

ความสัมพันธ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่กับความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนในไก่ไวท์ เลกฮอร์นและโรดไอแลนด์เรดภายใต้สภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้นของประเทศไทย

Association of egg production traits with gene polymorphisms in White Leghorn and Rhode Island Red layers under tropical environment of Thailand

นิทัศน์ วิชาสิต¹, ทศพร อินเจริญ¹, วันดี ทาตระกุล¹, สอนยา นุ่มท้วม¹, เบญจพร ภูสะเทียน^{1,2}, ภัทรธีรา อุนาภา^{1,2}, จิตติมา เพ็ชรคง¹, และ รังสรรค์ เจริญสุข^{1*}

Nithat Wichasit¹, Tossaporn Incharoen¹, Wandee Tartrakoon¹, Sonthaya Numthum¹, Benjaphorn Phusathian^{1,2}, Patteera Ounapak^{1,2}, Thitima Pechrkong¹ and Rangsun Charoensook^{1*}

¹ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

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

² ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมอาหารสัตว์ บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) กรุงเทพมหานคร 10500

² Feed research and innovation center, Charoen Pokphand Foods Public Company Limited (CPF), Bangkok 10500

บทคัดย่อ: การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน กับลักษณะประสิทธิภาพการให้ผลผลิตไข่ และลักษณะคุณภาพไข่ ในไก่พันธุ์ไวท์เลกฮอร์น (WLH) และโรดไอแลนด์เรด (RIR) ด้วยเทคนิค PCR-RFLP จากการศึกษาพบว่าเครื่องหมายพันธุกรรม *VIPR-1*, *MC5R*, *IGFBP-II* และ 24BP-PRL สัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลักษณะที่ศึกษา โดยเครื่องหมาย *VIP1R* และ *MC5R* พบว่ามีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่ 31 สัปดาห์ ($P<0.01$) เครื่องหมาย *MC5R* มีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวัน ($P<0.01$) เครื่องหมาย *IGFBP-II* มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่อายุ 31 สัปดาห์ อัตราการกินได้ สัดส่วนการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ ($P<0.001$) น้ำหนักไข่ ($P<0.01$) น้ำหนักไข่ขาว ความสูงของรูปทรงไข่ ความกว้างของรูปทรงไข่ และอัตราการให้ไข่ ($P<0.05$) ในขณะที่เครื่องหมาย 24BP-PRL พบว่ามีความสัมพันธ์กับทุกลักษณะ ($P<0.01$) ยกเว้นลักษณะรูปทรงไข่ ความแข็งเปลือกไข่ ความสูงไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง และค่า Haugh unit ($P>0.05$) ซึ่งการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายพันธุกรรม *IGFBP-II* และ 24BP-PRL สามารถใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมประกอบการคัดเลือกลักษณะประสิทธิภาพการผลิตไข่ และลักษณะคุณภาพไข่ ในไก่ที่เลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้นของประเทศไทย

คำสำคัญ: ไก่ไข่; ความหลากหลายทางพันธุกรรม; ลักษณะประสิทธิภาพการผลิตไข่; ลักษณะคุณภาพไข่; สภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้น

ABSTRACT: The objective of this study was to investigate the association of gene polymorphisms with egg production and quality traits of White Leghorn (WLH) and Rhode Island Red (RIR) chickens by using the PCR-RFLP technique. The study found that *VIPR-1*, *MC5R*, *IGFBP-II*, and 24BP-PRL gene markers were significantly associated with the investigated traits. The *VIP1R* gene marker had an association with the body weight at 31 days ($P<0.01$). The *MC5R* gene marker had

* Corresponding author: rangsunc@nu.ac.th

an association with the body weight at 31 days and daily feed intake ($P<0.01$). The *IGFBP-II* gene marker was associated with the body weight at the age of 31 weeks, feed intake, feed per egg ratio, eggshell weight, eggshell thickness ($P<0.001$), egg weight ($P<0.01$), albumen weight, the height of egg shapes ($P<0.05$), the width of egg shapes and rate of lay egg ($P<0.05$), respectively. The *24BP-PRL* marker was significantly associated with all traits ($P<0.01$), excepted the shape index, shell strength, albumen height, yolk weight, and Haugh unit ($P>0.05$). This present study indicated that *IGFBP-II* and *24BP-PRL* gene markers could be used as the gene markers in selection programs of egg production and quality traits in laying hens under Thailand's tropical environment.

Keywords: laying hen; genetic marker; egg production traits; egg quality traits; tropical environment

บทนำ

พันธุ์ไก่ไข่ที่นิยมเลี้ยงในประเทศไทยส่วนมากเป็นพันธุ์ที่นำมาจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้มีการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์มาเป็นอย่างดีแล้ว เช่น ไข่ฟองใหญ่ และระยะเวลาให้ไข่ยาวนาน พันธุ์ไก่ไข่ที่เป็นพันธุ์หลักและเป็นพันธุ์ที่นิยมในปัจจุบันได้แก่ ไก่พันธุ์ไวท์เลกฮอร์นและไก่พันธุ์โรดไอโรแลนด์เรด อย่างไรก็ตามการนำเข้าจากต่างประเทศนั้นจะทำให้ไม่มีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของไทยได้ไม่เต็มที่ จึงต้องมีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ไก่ที่มีความต้านทานเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ซึ่งในอนาคตจะสามารถนำไก่ทั้งสองพันธุ์นี้มาผสมข้ามสายพันธุ์เพื่อสร้างไก่ไข่พื้นเมืองลูกผสม เพื่อให้ได้ไก่ไข่ที่มีคุณลักษณะที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมร่วมกับการให้ผลผลิตไข่ที่ดี ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตไข่ของไก่ทั้งสองพันธุ์ ซึ่งลักษณะบางประการนั้นเราไม่สามารถจำแนกได้ด้วยตาเปล่า เช่น อัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักตัวที่อายุต่างๆ ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ ประกอบกับสิ่งแวดล้อมมีอิทธิพลต่อลักษณะดังกล่าวสูง (หนึ่งฤทัย และคณะ, 2557) ดังนั้นจึงมีการนำความรู้ด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลเข้ามามีส่วนร่วมในการประเมินพันธุกรรม โดยตรวจหาตำแหน่งที่มีความผันแปรของยีนที่มีอิทธิพลต่อลักษณะต่างๆ เพื่อนำมาใช้ในการคัดเลือกได้อย่างแม่นยำมากยิ่งขึ้น

