

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน HSP70 ในไก่พื้นเมืองไทย Genetic Diversity of HSP70 Gene in Thai Native Chicken

นิทัศน์ วิชาสิต¹, ศศิธร สุวัฒน์ากูร¹, ทศพร อินเจริญ^{1,2}, สนธยา นุ่มท้วม^{1,2}, และรังสรรค์ เจริญสุข^{1,2*}
Nithat Wichasit¹, Sasiton Suwattanakoon¹, Tossaporn Incharoen^{1,2}, Sonthaya Numthuum^{1,2}
and Rangsun Charoensook^{1,2*}

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของยีน *HSP70* ในไก่ 11 สายพันธุ์ (ไก่เหลืองหางขาว ไก่ประดู่หางดำ ไก่ชนป่าก้อย ไก่ชนพม่า ไก่ป่า ไก่ซี ไก่ดำ ไก่ไข่ ไก่เนื้อ ไก่โรตอร์แลนด์แดง และไก่เล็กฮอร์นขาว) ด้วยเทคนิค PCR-RFLP ซึ่งเครื่องหมายพันธุกรรม *HSP70* พบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ โดยจีโนไทป์ CC กว่าจีโนไทป์ CG และ GG เท่ากับ CC=0.70, GC=0.19 และ GG=11 ซึ่งคิดเป็นความถี่อัลลีลเท่ากับ C=0.789 และG=0.211 และจากการตรวจสอบ Hardy-Weinberg's equilibrium พบว่าไก่พื้นเมืองส่วนใหญ่อยู่ในสมดุลยีนไก่เหลืองหางขาว ไก่ชนพม่า และไก่ป่า สำหรับความหลากหลายยีน *HSP70* มีค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่คาดหวัง (expected heterozygosity; H_e) ในช่วง 0.064-0.473 สูงกว่าค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่สังเกต (observed heterozygosity; H_o) ในช่วง 0.067-0.367 จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเทคนิค Principle component analysis (PCoA) แสดงถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรไก่พื้นเมืองไทยในเขตภาคเหนือตอนล่างและไก่สายพันธุ์ทางการค้า

คำสำคัญ: ความหลากหลายทางพันธุกรรม, ไก่พื้นเมืองไทย, PCR-RFLP, *HSP70*

Abstract

The objective of this study was to investigate the genetic distribution and diversity of *HSP 70*, in 11 strains of Thai indigenous chicken (Lueng Hang Khao, Pradu Hang Dam, Pha Khoi fighting cock, Burmese fighting cock, Red junglefowl, Chee chicken, Black bone chicken, Commercial laying hens, Commercial broiler, Rhode Island Red, White Leghorn) genotyped by PCR-RFLP technique. The polymorphism of *HSP 70* had three genotypes (GG, GC and CC) frequency of allele C than G. The Hardy-Weinberg's equilibrium

¹สาขาวิชาสัตวศาสตร์ และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

¹Division of Animal Science and Feed Technology, Department of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000

²สถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมเกษตรและปศุสัตว์

²Center for Excellence for Agriculture and Livestock, Department of Agriculture Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000

*Corresponding author: rangsunc@nu.ac.th

(HWE) test found most Thai indigenous chicken population followed HWE except Lueng Hang Khao, Burmese fighting cock, Red junglefowl. The expected heterozygosity (expected heterozygosity; H_e) 0.064- 0.473 higher than the observed heterozygosity (observed heterozygosity; H_o) 0.067-0.367. Genetic relationship analysis by using principal component analysis (PCoA) showed the genetic relationship between native chicken population and commercial breed.

