ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

วิทยานิพนธ์

ของ

กมลเนตร พิมพ์เรือง

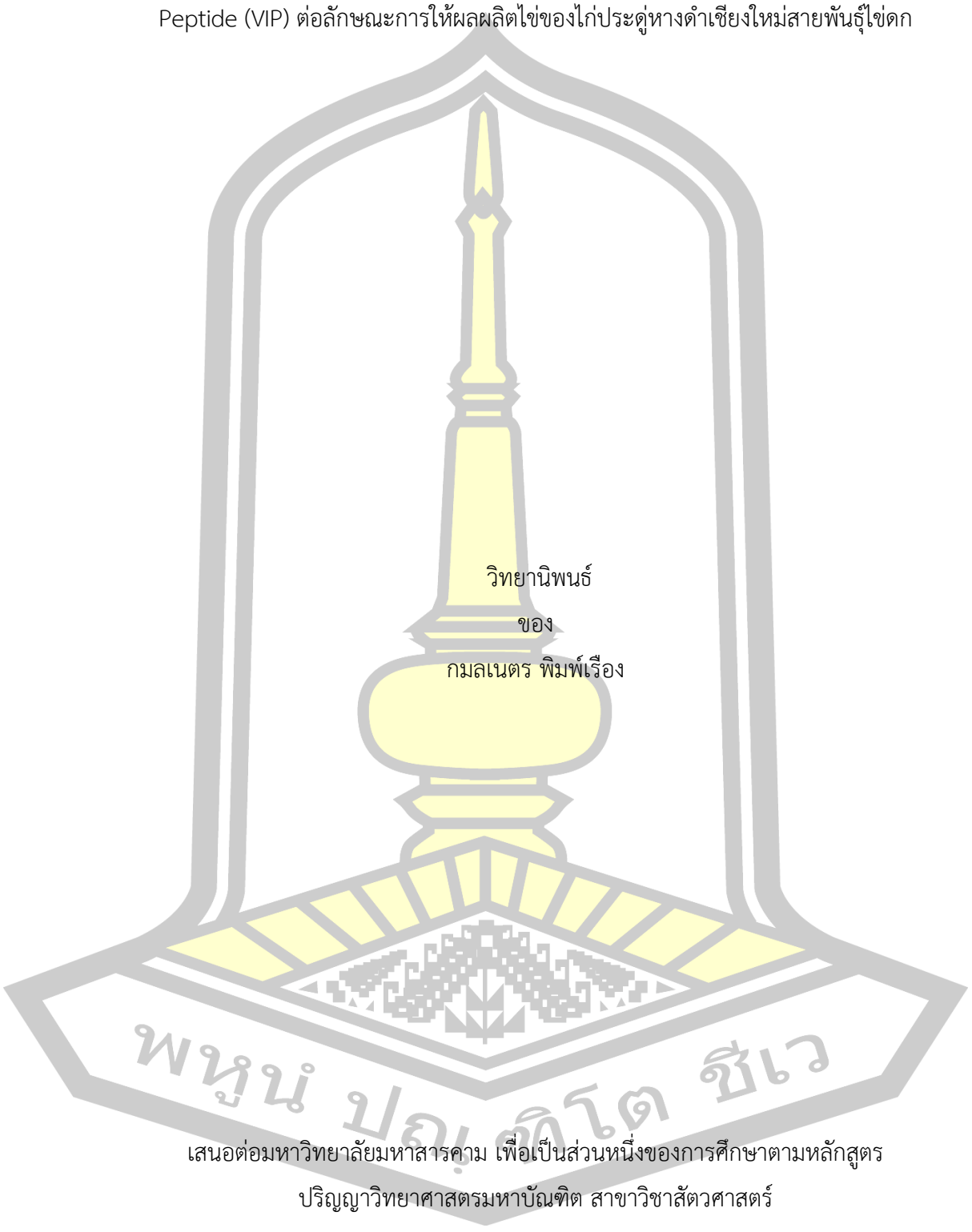
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์

กรกฎาคม 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก



วิทยานิพนธ์

ของ

กมลเนตร พิมพ์เรือง

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

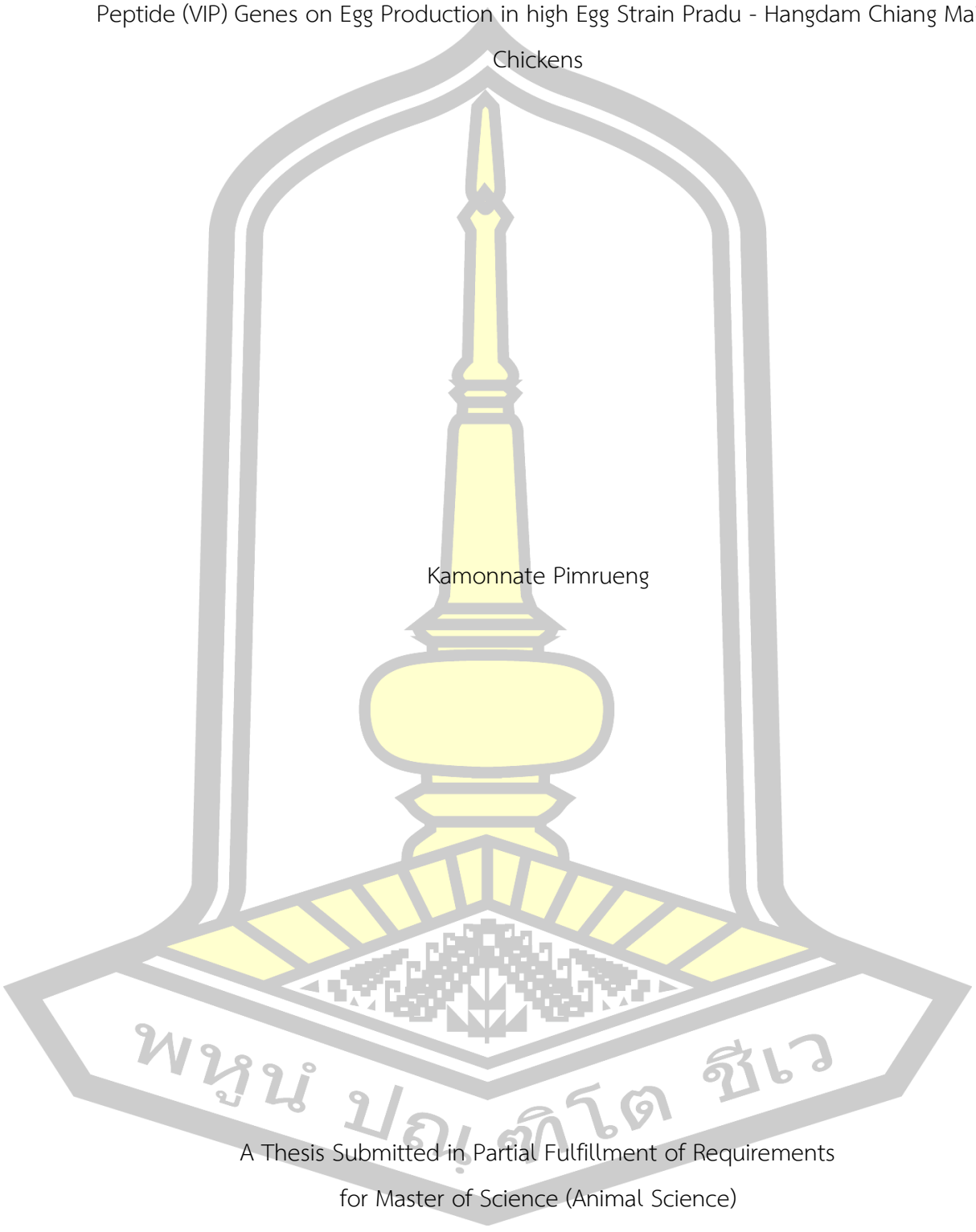
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์

กรกฎาคม 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

The Association of Dopamine Receptor D2 type (DRD2) and Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) Genes on Egg Production in high Egg Strain Pradu - Hangdam Chiang Mai Chickens

Kamonnate Pimrueng



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements

for Master of Science (Animal Science)

July 2021

Copyright of Mahasarakham University

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวกมลเนตร พิมพ์เรือง แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผศ. ดร. จักรพงษ์ ชายคง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผศ. ดร. ดวงนภา พรมเกตุ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผศ. ดร. ขนิษฐา เพ็งมีศรี)

.....กรรมการ
(รศ. ดร. ทรงศักดิ์ จำปาวะดี)

.....กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผศ. ดร. อุทัย โคตรดก)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....
(ผศ. ดร. สุมลวรรณ ชุ่มเชื้อ)
คณบดีคณะเทคโนโลยี

.....
(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ผู้วิจัย กมลเนตร พิมพ์เรือง

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดวงนภา พรมเกตุ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ขนิษฐา เพ็งมีศรี

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** สัตวศาสตร์

มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม **ปีที่พิมพ์** 2564

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ประกอบไปด้วย 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1: ผลของค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก จำนวน 300 ตัว พบว่า THI4 มีอิทธิพลต่อลักษณะอายุเมื่อให้ไข่ฟองแรกเร็วที่สุด (144.59 วัน) แต่กลุ่มของ THI ไม่มีอิทธิพลต่อลักษณะอื่นๆ เมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะการให้ผลผลิตไข่ พบว่า ลักษณะผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่ต่อเดือน มีค่าสหสัมพันธ์สูงที่สุด (0.90) แสดงให้เห็นได้ว่า เมื่อแม่ไก่ให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดสูง จะส่งผลทางบวกให้กับผลผลิตไข่ต่อเดือนสูงตามไปด้วย