การใช้ความรู้ทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล และเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามามีบทบาทสำคัญในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตมากขึ้น และสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมเพื่อใช้สำหรับการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ได้ ซึ่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมนี้เป็นเครื่องหมายหรือตัวชี้วัดที่สามารถระบุความแตกต่างลักษณะปรากฏ (Phenotype) และลักษณะทางพันธุกรรม (Genetics) ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งต้องสามารถถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมไปสู่รุ่นลูกได้ (ศุภมิตร, 2555) อย่างไรก็ตามลักษณะบางลักษณะ พบว่ายีนที่ไม่ได้มีหน้าที่ในการควบคุมลักษณะนั้นๆ โดยตรงแต่มีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะที่สนใจ เรียกว่า Candidate gene ในทางการศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมจึงเรียกว่า Candidate marker หรือ Gene marker เป็นการค้นหาเครื่องหมายทางพันธุกรรมจากกลุ่มยีนที่มีข้อมูลในเชิงชีววิทยา (Biology) และชีวเคมี (Physiology) (ศุภมิตร, 2555) ซึ่งจะมีความเกี่ยวข้องกับลักษณะที่เราสนใจ โดยยีนที่ศึกษาจะมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม จึงจัดได้ว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากในปัจจุบัน และมีการศึกษาเกี่ยวกับ Candidate gene ที่สัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตไข่ เช่น ยีน Chicken growth hormone (*cGH*), Insulin-like growth factor I (*IGFI*), Insulin-like growth factor-binding protein 2 (*IGFBP-II*), Growth hormone secretagogue receptor (*GHSR*) (หนึ่งฤทัย และคณะ, 2554; Li et al., (2006) ลักษณะการให้ผลผลิตไข่ เช่น ยีน Melanocortin 5 Receptor (*MC5R*), Vasoactive Intestinal Peptide Receptor 1 (*VIP-1R*), Thyroid hormone responsive spot 14 alpha (*SPOT14 α*), 24bp- Prolactin receptor (*24bp-PRL*), Dopamine Receptor D1 (*DRD1*) (Mekchay, 2007; Zhou et al., 2008; Cao et al., 2007, Cui et al., 2006, Tempfli et al., 2015) และยีนที่มีลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการทนร้อน Heat shock Protein 70 (*HSP-70*) (Mazzi et al., 2003)

อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้นั้นยังอยู่อย่างจำกัดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในไก่พันธุ์ไวท์เลกฮอร์นและไก่พันธุ์โรดไอโรแลนด์เรดที่ได้เปลี่ยนสภาพแวดล้อมมาเลี้ยงในสภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของความหลากหลายของยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการให้ผลผลิตไข่และลักษณะคุณภาพไข่ในไก่สายพันธุ์ไวท์เลกฮอร์นและไก่สายพันธุ์โรดไอโรแลนด์เรดที่เลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้นของประเทศไทย

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

การดำเนินการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์ทดลองในงานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เกษตรเพื่องานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่เอกสารรับรอง NU-AG600611

การศึกษาในครั้งนี้ดำเนินการทดลองที่ฟาร์มวิจัยและฝึกทักษะทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก โดยใช้ไก่พันธุ์โรดไอแลนด์เรดเพศเมีย จำนวน 40 ตัว และไก่พันธุ์ไวท์เลกฮอร์นเพศเมีย จำนวน 40 ตัว จัดอาหารให้กินตามเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวโดยเฉลี่ย และมีน้ำให้กินตลอดเวลา ทำการให้อาหารไก่ 2 ครั้ง คือ เวลา 8.00 น. และเวลา 16.00 น. ไก่ทุกหน่วยการทดลองจะถูกนำมาเลี้ยงในโรงเรือนแบบเปิด (open housing) แสงสว่างตามธรรมชาติ เลี้ยงบนกรงตัวยกกรายตัว ก่อนเก็บข้อมูลเป็นเวลา 2 สัปดาห์เพื่อเป็นการปรับสภาพ เมื่อไก่อายุได้ 31 สัปดาห์ ทำการเก็บไข่และบันทึกผลจากอาหารที่กินปริมาณไข่ และน้ำหนักไข่ต่อวัน เวลา 7.30 น. โดยทำการเก็บข้อมูลนาน 12 สัปดาห์

การเก็บตัวอย่างเลือดและสีกัดดีเอ็นเอ

การทดลองทำเก็บตัวอย่างเลือดไก่บริเวณเส้นเลือดดำใต้ปีก (wing vein) ของไก่ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดย เก็บตัวอย่างเลือดประมาณตัวละ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตร ที่มี 0.5 M Ethylene-diamine-tetra acetic acid (EDTA) จำนวน 500 ไมโครลิตร เคลือบอยู่ที่ผิว (Zhejiang kangshi medical devices co. ltd) และนำมาแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสทันทีเพื่อรักษาสภาพ จากนั้นนำมาล้างปั่นเซลล์ด้วยสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4 และสีกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือที่มีความเข้มข้นสูง (salting out) โดยดัดแปลงจากวิธีการสีกัดของ รังสรรค์ เจริญสุข (2549) ตรวจสอบความเข้มข้นของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Colibri Microvolume Spectrometer (Nanodrop®) ทำการเจือจางสารละลายดีเอ็นเอให้ได้ความเข้มข้นอยู่ที่ 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เพื่อเตรียมใช้ในการทำพีซีอาร์ต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูลสมรรถภาพการให้ผลผลิตไข่และลักษณะคุณภาพไข่

วิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ดังต่อไปนี้ เปอร์เซ็นต์การให้ผลผลิตไข่ (hen house production) น้ำหนักไข่เฉลี่ย (average egg weight) มวลไข่ (Egg mass) ปริมาณการกินได้ต่อวัน (Feed intake) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ (Feed per egg ratio)

จากสูตร

อัตราการให้ไข่สะสม	=	จำนวนไข่ทั้งหมดตลอดการทดลอง 84 วัน
เปอร์เซ็นต์การให้ผลผลิตไข่	=	$\frac{\text{จำนวนไข่}}{\text{จำนวนไก่ที่เหลืออยู่}}$
น้ำหนักไข่เฉลี่ย	=	$\frac{\text{น้ำหนักไข่ทั้งหมด}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมด}}$
มวลไข่	=	เปอร์เซ็นต์การให้ผลผลิตไข่เฉลี่ย × น้ำหนักไข่เฉลี่ย
ปริมาณการกินได้ต่อวัน	=	$\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินทั้งหมด}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}}$
เปลี่ยนอาหารเป็นไข่	=	$\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{มวลไข่}}$

ข้อมูลด้านคุณภาพไข่ ได้แก่ ความสูงของฟองไข่ (Egg height) ความกว้างของฟองไข่ (Egg width) ด้วยเครื่อง Digital Vernier Caliper (Mitutoyo) สัดส่วนไข่ (Egg ratio) ความแข็งเปลือกไข่ (Shell strength) ด้วยเครื่อง Texture Analyzer รุ่น QTS (Brookfield) ความหนาเปลือกไข่ (Shell thickness) วิเคราะห์โดยเครื่อง Digital Vernier Caliper (Mitutoyo) และวิเคราะห์ สีไข่แดง (Yolk color) ความสูงไข่ขาว (Albumen height) และค่าความสดของไข่ (Haugh Unit) ด้วยเครื่อง Egg Multitester รุ่น EMT-7300 (Touhoku Rhythm co.ltd)