Keywords: Genetic diversity, Thai indigenous chicken, PCR-RFLP, *HSP70*

บทนำ

อิทธิพลของความร้อนจากสภาพอากาศในประเทศไทยทำให้เกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน (heat stress) ซึ่งส่งผลเสียต่อการผลิตสัตว์ปีก โดยความเครียดเนื่องจากความร้อนส่งผลทำให้เกิดการยับยั้งผลิตโปรเจสเทอโรนที่รังไข่ (Huang *et al.*, 2002) ทำให้จำนวนการผลิตไข่ คุณภาพของไข่ไก่ ปริมาณการกินได้ของไก่ลดลง และอัตราการสูญเสียเพิ่มขึ้น (Wang, 2014) อีกทั้งยังส่งผลต่อรายได้ของเกษตรกรอีกด้วย ซึ่งมีวิธีแก้ปัญหาหลายวิธี เช่น การเลี้ยงเป็นแบบ Evaporative cooling system (EVAP) เพื่อให้สามารถระบายความร้อนได้ดีและมีอุณหภูมิที่คงที่ นอกจากนี้ในด้านการจัดการอาหารและการให้อาหารหรือให้สารเสริมเพื่อลดกระบวนการสร้างความร้อนในขณะกิน ย่อยและดูดซึมอาหาร โดยไก่ยังคงได้รับโภชนาเพียงพอต่อความต้องการ (วุฒิไกร และคณะ, 2557) แต่วิธีเหล่านี้ยังไม่สามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าว สำหรับเกษตรกรรายย่อยเป็นเรื่องยากที่จะเลี้ยงในโรงเรือน EVAP ได้ เพราะมีค่าใช้จ่ายสูงไม่คุ้มค่าต่อการเลี้ยง ดังนั้นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถแก้ปัญหานี้ได้อย่างยั่งยืน คือมีการนำความรู้ด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลเข้ามาใช้ร่วมกับการประเมินการพันธุกรรม โดยตรวจหาตำแหน่งที่มีความสัมพันธ์กับยีนที่มีอิทธิพลต่อลักษณะต่าง ๆ เพื่อนำมาใช้คัดเลือกได้อย่างแม่นยำมากยิ่งขึ้น (ศุภมิตร และคณะ, 2553)

จากการศึกษาพบว่าภายใต้สภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อนเซลล์มีการสร้างโปรตีนกลุ่ม Heat shock proteins (HSPs) โดยเฉพาะ HSP70 มีบทบาทในการรักษาโครงสร้างของโปรตีนในเซลล์ ช่วยให้โปรตีนในเซลล์ที่เสียหายมาจับตัวให้กลับมาสู่สภาพปกติ ช่วยยับยั้งการตายของเซลล์ อีกทั้งยังช่วยขนย้ายโปรตีนที่เสื่อมสภาพหรือโปรตีนที่ไม่ต้องการออกนอกเซลล์ ซึ่ง HSP70 พบได้ในสิ่งมีชีวิตทั่วไป โปรตีนกลุ่มนี้ไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (Kregel, 2002) งานวิจัยของ Guerriero and Raynes (1990) พบการแสดงออกของกลุ่ม HSP70 หลังจากถูกกระตุ้นด้วยความร้อนเป็นเวลา 30 นาที ในขณะที่โปรตีนกลุ่มอื่นจะแสดงออกหลังจากถูกกระตุ้นเมื่อเวลาผ่านไป 60 นาที จากงานวิจัยของ วรพล และสุจินต์ (2545) พบว่าการเลี้ยงไก่เนื้อที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส จะทำให้ผลผลิตลดลง 20 - 30% เมื่อเทียบกับการเลี้ยงที่ 24 องศาเซลเซียส และยังทำให้อัตราการตายในไก่เพิ่มขึ้น และงานวิจัยของวุฒิไกร และคณะ (2557) พบว่าอิทธิพลของความเครียดเนื่องจากความร้อนกระทบต่อผลผลิตไข่

แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลความหลากหลายของเครื่องหมายทางพันธุกรรม HSP70 ในไก่สายพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศไทยที่มีอยู่น้อยมาก จึงจำเป็นที่จะต้องทราบถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีจีโนมที่แตกต่างกันที่มีต่อยีน *HSP70* ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาสายพันธุ์ไก่ที่มีความสามารถที่ทนต่อความร้อนในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยที่มีอากาศร้อน จึงเป็น

ที่มาของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *HSP70* ในไก่เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมประชากรไก่ที่เลี้ยงอยู่ภายในเขตของภาคเหนือตอนล่าง

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

การดำเนินการต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์ทดลองในงานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและการใช้สัตว์ เลขที่เอกสารรับรอง NU-AG590505