การทดลองที่ 2: ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก จำนวน 281 ตัว ด้วยเทคนิค PCR – RFLP ผลการศึกษา พบว่า ยีน DRD2 และยีน VIP มีขนาดเท่ากับ 248 bp และ 306 bp ตามลำดับ ยีน DRD2 มีรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ จีโนไทป์ TT (196 bp), จีโนไทป์ TC (248 bp และ 196 bp) และจีโนไทป์ CC (248 bp) สำหรับยีน VIP มีรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ จีโนไทป์ II (306 bp), จีโนไทป์ ID (306 bp และ 154 bp) และจีโนไทป์ DD (154 bp) ยีน DRD2 มีค่าความถี่จีโนไทป์ CC (0.559) สูงกว่าจีโนไทป์ TT (0.046) และจีโนไทป์ TC (0.395) และมีความถี่อัลลีล C (0.755) สูงกว่าอัลลีล T (0.245) ยีน VIP มีค่าความถี่จีโนไทป์ II (0.589) สูงกว่าจีโนไทป์ ID (0.282) และจีโนไทป์ DD (0.129) และมีความถี่อัลลีล I (0.729) สูงกว่าอัลลีล D (0.271) จากการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน DRD2 พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน DRD2 การให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่ต่อเดือน ($P<0.05$) ซึ่งจีโนไทป์ CC มีการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่เฉลี่ยต่อเดือนสูงที่สุด (198.39 ฟอง และ 16.53 ฟอง) ซึ่งมีการให้ผลผลิตไข่

สูงกว่า จีโนไทป์ TC (190.29 ฟอง และ 15.85 ฟอง) และจีโนไทป์ TT (186.46 ฟอง และ 15.53 ฟอง) ตามลำดับ นอกจากนั้น พบความสัมพันธ์ระหว่างยีน VIP ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมด และการให้ผลผลิตไข่ต่อเดือน ($P<0.05$) พบว่า รูปแบบจีโนไทป์ DD มีความสัมพันธ์กับการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดการให้ผลผลิตไข่ต่อเดือนสูง (205.55 ฟอง และ 17.12 ฟอง) ซึ่งมีการให้ผลผลิตไข่สูงกว่าจีโนไทป์ II (193.24 ฟอง และ 16.10 ฟอง) และจีโนไทป์ ID (192.59 ฟอง และ 16.05 ฟอง) ตามลำดับ

คำสำคัญ : ยีน DRD2, ยีน VIP, การให้ผลผลิตไข่, ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

TITLE The Association of Dopamine Receptor D2 type (DRD2) and Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) Genes on Egg Production in high Egg Strain Pradu - Hangdam Chiang Mai Chickens

AUTHOR Kamonnate Pimrueng

ADVISORS Assistant Professor Doungnapa Promket , Ph.D.

Assistant Professor Khanitta Pengmeesri , Ph.D.

DEGREE Master of Science **MAJOR** Animal Science

UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2021

ABSTRACT

The study consists of 2 experiments. Experiment 1: The result of Temperature Humidity Index, THI on 300 high egg strain Pradu - Hangdam Chiangmai chickens. The result found that THI4 effect on age at first egg trait fastest (144.59 day). On the other hand, the THI group had non-significant on the other traits. The analysis of correlation between egg production trait found that total egg production and average egg per mouth has the highest correlation (0.90), it meaning that when total egg production increase will also make high the average egg per mouth.

Experiment 2: the association of Dopamine Receptor D2 type (DRD2) and Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) genes on egg production in high egg strain Pradu - Hangdam Chiangmai chickens on 281 using the PCR – RFLP technique. The result showed that, size of DRD2 and VIP genes was 248 bp and 306 bp, respectively. Three genotypes of DRD2 gene were genotype TT (196 bp), genotype TC (248 bp and 196 bp) and genotype CC (248 bp). Three genotypes of VIP gene were genotype II (306 bp), genotype ID (306 bp and 154 bp) and genotype DD (154 bp). The genotype frequency of DRD2 gene found that genotype CC (0.559) has higher than genotype TT (0.046) and genotype TC (0.395). The allele frequency C (0.755) higher than T (0.245). Moreover, the genotype frequency of VIP gene was dedicated to genotype II (0.589) pattern higher than genotype ID and DD were 0.282 and 0.129, respectively. The allele frequency of

VIP gene was observed for allele I (0.729) and allele D (0.271). The significant association was found between DRD2 gene and total egg production and egg per mouth (P<0.05). The CC genotype (198.39 egg and 16.53 egg) had higher total egg production value compare to TC (192.29 egg and 15.85 egg) and TT (186.46 egg and 15.53 egg), respectively. Moreover, the significant association was found between VIP gene and total egg production and egg per mouth (P<0.05). The DD genotype (205.55 egg and 17.12 egg) had higher total egg production value compare to II (193.24 egg and 16.10 egg) and ID (192.59 egg and 16.05 egg), respectively.

Keyword : DRD2 gene, VIP gene, egg production, high egg strain Pradu - Hangdam Chiangmai chickens

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือ และคำปรึกษาอย่างสูงยิ่งจากผู้ช่วยศาสตราจาร ดร. ดวงนภา พรมเกตุ อาจารย์ที่ปรึกษาหลักวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ขนิษฐา เพ็งมีศรี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จักรพงษ์ ชายคง ประธานกรรมการสอบ รองศาสตราจารย์ ดร. ทรงศักดิ์ จำปาวะดี และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุทัย โคตรดก กรรมการสอบ

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ และสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่สนับสนุนข้อมูลและตัวอย่างวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณกรมอุตุนิยมวิทยา จังหวัดเชียงใหม่ ที่สนับสนุนข้อมูลในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณเจนรงค์ คำมงคุณ ตำแหน่งนักวิชาการสัตวบาลชำนาญการ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ สาขาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และครอบครัว ที่ให้การสนับสนุน กำลังใจ และคำแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้

กมลเนตร พิมพ์เรือง

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฉ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฐ

สารบัญภาพ ..... ฒ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 ไก่พื้นเมือง 4

2.1.1 ไก่ประดู่หางดำ 4

2.1.2 ไก่ชี 5

2.1.3 ไก่เหลืองหางขาว 5

2.1.4 ไก่แดง 6

2.2 การให้ผลผลิตไข่ 6

2.2.1 ปัจจัยที่ส่งผลต่อผลผลิตไข่ 8

2.3 ค่าสังเกตที่สำคัญเกี่ยวกับการให้ผลผลิตไข่ 9

2.3.1 ผลผลิตไข่ต่อปี 9

2.3.2 ผลผลิตไข่ต่อตับ 9
2.3.3 อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก 9
2.3.4 น้ำหนักไข่ 9
2.4 การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) 12
2.5 ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะการให้ผลผลิตไข่และระบบสืบพันธุ์ของไก่ 12
2.6 การคัดเลือกโดยวิธี Marker assisted selection (MAS) 13
2.7 เทคนิคทางด้านอณูพันธุศาสตร์ (molecular technique) 14
2.7.1 เทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 14
2.7.2 เทคนิค Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 15
2.7.3 เทคนิค Amplified fragment Length Polymorphisms (AFLP) 15
2.8 กลไกการทำงานของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในสิ่งมีชีวิต 15
2.8.1 กลไกการทำงานของยีน Dopamine receptor D2 type (DRD2) 16
2.8.2 กลไกการทำงานของยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) 16
2.9 ยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมือง 17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 20
3.1 งานทดลองที่ 1 ผลของค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 20
3.1.1 กลุ่มตัวอย่างประชากร และข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา 20
3.1.2 การเก็บข้อมูลลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 20
3.1.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ 20
3.2 งานทดลองที่ 2 ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 21

3.2.1 กลุ่มตัวอย่างประชากร และข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา 21
3.2.2 การเก็บข้อมูลลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 22
3.2.3 การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อสกัด DNA 22
3.2.4 การสกัด genomic DNA 22
3.2.5 การตรวจสอบปริมาณ และคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสง 23
3.2.6 การเพิ่มปริมาณ ยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในหลอดทดลอง (polymerase chain reaction; PCR). 23
3.2.7 การตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ด้วยเทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 24
3.2.8 ตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ด้วยเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยไฟฟ้า (Gel Electrophoresis) 25
3.2.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ 26
บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปราย 27
4.1 งานทดลองที่ 1 ผลของค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index (THI)) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 27
4.2 งานทดลองที่ 2 ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 32
ลักษณะผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 32
ความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 33
ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 36
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 38

5.1 งานทดลองที่ 1 ผลของกลุ่มดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 38

5.2 งานทดลองที่ 2 ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 38

5.3 ข้อเสนอแนะ 39

บรรณานุกรม 40

ประวัติผู้เขียน 78

พหูน ปณ ฑิโต ชีเว

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมือง 10

ตารางที่ 2 การให้ผลผลิตไข่ในไก่ไข่สายพันธุ์ทางการค้าสายพันธุ์ต่างๆ 11

ตารางที่ 3 อัตราพันธุกรรม (heritability, h^2) ของการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมือง 12

ตารางที่ 4 ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะการให้ผลผลิตไข่ต่อลักษณะการเจริญเติบโตและระบบสืบพันธุ์ของไก่ 13

ตารางที่ 5 การศึกษา Primer ยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP 17

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ 18

ตารางที่ 7 ข้อมูลเชิงพรรณนาของลักษณะผลผลิตไข่ 270 วัน ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 27

ตารางที่ 8 สภาพแวดล้อมในช่วงการทดลองในปี พ.ศ. 2562 29

ตารางที่ 9 ผลของกลุ่มค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ ต่อผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 30

ตารางที่ 10 อิทธิพลของฤดูกาลต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่พันธุ์ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก . 30

ตารางที่ 11 ค่าสหสัมพันธ์ของการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 31

ตารางที่ 12 ข้อมูลของระบบสืบพันธุ์ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 32

