

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน Chicken Growth Hormone (*cGH*)
ในไก่แดงสุราษฎร์ ที่เขตอำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี
Genetic Polymorphisms of Chicken Growth Hormone (*cGH*) Gene
in Dang Surat Chicken at PhunPhin District, Suratthani Province

จิรวัดน์ มาลา¹ ศรีนทิพ สุกใส² และพิชญานิภา พงษ์พานิช^{3*}

Jirawat Mala¹, Sarintip Sooksai² and Pitchayanipa Phongphanich^{3*}

¹สาขาสาธารณสุขศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี สุราษฎร์ธานี 84100

²สถาบันวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

³สาขาวิชาวิศวกรรมผลิตภัณฑ์และการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

¹Public Health Program, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University, Suratthani, Thailand 84100

²Institute of Biotechnology and Genetic Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330

³Animal Production and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University
Songkhla, Thailand 90110

*Corresponding author: pitchayanipa.k@psu.ac.th

Received: June 12, 2021

Revised: October 15, 2022

Accepted: December 21, 2022

Abstract

The chicken growth hormone (*cGH*) gene plays a crucial role in controlling growth and muscle development in chickens. The aim of the study was to evaluate the genetic polymorphism of the *cGH* gene in the Dang Surat chicken using PCR-RFLP. The *cGH* gene was genotyped in 172 samples of Dang Surat chicken obtained from Phunphin district, Surat Thani province. Dang Surat chicken is a native chicken that is very popular in southern Thailand. PCR was used to amplify genomic DNA for the *cGH* gene (429 bp). The PCR product was cut using the *EcoRV* enzyme. The genotyping of the *cGH* gene of Dang Surat chicken produced three genotypes, GG, AG, and AA, and two alleles, G (429 bp) and A (296 bp and 133 bp) and the frequency of G was higher than that of A. There were no significant deviations in genotype frequencies from the Hardy-Weinberg equilibrium. The values of expected heterozygosity (H_e) and observed heterozygosity (H_o) were 0.51 and 0.49, respectively. The study revealed that *cGH/EcoRV* gene was polymorphic in Dang Surat chickens that were genotyped. Therefore, the *cGH* gene may be an important candidate gene for production traits in Thai native chickens and could be used for indigenous chicken utilization and conservation.

Keywords: *cGH*, genetic polymorphism, Dang Suratthani Thai native chicken

บทคัดย่อ

ยีน Chicken Growth Hormone (cGH) มีบทบาทสำคัญมากเกี่ยวกับการควบคุมเจริญเติบโตและพัฒนา กล้ามเนื้อในไก่ การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน cGH ในไก่แดงสุราษฎร์ด้วยเทคนิค PCR-RFLP ศึกษา รูปแบบ จีโนไทป์ของยีน cGH ในไก่แดงสุราษฎร์ จำนวน 172 ตัวอย่าง จากอำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี ไก่แดง สุราษฎร์เป็นไก่พื้นเมืองที่นิยมเลี้ยงเป็นอย่างมาก ทางภาคใต้ของประเทศไทย เพิ่มปริมาณจีโนมิกส์ดีเอ็นเอ ของยีน cGH ด้วยเทคนิค PCR ผลผลิต PCR ที่ได้ถูกนำไป ตัดด้วยเอนไซม์ *EcoRV* ผลการศึกษาพบรูปแบบจีโนไทป์ ของยีน cGH จำนวน 3 รูปแบบ คือ GG, AG และ AA และ 2 อัลลิล โดยอัลลิล G (429 bp) และ A (296 และ 133 bp) มีความถี่อัลลิล G สูงกว่าอัลลิล A ความถี่จีโนไทป์ ไม่อยู่ในสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ค่าเฮตเทอโรไซโกซิตี คาคหมาย (H_e) และค่าเฮตเทอโรไซโกซิตีที่ตรวจพบ (H_o) เท่ากับ 0.51 และ 0.49 ตามลำดับ ผลการศึกษาชี้ให้เห็น ว่า จากการตรวจสอบจีโนไทป์ของยีน cGH/*EcoRV* พบ ความหลากหลายในไก่แดงสุราษฎร์ ดังนั้น ยีน cGH อาจ สามารถนำไปใช้เป็น Candidate gene ในการศึกษา เกี่ยวกับลักษณะการเจริญเติบโตในไก่แดงสุราษฎร์และ สามารถนำไปใช้ประโยชน์และอนุรักษ์พันธุกรรมของ ไก่พื้นเมืองต่อไป