Table 1 Primer sequences and restriction enzymes for PCR-RFLP technique

Primers	Sequence (forward/reverse) (5'-3')	AT ^{1/} (°C)	Restriction enzyme	Restriction pattern (bp)	References
<i>cGH</i>	F: TCC CAG GCT GCG TTT TGT TAC TC R: ACG GGG GTG AGC CAG GAC TG	64	<i>EcoRV</i>	GG: 429 AG: 429, 256, 133 AA: 256, 133	Nie et al., 2005
<i>IGF-1</i>	F: CAT TGC GCA GGC TCT ATC TG R: TCA AGA GAA GCC CTT CAA GC	58	<i>HinFI</i>	CC: 622, 191 AC: 622, 378, 244, 191 AA: 378, 244, 191	Zhou et al., 2005
<i>IGFBP-2</i>	F: GTC CCA GAT AAA CCT TGC T R: GCT GGC AAG GGG TCT G	58	<i>Pml I</i>	TT: 367 CT: 367, 256, 102 CC: 256, 102	Li et al., 2006
<i>GHSR</i>	F: CCC ACA AAG TTA GCT GCA GAC R: CAC CTC TCC ATC TGG CTC ATT	62	<i>HhaI</i>	TT: 537 CT: 537, 358, 179 CC: 358, 179	Fang et al., 2010
<i>MC5R</i>	F: CCT CCT ACT GAT TCT GTA ATC R: TTT TCT GCT CAT CTG TAC TGG	55	<i>Hin6I</i>	AA: 443 AG: 443, 243, 200 GG: 243, 200	Mekchay, 2007
<i>VIPR-1</i>	F: AGA GGA ACG CAG CCA GTG R: CCC ACC TAA CAT AAA AGC TCA AC	55	<i>HaeIII</i>	CC: 205 CT: 205, 114 TT: 114	Kananit et al., 2010
<i>SPOT14α</i>	F: CAG GAG GGA GCA GAG GGA TAG R: GGT CGG TCA GAA CCT GCT GC	61	<i>Hin1I</i>	AA: 419 AC: 419, 319, 100 CC: 319, 100	Cao et al., 2007
<i>24BP-PRL</i>	F: TTT AAT ATT GGT GGG TGA AGA GAC A R: ATG CCA CTG ATC CTC GAA AAC TC	54	<i>Indel</i>	II: 154 ID: 154, 130 DD: 130	Cui et al., 2006
<i>DRD1</i>	F: CAC TAT GGA AGG GTT G R: GGC CAC CCA GAT GTT GCA AAA TG	57	<i>BsrSI</i>	GG: 283 AG: 283, 172, 111 AA: 172, 111	Tempfli et al. 2015
<i>HSP-70</i>	F: AAC CGC ACC ACA CCC AGC TAT G R: CTG GGA GTC GTT GAA GTA AGC G	65	<i>EaeI</i>	C2C2: 360, 240, 195 C1C2: 360, 240, 229, 195 C1C1: 240,229,195	Mazzi et al. 2003

¹ Annealing temperature

การตรวจสอบจีโนไทป์ของยีนด้วยเทคนิค PCR-RFLP

ตรวจสอบความหลากหลายของยีน *cGH*, *IGF-I*, *IGFBP-II*, *GHSR*, *24BP-PRL*, *SPOT14 α*, *VIP1R-1*, *MC5R*, *DRD1* และ *HSP-70* ด้วยวิธี PCR-RFLP โดยใช้ไพรเมอร์ และเอนไซม์ตัดจำเพาะแสดงใน **Table 1** จากนั้นนำไปทำการตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส นำไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่องถ่ายภาพ Gel Documentation (Vilber Lourmat) เพื่อตรวจสอบจำนวนจีโนไทป์ของไก่แต่ละตัว และนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติในลำดับต่อไป

การวิเคราะห์ความหลากหลายและความสัมพันธ์ของยีนกับลักษณะการให้ผลผลิตไข่

นำผลของจีโนไทป์ทั้งหมดที่ได้มาวิเคราะห์ศึกษาโครงสร้างทางพันธุศาสตร์ประชากร ได้แก่ ค่าความถี่จีโนไทป์ (genotype frequency) และความถี่อัลลีล (allele frequency)

จากสูตร

$$\begin{aligned} \text{ความถี่จีโนไทป์} &= \frac{\text{จำนวนสัตว์ที่มีจีโนไทป์ที่กำหนด}}{\text{จำนวนสัตว์ทั้งหมด}} \\ \text{ความถี่อัลลีล} &= D + (H/2), \\ \text{เมื่อ } D &= \text{ความถี่ homozygous genotype} \\ H &= \text{ความถี่ heterozygous genotype} \end{aligned}$$

จากนั้นวิเคราะห์ค่าเฮเทอโรไซโกตที่คาดหวัง (Expected Heterozygosity; H_e) และค่าเฮเทอโรไซโกตที่ตรวจพบ (Observed Heterozygosity; H_o) เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม และค่าสมดุฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ทดสอบด้วย Chi-square test (Falconer and Mackey, 1996) ด้วยโปรแกรม GENALEX Version 6.0 (Peakall & Smouse, 2006) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนกับสมรรถภาพการให้ผลผลิตไข่ และลักษณะคุณภาพไข่ โดยวิธี General Linear Model (GLM) ด้วยโปรแกรม SPSS (SPSS, 2010) มีโมเดลดังนี้

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } y_{ik} &= \text{ค่าของการให้ผลผลิตไข่และคุณภาพไข่} \\ \mu &= \text{ค่าเฉลี่ยของลักษณะที่ศึกษา} \\ G_i &= \text{อิทธิพลคงที่ของรูปแบบจีโนไทป์} \\ e_i &= \text{ความคลาดเคลื่อน} \end{aligned}$$

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล

จากการศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตไข่และลักษณะคุณภาพไข่ในไก่ไข่ จำนวน 10 ยีน ได้แก่ เครื่องหมายพันธุกรรม *cGH*, *IGF-I*, *IGFBP-II*, *GHSR*, *MC5R*, *VIP1R*, *Spot14α*, *24BP-PRL*, *DRD1* และ *HSP70* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยทำการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะต่อตำแหน่งจุดกลายพันธุ์ของยีน พบในแต่ละยีนมีจีโนไทป์เป็น 3 รูปแบบ มีความถี่จีโนไทป์ และอัลลีล แสดงใน Table 2

จากการศึกษาพบว่าเครื่องหมายพันธุกรรม *IGF-I* ในไก่ RIR และ WLH มีจีโนไทป์ทั้งหมด 3 รูปแบบ โดยไก่ RIR มีจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ CC (0.47), AC (0.37) และ AA (0.15) ตามลำดับ คิดเป็นความถี่อัลลีล A และอัลลีล C เท่ากับ 0.444 และ 0.556 ในไก่ WLH มีจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ AC (0.54), CC (0.30) และ AA (0.15) ตามลำดับ คิดเป็นความถี่อัลลีล A และอัลลีล C เท่ากับ 0.311 และ 0.689 ใกล้เคียงกับการศึกษาของ หนึ่งฤทัย และคณะ (2554) ที่ได้ศึกษาความหลากหลายของยีน *IGF-I* ในไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์ซี และประดู่ พบว่าจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ CC, AC และ AA ตามลำดับ นอกจากนี้การศึกษาของ Esmailnejad and Nikbakht, (2017) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *IGF-I* ต่อลักษณะการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตไข่ พบว่าจีโนไทป์ CC มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักไข่ที่สูงที่สุด