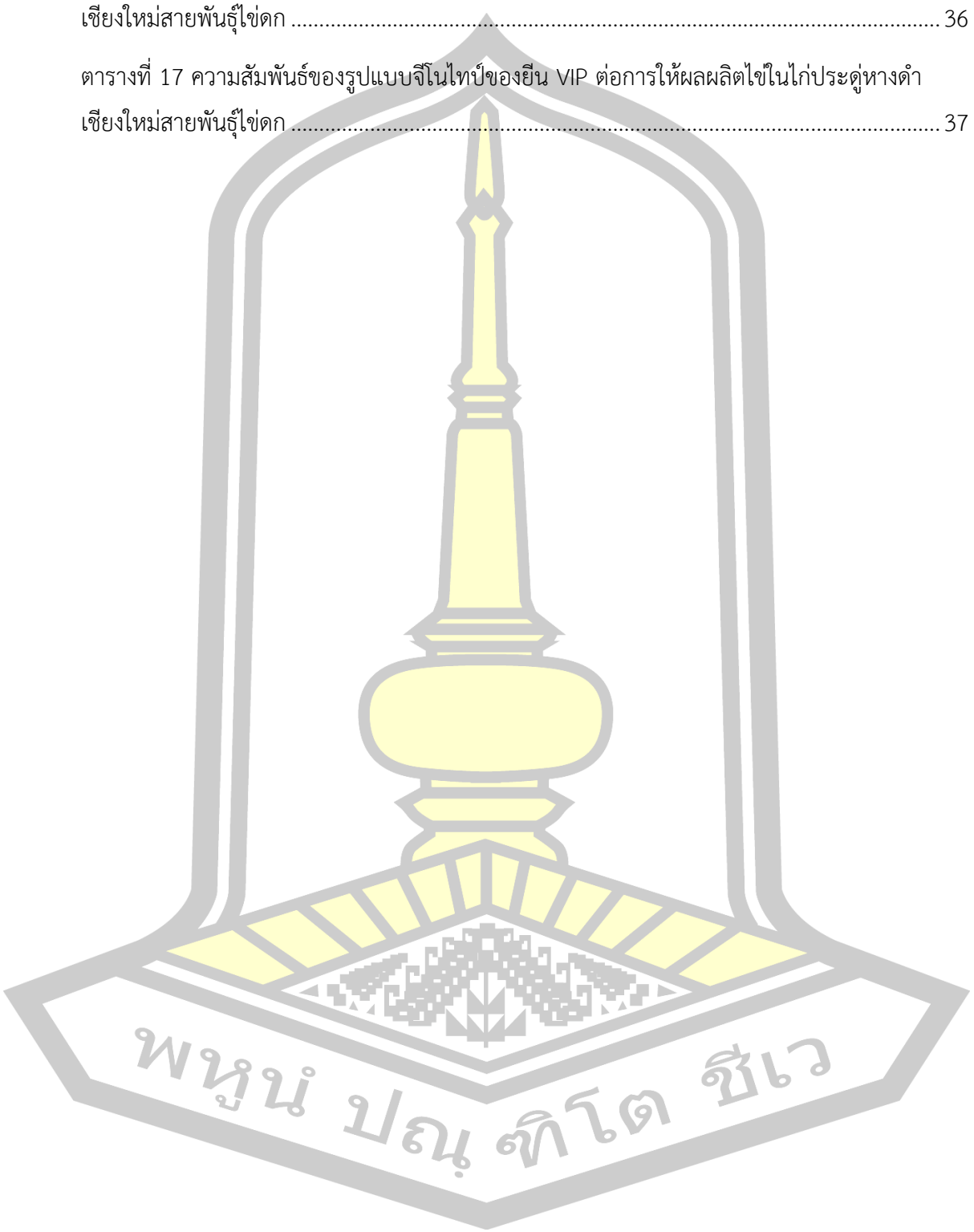
ตารางที่ 13 ข้อมูลลักษณะผลผลิตไข่ตลอดทั้งปีของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 33

ตารางที่ 14 ความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 35

ตารางที่ 15 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 36

ตารางที่ 16 ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 36

ตารางที่ 17 ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP ต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก 37



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะประจำสายพันธุ์ของไก่ประดู่หางดำ (ก) ไก่ประดู่หางดำเพศผู้ และ (ข) ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่เพศเมีย 5

ภาพที่ 2 กลไกการทำงานของฮอร์โมนต่อการออกไข่ของสัตว์ปีก 7

ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ค่าจุดวิกฤติ และค่าดัชนีอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ในปี พ.ศ. 2562 28

ภาพที่ 4 ขนาดชิ้นยีนและรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 34

ภาพที่ 5 ขนาดชิ้นยีนและรูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP 34

พหูน ปณ ฑิโต ชีเว

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

ไก่พื้นเมืองเป็นสัตว์ปีกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีการเลี้ยงอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน นอกจากนั้น ยังมีคุณสมบัติที่โดดเด่นด้านลักษณะของคุณภาพเนื้อและไข่ และยังเป็นที่นิยมของผู้บริโภค ลักษณะการให้ผลผลิตไข่เป็นลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ (economic traits) ในปัจจุบันผู้บริโภคหันมาสนใจและบริโภคเนื้อของไก่พื้นเมืองเพิ่มมากขึ้น แต่ไก่พื้นเมืองยังมีข้อจำกัด คือ มีอัตราการให้ผลผลิตไข่ที่ค่อนข้างต่ำ ไก่พื้นเมืองมีการให้ไข่ปีละ 3 - 5 ชุด ชุดละ 13 ฟอง และมีอัตราการรอดชีวิตโดยการคัดเลือกจากธรรมชาติค่อนข้างต่ำ (ปิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534) กรมปศุสัตว์จึงร่วมมือกับสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ดำเนินการพัฒนาพันธุ์ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกขึ้นที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ โดยพัฒนาปรับปรุงพันธุ์มาจากฝูงไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่เดิมที่สร้างฝูงมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2545 โดยตั้งเป้าหมายให้มีผลผลิตไข่เพิ่มขึ้น 30 เปอร์เซ็นต์ จากฝูงเดิมที่แม่ไก่ให้ผลผลิตไข่ในระบบฟาร์ม เท่ากับ 146.9 ฟองต่อแม่ต่อปี (Kammongkun et al., 2015) เพิ่มขึ้นเป็น 191 ฟองต่อแม่ต่อปี จากที่กล่าวมาทำให้เห็นได้ว่าลักษณะการให้ผลผลิตไข่เป็นลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ หากต้องการเพิ่มศักยภาพการผลิตไข่ของไก่พื้นเมือง แนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหา คือ การปรับปรุงพันธุ์ให้ ไก่พื้นเมืองมีพันธุกรรมการให้ผลผลิตไข่ที่สูงขึ้น ทำให้มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมดังกล่าวไปยังรุ่นต่อไป

ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคทางด้านอณูพันธุศาสตร์ (molecular technique) ในการตรวจสอบยีนเครื่องหมาย (gene marker) ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะที่สนใจ จากการตรวจเอกสารทางวิชาการพบว่า ยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองประเทศเวียดนามและประเทศจีนตามลำดับ (Trong Ngu et al., 2015; H. Xu et al., 2011; Yunjie et al., 2010) โดยยีน DRD2 ทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาทที่กระตุ้นตัวรับ (dopamine receptor) ซึ่งเป็นฮอร์โมนประสาทที่หลั่งจากสมองส่วนไฮโปทาลามัส ช่วยยับยั้งการหลั่งโปรแลคติน (prolactin) และพัฒนาระบบสืบพันธุ์เพศเมียที่มีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนารังไข่ และกระบวนการวางไข่ (จักร อารันยกานนท์ และอรพร หมื่นพล, 2557) ยีน VIP มีบทบาทกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมน prolactin จะถูกหลั่งออกมาจาก lactotroph cell ของต่อมใต้สมอง ควบคุมไม่ให้มีการหลั่งฮอร์โมนมากจนเกินไป หรือลดการหลั่งฮอร์โมนนั้นๆ เช่น หลั่ง follicle stimulating hormone (FSH) และฮอร์โมน luteinizing hormone (LH) (Yupaporn et al., 2005) ซึ่งยีน DRD2 และยีน VIP เป็น candidate gene ที่มีความสัมพันธ์

กับการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ของไก่เพศเมีย และลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ที่มีความสัมพันธ์ต่อการให้ผลผลิตไข่ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก เพื่อใช้เป็นแนวทางในการการคัดเลือกไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตไข่ที่ดีที่สุด และนำไปพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองให้มีไข่ดกขึ้นอีกในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) เพื่อตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

2) เพื่อตรวจสอบความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ สายพันธุ์ไข่ดก

3) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ และใช้ในการพิจารณาการคัดเลือกไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกให้ได้ผลผลิตไข่ที่ดี

4) เพื่อศึกษาผลของค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ สายพันธุ์ไข่ดกต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ที่เลี้ยงภายใต้โรงเรือนระบบเปิดจากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบถึงรูปแบบจีโนไทป์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

2) ทราบถึงความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ สายพันธุ์ไข่ดก

3) ทราบถึงความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

4) ทราบถึงผลของค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

5) ใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกให้มีลักษณะการให้ผลผลิตไข่ที่ดี โดยใช้เป็น genetic marker เพื่อคัดเลือกไก่ที่มีรูปแบบจีโนไทป์ที่มีความสัมพันธ์กับการให้ผลผลิตไข่ที่สูงไว้เป็นพ่อแม่พันธุ์ต่อไป