คำสำคัญ: cGH ความหลากหลายทางพันธุกรรม
ไก่แดงสุราษฎร์

คำนำ

ไก่พื้นเมืองนับเป็นสัตว์เศรษฐกิจระดับหมู่บ้าน และเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่ดีของเกษตรกร ไก่พื้นเมือง สามารถให้ผลตอบแทนได้ทั้งการใช้เป็นอาหารบริโภค ในครัวเรือนหรือการเลี้ยงเป็นอาชีพเสริมเพื่อเพิ่มรายได้

(Phromnoi and Phattanakunanan, 2017) ทำให้ ปัจจุบันมีการเลี้ยงไก่พื้นเมืองเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากไก่ พื้นเมืองมีคุณสมบัติที่ดีหลายประการ เช่น เลี้ยงง่าย ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี แข็งแรง ทนทานต่อโรค และพยาธิ เป็นต้น การเลี้ยงไก่พื้นเมืองจึงลงทุนน้อยและ มีความเสี่ยงต่ำ แต่จำหน่ายได้ราคาแพง เพราะตลาดมี ความต้องการสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเทศกาล สำคัญ ๆ เช่น ตรุษจีน สารทจีน และเทศกาลปีใหม่ เป็นต้น (Tanasawat, 2016)

ไก่แดงสุราษฎร์ (ขึ้นทะเบียนพันธุ์สัตว์ปีกของ กรมปศุสัตว์ เลขทะเบียนที่ CND 03/2010 ณ วันที่ 9 ธันวาคม พ.ศ. 2553) (Morathop *et al.*, 2003) เดิมคือไก่นกแดง โดยศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี อำเภอ พุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี ได้รวบรวมและสร้างฝูงพันธุ์ ลักษณะประจำพันธุ์ (Breed characteristics) ของไก่แดง สุราษฎร์ คือ มีขนสร้อยคอ ขนลำตัว และขนหลังมีสีแดง เพศผู้หางสีดำแซมขาว เพศเมียสีแดง ผิวหนังสีอมเหลือง และแข้งสีเหลือง (Sopa and Dejithirath, 2021) ไก่แดง สุราษฎร์นิยมเลี้ยงเป็นอย่างมากทางภาคใต้ของประเทศ ไทย เนื่องจากเลี้ยงง่าย ทนทานต่อโรค และสามารถผสม พันธุ์และฟักไข่ขยายพันธุ์ได้เองตามสภาพธรรมชาติ (Songsang *et al.*, 2015) นอกจากนี้ ชาวบ้านและ เกษตรกรยังนิยมเลี้ยงไว้เพื่อบริโภคเนื้อและไข่ เนื่องจาก คุณภาพเนื้อที่มีรสชาติดี เนื้อแน่น ไม่เปื่อยยุ่ย มีไขมันต่ำ และปลอดจากสารพิษตกค้าง จากรายงานการวิจัยพบว่า นอกจากเนื้อไก่แดงสุราษฎร์มีคอเลสเทอรอลต่ำแล้ว ยังพบโอเมก้า-3 และวิตามินอีกหลายชนิด จึงทำให้ไก่แดง สุราษฎร์มีราคาสูงกว่าไก่เนื้อทางการค้า โดยกำหนดราคา จำหน่าย 70-80 บาทต่อกิโลกรัม และเป็นที่ต้องการเป็น อย่างมากของผู้บริโภค (Mala, 2018) แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณไก่แดงสุราษฎร์ยังมีไม่เพียงพอับความต้องการ ของตลาด ปัญหาหนึ่งที่พบคือ ฝูงไก่แดงสุราษฎร์มีประชากร ขนาดเล็ก เสี่ยงต่อการเกิดเลือดชิดและมีความหลากหลาย ทางพันธุกรรมต่ำ อาจส่งผลต่อลักษณะการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตไข่ จากรายงานของ Tongsir *et al.*

(2019) พบว่าการเพิ่มขึ้นของ Inbreeding 1% ในฝูงไก่พื้นเมืองของกรมปศุสัตว์ ทำให้ไก่มีน้ำหนักตัวแรกเกิดลดลง 0.29 กรัม จากปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขด้วยการเพิ่มขนาดประชากรและนำอัลลีลใหม่เข้าไปภายในฝูง

ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยวิธีอนุพัทธ์ศาสตร์โมเลกุลในไก่แดงสุราษฎร์ ที่เขตอำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยการศึกษาครั้งนี้สนใจความหลากหลายของรูปแบบอัลลีลของยีน Chicken growth hormone (*cGH*) ซึ่งเป็นยีนที่รายงานเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของไก่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อการพัฒนากล้ามเนื้อโครงร่าง (Makhsous *et al.*, 2013; Promwatee *et al.*, 2011; Preecha *et al.*, 2017) อย่างไรก็ตาม องค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ไก่แดงสุราษฎร์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ใช้ตัวอย่างไก่แดงสุราษฎร์ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากเกษตรกร จำนวน 30 ราย (เฉลี่ย 5-6 ตัว/ราย) ในเขตพื้นที่ตำบลห้วยเตย ตำบลพุนพิน ตำบลท่าโรงช้าง ตำบลบางมะเดื่อ และตำบลท่าสะท้อน อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี (Figure 1) จำนวนทั้งสิ้น 172 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างเลือดไก่จากเส้นเลือดดำบริเวณใต้ปีก (Wing vein) ปริมาณ 500 ไมโครลิตรต่อตัว ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ 1.5M EDTA ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C. เพื่อรอการสกัดดีเอ็นเอต่อไป

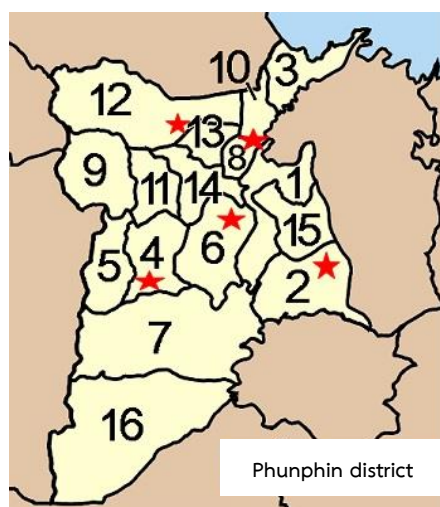


Figure 1 The blood sample collection area, Phunphin district, Surat Thani province, Thailand
The number 2, 4, 6, 8 and 13 refers to Thasathon, Bang Maduea, Tha-Rong-Chang, Phunphin and Hua Toei sub-district, respectively.

การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีมาตรฐาน Phenol-chloroform ดังนี้ ดูดเลือดไก่ที่ผ่านการเติม 0.85% NaCl (ในอัตราส่วน 1:1) เพื่อลดความหนืดของเลือด ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติม Lysis buffer ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม Proteinase K ความเข้มข้น 2.50 มก./มล. ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60°C. นาน 2 ชั่วโมง เติม สารละลาย Phenol ปริมาตร 600 ไมโครลิตร (Phenol : Chloroform : Isoamyl alcohol ในอัตราส่วน 25 : 24 : 1) ผสมให้เข้ากันโดยการเขย่าหรือกลับหลอดไปมาประมาณ 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดเฉพาะส่วนใสแล้วตกตะกอน ดีเอ็นเอด้วย 95% Ethanol และละลายดีเอ็นเอด้วย 1xTE buffer, pH 8.0 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60°C. นาน 3 นาที ตรวจสอบความเข้มข้นและคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Biochrom, UK)

การตรวจสอบจีโนไทป์ของยีนเป้าหมายด้วยวิธี PCR-RFLP

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มชิ้นส่วนยีน *cGH* และตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) ซึ่งพัฒนามาจาก Lei *et al.* (2005) โดยเริ่มแรกจะทำปฏิกิริยา PCR จำนวน 25 ไมโครลิตร

ประกอบด้วย Genomic DNA มีความเข้มข้นเฉลี่ย 301.375 ± 14.049 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ (Forward และ Reverse) แสดงใน Table 1 ความเข้มข้น 2.5 μ M ปริมาตร 1 ไมโครลิตร 2xPCR master mix ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 25 ไมโครลิตร ด้วย Nuclease-free water โดยมีวงรอบการทำ PCR ดังนี้ เริ่มด้วย Initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C. นาน 5 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 30 รอบ ได้แก่ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C. นาน 40 วินาที Primer annealing 63°C. นาน 1 นาที Primer extension ที่อุณหภูมิ 72°C. นาน 1 นาที และ Final extension ที่อุณหภูมิ 72°C. นาน 5 นาที จากนั้นนำ PCR ที่ได้ไปตรวจสอบคุณภาพด้วย 1.5% Agarose gel แล้วย้อมด้วย Ethidium bromide และส่องภายใต้แสง UV จากนั้นนำผลผลิต PCR ที่ได้มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะของยีนในปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อปฏิกิริยา ประกอบด้วย 10x buffer ปริมาตร 2 ไมโครลิตร เอนไซม์ 5U *EcoRV* ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ผลผลิต PCR ปริมาตร 5 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรให้ครบ 20 ไมโครลิตร ด้วย Nuclease-free water จากนั้นนำหลอดปฏิกิริยาไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C. นานอย่างน้อย 1 ชั่วโมง เพื่อให้เอนไซม์ทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ และตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีนด้วย 0.80% Agarose gel บันทึกภาพแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV เพื่อนำไปวิเคราะห์ผลต่อไป