การทดลองทำโดยการเก็บตัวอย่างเลือดจากการออกพื้นที่เก็บข้อมูลประชากรไก่พื้นเมืองที่อยู่ในเขตภาคเหนือตอนล่าง โดยมีการใช้ไก่ 7 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ทางการค้าเพื่อเปรียบเทียบ 4 สายพันธุ์สายพันธุ์ละ 30 ตัวอย่าง ทั้งหมด 330 ตัวอย่าง ดังนี้ ไก่เหลืองหางขาว (Luen Hang Khao; LHK) ไก่ประดู่หางดำ (Pradu Hang Dam ;PHD) ไก่ชนพม่า (Burmese fighting cock; BMC) ไก่ชนปากก้อย (Pha Khoi fighting cock; PKC) ไก่ซี (Chee chicken; CHE) ไก่ป่า (Red junglefowl; RJF) ไก่ดำ (Black bone chicken; BBC) ไก่เนื้อ (Commercial broiler; CBL) ไก่ไข่ (Commercial laying hens; CLY) ไก่โรดไอแลนด์แดง (Rhode Island Red; RIR) และไก่เล็กฮอร์นขาว (White Leghorn; WLH)

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดไก่บริเวณเส้นเลือดดำใต้ปีก (wing vein) ตัวละ 1 - 3 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตร ที่มี 0.5 M Ethylene-diamine-tetraacetic acid (EDTA) จากนั้นนำมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือที่มีความเข้มข้นสูงตามวิธีของ Charoensook *et al.* (2016) ตรวจสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Colibri Microvolume Spectrometer (Nanodrop®) ทำการเจือจางสารละลายดีเอ็นเอให้ได้ความเข้มข้นอยู่ที่ 50 นาโนกรัม

การตรวจสอบหาจุดกลายพันธุ์ของยีน *HSP70*

สืบค้นข้อมูลยีนที่สัมพันธ์กับความเครียดเนื่องจากความร้อนจากฐานข้อมูล GenBank โดยเลือกยีน *HSP70* (Accession no. AY143693.1) เป็นยีนเป้าหมาย และทำการออกแบบไพรเมอร์จากข้อมูลสายลำดับดีเอ็นเอ จากนั้นทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ นำข้อมูลสายลำดับดีเอ็นเอของไก่ที่ได้ มาทำการเปรียบเทียบด้วยวิธี multiple sequence alignment ด้วยโปรแกรม ClustalW เพื่อหาจุดกลายพันธุ์และพัฒนาเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมอย่างง่าย

การตรวจสอบจีโนไทป์ของยีนด้วยเทคนิค PCR-RFLP

ทำการตรวจสอบความหลากหลายของยีน *HSP70* ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) โดยใช้ไพรเมอร์ F : 5'-AAC CGC ACC ACA CCC AGC TATG-3'; R : 3'-CGC TTA CTT CAA CGA CTC CCAG-5' และเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EaeI* (NEB®, New England, USA) อ้างอิงจาก Duangduen *et al.* (2008) และ ศุภมิตร และคณะ (2553) โดยมีลำดับเบสในการตัด คือ Y/GGCCR ซึ่ง R = A or G, Y = C or T มีขั้นตอนในการทำ PCR product โดยขั้นตอนแรกใช้ Tag mix จำนวน 4 ไมโครลิตร เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยการใส่ Primer-F จำนวน 0.5 ไมโครลิตร Primer-R จำนวน 0.5 ไมโครลิตร ddH₂O จำนวน 13 ไมโครลิตร และ DNA (50 นาโนกรัม) จำนวน 5 ไมโครลิตร รวมแล้วจะมีปริมาตร 20 ไมโครลิตร จะสามารถตรวจการปนเปื้อนได้

โดยการไม่ใส่ DNA (50 นาโนกรัม) ซึ่งจะใช้เป็นตัว control จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง PCR Machine โดยมี PCR Cycle ดังนี้ ระยะ Initial Denature ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 นาที ระยะ Denature ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที ระยะ Annealing ที่อุณหภูมิ 64.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที ระยะ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที ระยะ Final Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และ ระยะ Cooling ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ต่อ 1 รอบโดยจะทำทั้งหมด 30 รอบด้วยกัน จากนั้นทำการตรวจสอบ PCR product ที่ได้ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส (Gel electrophoresis)