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไก่พื้นเมือง

ไก่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสัตว์ปีกจำพวกนก แต่เดิมนั้นเป็นไก่ป่า (Red Jungle fowl) ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gallus gallus* บินได้ในระยะสั้นและหากินตามพื้นดิน ลักษณะของเพศผู้หงอนใหญ่และเดือยยาว ไก่พื้นเมืองของไทยมีการเลี้ยงกระจายอยู่ทั่วไป ซึ่งจำแนกตามลักษณะ ภายนอกและสีขน แบ่งออกได้หลากหลายพันธุ์ (Nonta & Saenkhunthow, Chatchawan Prasert, 2005) เช่น ไก่แจ้ ไก่อู ไก่ตะเภา ไก่เบตง และไก่ชน ไก่พื้นเมืองนั้นเป็นไก่ที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงกันอยู่ทั่วไปส่วนใหญ่เป็นไก่อู ซึ่งเป็นไก่พันธุ์หนัก ลำตัวใหญ่ เนื้อมาก น้ำหนักตัวมาก ตัวเมียขนสีดำปกคลุมทั่วทั้งตัว ส่วนตัวผู้มีลักษณะเป็นไก่ชน มีขนาดใหญ่ แข็งแรง ไก่ชนสายพันธุ์ที่พบมีความนิยมเลี้ยง เช่น ไก่เหลืองหางขาว ไก่ประดู่หางดำ ไก่เหลืองเลา ไก่ประดู่เลา ลักษณะของสีแข้งมีสีเหลือง และดำ เพศเมียแข้งคล้ายกับเพศผู้ พ่อพันธุ์หนักประมาณ 3.5 กิโลกรัม และแม่พันธุ์หนักประมาณ 2.5 กิโลกรัม (อัจฉรัตน์ สุวรรณภักดิ์, 2559) โดยทั่วไปส่วนใหญ่สังเกตได้จากไก่เพศเมียจะมีขนสีดำ หน้าดำ และแข้งดำและหงอนหิน แต่จะมีบางสายพันธุ์ที่จะมีสีเทา สีทอง แต่หงอนยังเป็นหงอนหิน ในปัจจุบันเกษตรกรนิยมเลี้ยงไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ไก่ชน เพราะว่าไก่ชนจะมีรูปร่างใหญ่และยาว เจริญเติบโตได้ดีและแม่พันธุ์ให้ไข่ดก เนื่องมาจากมีการปรับปรุงสายพันธุ์ไก่ชนเพื่อคัดเลือกลักษณะดีเด่นไว้อย่างต่อเนื่อง เช่น ประดู่หางดำ เหลืองหางขาว ประดู่เลา เป็นต้น (Promket et al., 2013) การจำแนกไก่พื้นเมืองตามกรมปศุสัตว์ พบว่า ส่วนใหญ่ไก่พื้นเมืองที่โดดเด่น มีหลากหลายสายพันธุ์ แต่ไก่พื้นเมืองที่มีศักยภาพในการสร้างฝูงพันธุกรรมมี 4 สายพันธุ์ ดังนี้

2.1.1 ไก่ประดู่หางดำ

ลักษณะเด่นประจำสายพันธุ์

ลักษณะของไก่เพศผู้ มีรูปร่างสูง บึกบึน หน้าอกกว้าง ลำตัวยาวจับ 2 ท่อน และลำตัวลึก ใบหน้ากลมยาว ผิวเรียบแบบหน้ากา ปากใหญ่ รูจมูกกว้าง สันจมูกเรียบ ขอบตาเป็นรูปวงรีเรียบตามข้างรูหูกลมมีขนปิด และมีสีเขียวอมดำ คอใหญ่ยาวระหง กระดูกป้องคอชิดแน่น ลำคอโค้งเป็นรูปเคียว ขนสร้อยคอขึ้นเรียบเป็นระเบียบ ปีกยาว สนับปีกใหญ่ ปีกเป็นลอนเดียวสีดำ หางพัดและหางกระรวยสีดำสนิท หางพัดเรียงกันจากล่างขึ้นบน ส่วนหางกระรวยดกยาวเป็นฟ่อนข้าว ก้านหางแข็ง ปลายหางชี้ตรง กระเบนหางคอดรัด เดือยแบบขนเม่นและงาช้างเดือยแหลมคม สีขนพื้นตัวหน้าคอหน้าท้องใต้ท้อง ใต้ปีกเป็นสีดำตลอด และขนหางพัดและหางกระรวยมีสีดำสนิท ส่วนสีขนสร้อยคอสร้อยปีกสร้อยหลัง และระย้ามีสีน้ำตาลอมดำ ลักษณะของไก่เพศเมีย ลักษณะเด่นคือเป็นไก่ทรงยาว

จับ 2 ท่อน คอยาวลอนเดียว ขนพื้นตัวขนหางทั้งหมด เป็นสีดำขนคอขนหลังปลายขนมีสีเขียวอมดำเล็กน้อยตามสีตัวผู้ เป็นสีเขียวสังเกตที่ปลายขนคอ จะเป็นสีเขียวเล็กน้อยปากแข้ง เล็บ เดือย ตา สีเขียวอมดำ ตามสีตัวผู้ (ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์, 2560) ดังแสดงในภาพที่ 1

(ก) (ข)

ภาพที่ 1 ลักษณะประจำสายพันธุ์ของไก่ประดู่หางดำ (ก) ไก่ประดู่หางดำเพศผู้ และ (ข) ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่เพศเมีย

2.1.2 ไก่ชี

ลักษณะเด่นประจำสายพันธุ์

ลักษณะของไก่เพศผู้และเพศเมีย จะมีลักษณะเหมือนกัน คือ มีรูปร่างสูงโปร่ง อกกว้างว่องไวปราดเปรียว ขนลำตัว สร้อยคอ สร้อยหลัง และขนหางมีสีขาว ขนปิดหูสีขาว หน้าสีแดง ตาสีเหลือง ปากและแข้งสีเหลือง ผิวหนังสีขาวอมเหลือง ยกเว้นแต่ไก่เพศผู้จะมีหงอนถั่วหรือหงอนหิน (Promket et al., 2013)

2.1.3 ไก่เหลืองหางขาว

ลักษณะเด่นประจำสายพันธุ์

ลักษณะไก่เพศผู้ ขนพื้น ขนหน้าคอ หน้าอก ใต้ท้อง ปีก ก้น และขนน่องมีสีดำ ขนสร้อยคอ สร้อยหลัง สร้อยปีก มีสีเหลืองทองรับกัน ขนปีกส่วนในสีดำ ส่วนนอกสีขาว ปีกไขมีแซมขาว ขนหางพัดสีดำ หางกะลวยคู่กลางซึ่งเป็นหางเอกสีขาวปลอดชัดเจน ขนปิดหู มีสีเดียวกับสร้อย คือ สีเหลืองแซมด้วยสีดำ และสีขาว ทั้งปากบนและปากล่าง มีสีขาวอมเหลือง นัยน์ตาดำ รอบนัยน์ตาสีขาวอมเหลือง หรือขาวซีด หน้าแข้งและท้องแข้งสีขาวอมเหลือง เช่นเดียวกับตาและปาก ลักษณะของไก่เพศเมีย ขนพื้นที่หน้าคอ อก ท้อง ปีก และก้น สีดำตลอดลำตัว ปีกในดำ ปีกนอกขาว ขนสร้อยคอ

ขลิบเหลือง ขนขลิบสร้อยสีเหลือง ขนหางสีดำ ปลายหางขาว ปาก ตา แข้ง และเล็บ มีสีขาวอมเหลือง เช่นเดียวกับเพศผู้ บางตัวมีเดือยสีเดียวกัน (Nonta & Saenkhunthow, Chatchawan Prasert, 2005)

2.1.4 ไก่แดง

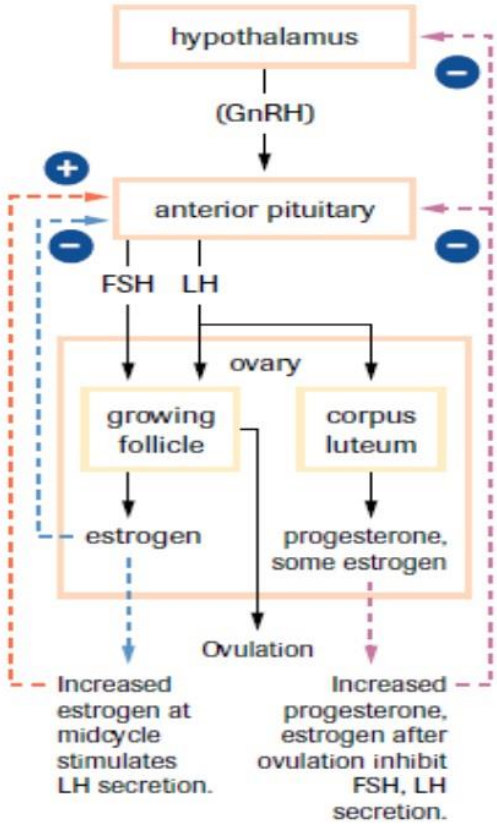
ลักษณะเด่นประจำสายพันธุ์

ลักษณะไก่เพศผู้ ขนพื้นลำตัว หน้าคอ หน้าท้อง ขนใต้ปีก ขนสร้อยคอ และสร้อยปีกสีแดง ส่วนขนหางมีสีดำหรือแดงเป็นพวงยาว มีขนขาวแซม ขนลำตัวมีสีแดง สีหน้าแดง สีตาน้ำตาลอมเหลือง ปากและแข้ง มีสีเหลือง สีผิวหนังขาวอมเหลือง และมีหงอนหิน ลักษณะไก่เพศเมีย ลักษณะไก่เพศเมียมีขนหางสีแดง ท้ายมนกลม กระรวยหางรัดยาว ขนพื้นลำตัวด้านล่าง หน้าคอ หน้าอก ปีก ใต้ท้อง ก้น สีแดง ขนหางพัดสีดำ ขนทับหางสีแดง ปากแข็ง เล็บ และเดือยมีสีเหลือง (Nonta & Saenkhunthow, Chatchawan Prasert, 2005)

