.567-0.467=0.100 <sup>ns</sup>				
2 - 5	0.467-0.317=0.150 <sup>ns</sup>				
2 - 4	0.467-0.467=0.000 <sup>ns</sup>				
4 - 5	0.467-0.317=0.150 <sup>ns</sup>				

## ภาคผนวก จ

## เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มไก่พื้นเมือง

ตารางที่ จ.1 เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดนครราชสีมา

ตัวอย่างไก่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	21									
3	10	16								
4	15	21	10							
5	32	17	11	11						
6	17	35	11	17	18					
7	0	0	20	20	0	6				
8	30	21	20	5	26	22	5			
9	16	22	21	26	11	24	16	21		
10	16	22	21	26	17	24	21	16	22	

ตารางที่ จ.2 เปอร์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดขอนแก่น

ตัวอย่างไก่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	33									
3	35	24								
4	18	12	19							
5	17	17	12	12						
6	28	17	29	35	11					
7	44	38	25	20	19	25				
8	32	26	28	28	26	26	35			
9	28	28	29	24	22	22	31	42		
10	28	17	18	29	6	28	25	21	17	

ตารางที่ จ.3 เปรอ์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดยโสธร

ตัวอย่างไก่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	35									
3	22	26								
4	28	26	30							
5	26	25	24	24						
6	35	39	26	26	30					
7	31	41	33	22	21	32				
8	28	37	25	20	21	28	33			
9	29	28	32	26	30	29	24	21		
10	28	21	25	25	24	33	22	20	21	

ตารางที่ จ.4 เปรอ์เซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดสกลนคร

ตัวอย่างไก่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	35									
3	32	26								
4	33	32	33							
5	42	32	28	33						
6	29	35	25	31	31					
7	32	26	33	30	28	25				
8	28	28	29	24	29	27	28			
9	29	29	19	25	38	21	12	13		
10	24	18	31	13	25	14	24	27	14	

ตารางที่ จ.5 เปรูเซ็นต์ความเหมือนทางพันธุกรรมภายในกลุ่มไก่พื้นเมืองจังหวัดเลย

ตัวอย่างไก่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	31									
3	40	21								
4	29	15	33							
5	20	21	19	27						
6	21	23	20	7	20					
7	24	25	17	18	22	12				
8	18	13	17	18	22	24	15			
9	13	14	13	20	19	13	17	39		
10	33	21	31	33	25	13	22	33	31	

## ภาคผนวก ฉ

## รูปภาพไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ



ภาพที่ ฉ.1 ลักษณะภายนอกไก่พื้นเมือง ในจังหวัดนครราชสีมา



ภาพที่ ฉ.2 ลักษณะภายนอกไก่พื้นเมือง ในจังหวัดขอนแก่น





ภาพที่ ฉ.3 ลักษณะภายนอกไก่พื้นเมือง ในจังหวัดยโสธร



ภาพที่ ฉ.4 ลักษณะภายนอกไก่พื้นเมือง ในจังหวัดสกลนคร



ภาพที่ ฉ.5 ลักษณะภายนอกไก่พื้นเมือง ในจังหวัดเลย