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *HSP70*

นำผลของจีโนไทป์ทั้งหมดที่ได้มาวิเคราะห์ศึกษาโครงสร้างทางพันธุศาสตร์ประชากร ได้แก่ ค่าความถี่จีโนไทป์ (genotype frequency) และความถี่อัลลีล (allele frequency) จากสมการ: ความถี่จีโนไทป์ = จำนวนสัตว์ที่มีจีโนไทป์ที่กำหนด / จำนวนสัตว์ทั้งหมด, ความถี่อัลลีล = $D + (1/2)H$, เมื่อ D = ความถี่จีโนไทป์แบบโฮโมไซโกต, H = ความถี่จีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซโกต จากนั้นวิเคราะห์ค่าเฮเทอโรไซโกตที่คาดหวัง (expected Heterozygosity; H_E) และค่าเฮเทอโรไซโกตที่ตรวจพบ (observed Heterozygosity; H_O) เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม และค่าสมมูลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ทดสอบด้วย Chi-square test (Falconer and Mackey, 1996) ด้วยโปรแกรม GENALEX Version 6.0 (Peakall and Smouse, 2006)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ยีน Heat-shock proteins 70 (*HSP70*) มีบทบาทที่สำคัญในการรักษาสภาพโครงสร้างโปรตีน ซึ่งสามารถเพิ่มความต้านทานความเครียดจากความร้อนของสิ่งมีชีวิตได้ Zhang *et al.* (2002) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของจุดกลายพันธุ์ในยีน *HSP70* สามารถช่วยในการคัดเลือกไก่พื้นเมืองไทยที่มีลักษณะการทนต่อความร้อนได้ (Duangduen *et al.* 2008; ศุภมิตร และคณะ 2553; Duangjinda *et al.* 2017; Phongkaew and Khumpeerawat, 2017) ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของเครื่องหมายทางพันธุกรรม *HSP70* ในไก่ทั้งหมด 11 สายพันธุ์ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างไก่พื้นเมือง 7 สายพันธุ์ที่อยู่ในเขตภาคเหนือตอนล่าง และไก่สายพันธุ์ทางการค้า 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ไก่ LHK, PHD, BMC, PKC, CHE, RJF, BBC, และ CBL, CLY RIR, WLH

การศึกษารูปแบบความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากการศึกษาเปรียบเทียบลำดับดีเอ็นเอของยีน *HSP70* ในไก่พื้นเมืองไทยและไก่สายพันธุ์ทางการค้าพบจุดกลายพันธุ์ (SNPs) ที่ตำแหน่ง g167C>G โดยอ้างอิงตาม Gallus gallus *HSP70* gene Accession no. AY143693.1 ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *EaeI* และพัฒนาเป็นเครื่องหมายพันธุกรรม PCR-RFLP โดยใช้ร่วมกับไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบที่มีขนาดเท่ากับ 360 bp สอดคล้องกับการศึกษาของ Mazzi *et al.* (2003) จากการศึกษาพบรูปแบบอัลลีล 2 แบบคือ C และ G ซึ่งต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มีอัลลีลแบบ C1 และ C2 (ศุภานนท์ และคณะ, 2553; Duangjinda *et al.* 2017; Phongkaew and Khumpeerawat, 2017) โดยรูปแบบจีโนไทป์และขนาดของชิ้นส่วนยีน PCR product (Figure 1)

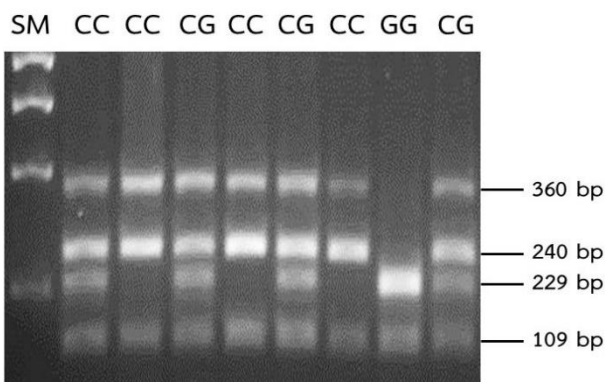


Figure 1 Alleles distribution of hsp70 gene from PCR-RFLP cut by *EaeI* in 2% agarose gel. SM is 100 bp ladder standard DNA marker

ความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองในภาคเหนือตอนล่าง

จากการศึกษาความหลากหลายของเครื่องหมายพันธุกรรม *HSP70* ตรวจพบ polymorphism ในไก่ทั้ง 11 สายพันธุ์แสดงใน Table 1 ในไก่พื้นเมืองไทยพบว่าความถี่ของอัลลีล C สูงกว่า อัลลีล G ซึ่งมีค่า 0.783 และ 0.216 ตามลำดับ จากการศึกษาความถี่ของจีโนไทป์ พบทั้งหมด 3 จีโนไทป์คือ GG, GC และ CC Table 1 ในไก่พื้นเมืองไทยพบจีโนไทป์ CC สูงกว่า GC และ GG อยู่ที่ 0.70, 0.19 และ 0.12 ตามลำดับ ไกล่เคียงกับการศึกษาของ Duangduen *et al.* (2008); ศุภมิตร และคณะ (2553); Duangjinda *et al.* (2017) และ Phongkaew and Khumpeerawat, (2017) ซึ่งให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองไทยที่อยู่ในเขตภาคเหนือตอนล่างมีความหลากหลายของจีโนไทป์อยู่สูง สามารถใช้เป็นสายพันธุ์เพื่อปรับปรุงพันธุ์ไก่ที่มีความสามารถในการทนร้อนได้ Mazzi *et al.* (2003) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Tamzil *et al.* (2013) ความหลากหลายของเครื่องหมายพันธุกรรม *HSP70* ที่แสดงในไก่พื้นเมืองมีความสามารถในการทนร้อนเมื่อเปรียบเทียบกับไก่สายพันธุ์ทางการค้า ในการศึกษาพบว่าพื้นเมืองไทยที่อยู่ในเขตภาคเหนือตอนล่างมีความหลากหลายของจีโนไทป์ที่สูงกว่าสายพันธุ์ทางการค้า Table 1 สอดคล้องกับการศึกษาของ Duangjinda *et al.* (2017) ที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ *HSP70* กับความสามารถทนร้อนในไก่พื้นเมืองไทยและไก่สายพันธุ์ทางการค้า จากการทดสอบสมมติฐานของความถี่ยีน *HSP70* ตามของกฎ Hardy-Weinberg ด้วย Chi-square test (χ^2) พบว่ากลุ่มประชากรที่นำมาศึกษาอยู่ในสภาวะสมดุลมีค่า H_E ในช่วง 0.064-0.473 สูงกว่าค่า H_0 ในช่วง 0.067-0.367 ยกเว้นในกลุ่มประชากรไก่ BMC, RJF และ LHK อาจจะเป็นเพราะถูกคัดเลือกโดยมนุษย์ เพื่อเลี้ยงเป็นเกมสกีฬาและเพื่อความสวยงามทำให้ไม่ได้รับการผสมพันธุ์แบบสุ่ม (inbreeding) (Wolc *et al.*, 2015)

จากการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยพิจารณาจากจุดกลายพันธุ์ของยีน *HSP70* ระหว่างไก่พื้นเมืองภาคเหนือตอนล่างและไก่สายพันธุ์ทางการค้า Figure 2 พบว่ามี 2 กลุ่มที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน คือไก่ BMC, LHK และ RIR มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน ส่วนไก่ BMC และ CBL มีพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน

Table 1 Genotypic frequencies, allelic frequencies and Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) test of *HSP70* gene observed for each breed