2.2 การให้ผลผลิตไข่

การให้ไข่ของไก่พื้นเมือง จะเริ่มต้นเมื่อไก่มีอายุ 18 - 20 สัปดาห์ และก่อนจะวางไข่ขนาดของเซลล์ในรังไข่และถุงหุ้มไข่ (follicle) จะขยายเพิ่มขึ้นเมื่อถึงวัยเจริญพันธุ์ รังไข่ซึ่งจะมีไข่อ่อนอยู่ภายในเป็นจำนวนหลายพันฟองจะเจริญขึ้นมาแทนที่ และตกไข่ในวันถัดมาจนครบ 4 - 6 ฟอง จะมีการเจริญขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นจะหยุดพักประมาณ 24 - 36 ชั่วโมง แล้วจึงมีการตกไข่ต่อเนื่องจำนวนไข่ไก่แต่ละชุดที่แม่ไก่ไข่ติดต่อกันทุกวันโดยไม่หยุดเรียกว่า ตับไข่ (clutch) (Soipeth et al., 2017)

การออกไข่ของไก่พื้นเมืองจะมีความสัมพันธ์กับระดับของฮอร์โมน gonadotropins releasing (GnRH) ซึ่งฮอร์โมนนี้จะไปกระตุ้นต่อมใต้สมองส่วนหน้า ให้หลั่งฮอร์โมนลูติไนซิง (luteinizing hormone, LH) และฟอลลิเคิลสติมูเลติง (follicle stimulating hormone, FSH) มีผลกระตุ้นการเจริญเนื้อเยื่อฟอลลิเคิล (follicle) ที่อยู่ในรังไข่ ทำให้ฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) และฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) เพิ่มขึ้นในระบบไหลเวียนเลือด ซึ่งเป็นฮอร์โมนกระตุ้นให้เกิดการตกไข่จาก follicle รวมไปถึงฮอร์โมนโปรแลคติน (prolactin, PRL) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่มีปัจจัยสำคัญต่อสาเหตุที่ทำให้แม่ไก่เกิดพฤติกรรมการฟักไข่ (Yupaporn et al., 2005) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กลไกการทำงานของฮอร์โมนต่อการออกไข่ของสัตว์ปีก

ไก่พื้นเมืองมีการฟักไข่โดยแม่ไก่ด้วยวิธีธรรมชาติหรือ เรียกว่า การกกไข่ เป็นการฟักไข่โดยแม่ไก่จะวางไข่ในรัง หลังจากแม่ไก่วางไข่ได้จำนวน 8 - 10 ฟอง จำนวนไข่และอุณหภูมิของไข่ จะกระตุ้นบริเวณท้องแม่ไก่ส่งความรู้สึกผ่านเส้นประสาทไปยังต่อมใต้สมอง ปลดปล่อยฮอร์โมน prolactin ออกมาสู่กระแสเลือด ทำให้แม่ไก่เกิดรอยฟักบนหน้าอก 3 รอยฟัก คือ รอยตรงกลาง และรอยด้านข้างทั้ง 2 ข้าง บริเวณดังกล่าวขนจะร่วง มีเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยงมากและบวมคล้ายฟองน้ำ เมื่อสัมผัสจะรู้สึกร้อน การฟักไข่ด้วยวิธีนี้ คือ การถ่ายเทความร้อนจากตัวแม่ไก่ไปสู่ไข่โดยผ่านทางรอยฟัก ในขณะฟักไข่ระยะแรกแม่ไก่จะใช้เวลาส่วนใหญ่ในรังวางไข่ ระยะกลางและระยะท้าย แม่ไก่จึงใช้เวลานอกรังวางไข่เพิ่มขึ้น ขณะฟักไข่แม่ไก่จะทำการเขี่ยไข่ (กลับไข่) วันละประมาณ 96 ครั้ง เพื่อให้ไข่ทุกฟอง ได้รับความอบอุ่นจากการฟักใกล้เคียงกัน หลังจากฟักไข่ได้ 21 วัน ลูกไก่จะเริ่มเจาะเปลือกน้ำแม่ไก่และลูกลงจากรังวางไข่ในวันที่ 22

2.2.1 ปัจจัยที่ส่งผลต่อผลผลิตไข่

1) การคัดเลือก

การวิวัฒนาการของไก่ที่มีการคัดเลือกโดยธรรมชาติ (natural selection) ซึ่งรวมถึงการเกิดภัยธรรมชาติรุนแรง สัตว์เลี้ยงตายลง หรือมีโรคระบาดรุนแรง ทำให้สูญเสียไก่พื้นเมืองเป็นจำนวนมาก เหลือให้ขยายพันธุ์เพียงจำนวนหนึ่ง โดยปกติจะเหลือต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ส่งผลกระทบต่อผลผลิตไข่ที่ลดต่ำลง (Nonta & Saenkhunthow, Chatchawan Prasert, 2005) เนื่องจากการคัดเลือกไก่พื้นเมืองโดยธรรมชาตินั้น ใช้ระยะเวลาการขยายพันธุ์อย่างล่าช้า ปัจจุบัน มนุษย์จึงเข้ามาช่วยในการคัดเลือกสัตว์ เพื่อเพิ่มจำนวนประชากร และมีลักษณะทางเศรษฐกิจตามความต้องการของผู้บริโภค เช่น การคัดเลือกไก่ ที่มีไข่ดกเก็บไว้และคัดเลือกไก่ที่ไม่มีการให้ไข่ออกจากฝูง และไก่ที่มีอาการป่วย บาดเจ็บ หรือ มดลูกทะลักออกจากฝูง

2) สายพันธุ์

ไก่พื้นเมืองมีความหลากหลายทางสายพันธุ์ ได้แก่ ไก่แจ้ ไก่อู ไก่ตะเภา ไก่เบตง และ ไก่ชน สายพันธุ์ของไก่พื้นเมืองมีความสำคัญ เนื่องจาก ไก่พื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์จะมีลักษณะประจำพันธุ์ที่โดดเด่น และสภาพแวดล้อมของถิ่นกำเนิด เมื่อเกิดการผสมพันธุ์ของไก่จะทำให้มีการแสดงออกของลักษณะปรากฏที่แตกต่างกัน เช่น ลักษณะสีขน ลักษณะหงอน ลักษณะการให้ผลผลิตไข่ และขนาดของน้ำหนักตัว

3) อัตราการเลี้ยงรอด

อัตราการตายของไก่จะขึ้นอยู่กับหลายสาเหตุ เช่น โรงเรือน อายุของพ่อแม่พันธุ์การจัดการในฝูง และสภาวะการเกิดโรค โดยปกติอัตราการตายของไก่ในช่วงสัปดาห์แรก ไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ และสัปดาห์ที่สอง ไม่เกิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ การตายของไก่ระหว่างการเลี้ยงส่งผลต่อการให้ผลผลิตไข่เป็นตัวบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพและข้อผิดพลาดของการจัดการ และยังสูญเสียไข่และผลกำไรอีกด้วย เนื่องจากอัตราการตายที่สูงจะทำให้ต้นทุนการผลิตไข่ต่อฟองเพิ่มขึ้น

4) การจัดการแสงสว่าง

การเพิ่มความยาวแสง เพื่อกระตุ้นการเป็นหนุ่มเป็นสาว ไก่แต่ละสายพันธุ์จะมีน้ำหนักตัวไม่เท่ากัน จะกระทำเมื่อไก่มีน้ำหนักตัวถึงน้ำหนักมาตรฐานที่กำหนดไว้หรือน้ำหนักพิกัด ดังนั้น ทำให้ไก่มีการเจริญพันธุ์และให้ผลผลิตไข่รวดเร็วขึ้น

5) การเก็บรักษาไข่

ควรเก็บไข่ให้บ่อยครั้ง หรืออย่างน้อยวันละ 4 ครั้ง หลังเก็บไข่แล้วควรทำความสะอาดแล้วเก็บไข่ไว้ในห้องเย็น ถ้าเก็บไว้หลายวันควรเก็บไข่ที่อุณหภูมิ 50 - 55 องศาฟาเรนไฮต์ และมีความชื้นสัมพัทธ์ 75 - 80 เปอร์เซ็นต์ เพื่อรักษาสภาพของไข่ไว้ให้สดอยู่เสมอ (กานดา ล้อแก้วมณี, 2558)

2.3 ค่าสังเกตที่สำคัญเกี่ยวกับการให้ผลผลิตไข่

2.3.1 ผลผลิตไข่ต่อปี

เนื่องมาจากความหลากหลายของสายพันธุ์ไก่พื้นเมือง ลักษณะการให้ผลผลิตไข่จึงมีความแตกต่างกันออกไปในแต่ละสายพันธุ์ โดยไก่พื้นเมืองมีจำนวนผลผลิตไข่อยู่ระหว่าง 60.00 - 194.75 ฟองต่อปี (Boonkum et al., 2014; Yupaporn et al., 2005; Zhou et al., 2010; ปิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534) ซึ่งจะเห็นได้ว่า ไก่พันธุ์ประดู่หางดำเชียงใหม่มีจำนวนผลผลิตไข่ต่อปีอยู่ที่ 140 ฟองต่อปี (Boonkum et al., 2014) ไก่พันธุ์ประดู่หางดำเชียงใหม่มีจำนวนผลผลิตไข่ต่อปีอยู่ที่ 147 ฟองต่อปี (พรพิมล ใจไหว และคณะ, 2554)