การศึกษาเครื่องหมายพันธุกรรม *IGFBP-II* ในไก่ RIR มีความหลากหลายของจีโนไทป์ทั้งหมด 2 แบบ โดยสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ TT (0.87) และ CT (0.12) ตามลำดับ คิดเป็นความถี่อัลลีล C และอัลลีล T เท่ากับ 0.413 และ 0.588 ในไก่ WLH มีความหลากหลายของจีโนไทป์ทั้งหมด 3 แบบ โดยสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ CC (0.65), TT (0.27) และ CT (0.07) ตามลำดับ คิดเป็น

ความถี่อัลลีล C และอัลลีล T เท่ากับ 0.338 และ 0.633 ค่าความถี่จีโนไทป์ของไก่ทั้งสองสายพันธุ์สอดคล้องกับการศึกษา Kazemi et al. (2018) ที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของจุดกลายพันธุ์ *cGH*, *GHR*, *IGF-I*, และ *IGFBP-II* ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองประเทศอิตาลี พบความถี่อัลลีลที่มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษานี้ที่ความถี่อัลลีล C และอัลลีล T เท่ากับ 0.44 และ 0.56

การศึกษารูปแบบเครื่องหมายพันธุกรรม *MC5R* มีจีโนไทป์ทั้งหมด 3 แบบ ในไก่ WLH ไม่สามารถตรวจพบจีโนไทป์ GG ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่ยีนดังกล่าวมีความถี่ของอัลลีล G ต่ำ โดยยีน *MC5R* มีอัลลีล A เป็นอัลลีลพื้นฐาน โดยมีจีโนไทป์ที่สูงที่สุดคือ AA (0.62) และ AG (0.38) ตามลำดับ แตกต่างกับการศึกษาของ วิทย์พงษ์ และคณะ (2553) ที่ศึกษาในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ประดู่หางดำ จำนวน 220 ตัว พบว่ามีความถี่ของอัลลีล A และ G ใกล้เคียงกัน ในไก่ RIR พบจีโนไทป์ทั้งหมด 3 แบบ โดยสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ AG (0.40), AA (0.35) และ GG (0.25) ตามลำดับ

การศึกษารูปแบบของเครื่องหมายพันธุกรรม *VIPR1* มีความหลากหลายของจีโนไทป์ทั้งหมด 3 รูปแบบ ในไก่ WLH โดยสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ CC (0.67), CT (0.30) และ TT (0.03) ตามลำดับ มีความถี่ของอัลลีล C เท่ากับ 0.825 สูงกว่าความถี่ของอัลลีล T เท่ากับ 0.175 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในไก่พื้นเมืองจีนที่รายงานว่าความถี่อัลลีล D และ C จะพบในสัดส่วนที่สูงกว่าไก่พันธุ์อื่นๆ (Cui et al., 2006) ในขณะที่มีรายงานใน WLH ว่ามีการตรวจพบความถี่อัลลีลแบบ I และ T ที่สูงกว่าไก่พื้นเมือง (ศรีนวล และคณะ, 2553; Cui et al., 2006) ซึ่งจากข้อมูลความถี่อัลลีลที่รายงานดังกล่าวพอจะอธิบายได้ว่า มีความเป็นไปได้ว่ายังมีความแปรปรวนค่อนข้างสูงระหว่างรูปแบบอัลลีลของยีนทั้งสอง โดยอาจจะนำมาเป็นรูปแบบช่วยคัดเลือกไก่พื้นเมืองไทยด้านการปรับปรุง และเพิ่มประสิทธิภาพการให้ผลผลิตไข่ สำหรับในไก่ RIR มีสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ CT (0.43), CC (0.37) และ TT (0.20) มีความถี่ของอัลลีล C เท่ากับ 0.575 มีความถี่ที่สูงใกล้เคียงกัน กับความถี่ของอัลลีล T เท่ากับ 0.425

การศึกษารูปแบบเครื่องหมายพันธุกรรม *Spot14α* พบว่ามีรูปแบบจีโนไทป์ทั้งหมด 3 รูปแบบ ในไก่ WLH สัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ CC (0.87), AC (0.08) และ AA (0.05) มีความถี่ของอัลลีล C เท่ากับ 0.91 และ A 0.09 ตามลำดับ ในไก่ RIR พบสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ CC (0.77), AA (0.13) และ AC (0.10) โดยมีความถี่ของอัลลีล C เท่ากับ 0.85 และ A เท่ากับ 0.15 ในไก่ทั้ง 2 สายพันธุ์นี้มีความถี่จีโนไทป์ และความถี่อัลลีลใกล้เคียงกัน

การศึกษารูปแบบเครื่องหมายพันธุกรรม *24BP-PRL* ในไก่ WLH มีความหลากหลายของจีโนไทป์ทั้งหมด 2 แบบ โดยสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ II (0.85), และ ID (0.15) ตามลำดับ คิดเป็นความถี่อัลลีล I และอัลลีล D เท่ากับ 0.952 และ 0.075 ตามลำดับ ในไก่ RIR มีความหลากหลายของจีโนไทป์ทั้งหมด 3 แบบ โดยสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ DD (0.78), ID (0.15) และ II (0.08) ตามลำดับ คิดเป็นความถี่อัลลีล I และอัลลีล D เท่ากับ 0.138 และ 0.862 การศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษาของ (Jiang et al., 2005; Cui et al., 2006) ที่พบว่าอัลลีล I (insertion) มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ WLH อาจเป็นเพราะกลุ่มตัวอย่างในการศึกษานี้มีขนาดกลุ่มเล็กเกินไปจึงทำให้ไม่มีการกระจายตัวของจีโนไทป์

การศึกษารูปแบบเครื่องหมายพันธุกรรม *HSP-70* ในไก่ WLH ไม่พบความหลากหลาย พบเพียงจีโนไทป์เดียวคือ C2C2 (1.00) ในไก่ RIR พบความหลากหลายของจีโนไทป์ 2 รูปแบบ โดยพบว่ามีความถี่จีโนไทป์ C2C2 สูงกว่า จีโนไทป์ C1C2 คิดเป็นความถี่อัลลีล C1 เท่ากับ 0.150 และ C2 เท่ากับ 0.850 แตกต่างกับการศึกษาของ Phongkaew and Khumpeerawat (2017) ที่ได้ศึกษาความหลากหลายของยีน *HSP-70* ในไก่พื้นเมืองไทยและไก่ไข่ทางการค้า จากการศึกษาพบว่ายีน *HSP-70* ในไก่ไข่ทางการค้า มีความหลากหลายของจีโนไทป์ในไก่ไข่ โดยจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ C1C1 (0.39), C1C2 (0.39) และ C2C2 (0.22) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะกลุ่มไก่ WLH และ RIR ที่นำมาศึกษาอาจมีการคัดเลือกและมีการผสมแบบเลือดชิดเพื่อคงสายพันธุ์ไว้จึงทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำ

การศึกษารูปแบบเครื่องหมายพันธุกรรม *GHSR* พบว่ามีรูปแบบจีโนไทป์ทั้งหมด 2 รูปแบบ ในไก่ RIR มีสัดส่วนจีโนไทป์ที่มีความถี่สูงสุดคือ TT เท่ากับ 0.86% และจีโนไทป์ CT เท่ากับ 0.14% และความถี่ของอัลลีลรวม คืออัลลีล T คิดเป็นร้อยละ 0.93 และอัลลีล C คิดเป็นร้อยละ 0.07 สำหรับในไก่ WLH มีความถี่ของอัลลีล T เท่ากับ 0.925 สูงกว่าความถี่ของอัลลีล C เท่ากับ 0.075 ซึ่งไม่พบความถี่ของจีโนไทป์ CC ทั้งนี้เนื่องจากมีความถี่ของอัลลีล C ที่ต่ำถึง 0.075 สำหรับในไก่พันธุ์ RIR มีความถี่ของอัลลีล T เท่ากับ 0.937 สูงกว่าความถี่ของอัลลีล C เท่ากับ 0.063 ซึ่งไม่พบความถี่ของจีโนไทป์ CC ทั้งนี้เนื่องจากมีความถี่ของอัลลีล C ที่ต่ำถึง 0.063 สอดคล้องกับการศึกษา ของ หนึ่งฤทัย และคณะ (2554) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *GHSR*, *IGF-I*, *cGH* และ *IGFBP-II* ด้วยวิธี PCR-RFLP พบว่าแต่ละ

ยีนมี จีโนไทป์ 3 รูปแบบ พบว่ายีน *GHSR* และ *cGH* ไม่สามารถตรวจพบจีโนไทป์ CC และ AA ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากยีนดังกล่าวมีความถี่ของอัลลีล C และ A ต่ำ (0.042 และ 0.142) ส่วนไก่ประดู่หางดำ พบว่ายีน *GHSR* และ *IGF-I* ไม่สามารถตรวจพบจีโนไทป์ CC และ AA ตามลำดับ ซึ่งความถี่ของอัลลีล C และ A มีค่าต่ำเช่นเดียวกันโดยอัลลีล C ของยีน *GHSR* มีค่าต่ำในไก่ทั้งสองพันธุ์

สำหรับการศึกษาของเครื่องหมายพันธุกรรม *cGH* และ *DRD1* นั้นไม่พบความหลากหลายของรูปแบบจีโนไทป์ในไก่ทั้งสองสายพันธุ์นี้ แสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรที่ต่ำ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการผสมเลือดชิด (Charoensook et al., 2016) รวมถึงจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาอาจมีจำนวนไม่มากพอ สอดคล้องกับการศึกษาของ Preecha et al. (2017) ที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่สายพันธุ์เล็กฮอร์นขาว และโรดไอแลนด์แดง พบเพียงจีโนไทป์เดียวคือ GG และนอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ สจี และคณะ, (2559) ที่ได้ศึกษาอิทธิพลของการคัดเลือกความถี่ยีน *cGH* ในไก่พื้นเมืองไทยพบว่าอัลลีล G มีความถี่สูงกว่าอัลลีล A

การทดสอบสมมติฐานความถี่ยีนตามกฎของ Hardy-Weinberg พบว่าเครื่องหมายทางพันธุกรรม *IGFBP-II* และ *SPOT14 α* ที่ไม่ได้้อยู่ในสภาวะสมดุลในไก่ WLH สอดคล้องกับค่าเฮเทอโรไซโกตที่ตรวจพบ (H_o) ที่ต่ำกว่าค่าเฮเทอโรไซโกตที่คาดหวัง (H_e) เนื่องจาก WLH ถูกคัดเลือกลักษณะการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตไข่คัดจากลักษณะปรากฏ (phenotype) มาทั้งหมด 3 ชั่วรุ่น เป็นการผสมพ่อแม่ภายในฝูงเดียวกัน เพื่อรักษาลักษณะดั้งเดิมของสายพันธุ์ อีกทั้งประชากรมีขนาดฝูงที่เล็กซึ่งอาจจะส่งผลกระทบต่อความถี่ยีนอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้พบว่าเครื่องหมายทางพันธุกรรม *IGFBP-II* และ *SPOT14 α* ของไก่ WLH ไม่อยู่ในสมดุลความถี่ยีนตามกฎของ Hardy-Weinberg

Table 2 Genotype and allele frequency in *cGH*, *IGF-I*, *IGFBP-II*, *GHSR*, *MC5R*, *Spot 14 α* , *VIPR1*, *24BP-PRL*, *DRD1* and *HSP-70* gene in White Leghorn and Rhode Island Red chicken

Locus	Breed	Genotype Frequencies			Allele Frequencies		χ^2	H_o	H_e
<i>IGF-I</i>	WLH	0.15 (AA)	0.54 (AC)	0.30 (CC)	0.311 (A)	0.689 (C)	0.194	0.459	0.428
	RIR	0.15 (AA)	0.37 (AC)	0.47 (CC)	0.444 (A)	0.556 (C)	0.36	0.444	0.494
<i>IGFBP2</i>	WLH	0.65 (CC)	0.07 (CT)	0.27 (TT)	0.338 (C)	0.663 (T)	35.653	0.025	0.447
	RIR	0.00 (CC)	0.12 (CT)	0.87 (TT)	0.413 (C)	0.588 (T)	16.33	0.175	0.485
<i>MC5R</i>	WLH	0.62 (AA)	0.38 (AG)	0.00 (GG)	0.813 (A)	0.187 (G)	2.13	0.375	0.305
	RIR	0.35 (AA)	0.40 (AG)	0.25 (GG)	0.550 (A)	0.450 (G)	0.331	0.45	0.495
<i>VIPR1</i>	WLH	0.03 (TT)	0.30 (CT)	0.67 (CC)	0.175 (T)	0.825 (C)	0.061	0.3	0.289
	RIR	0.20 (TT)	0.43 (CT)	0.37 (CC)	0.425 (T)	0.575 (C)	1.319	0.4	0.489
<i>Spot 14 α</i>	WLH	0.05 (AA)	0.08(AC)	0.87 (CC)	0.087 (A)	0.913 (C)	11.25	0.075	0.16
	RIR	0.13 (AA)	0.10(AC)	0.77 (CC)	0.150 (A)	0.850 (C)	6.782	0.15	0.255
<i>24BP-PRL</i>	WLH	0.85 (II)	0.15 (ID)	0.00 (DD)	0.952 (I)	0.075 (D)	0.263	0.15	0.139
	RIR	0.08 (II)	0.15 (ID)	0.78 (DD)	0.138 (I)	0.862 (D)	2.75	0.175	0.237
<i>HSP-70</i>	WLH	1.00 (C2C2)	0.00 (C1C2)	0.00 (C1C1)	1.000 (C2)	0.000 (C1)	-	-	-
	RIR	0.70 (C2C2)	0.30 (C1C2)	0.00 (C1C1)	0.150 (C1)	0.850 (C2)	0.934	0.3	0.255
<i>GHSR</i>	WLH	0.85 (TT)	0.15 (CT)	0.00 (CC)	0.925 (T)	0.075 (C)	0.263	0.15	0.139
	RIR	0.88 (TT)	0.12 (CT)	0.00 (CC)	0.937 (T)	0.063 (C)	0.178	0.125	0.117
<i>cGH</i>	WLH	1.00 (CC)	0.00 (CT)	0.00 (TT)	1.000 (C)	0.000 (T)	-	-	-
	RIR	1.00 (CC)	0.00 (CT)	0.00 (TT)	1.000 (C)	0.000 (T)	-	-	-
<i>DRD1</i>	WLH	1.00 (GG)	0.00 (CG)	0.00 (CC)	1.000 (G)	1.000 (G)	-	-	-
	RIR	1.00 (GG)	0.00 (CG)	0.00 (CC)	1.000 (G)	1.000 (G)	-	-	-