Pop	Genotype frequency			Allele frequency		χ^2	Heterozygosity	
	GG	GC	CC	G	C		H_o	H_E
BBC	0.10 (3)	0.33 (7)	0.67 (20)	0.217	0.783	2.932	0.233	0.339
PKC	0.03 (1)	0.10 (3)	0.87 (26)	0.083	0.917	3.580	0.100	0.153
BMC	0.03 (1)	-	0.97 (29)	0.033	0.967	30.000	0.000	0.064
CHE	0.23 (7)	0.33 (10)	0.43 (13)	0.400	0.600	2.801	0.333	0.480
RJF	0.23 (3)	0.10 (7)	0.67 (20)	0.333	0.667	21.675	0.067	0.444
LHK	0.10 (3)	0.17 (5)	0.73 (22)	0.183	0.817	5.898	0.167	0.299
PHD	0.10 (3)	0.33 (10)	0.57 (17)	0.267	0.733	0.655	0.333	0.391
Pooled	0.12 (21)	0.19 (42)	0.70 (147)	0.216	0.783	ND	ND	ND
CLY	0.43 (13)	0.37 (11)	0.20 (6)	0.617	0.383	1.511	0.367	0.473
CBL	-	0.07 (2)	0.93 (28)	0.033	0.967	0.036	0.067	0.064
RIR	-	0.30 (9)	0.70 (21)	0.150	0.85	0.934	0.300	0.255
WLH	-	-	1.00 (30)	-	1.00	-	0.000	0.000
Total	0.11 (54)	0.19(64)	0.70(232)	0.211	0.789	ND	ND	ND

Note: Pop = Population, χ^2 = (Chi-square) with 1 degree of freedom, BBC = Black bone chicken, PCK = Pha Khoi, BMC = Burmese fighting cock, CHE = Chee chicken, RJF = Red jungle fowl, LHK = Lueng Hang Khao, PHD = Pradu Hang Dam, CLY = Commercial laying hens, CBL = Commercial broiler, RIR = Rhode Island Red, WLH = White Leghorn, ND = no data

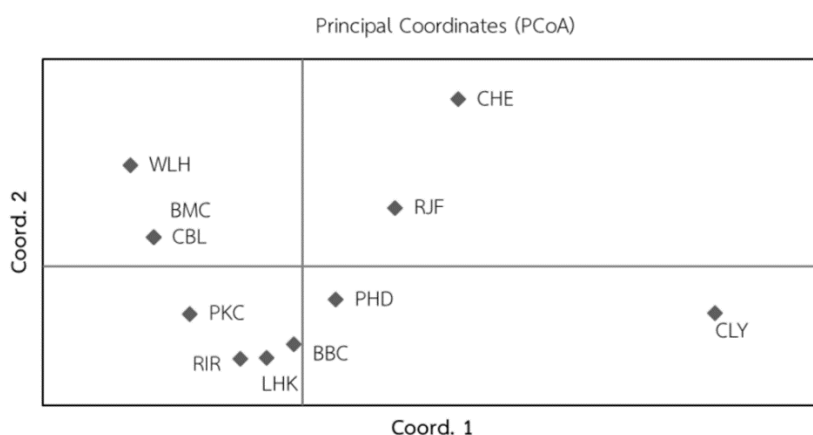


Figure 2 Principal component analysis (PCoA) in chicken population, BBC = Black bone chicken, PCK = Pha Khoi fighting cock, BMC = Burmese fighting cock, CHE = Chee chicken, RJF = Red junglefowl, LHK = Lueng Hang Khao, PHD = Pradu Hang Dam, CLY = Commercial laying hens, CBL = Commercial broiler, RIR = Rhode Island Red, WLH = White Leghorn

สรุป

ความหลากหลายของเครื่องหมายพันธุกรรม *HSP70* ของไก่พื้นเมืองไทยในเขตภาคเหนือตอนล่างส่วนใหญ่อยู่ในสมตูลสามารถใช้เป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการทนร้อนได้ ยกเว้นไก่พม่า ไก่ป่า และไก่เหลืองหางขาว การศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญต่อการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ไก่ให้มีความสามารถทนสภาพร้อนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากวงเงินสนับสนุนการพัฒนาวិชาการ และการวิจัยของคณาจารย์ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวรปีงบประมาณ 2560 (Research Personal Account; RPA 2560)