2.3.2 ผลผลิตไข่ต่อตับ

ไก่พื้นเมืองมีพฤติกรรมการให้ผลผลิตไข่เป็นชุด โดยจะเห็นได้ว่า จำนวนไข่ที่แม่ไก่ไข่ติดต่อกันทุกวันโดยไม่หยุดเรียกว่า ตับไข่ (clutch) หรือไข่จำนวน 1 ชุด ซึ่งไก่พื้นเมืองมีลักษณะการให้ผลผลิตไข่อยู่ในช่วงระหว่าง 3 - 5 ชุดต่อปี และมีจำนวนไข่ต่อชุดอยู่ที่ 13 ฟอง (ปิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534)

2.3.3 อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก

การเริ่มให้ไข่ฟองแรกของไก่ สามารถควบคุมได้โดยการใช้โปรแกรมการให้แสงสว่างและการควบคุมอาหารหรือควบคุมน้ำหนักตัว หากไก่ออกไข่ฟองแรกช้าออกไปจะทำให้ต้นทุนการผลิตไข่เพิ่มขึ้น ไก่พื้นเมืองมีอายุการให้ไข่ฟองแรกอยู่ในช่วงระหว่าง 136.34 – 203.00 วัน (Boonkum et al., 2014; Oleforuh-okoleh, 2011; Zhou et al., 2010; ปิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534; สุจิตรา สราวิช และคณะ, 2557) และพบว่า ไก่พันธุ์ประดู่หางดำมีระยะเวลาในการออกไข่ฟองแรกช้าที่สุด คือ 203 วัน ด้วยสาเหตุนี้จึงอาจส่งผลทำให้จำนวนผลผลิตไข่ต่อปี มีจำนวนลดลงตามไปด้วย

2.3.4 น้ำหนักไข่

น้ำหนักไข่มีผลต่ออัตราการฟักออกและขนาดลูกไก่ (ประภากร, 2560) ซึ่งไก่พื้นเมืองจะมีน้ำหนักไข่เฉลี่ยที่ค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับไก่สายพันธุ์ทางการค้า โดยมีน้ำหนักไข่ฟองแรกเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 30.62 - 41.80 กรัมต่อฟอง (Oleforuh-okoleh, 2011; ปิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534) และมีน้ำหนักไข่เฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 36.51 - 47.77 กรัมต่อฟอง (Buctot & Espina, 2015; Oleforuh-okoleh, 2011; Sapkota & , N.R. Devkota, 2017; ปิ่น จันจุฬา และคระ, 2534) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมือง

ลักษณะ	สายพันธุ์	ประชากร	ค่าเฉลี่ย	อ้างอิง
จำนวนผลผลิตไข่ (ฟองต่อปี)	ไก่พื้นเมืองไทย	ไก่เบตง	60.00	(บิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534)
		ไก่พันธุ์ประดู่หางดำ	140.00	(Boonkum et al., 2014)
	ไก่พื้นเมืองจีน	Ningdu Sanhuang	113.92	(Zhou et al., 2010)
	ไก่พื้นเมืองเนปาล	Chicken Sakini	111.90	(Sapkota & , N.R. Devkota, 2017)
จำนวนผลผลิตไข่ต่อชุด (ฟองต่อชุด)	ไก่พื้นเมืองไทย	ไก่เบตง	13.00	(บิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534)
อายุให้ไข่ฟองแรก (วัน)	ไก่พื้นเมืองไทย	ไก่เบตง	161.00	(บิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534)
		ไก่พันธุ์ประดู่หางดำ	203.00	(Boonkum et al., 2014)
		ไก่ชี	171.10	(สุจิตรา สราวิช et al., 2557)
	ไก่พื้นเมืองจีน	Ningdu Sanhuang	136.34	(Zhou et al., 2010)
	ไก่พื้นเมืองไนจีเรีย	Nigerian local	159.47	(Oleforuh-okoleh, 2011)
น้ำหนักไข่ฟองแรก (ฟองต่อกรัม)	ไก่พื้นเมืองไทย	ไก่เบตง	38.50	(บิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534)
	ไก่พื้นเมืองไนจีเรีย	Nigerian local	30.62	(Oleforuh-okoleh, 2011)
น้ำหนักไข่ (ฟองต่อกรัม)		ไก่เบตง	47.77	(บิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534)
	ไก่พื้นเมืองไนจีเรีย	Nigerian local	36.51	(Oleforuh-okoleh, 2011)
	ไก่พื้นเมืองฟิลิปปินส์	Native chicken	39.00	(Buctot & Espina, 2015)
	ไก่พื้นเมืองเนปาล	Chicken Sakini	44.56	(Sapkota & , N.R. Devkota, 2017)

ไก่ไข่สายพันธุ์ทางการค้าเป็นไก่ไข่ที่ถูกพัฒนาและปรับปรุงให้มีการให้ผลผลิตไข่ในระยะเวลารวดเร็วขึ้น และมีการให้ผลผลิตไข่สูง โดยไก่ไข่สายพันธุ์ทางการค้ามีจำนวนผลผลิตไข่ต่อปีเฉลี่ยอยู่ที่ 87.51 – 96.71 เปอร์เซ็นต์ (บัณฑิตา , 2557; ภุชงค์ และไพโชค, 2558; กานดา และคณะ, 2559; ญาณิศา และจิรสิน, 2561) ซึ่งมีจำนวนผลผลิตไข่ต่อชุด 24 ฟองต่อชุด (Gjorgovska et al., 2016) มี

อายุการให้ไข่ฟองแรกอยู่ในช่วงระหว่าง 135 – 161.80 วัน (รังสรรค์ และคณะ, 2559; ธารทิพย์, 2559) และมีน้ำหนักไข่เฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 55 – 67.53 กรัมต่อฟอง (บัณฑิตา, 2557; Englmaierova et al., 2014; ภุชงค์ และไพโรจน์, 2558; ธารทิพย์, 2559; กานดา และคณะ, 2559; Gjorgovska et al., 2016; ญาณิศา และจิรสิน, 2561) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การให้ผลผลิตไข่ในไก่ไข่สายพันธุ์ทางการค้าสายพันธุ์ต่างๆ

ลักษณะ	ประชาการ	ค่าเฉลี่ย	อ้างอิง
จำนวนผลผลิตไข่ต่อปี (เปอร์เซนต์)	ไก่พันธุ์อิซาบราวน์	87.51	(บัณฑิตา ทักขนนท์, 2554)
	ไก่ไข่พันธุ์ซีพีบราวน์	87.75	(กานดา ล้อแก้วมณี และคณะ, 2559)
	ไก่ไข่พันธุ์ซีพีบราวน์	90.50	(ญาณิศา รัชดาภรณ์วานิช และ จิรสิน พันธุ์โสดา, 2561)
จำนวนผลผลิตไข่ต่อชุด (ฟองต่อชุด)	ไก่ไข่ Hisex Brown	24.00	(Gjorgovska et al., 2016)
อายุการให้ไข่ฟองแรก (วัน)	ไก่พันธุ์โรดไอส์แลนด์	161.00	(Thanthip, 2016)
	ไก่พันธุ์พลีมัทร็อค	161.00	
	ไก่พันธุ์เล็กฮอร์นขาว	135.00	
น้ำหนักไข่ (ฟองต่อกรัม)	ไก่พันธุ์อิซาบราวน์	59.04	(บัณฑิตา ทักขนนท์, 2554)
	ไก่ไข่ Hisex Brown	60.10	(Englmaierová et al., 2014)
	ไก่พันธุ์โรดไอส์แลนด์	55.00	(Thanthip, 2016)
	ไก่พันธุ์พลีมัทร็อค	55.00	
	ไก่พันธุ์เล็กฮอร์นขาว	62.00	
	ไก่ไข่พันธุ์ซีพีบราวน์	62.25	(กานดา ล้อแก้วมณี และคณะ, 2559)
	ไก่ไข่ Hisex Brown	67.53	(Gjorgovska et al., 2016)
	ไก่ไข่พันธุ์ซีพีบราวน์	56.98	(ญาณิศา รัชดาภรณ์วานิช และ จิรสิน พันธุ์โสดา, 2561)

2.4 การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding)

การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม คือ การคัดเลือกสัตว์จากการแสดงออกของลักษณะปรากฏ (phenotype) และข้อมูลพันธุ์ประวัติ (pedigree) แต่อย่างไรก็ตาม ลักษณะการแสดงออกจะขึ้นอยู่กับอิทธิพลของพันธุกรรม (genetic) รวมกับอิทธิพลเนื่องจากสิ่งแวดล้อม (environment) การประเมินพันธุกรรมโดยการบันทึกลักษณะปรากฏร่วมกับข้อมูลพันธุ์ประวัติการแสดงออก และนำข้อมูลไปประเมินพันธุกรรมเพื่อให้ได้ค่าคุณค่าการผสมพันธุ์ (estimated breeding value, EBV) จากนั้นจึงคัดเลือกสัตว์ที่มีค่า EBV ของลักษณะที่สนใจสูงเป็นพ่อแม่พันธุ์ เพื่อถ่ายทอดพันธุกรรมไปยังรุ่นต่อไป ข้อจำกัดของการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม คือ ต้องใช้ระยะเวลานาน เนื่องจากต้องมีการเก็บบันทึกข้อมูลการแสดงออกของสัตว์ก่อน และทราบอัตราพันธุกรรมของสัตว์ จึงจะสามารถนำมาประเมินค่า EBV ได้ (Promket et al., 2013; วุฒิพงษ์ อินทรธรรม, 2556) และมีการรายงานค่าอัตราพันธุกรรม (heritability, h^2) ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมือง ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งจะแสดงให้เห็นได้ว่า ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะให้ผลผลิตไข่มีค่าปานกลางโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.15 – 0.43 แสดงให้เห็นว่า ลักษณะการให้ผลผลิตไข่มีอิทธิพลจากพันธุกรรม 15 – 43 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

ตารางที่ 3 อัตราพันธุกรรม (heritability, h^2) ของการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมือง

ลักษณะ	อัตราพันธุกรรม	อ้างอิง
จำนวนผลผลิตไข่ต่อปี	0.26	(Kunhareang et al., 2012)
	0.16	(Niknafs et al., 2012)
	0.15	(ณัฐวัฒน์ ตันพล, 2556)
	0.29	(Boonkum et al., 2013)
	0.34	(กนก เชาวภาษี และคณะ, 2558)
อายุการให้ไข่ฟองแรก	0.16	(Niknafs et al., 2012)
	0.20	(กนก เชาวภาษี และคณะ, 2558)
น้ำหนักไข่ฟองแรก	0.43	(Niknafs et al., 2012)
	0.40	(กนก เชาวภาษี และคณะ, 2558)
น้ำหนักไข่	0.43	(Niknafs et al., 2012)

2.5 ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะการให้ผลผลิตไข่และระบบสืบพันธุ์ของไก่

ค่าสหสัมพันธ์ คือ เป็นการศึกษาทิศทางความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะการแสดงออก 2 ลักษณะ โดยมี Correlation Coefficient (r) หรือ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เป็นตัวบ่งชี้ถึง

ความสัมพันธ์นี้ ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์นี้จะมีค่าอยู่ระหว่าง -1.0 ถึง +1.0 ซึ่งหากมีค่าใกล้ -1.0 นั้นหมายความว่าลักษณะทั้ง 2 ลักษณะ มีความสัมพันธ์กันอย่างมากในเชิงตรงกันข้าม หากมีค่าใกล้ +1.0 นั้นหมายความว่า ลักษณะทั้ง 2 ลักษณะ มีความสัมพันธ์กันโดยตรงอย่างมาก และหากมีค่าเป็น 0 นั้นหมายความว่า ลักษณะทั้ง 2 ลักษณะ ไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงต่อกัน

ค่าสหสัมพันธ์ของพันธุกรรมระหว่างลักษณะการให้ผลผลิตไข่ต่อลักษณะการเจริญเติบโตและระบบสืบพันธุ์ของไก่ จากการรวบรวมเอกสาร ค่าสหสัมพันธ์ของไก่ระหว่างลักษณะการให้ผลผลิตไข่และการเจริญเติบโตแสดงผลเชิงบวก โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.11 – 0.29 (Dana et al., 2011; Magothe et al., 2007; Niknafs et al., 2012; Zonuz et al., 2013) และค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะการให้ผลผลิตไข่และระบบสืบพันธุ์ของไก่แสดงผลเชิงบวกเช่นเดียวกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.167 – 0.230 (Chao & Lee, 2001; Orunmuyi et al., 2007) (ตารางที่ 4) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหากมีการปรับปรุงพันธุ์ให้ไก่มีผลผลิตไข่ที่ดี จะส่งผลให้ไก่มีการเจริญเติบโตและระบบสืบพันธุ์ที่ดีตามไปด้วย

ตารางที่ 4 ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะการให้ผลผลิตไข่ต่อลักษณะการเจริญเติบโตและระบบสืบพันธุ์ของไก่

ลักษณะ	ประชากร	ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม	อ้างอิง
การเจริญเติบโต (น้ำหนักตัว)	Chicken in Kenyo	+ 0.110	(Magothe et al., 2007)
	Horro chicken	+ 0.150	(Dana et al., 2011)
	Native chicken in Isan	+ 0.290	(Niknafs et al., 2012)
	Native chicken in Isan	+ 0.140	(Zonuz et al., 2013)
ระบบสืบพันธุ์	Native chicken in Taiwan	+ 0.167	(Ngu, 2016)
	Rhode Island chicken	+ 0.230	(Orunmuyi et al., 2007)o

2.6 การคัดเลือกโดยวิธี Marker assisted selection (MAS)

Marker assisted selection คือวิธีการในการคัดเลือกพันธุ์สัตว์ โดยการตรวจหาเครื่องหมายพันธุกรรม (genetic marker) ที่เป็นยีนหรือชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะที่สนใจ โดย gene marker ที่ดีควรสามารถตรวจหาได้ง่าย โดยใช้วิธีการทางห้องปฏิบัติการ

และเมื่อตรวจพบยีนเหล่านี้แล้ว มีความเป็นไปได้สูงมากที่สัตว์นั้นจะมียีนที่สนใจอยู่ในบริเวณนั้นๆ ซึ่งในปัจจุบันนักปรับปรุงพันธุ์สัตว์สามารถใช้ gene marker ช่วยในการคัดเลือกสัตว์ ดังนั้นการคัดเลือกด้วยวิธี MAS สามารถคัดได้ในสัตว์ทุกช่วงอายุ และสามารถคัดเลือกได้อย่างแม่นยำเพราะเป็นการคัดเลือกจากข้อมูลพันธุกรรมของสัตว์แต่ละตัว นอกจากนั้นยังสามารถนำข้อมูลจีโนไทป์เข้ามาร่วมประเมินคุณค่าการผสมพันธุ์ได้โดยกำหนดให้จีโนไทป์เป็นอิทธิพลคงที่ (fixed effect) โดยใช้สมการซึ่งจะมีความแม่นยำเพิ่มมากขึ้น (ธานี ศรีวงศ์ชัย, 2550)

2.7 เทคนิคทางด้านอณูพันธุศาสตร์ (molecular technique)

ยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะต่างๆ ถูกนำมาศึกษาความหลากหลาย (polymorphism) เพื่อค้นหาอัลลีลที่ใช้เป็น genetic maker ทางพันธุกรรม ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงจากปกติ โดยเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการถ่ายทอดทางพันธุกรรมและสามารถเกิดได้กับดีเอ็นเอทั้งในส่วนที่เป็นยีนและส่วนที่ไม่ใช้ยีน การเปลี่ยนแปลงในส่วนที่เป็นยีน จะส่งผลต่อลักษณะทางพันธุกรรมและทำให้เกิดความแตกต่างของลักษณะปรากฏ (phenotype) การพัฒนาเทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล สามารถตรวจหาความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในประชากร และความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดระหว่างประชากรได้ ดังนั้นจึงมีการใช้ genetic marker เพื่อศึกษาตำแหน่งของยีนที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะต่างๆ ที่สำคัญทางเศรษฐกิจ โดยคุณสมบัติของ genetic marker สิ่งที่ควรคำนึงถึงสำหรับการใช้ genetic marker เพื่อคัดเลือกสัตว์หรือควบคุมลักษณะที่ปรากฏที่สนใจคือ genetic marker ที่เลือกใช้ต้องไม่ส่งผล ต่อการแสดงออกของลักษณะปรากฏ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นบริเวณของ DNA ที่ไม่ใช้ยีน (noncoding DNA) และ genetic marker ควรมีความสัมพันธ์กับลักษณะที่ต้องการคัดเลือกโดย genetic marker แต่ละชนิดมีคุณสมบัติและลักษณะที่แตกต่างกัน (Promket et al., 2013)เทคนิคในการตรวจหา genetic marker มีด้วยกันหลายเทคนิค ดังนี้

2.7.1 เทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

เป็นเทคนิคที่ใช้หลักการของ sequence polymorphism ซึ่งเกิดขึ้นในลำดับดีเอ็นเอของยีนในสิ่งมีชีวิต ในบางครั้งการเกิด polymorphism หรือ mutation ที่เกิดขึ้นในจีโนมนั้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อตำแหน่งการตัดจำเพาะ (restriction site) ของเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ได้ เมื่อลำดับดีเอ็นเอเกิด mutation ขึ้น ทำให้ไม่สามารถถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะได้ จากลักษณะนี้เองทำให้สายดีเอ็นเอของยีนที่สกัดจากสิ่งมีชีวิตที่ถูกเอนไซม์ตัดได้ จะมีขนาดเล็กกว่าสายดีเอ็นเอของยีนเดียวกันนี้ที่สกัดจากสิ่งมีชีวิตที่มีส่วนนี้ที่ไม่สามารถตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียวกันนี้ได้ ความแตกต่างในความยาวของสายดีเอ็นเอชนิดเดียวกันที่ตัดด้วยเอนไซม์ ตัดจำเพาะชนิดเดียวกัน

ที่เรียกว่า RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) เกิดขึ้นเนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงของเบสบางเบสในสายดีเอ็นเอ (Nakkuntod & Kongbungkerd, 2015)

2.7.2 เทคนิค Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

single nucleotide polymorphism ใช้คำย่อว่า SNP เป็นความแปรผันหลากหลาย ทางพันธุกรรม (genetic polymorphism) รูปแบบหนึ่ง โดย SNP เป็นความแตกต่างกันของลำดับเบส 1 ตำแหน่ง แต่เมื่อพิจารณา SNP ที่เกิดขึ้นหลายๆ ตำแหน่งร่วมกัน จะเกิดรูปแบบของความแตกต่างของการเรียงลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอ ที่เรียกว่า haplotype ถ้าขยายดีเอ็นเอ ของสิ่งมีชีวิตจะเห็นโครงสร้างที่เกิดจากการเรียงตัวกันของนิวคลีโอไทด์ ที่มีเบส 4 ชนิด คือเบสกลุ่มพิวรีน (purine) ได้แก่ อะดีนีน (A) และกวานีน (G) กับเบสกลุ่มไพริมิดีน (pyrimidine) ได้แก่ ไซโทซีน (C) และไทมีน (T) ในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน การเรียงตัวของลำดับเบสบนดีเอ็นเอ แทบจะเหมือนกันทั้งหมด แต่จะมีบางตำแหน่งที่ลำดับเบสแตกต่างกันไป ความแตกต่างนี้เกิดจากการแทนที่คู่เบส (base-pair substitution) ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้ 4 รูปแบบจากการแทนที่คู่เบสทั้ง 4 ชนิด (กรเกียรติ วงศ์ไพศาลสิน, 2555)

2.7.3 เทคนิค Amplified fragment Length Polymorphisms (AFLP)