WLH: White Leghorn, RIR: Rhode Island Red. Chi-square (χ^2) with 1 degree of freedom, the area of critical value of 6.635, the area is 0.01

อิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่และคุณภาพไข่

ผลการวิเคราะห์อิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ในเครื่องหมายพันธุ์กรรม *cGH*, *IGF-I*, *IGFBP-II*, *GHSR*, *MC5R*, *Spot14α*, *VIPR1*, *24BP-PRL*, *DRD1* และ *HSP-70* ในไก่ WLH และ RIR ต่อลักษณะประสิทธิภาพการให้ผลผลิตไข่และลักษณะของคุณภาพไข่ พบว่าไม่พบความสัมพันธ์กับเครื่องหมายพันธุ์กรรม *cGH*, *IGF-I*, *GHSR*, *SPOT14α*, *DRD1* และ *HSP-70* สอดคล้องกับการศึกษาของ Charoensin et al. (2012) ที่ได้ศึกษาเครื่องหมายพันธุ์กรรมดังกล่าวกับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่สายพันธุ์ WLH สำหรับการศึกษาในครั้งนี้เครื่องหมายพันธุ์กรรม *VIPR1* และ *MC5R* พบว่ามีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวก่อนการทดลอง (BW of initial) ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ทั้งนี้ *MC5R* มีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวัน (Feed intake; g/day) ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยมีลักษณะจีโนไทป์ GG มีปริมาณอาหารที่กินได้ 99.57 กรัมต่อวัน ซึ่งสูงกว่าจีโนไทป์ AA และ AG ที่มีปริมาณอาหารที่กินได้ 84.95 และ 76.09 กรัมต่อวันตามลำดับ ในเครื่องหมายพันธุ์กรรม *IGFBP-II* มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่อายุ 31 สัปดาห์ ($P<0.001$) อัตราการให้ไข่ ($P<0.05$) น้ำหนักไข่ ($P<0.01$) อัตราการกินไข่ ($P<0.001$) และสัดส่วนการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ ($P<0.001$) สำหรับมวลไข่นั้นไม่พบความสัมพันธ์ ($P>0.05$) สำหรับในเครื่องหมายพันธุ์กรรม *24BP-PRL* สัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่อายุ 31 สัปดาห์ ($P<0.001$) อัตราการให้ไข่ ($P<0.001$) น้ำหนักไข่ ($P<0.001$) มวลไข่ ($P<0.01$) อัตราการกินไข่ ($P<0.001$) และสัดส่วนการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ ($P<0.001$) โดยการศึกษาพบอัลลีล D (deletion) สัมพันธ์กับสมรรถภาพการให้ผลผลิตไข่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Charoensin et al. (2016) ที่พบว่าเครื่องหมายพันธุ์กรรม *24BP-PRL* มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการผลิตไข่นอกจากนี้ผลการศึกษามีแตกต่างจากการศึกษาของ Jiang et al., (2005); Cui et al., (2006) ที่พบว่าอัลลีล I (insertion) มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ WLH

Table 3 Least square mean of genotype on Productivity of White Leg Horn (WLH) and Rhode Island Red (RIR)

Gene and Genotype	Parameter						
	n	BW@31	Rate of lay (%)	Egg weight (g)	Egg mass (g/HD)	Feed intake (g/day)	Feed/egg ratio
VIPR1							
CC	49	1564.29 ^b	65.82	51.21	33.5	76.97	2.55
CT	29	1877.59 ^a	68.3	51.4	35.19	87.73	2.73
TT	9	1844.44 ^a	76.04	49.04	37.16	91.1	2.45
SEM		45.69 ^{**}	1.704 ^{ns}	0.639 ^{ns}	0.943 ^{ns}	2.343 ^{ns}	0.161 ^{ns}
MC5R							
AA	39	1641.03 ^b	65.71	52.32	34.27	76.09 ^b	2.38
AG	31	1661.29 ^b	68.05	49.41	33.51	84.95 ^b	2.89
GG	10	2125.00 ^a	75.71	51.09	38.64	99.57 ^a	2.61
SEM		45.69 ^{**}	1.704 ^{ns}	0.639 ^{ns}	0.943 ^{ns}	2.34 ^{**}	0.161 ^{ns}
IGFBP-II							
CC	26	1130.00 ^b	63.77 ^b	53.84 ^a	34.37	71.06 ^b	2.08 ^b
CT	8	1612.50 ^a	70.70 ^a	51.64 ^{ab}	36.37	85.75 ^a	2.39 ^a
TT	46	1791.67 ^a	71.84 ^a	49.91 ^b	35.80	89.02 ^a	2.54 ^a
SEM		57.127 ^{***}	1.457 [*]	0.502 ^{**}	0.777 ^{ns}	1.951 ^{***}	0.054 ^{***}
24BP-PRL							
II	37	1148.53 ^c	62.95 ^b	52.81 ^a	33.16 ^b	70.05 ^b	2.15 ^b
ID	12	1670.83 ^b	73.60 ^a	53.16 ^a	39.05 ^a	89.50 ^a	2.29 ^b
DD	31	1975.86 ^a	74.26 ^a	49.04 ^b	36.48 ^{ab}	94.67 ^a	2.67 ^a
SEM		57.127 ^{***}	1.457 ^{***}	0.502 ^{**}	0.777 ^{**}	1.951 ^{***}	0.054 ^{***}

BW@31=body weight at 31 weeks, HD=rate of lay, EW=egg weight, EM=egg mass, FI=feed intake; Different letters indicate significant difference, * = $P<0.05$, ** = $P<0.01$, *** = $P<0.001$, ns = $P>0.05$