Table 1 Primers sequence

Primers	Sequence (5'-3')	Polymorphism	Restriction enzyme product size (bp)
cGH-F	TCCCAGGCTGCGTTTTGTTACTC	Chr.27 G>A + 1705	GG: 429
cGH-R	ACGGGGGTGAGCCAGGACTG	Intron3	AG: 429, 296, 133 AA: 296, 133

(Promwatee *et al.*, 2011)

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในไก่แดงสุราษฎร์

นำรูปแบบจีโนไทป์ที่ตรวจสอบได้มาทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในไก่แดงสุราษฎร์ด้วยพารามิเตอร์ต่าง ๆ ประกอบด้วย ค่าความถี่จีโนไทป์ (Genotype frequency) และความถี่อัลลีล (Allele frequency) โดยคำนวณได้จากสมการ

$$\text{ความถี่จีโนไทป์} = \frac{\text{จำนวนสัตว์ที่มีจีโนไทป์ที่กำหนด}}{\text{จำนวนสัตว์ทั้งหมด}}$$

$$\text{ความถี่อัลลีล} = D + (1/2) H$$

เมื่อ D = ความถี่จีโนไทป์แบบโฮโมไซโกต

H = ความถี่จีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซโกต

จากนั้นวิเคราะห์ค่าเฮเทอโรไซโกตที่ตรวจพบ (Observed Heterozygosity; H_o) และค่าเฮเทอโรไซโกตที่คาดหวัง (Expected Heterozygosity; H_e) เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยค่า H_o คำนวณได้จากสูตร

$$H_o = \frac{N_H}{N}$$

เมื่อ H_o คือ ค่าเฮเทอโรไซโกตที่ได้จากการสังเกต

N_H คือ จำนวนตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซโกต

N คือ จำนวนตัวอย่างข้อมูลทั้งหมด

ค่า H_e คำนวณได้จากสูตร

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

เมื่อ H_e คือ ค่าเฮเทอโรไซโกตที่คาดหวัง

P_i คือ ค่าความถี่อัลลีลใด ๆ ที่โลกันนั้น ๆ

n คือ จำนวนของอัลลีล

ทำการทดสอบสมมติฐานของฮาร์ดี-ไวนเบิร์ก (Hardy-Weinberg equilibrium) ด้วย Chi-square test ได้จากสูตร

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(O - E)^2}{E_i}$$

เมื่อ O_i คือ จำนวนตัวอย่างสังเกตที่ให้ข้อมูลพันธุกรรมแบบเฮเทอโรไซโกตที่โลกัน i

E คือ จำนวนตัวอย่างคาดหวังที่ให้ข้อมูลพันธุกรรมแบบเฮเทอโรไซโกตที่โลกัน i

n คือ จำนวนโลกันที่ศึกษา

และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 0.01

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบคุณภาพ

จากการสกัดดีเอ็นเอของเลือดไก่จำนวน 172 ตัวอย่าง พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้ มีความเข้มข้นเฉลี่ย 301.375 ± 14.049 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเมื่อตรวจสอบคุณภาพและขนาดของดีเอ็นเอ ด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis เปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอตัวอย่างกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb DNA ladder พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้ทั้ง 172 ตัวอย่าง มีขนาดมากกว่า 10 kb และสามารถมองเห็นแถบของดีเอ็นเอ (Band) ได้อย่างชัดเจน Figure 2 แสดงขนาดของดีเอ็นเอจากตัวอย่างหมายเลข 145, 146 และ 147 ซึ่งใช้เป็นตัวแทนแสดงขนาดของดีเอ็นเอตัวอย่างทั้งหมด แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้ครั้งนี้มีความเข้มข้นและคุณภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นแม่แบบ (Template) ในการทำ PCR ในขั้นตอนต่อไป