เอกสารอ้างอิง

- วรพล เองวานิช, และสุจินต์ สิมารักษ์. (2545). ภาวะเครียดเนื่องจากความร้อนในไก่. *วารสารสงขลานครินทร์*, 24(1), 159-167.
- วุฒิไกร บุญคุ้ม, มนต์ชัย ดวงจินดา, บัญญัติ เหล่าไพบุลย์, และเทวินทร์ วงษ์พระลับ. (2557). อิทธิพลของความเครียดเนื่องจากความร้อนต่อค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม และผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ. *แก่นเกษตร*, 42(3), 391-328.
- ศุภนนท์ ตูนีม, มนต์ชัย ดวงจินดา, และสุกร กตเวทิน. (2553). การศึกษาความหลากหลายของยีน *HSP70* ในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์ต่าง ๆ. *แก่นเกษตร*, 38 (ฉบับพิเศษ), 71-75.
- Charoensook, R., N. Wichasit, T. Pechkong, T. Incharoen, and S. Numthuam. (2016). *STAT5B* Gene polymorphisms are associated with egg production and egg quality traits in Laying Hens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(12), 847-853.
- Duangduen, C., M. Duangjinda, S. Katavatin, and W. Aeagwanich. (2008). Effect of hsp70 genotypes on thermotolerance in Thai native chicken and broilers. *Proceedings of the 4th Symposium on Thermotolerance in Domestic Animals* (pp. 241-245). Khon Kaen.
- Duangjinda, M., S. Tunim, C. Duangdaen, and W. Boonkum. (2017). *HSP70* Genotypes and heat tolerance of commercial and native chickens reared in hot and humid Conditions. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19(1), 7-18.
- Falconer, D.S., and T.F.C. Mackay. (1996). *Introduction to quantitative genetics* (4th Ed). Benjamin Cummings, London, UK.
- Guerrierojr, V., and D. A. Raynes. (1990). Synthesis of heat stress protein in Lymphocytes from livestock. *Journal of Animal Science*, 68, 2779- 2783.
- Hightower, L. E. (1991). Heat shock, stress proteins, chaperones and proteotoxicity. *Cell*, 66, 191-197.

- Huang, S.Y., Y.H. Kuo, Y.P. Lee, H.L. Tsou, E.C. Lin, C.C. Ju, and W.C. Lee. (2000). Association of heat shock protein 70 with semen quality in boars. *Animal Reproduction Science*, 63, 231-240.
- Kregel, K.C., (2002). Heat shock proteins modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *Journal of Apply Physiology*, 92, 2177-2186.
- Mazzi, C.M., J.A. Ferro, M.I.T. Ferro, V.J.M. Savino, A.A.D. Coelho, and M. Macari. (2003). polymorphism analysis of the hsp70stress gene in broiler chickens (*Gallus gallus*) of different breeds. *Genetic Molecular Biology*, 26, 275-281.
- Peakall, R., and P.E. Smouse. (2012). GenAEx 6.5: Genetic analysis in excel: Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Phongkaew, P., and P. Khumpeerawat. (2017). Heat shock protein 70 gene polymorphism in KU-Phuphan black-bone chicken. *Genomics and Genetics*, 10, 1-6.
- Tamzil, MH., R.R. Noor, P. S. Hardjosworo, W. Manalu and C. Sumantri. (2013). Acute heat stress responses of three lines of chickens with different heat shock protein (HSP)-70 genotypes. *International Journal of Poultry Science*, 12, 264-272.
- SPSS. (2010). *Statistical Package for Social Sciences*. SPSS Inc., Chicago, IL., USA.
- Wang, X., M. Chen, J. Zhou and X. Zhang. (2014). HSP27, 70 and 90 anti-apoptotic proteins in clinical cancer therapy (Review). *Int J Oncol*, 45, 18-30.
- Wolc, A., H. H. Zhao, J. Arango, P. Settar, J. E. Fulton, N. P. O'Sullivan, R. Preisinger, C. Stricker, D. Habier, and R. L. Fernando. (2015). *Response and inbreeding from a genomic selection experiment in layer chickens*. *Genetics Selection Evolution* 47, 59, <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0133-5>.
- Zhang, X., H. Du and J. Li. (2002). *Single nucleotide polymorphism of chicken heat shock protein 70 gene*. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France.