ผลการวิเคราะห์รูปแบบจีโนไทป์ต่อลักษณะคุณภาพไข่ในการศึกษานี้พบเครื่องหมายพันธุกรรม *IGFBP-II* มีความสัมพันธ์กับลักษณะความสูงของรูปทรงไข่ ($P<0.05$) ความกว้างของรูปทรงไข่ ($P<0.05$) น้ำหนักเปลือกไข่ ($P<0.001$) ความหนาเปลือกไข่ ($P<0.001$) และน้ำหนักไข่ขาว ($P<0.01$) แต่สำหรับดัชนีรูปทรงไข่ ความแข็งเปลือกไข่ ความสูงไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง และค่าความสดของไข่นั้นไม่พบความสัมพันธ์ ($P>0.05$) (Table 4) ในเครื่องหมายพันธุกรรม 24BP-PRL แต่พบว่ามีความสัมพันธ์กับลักษณะความสูงของรูปทรงไข่ ($P<0.01$) น้ำหนักเปลือกไข่ ($P<0.05$) ความหนาเปลือกไข่ ($P<0.001$) น้ำหนักไข่ขาว ($P<0.01$) และสีไข่แดง ($P<0.01$) แต่สำหรับความกว้างของรูปทรงไข่ ดัชนีรูปทรงไข่ ความแข็งเปลือกไข่ ความสูงไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง และค่าความสดของไข่นั้นไม่พบความสัมพันธ์ ($P>0.05$) (Table 5) จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าเครื่องหมายพันธุกรรม *IGFBP-II* และ 24BP-PRL มีความสัมพันธ์ในทั้งลักษณะการให้ผลผลิตไข่และคุณภาพไข่เนื่องจากยีน *IGFBP-II* เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ในไก่มีส่วนสำคัญในการพัฒนาเนื้อเยื่อ ตับ กล้ามเนื้อ ไต หัวใจ รังไข่ สมอง ลำไส้ และเนื้อเยื่ออื่นๆ (Schoen et al., 1992) ซึ่งในการศึกษานี้พบว่ารูปแบบจีโนไทป์ของเครื่องหมายพันธุกรรม *IGFBP-II* ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่และคุณภาพไข่สูงที่สุดคือจีโนไทป์ CC ในเครื่องหมายพันธุกรรม 24BP-PRL จากรายงานของ Freeman et al. (2000) พบว่าฮอร์โมนโพรแลคตินทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตไข่ พฤติกรรมการฟักไข่และการเพิ่มจำนวนของไข่ในไก่ ยีน *PRLR* ทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญาณเข้าไปในเซลล์ โดยจะจับกับฮอร์โมนโพรแลคติน ยีน *PRLR* พบได้ในเซลล์ทั่วไประหว่างการเจริญเติบโตของ oocyte ในสัตว์ปีก ยีน *PRLR* ถูกจัดให้เป็นปัจจัยหนึ่งของสาเหตุที่ทำให้สัตว์ปีกเกิดพฤติกรรมการฟักไข่ ควบคุมพฤติกรรมการทำรัง และควบคุมการพัฒนาของกระบวนการตกไข่ มีรายงานของ Zhang et al., (2012) *PRLR* มีส่วนเกี่ยวข้องในทางสรีรวิทยา และวงจรการสืบพันธุ์พบว่ายีน *PRLR* ในไก่มีผลต่อลักษณะการผลิตไข่ ซึ่งในการศึกษานี้พบว่ารูปแบบจีโนไทป์ของเครื่องหมายพันธุกรรม 24BP-PRL ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่และคุณภาพไข่สูงที่สุดคือจีโนไทป์ II

Table 4 Least square mean of *IGFBP-II* genotype on egg quality of White Leg Horn (WLH) and Rhode Island Red (RIR)

Traits	<i>IGFBP-II</i>			
	CC	CT	TT	SEM
n	26	8	46	
Egg width (mm)	56.37 ^a	55.51 ^{ab}	54.86 ^b	0.240 [*]
Egg length (mm)	41.84 ^a	38.93 ^b	40.68 ^a	0.295 [*]
Shape Index (%)	74.25	70.09	74.16	0.554
Shell weight (g)	7.67 ^a	7.43 ^a	6.04 ^b	0.195 ^{***}
Shell thickness (mm)	0.36 ^a	0.38 ^a	0.33 ^b	0.004 ^{***}
Shell strength (kg/cm ²)	3358.61	3555.51	3207.64	114.070 ^{ns}
Albumen weight (g)	32.63 ^a	30.87 ^{ab}	29.79 ^b	0.420 ^{**}
Albumen height (mm)	7.07	7.67	7.23	0.123 ^{ns}
Yolk weight (g)	14.39	14.99	14.47	0.166 ^{ns}
Yolk color	7.09	7.34	7.33	0.056 ^{ns}
Haugh Unit (%)	84.29	88.90	91.54	2.308 ^{ns}

Different letters indicate significant difference, * = $P<0.05$, ** = $P<0.01$, *** = $P<0.001$, ns = $P>0.05$

Table 5 Least square mean of *24BP-PRL* genotype on egg quality of White Leg Horn (WLH) and Rhode Island Red (RIR)

Traits	<i>24BP-PRL</i>			
	II	ID	DD	SEM
n	37	12	31	
Egg width (mm)	56.14 ^a	55.60 ^{ab}	54.54 ^b	0.240 ^{**}
Egg length (mm)	40.89	41.42	40.64	0.295 ^{ns}
Shape Index (%)	72.85	74.06	74.68	0.554 ^{ns}
Shell weight (g)	7.25 ^a	6.99 ^{ab}	6.01 ^b	0.195 [*]
Shell thickness (mm)	0.36 ^a	0.35 ^a	0.32 ^b	0.004 ^{***}
Shell strength (kg/cm2)	3202.37	3514.42	3312.98	114.070 ^{ns}
Albumen weight (g)	32.02 ^a	32.21 ^a	28.92 ^b	0.420 ^{**}
Albumen height (mm)	7.46	7.23	6.95	0.123 ^{ns}
Yolk weight (g)	14.21	14.87	14.69	0.166 ^{ns}
Yolk color	7.11 ^b	7.11 ^b	7.48 ^a	0.056 ^{**}
Haugh Unit (%)	87.10	85.74	92.17	2.308 ^{ns}

Different letters indicate significant difference, * = $P < 0.05$, ** = $P < 0.01$, *** = $P < 0.001$, ns = $P > 0.05$

สรุป

ไกโรดไอร์แลนด์แดงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่สูงกว่าไก่เล็กฮอร์นขาวอิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตไข่พบเครื่องหมายพันธุกรรม *VIP1R* และ *MC5R* มีความสัมพันธ์กับค่าน้ำหนักตัว ซึ่งมีแนวโน้มที่ให้ผลผลิตไข่สูงจึงทำให้มีน้ำหนักตัวที่ลดลง เครื่องหมาย *MC5R* สัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวัน เครื่องหมาย *IGFBP-II* มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่อายุ 31 สัปดาห์ อัตราการให้ไข่, น้ำหนักไข่, อัตราการกินได้ และสัดส่วนการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ เครื่องหมาย *24BP-PRL* สัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่อายุ 31 สัปดาห์ อัตราการให้ไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ อัตราการกินได้ และสัดส่วนการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ อิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ต่อลักษณะคุณภาพไข่ เครื่องหมาย *IGFBP-II* สัมพันธ์กับลักษณะความสูงของรูปทรงไข่ ความกว้างของรูปทรงไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ และน้ำหนักไข่ขาว เครื่องหมาย *24BP-PRL* พบว่ามีความสัมพันธ์กับทุกลักษณะยกเว้นลักษณะรูปทรงไข่ ความแข็งเปลือกไข่ ความสูงไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง และค่า Haugh unit การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายพันธุกรรม *IGFBP-II* และ *24BP-PRL* สามารถใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมประกอบการคัดเลือกลักษณะประสิทธิภาพการผลิตไข่ และลักษณะคุณภาพไข่ ในไก่ไข่ที่เลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้นของประเทศไทย

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน (สัญญาเลขที่ R2561B066) และจากทุนสนับสนุนการพัฒนาวิชาการและการวิจัยของอาจารย์ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร (RPA2560) คณะผู้วิจัยขอขอบคุณนางสาวจิตรกาญจน์ เพลิดขุนทด ที่มีส่วนช่วยในการเก็บข้อมูลงานทดลอง