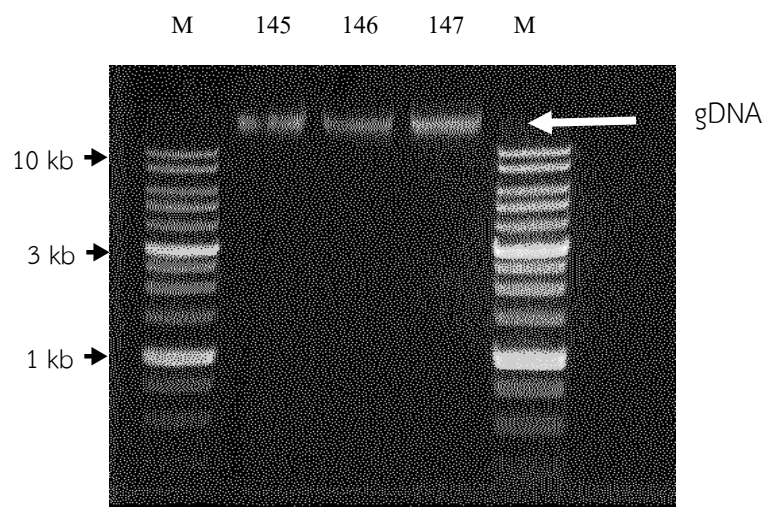


Figure 2 Electrophoretic analysis of genomic DNA; no. 145, 146 and 147 refers to DNA of chicken blood samples extracted; M: stands for 1 kb DNA ladder as standard

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบจีโนไทป์ของยีน เป้าหมายด้วยวิธี PCR-RFLP

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของชิ้นส่วนยีน *cGH* บนโครโมโซมคู่ที่ 27 ซึ่งมีตำแหน่งในการเกิด SNPs ของยีน *cGH* อยู่บริเวณการตัดจำเพาะด้วยเอนไซม์ *EcoRV* ด้วยวิธี PCR จากตัวอย่างไก่แดงสุราษฎร์ จำนวน 172 ตัวอย่าง พบว่ามีขนาด 429 คู่เบส (Figure 3) และตรวจสอบความหลากหลายของจีโนไทป์ของยีน *cGH* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยนำชิ้นส่วนยีน *cGH* ขนาด 429 คู่เบส ที่ได้จากการทำ PCR มาย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิด *EcoRV* สามารถพบรูปแบบจีโนไทป์ได้

3 รูปแบบ เช่นเดียวกับที่เคยมีรายงานมาแล้วโดย Promwatee *et al.* (2011) คือ จีโนไทป์ GG จะมีขนาดของดีเอ็นเอหลังจากการย่อยเพียง 1 แถบแบบ คือ ขนาด 429 คู่เบส จีโนไทป์ AA มีขนาดของดีเอ็นเอหลังจากการย่อย 2 แถบแบบ คือ ขนาด 296 และ 133 คู่เบส และ จีโนไทป์ AG จะมีขนาดของดีเอ็นเอหลังจากการย่อย 3 แถบแบบ คือ ขนาด 429, 296 และ 133 คู่เบส ตามลำดับ

ผลการศึกษาพบว่าจีโนไทป์ของยีน *cGH* ในประชากรไก่แดงสุราษฎร์ได้รูปแบบจีโนไทป์ AA จำนวน 4 ตัวอย่าง จีโนไทป์ AG จำนวน 36 ตัวอย่าง และจีโนไทป์ GG จำนวน 132 ตัวอย่าง (Figure 4)

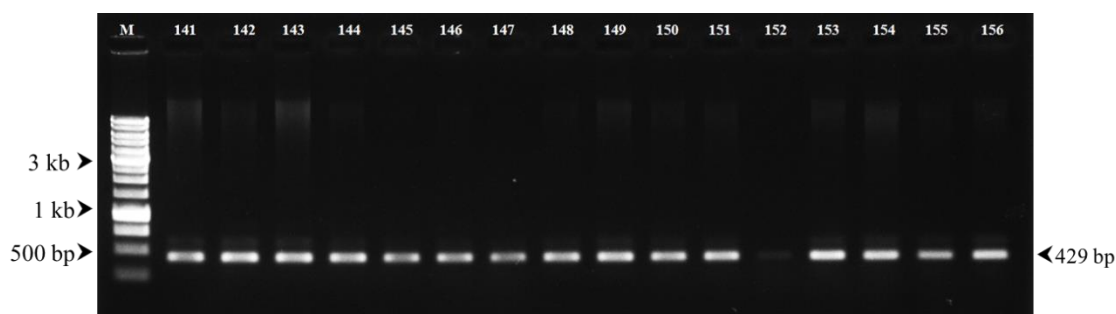


Figure 3 Electrophoretic analysis of PCR products; no. 141-156 refers to DNA samples of chicken blood samples extracted. M: 1 kb DNA ladder as standard

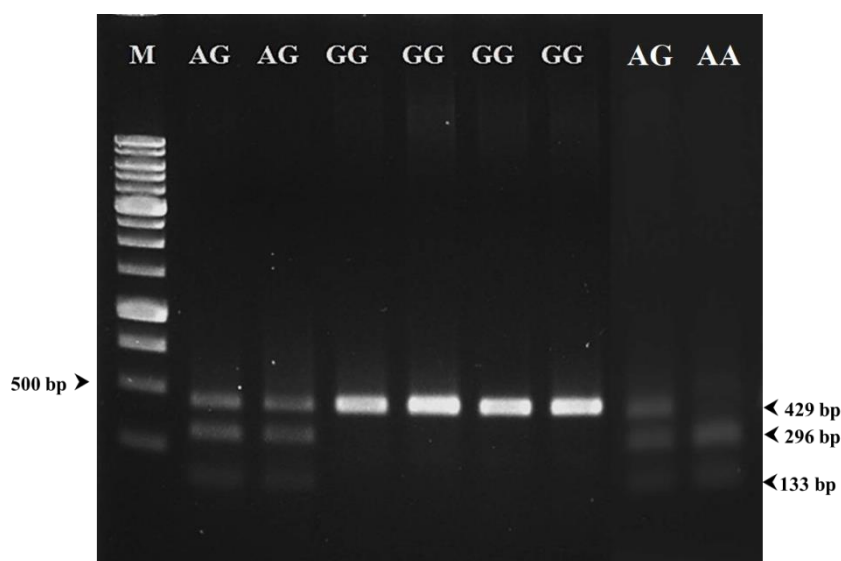


Figure 4 PCR-RFLP pattern of *cGH* gene in Dang Suratthani Thai native chicken and M stands for 1kb DNA ladder as standard

วิเคราะห์ข้อมูลพันธุศาสตร์ประชากร

รูปแบบจีโนไทป์และความถี่ยีน

จากการวิเคราะห์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน *cGH* ที่ SNPs ตำแหน่ง Chr.27 G>A +1705 Intron3 ในประชากรไก่แดงสุราษฎร์ ด้วยวิธี PCR-RFLP พบความหลากหลายของยีน *cGH* มีรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ AA, AG และ GG มีความถี่จีโนไทป์เท่ากับ 0.02, 0.21 และ 0.77 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ค่าความถี่อัลลีลของยีน *cGH* พบว่าอัลลีล G มีความถี่ 0.87 มากกว่าอัลลีล A ที่มีความถี่เพียง 0.13 (Table 2)

จากผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Promwatee *et al.* (2011) ที่ได้รายงานไว้ว่า ยีน *cGH* ที่พบในไก่พื้นเมืองพันธุ์ซี มีความหลากหลายของพันธุกรรม โดยพบว่ามีรูปแบบจีโนไทป์ 2 รูปแบบ คือ AG และ GG ไม่สามารถตรวจพบจีโนไทป์ AA โดยมีความถี่จีโนไทป์ 0.28 และ 0.72 ในจีโนไทป์ AG และ GG ตามลำดับ และตรวจพบความถี่อัลลีล A เท่ากับ 0.14 และความถี่อัลลีล G เท่ากับ 0.86 ในขณะที่ยีน *cGH* ที่พบในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ ตรวจพบรูปแบบจีโนไทป์ได้ 3 รูปแบบ คือ AA, AG และ GG โดยมีความถี่จีโนไทป์

0.02, 0.17 และ 0.81 ตามลำดับ และตรวจพบความถี่อัลลีล A เท่ากับ 0.10 และความถี่อัลลีล G เท่ากับ 0.90 ในขณะที่ Buasook *et al.* (2016) ได้รายงานความสัมพันธ์ของ Candidate gene กับลักษณะน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองพันธุ์ซี เคเคยู12 พบว่ายีน *cGH* ตรวจพบความถี่จีโนไทป์ GG สูงที่สุด (0.97) แต่ไม่พบจีโนไทป์ AA ส่วน Wichasit *et al.* (2017) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายทางพันธุกรรม *cGH* กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่และลักษณะคุณภาพไข่ในไก่ไรต์ไฮสแลนด์เรดและเลกฮอร์นขาว ผลการศึกษาไม่พบความหลากหลายของรูปแบบจีโนไทป์ในไก่ทั้งสองสายพันธุ์ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Anh *et al.* (2015) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *cGH* กับลักษณะการเจริญเติบโตและคุณภาพซากในไก่เนื้อลูกผสม 4 สายพันธุ์จำนวน 408 ตัว พบว่าสามารถตรวจพบรูปแบบจีโนไทป์ได้ 3 รูปแบบ คือ AA, AG และ GG โดยรูปแบบจีโนไทป์ AA ของไก่ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีค่าต่ำสุด (0.05, 0.16, 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ) และเมื่อพิจารณาถึงความถี่อัลลีลของยีน *cGH* ในไก่เนื้อลูกผสมทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่าอัลลีล G มีความถี่มากที่สุด ส่วนอัลลีล A ตรวจพบความถี่ได้น้อยมาก