เอกสารอ้างอิง

รังสรรค์ เจริญสุข. 2549. การเปรียบเทียบวิธีการสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพในสัตว์ (ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต). เชียงใหม่: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

- รังสรรค์ เจริญสุข, ทศพร อินเจริญ, นิทัศน์ วิชาสิทธิ์ และ, นิกร ปรีชา. 2559 อิทธิพลของสายพันธุ์และเพศต่อลักษณะการเจริญเติบโต ของไก่เล็กฮอร์นขาวและโรดไอแลนด์แดงภายใต้สภาพอากาศแบบร้อนชื้น. แก่นเกษตร. 44(ฉบับพิเศษ 1): 401-404.
- วีระพงศ์ ลูธิตานนท์. 2557. เทคนิคเรียลไทม์พีซีอาร์ Real-Time PCR. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ศุภมิตร เมฆฉาย. 2555. การประยุกต์ใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์. แก่นเกษตร. 40(2): 51-54.
- ศรินทร์ คณานิษฐ์, มนต์ชัย ดวงจินดา, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, และปรัชญาพร เอกบุตร. 2553. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน Vasoactive Intestinal Peptide Receptor-1 (VIPR-1) ในไก่ไข่ไก่ประดู่ และไก่เล็กฮอร์น. แก่นเกษตร. 38(ฉบับพิเศษ 1): 85-89.
- สัจจ์ กัณหาเรียง, ทองสา บัวสุข, มนต์ชัย ดวงจินดา, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, และ ยุพิน ผาสุข. 2559. ความหลากหลายรูปแบบยีน FASN, ApoB, 24BP-PRL และ VIPR-1 ในไก่พื้นเมืองพันธุ์ซี เคเคยู 12. แก่นเกษตร. 44: 546-551.
- หนึ่งฤทัย พรหมวาที, มนต์ชัย ดวงจินดา, วุฒิกร บุญคุ้ม, และบัญญัติ เหล่าไพบูลย์. 2554. ความสัมพันธ์ ระหว่างจุดกลายพันธุ์ (SNPs) ของยีน GHSR, IGF1, cGH และ IGFBP2 ต่อลักษณะการ เจริญเติบโตในไก่พื้นเมืองไทย (ซีและประดู่หางดำ). แก่นเกษตร. 39: 261-270.
- Cao, Z. P. S. Z., Q. G. Wang, Y. X. Wang, and Wang, H. Li. 2007. Association of spot14 α gene polymorphisms with body weight in the chicken. Poultry science journal. 86: 1873–1880.
- 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: 847-853.
- Cui, J. X., H. L. Du, Y. Liang, X. M. Deng, N. Li, and X. Q. Zhang. 2006. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production. Poultry science journal. 85: 26-31.
- Esmailnejad, A., and G. Nikbakht. 2017. Allelic polymorphism of insulin-like growth factor I gene and its association with production traits in native chickens. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. DOI: 10.15547/bjvm.1072.
- Fang, M., Q. Nie, C. Luo, D. Zhang, and X. Zhang. 2010. Associations of GHSR gene polymorphisms with chicken growth and carcass traits. Molecular Biology Reports. 37: 423-428.
- Freeman, M. E., B. Kanyicska, A. Lerant, and G. Nagy. 2000. Prolactin: structure, function and regulation of secretion. Physiological Reviews. 80: 1523-1631.
- Feng, P. X., U. Kuhnlein, S. E. Aggrey, J. S. Gavora, and D. Zadworny. 1997. Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in White leghorn strain. Poultry science journal. 76: 1770-1775.
- Jiang, R. S., G. Y. Xu, X. Q. Zhang, and N. Yang. 2005. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. Poultry science journal. 84: 839-845.
- Kofoed, E. M., V. Hwa, B. Little, K. A. Woods, and C. K. Buckway. 2003. Growth hormone insensitivity associated with a STAT5B mutation. The New England Journal of Medicine. 349: 1139-1147.
- Li, H. F., W. Q. Zhu, K. W. Chen, X. Wu, Q. P. Tang, Y. S. Gao, W. T. Song, and H. L. Xu. 2009. Polymorphism in NPY and IGF-I genes associate with reproductive traits in Wenchang chicken. African Journal of Biotechnology. 8: 4744-4748.

- Li, Z.H., H. Li, H. Zhang, S.Z. Wang, Q.G. Wang, and Y.X. Wang. 2006. Identification of a single nucleotide polymorphism of the insulin-like growth factor binding protein 2 gene and its association with growth and body composition traits in the chicken. *Journal of Animal Science*. 84: 2902-2906.
- 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 hsp70 stress gene in Broiler chickens (*Gallus gallus*) of different breeds. *Genetics and Molecular Biology*. 26: 275-281.
- Mekchay, S. 2012. Application of genetic makers in animal improvement. *Khon Kaen Agriculture Journal* 40(2): 51-54.
- Nie, Q., B. Sun, D. Zhang, C. Luo, N. A. Ishag, M. Lei, G. Yang, and X. Zhan. 2005. High diversity of the chicken growth gene and effects on growth and carcass traits. *Journal of Heredity*. 96: 698-703.
- 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.
- Promwatee, N., M. Duangjinda, W. Boonkum, and B. Loapaiboon. 2011. Association of single nucleotide polymorphisms in GHFR, IGFI, cGH and IGFBP2 genes on growth traits in Thai Native Chickens (Chee and Pradu Hang Dam). *Khon Kaen Agriculture Journal*. 39: 261-270.
- Schoen, T., D. Beebe, D. Clemmons, G. Chader, and R. Waldbillig. 1992. Local synthesis and developmental regulation of avian vitreal insulin-like growth factor binding proteins: a model for independent regulation in extravascular and vascular compartments. *Endocrinology*. 131: 2846-2854.
- SPSS. 2010. Statistical Package for Social Sciences. SPSS Inc., Chicago, IL., USA.
- Tempfli, K., S. Konrad, K.K. Gaal, L. Pongracz, and A.B. Papp. 2015. Prolactin, dopamine receptor D1 and Spot 14 α polymorphisms affect production traits of Hungarian Yellow hens. *Livestock Science*. 174: 26-30.
- Tunim, S., M. Duangjinda, and S. Katavatin. 2010. Study of HSP 70 gene polymorphism in various strains of Thai indigenous chickens. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 38: 71-75.
- Zhang, D.Y., Y. Li, P. Liu, Y. Wang, X.L. Zhao, and Q. Zhu. 2012. Genetic effect of the prolactin receptor gene on egg production traits in chickens. *Genetics and Molecular Research*. 11(4): 4307-4315.
- Zhou, H., A.D. Mitchell, J.P. McMurtry, C.M. Ashwell, and S.J. Lamont. 2005. Insulin-like growth factor-I gene polymorphism associations with growth, body composition, skeleton integrity, and metabolic traits in chickens. *Poultry science journal*. 84: 212-218.
- Zhou, M., M. Lei, Y. Rao, Q. Nie, H. Zeng, M. Xia, F. Liang, D. Zhang, and X. Zhang. 2008. Polymorphisms of Vasoactive Intestinal Peptide Receptor-1 Gene and Their Genetic Effects on Broodiness in Chickens. *Poultry science journal*. 87: 893-90.