จากการศึกษาความถี่อัลลีลของยีน *cGH* ในประชากรไก่แดงสุราษฎร์ พบว่ามีความแตกต่างกับไก่สายพันธุ์อื่น ๆ ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับอัลลีลพื้นฐานหรือเกิดจากการคัดเลือกที่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ที่เกิดขึ้นอย่างชัดเจน และอัลลีล G พบว่ามีความถี่มากที่สุด ดังนั้นจึงมีแนวโน้มว่าอัลลีล G จะส่งต่อลักษณะการเจริญเติบโต

ของไก่แดงสุราษฎร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อการพัฒนากล้ามเนื้อโครงร่างในรุ่นถัดไป การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์กับน้ำหนักหรือการเจริญเติบโตของไก่แดงสุราษฎร์ควรศึกษาต่อไปในอนาคต เพื่อเป็นการยืนยันการส่งต่อลักษณะการเจริญเติบโตดังกล่าว

Table 2 Genotype and allele frequency in *cGH* gene in Thai native chicken

n	Genotype frequency			Allele frequency		$(\chi^2_{(2,0.01)}=9.21)$	Heterozygosity	
	AA	AG	GG	A	G		H _o	H _e
172	4 (0.02)	36 (0.21)	132 (0.77)	44 (0.13)	300 (0.87)	248.65**	0.49	0.51

การทดสอบสมมติฐานความถี่ยีนตามกฎของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก และการวิเคราะห์ค่า H_e และ H_o

การทดสอบสมมติฐานความถี่ของยีน *cGH* ที่ SNPs ตำแหน่ง Chr.27 G>A + 1705 Intron3 ในไก่แดงสุราษฎร์ ตามกฎของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ด้วยการทดสอบ Chi-square ใช้เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีนหรือความถี่ของจีโนไทป์ในประชากรว่าเปลี่ยนแปลงหรือไม่ ผลการทดสอบสมมติฐานความถี่ของยีน *cGH* พบว่ากลุ่มประชากรที่นำมาศึกษามีพันธุกรรมไม่เป็นไปตามสมมติฐานของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($P>0.01$) และสอดคล้องกับผลของค่าเฮเทอโรซีตีที่คาดหวัง (Expected Heterozygosity; H_e) ที่มีค่าสูงกว่าค่าเฮเทอโรซีตีที่สังเกต (Observed Heterozygosity; H_o) แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำ ซึ่งชี้ให้เห็นว่ายีน *cGH* ของประชากรไก่แดงสุราษฎร์ อาจถูกกระทบด้วยปัจจัยที่มีผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงความถี่ยีนและความถี่จีโนไทป์ (Gene force) เช่น รูปแบบการเลี้ยงเนื่องจากเกษตรกรผู้เลี้ยงนิยมเลี้ยงไก่แดงสุราษฎร์แบบปล่อยหากินตามธรรมชาติ ทำให้เกิดการผสมพันธุ์กันเอง ทำให้เกิดการผสมพันธุ์แบบเลือดชิด (Inbreeding)

นอกจากนี้อาจเป็นผลมาจากกลุ่มประชากรที่มีขนาดเล็ก จึงส่งผลให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ อย่างไรก็ตาม ประชากรไก่แดงสุราษฎร์ยังคงความหลากหลายของรูปแบบอัลลีล ซึ่งจะเห็นได้ว่าในประชากรมีสัตว์ที่มีรูปแบบจีโนไทป์เป็นเฮเทอโรไซกัส คิดเป็น 20.90% เพียงพอที่จะนำมาจับคู่ผสมเพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากร (Brown, 1997) และนำไปใช้วางแผนการผสมพันธุ์ เพื่อส่งเสริมให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรไก่แดงสุราษฎร์ และนำไปใช้ในการปรับปรุงประสิทธิภาพของสายพันธุ์อย่างยั่งยืนต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *cGH* ในกลุ่มประชากรไก่แดงสุราษฎร์ พบรูปแบบอัลลีลของยีน *cGH* จำนวน 3 รูปแบบ โดยยีนนี้มีผลต่อความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ และไม่อยู่ในภาวะสมดุลตามกฎของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก องค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษานี้ควรนำมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในการบริหารจัดการ เพื่อส่งเสริมให้เกิดความ

หลากหลายทางชีวภาพในเชิงการพัฒนา การปรับปรุงสายพันธุ์ และการอนุรักษ์พันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในระดับท้องถิ่นอย่างยั่งยืนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี ขอขอบคุณเกษตรกรผู้เลี้ยงไก่แดงสุราษฎร์ ในจังหวัดสุราษฎร์ธานีทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือในการให้ข้อมูล และตัวอย่างเลือดไก่ที่ใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Anh, N.T.L., S. Kunhareang and M. Duangjinda. 2015. Association of chicken growth hormones and insulin-like growth factor gene polymorphisms with growth performance and carcass traits in Thai broilers. **Asian Australasian Journal Animal Science** 28(12): 1686-1695.
- Brown, J.L. 1997. A theory of mate choice based on heterozygosity. **Behavioral Ecology** 8(1): 60-65.
- Buasook, T., S. Kunhareang, K. Srinon and M. Duangjinda. 2016. Association of candidate gene with body weight in Thai Native Chicken-Chee Kku12. **Khon Kaen Agriculture Journal** 44(Suppl.2): 984-991. [in Thai]
- Emara, M.G. and H. Kim. 2003. Genetic markers and their application in poultry breeding. **Journal of Poultry Science** 82: 952-957.
- Lei, M.M., Q.H. Nie, X. Peng, D.X. Zhang and X.Q. Zhang. 2005. Single nucleotide polymorphisms of the chicken insulin-like factor binding protein 2 gene associated with chicken growth and carcass traits. **Journal of Poultry Science** 84: 1191-1198.
- Makhsous, S.G., S.Z. Mirhoseini, M.J. Zamiri and A. Niazi. 2013. Polymorphisms of growth hormone gene in a native chicken population: association with egg production. **Journal of Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy** 57: 73-77.
- Mala, J. 2018. A Study of Raising Conditions for Dang Suratthani Native Chicken in Phunphin District, Suratthani Province. pp. 13-14. **In Proceedings of The 14th SRU National and International Conference 2018 (Poster)**. Suratthani: Suratthani Rajabhat University. [in Thai]
- Morathop, S., S. Trimanee, Y. Srisan and P. Buathongchan. 2003. **Livestock Biodiversity**. 52 p. **In Research Report**. Bangkok: Animal Breeding Division, Department of Livestock Development, Ministry of Agriculture and Cooperatives. [in Thai]
- Phromnoi, S. and S. Phattanakunanan. 2017. Genetic diversity of native chicken in Uttaradit province for sustainable of utilization and conservation. **Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine** 12(2): 67-77. [in Thai]

- Preecha, N., R. Charoensok, T. Incharoen, S. Numthuam, N. Wichasit. and T. Pechrkong. 2017. Polymorphisms of *cGH*, *MC5R*, *IGFBP2* and *IGF-1* genes and their association with growth traits in White Leghorn and Rhode Island Red. **Khon Kaen Agriculture Journal** 45(Suppl.1): 783-789. [in Thai]
- Promwatee, N., M. Duangjinda, W. Boonkum. and B. Loapaiboom. 2011. Association of single nucleotide polymorphisms in *GHSR*, *IGFI*, *cGH*, and *IGFBP2* genes on growth traits in Thai native chickens (Chee and Pradu Hang Dam). **Khon Kaen Agriculture Journal** 39: 261-270. [in Thai]
- Songsang, A., K. Tunthikapong, R. Sompong and T. Jeendoung. 2015. **Comparison of production performance, carcass, meat quality and consumer acceptance on Dang Surattthani Thai native chicken and colon chicken raised in commercial production and the supplementation of rubber seed meat to replace soybean meal in diet formulas.** [Online]. Available <http://kb.tsu.ac.th/jspui/bitstream/123456789/3390/1/Aporn%20Songsang%2000202771.pdf> (May 12, 2020). [in Thai]
- Sopa, D. and O. Dejithirat. 2021. Improvement of Thai chicken production for improved living standards. **The Liberal Arts Journal, Mahidol University** 4(1): 118-144. [in Thai]
- Tanasawat, P. 2016. **Native Chicken Raising Guide.** 3rd ed. Bangkok: Kaset-Siam Press. 198 p. [in Thai]
- Tongsiri, S., G.M. Jeyaruban, S. Hermes, J. Werf, L. Li and T. Chormai. 2019. Genetic parameters and inbreeding effects for production traits of Thai native chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 32(7): 930-938.
- Wichasit, N., N. Preecha, T. Incharoen, S. Numthuam and R. Charoensok. 2017. Association of *cGH*, *IGF-I*, *IGFBP-II*, *GHSR* and *24BP-PRL* gene markers with egg production and egg quality traits in laying hens. **Journal of Agricultural Science** 48(Suppl.2): 317-327. [in Thai]