เป็นการตรวจหา genetic marker ที่ตัดสายดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ให้ชิ้นดีเอ็นเอมีขนาดเล็ก และสามารถเพิ่มจำนวน โดยปฏิกิริยา PCR ได้ดี จากนั้นทำการเชื่อมต่อท่อนดีเอ็นเอ เข้ากับ adapter ที่ปลายของท่อนดีเอ็นเอต่อจากตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ ซึ่งทำหน้าที่เป็นตำแหน่งจับจำเพาะของ primer ในการทำปฏิกิริยา PCR การทำ AFLP จะได้จำนวนและขนาดดีเอ็นเอแตกต่างกันในสัตว์แต่ละตัว จึงสามารถใช้แยกความแตกต่างของจีโนไทป์ ในสัตว์แต่ละตัวได้ อย่างไรก็ตามการใช้ AFLP เป็น gene marker มีข้อจำกัด คือ รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ มีความหลากหลายสูงมากในสัตว์ และไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสัตว์ที่มียีนสภาพ homozygous และ heterozygous (Haseeb Malik et al., 2018)

2.8 กลไกการทำงานของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในสิ่งมีชีวิต

2.8.1 กลไกการทำงานของยีน Dopamine receptor D2 type (DRD2)

โดพามีน (dopamine) ทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) คอยกระตุ้นตัวรับโดพามีน (dopamine receptor) ซึ่งเป็นฮอร์โมนประสาท (neurohormone) ที่หลั่งมาจากสมองส่วนไฮโปทาลามัส (hypothalamus) ทำหน้าที่ยับยั้งการหลั่งโปรแลคติน (prolactin) จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary) และยับยั้งการเจริญพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนารังไข่ และกระบวนการวางไข่ โดยการหลั่งสาร dopamine ต่อมใต้สมองไปยังต่อมใต้สมองส่วนหน้า ถูกขัดขวางโดยการตัดก้านต่อมใต้สมอง ส่งผลทำให้ระดับโปรแลคตินเพิ่มสูงขึ้นจนเกิดภาวะ hyperprolactinemia ได้ ทำให้การทำงานของระบบสืบพันธุ์ เกิดสภาวะรังไข่ทำงานพกพร่องและรบกวนการหลั่งของ gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) และยับยั้งการหลั่ง follicle stimulating hormone (FSH) และฮอร์โมน luteinizing hormone (LH) dopamine มีการออกฤทธิ์รุนแรงในการยับยั้งการสังเคราะห์ vitellogenin (Vg) ซึ่งเป็นโปรตีน ที่สร้างจากเฮพาโตแพนเครียสเพื่อไปขยายขนาดรังไข่ เฮพาโตแพนเครียสจะสร้างโปรตีนชนิดนี้ เมื่อถูกกระตุ้นจากฮอร์โมนกลุ่มสเตียรอยด์ ได้แก่ ฮอร์โมนเพศ (sex hormone) เช่น ฮอร์โมน เอสโทรเจน (estrogen) และฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (testosterone) ฮอร์โมนจากต่อมหมวกไตส่วนนอก (adrenal cortex) เช่น แอลโดสเตอโรน (aldosterone) คอร์ติซอล (cortisol) รวมทั้งวิตามินดี (vitamin D) (จักร อารันยกานนท์ และอรพร หมื่นพล, 2557)

2.8.2 กลไกการทำงานของยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP)

วาโซแอกทีฟ อินเทสตินอล เป็ปไทด์ (vasoactive intestinal peptide) เป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นการสร้างสิ่งขับออกของต่อมลำไส้เล็ก และยับยั้งการสร้างกรดเกลือในกระเพาะอาหาร ทำให้หลอดเลือดฝอยเฉพาะการขยายตัวทำให้ประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายอาหารที่ดูดซึมแล้วมากขึ้น ร่วมถึงกระตุ้นการหล่อลื่นในช่องคลอดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และยังมีบทบาทหน้าที่ในการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนโปรแลคตินจากต่อมใต้สมอง (hypothalamus) ฮอร์โมนโปรแลคตินจะถูกหลั่งจาก lactotroph cell ของต่อมใต้สมองควบคุมไม่ให้ฮอร์โมนมีการหลั่งออกมามากเกินไป หรือลดการหลั่งของฮอร์โมนนั้นๆ เมื่อฮอร์โมนนั้นทำงานหรือออกฤทธิ์อย่างสมบูรณ์แล้วที่อวัยวะเป้าหมาย เช่น การควบคุมการหลั่งฮอร์โมน follicle stimulating hormone (FSH) จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า ซึ่งมีอวัยวะเป้าหมาย คือ รังไข่ของสัตว์เพศเมีย จะทำให้บนรังไข่มีการพัฒนาของถุงไข่ และมีระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในเลือดสูงขึ้น ระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจน ที่เพิ่มขึ้นนี้จะมีผลไปยับยั้งการหลั่งฮอร์โมน FSH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า และฮอร์โมน gonadoytrophin-releasing hormone (GnRH) จากสมองส่วนไฮโปธาลามัส (Yupaporn et al., 2005)

2.9 ยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมือง

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน DRD2 และยีน VIP ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่พื้นเมือง พบว่า มีการใช้เทคนิค PCR-RFLP ในการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP โดยยีน DRD2 ที่มีตำแหน่งที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 3 ชนิด ได้แก่ *BseG*I, *Hinf*I และ *Tat*I และยีน VIP ที่มีตำแหน่งที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 4 ชนิด ได้แก่ *Taq*I, *Apo*I, *Hinf*I และ *Vsp*I (Ngu, 2016; Trong Ngu et al., 2015; Yunjie et al., 2010; Zhou et al., 2010) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การศึกษา Primer ยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP

ยีน	primer forward (5´-3´)	primer reverse (5´-3´)	เทคนิค	เอนไซม์	อ้างอิง
DRD2	agcagccatcttcacgtggg	ttgagaggcttgctccagttcc	PCR-RFLP	*Hinf*I	(Yunjie et al., 2010)
	caacagtggggacaggaac	ccacccagggcatgaccaga	PCR-RFLP	*Tat*I	
	tgcacataaaagcccactcactg	gcctgagctggtgggggg	PCR-RFLP	*BseG*I	
	tccctgagctgctgttgg	ccccattgtgctccagaccc	PCR-RFLP	*BseG*I	
	tgcacataaaagcccactcactg	gcctgagctggtgggggg	PCR-RFLP	*BseG*I	(Trong Ngu et al., 2015)
	tgcacataaaagcccactcactg	gcctgagctggtgggggg	PCR-RFLP	*BseG*I	(Ngu, 2016)
VIP	ggtcgtactggcctatatcatgc	ggcaataatcagacccaggtaact	PCR-RFLP	*Taq*I	(Zhou et al., 2010)
	gcttggactgatgcgtactt	gtatcactgcaaatgctctg	PCR-RFLP	*Apo*I	
	gcttggactgatgcgtactt	gtatcactgcaaatgctctg	PCR-RFLP	*Hinf*I	(Trong Ngu et al., 2015)
	gaaacccatctcagtcatccta	accacctatttttccttttctac	PCR-RFLP	*Vsp*I	
	gaaacccatctcagtcatccta	accacctatttttccttttctac	PCR-RFLP	*Vsp*I	(Ngu, 2016)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีน DRD2 และยีน VIP ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่พื้นเมือง พบว่า ใช้เทคนิค PCR - RFLP ในการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP โดยยีน DRD2 พบรูปแบบจีโนไทป์แบบ TT TC และ CC ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะอายุการให้ไข่ฟองแรก ลักษณะจำนวนผลผลิตไข่ที่ 20 สัปดาห์ และลักษณะจำนวนผลผลิตไข่ที่ 300 วัน รวมถึงพบรูปแบบจีโนไทป์แบบ GG AG และ GG ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะอายุการให้ไข่ฟองแรก และลักษณะจำนวนผลผลิตไข่ที่ 300 วัน

ยีน VIP ที่พบรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ DD DI และ II ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะอายุการให้ไข่ฟองแรก และลักษณะจำนวนผลผลิตไข่ที่ 90 - 300 วัน นอกจากนั้นยังพบรูปแบบจีโนไทป์แบบ TT TC และ CC ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนผลผลิตไข่ที่ 20 สัปดาห์ และรูปแบบ จีโนไทป์ TT GT และ GG ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะอายุการให้ไข่ฟองแรก และลักษณะจำนวนผลผลิตไข่ที่ 300 วัน (Trong Ngu et al., 2015; H. Xu et al., 2011; H. P. Xu et al., 2011; Yunjie et al., 2010) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่

ยีน	ลักษณะ	จีโนไทป์			ประชากร	อ้างอิง
DRD2		TT	TC	CC		
	อายุการให้ไข่ฟองแรก (วัน)	136.00	135.70	140.70	NDH	(Yunjie et al., 2010)
	จำนวนผลผลิตไข่ (300 วัน)	113.60	115.10	125.50		
	อายุการให้ไข่ฟองแรก (วัน)	119.20	126.20	123.20	NDH	(H. Xu et al., 2011)
	จำนวนผลผลิตไข่ (300 วัน)	124.64	92.83	94.03	NDH	(H. P. Xu et al., 2011)
	จำนวนผลผลิตไข่ (ฟอง/ตัว/20 สัปดาห์)	26.00	50.70	45.30	Noi chicken	Ngu et al. (2015)
		GG	AG	AA		
	อายุการให้ไข่ฟองแรก (วัน)	135.70	136.30	137.30	NDH	(Yunjie et al., 2010)
	จำนวนผลผลิตไข่ (300 วัน)	113.30	114.60	124.20		
VIP		DD	ID	II		
	อายุการให้ไข่ฟองแรก (วัน)	130.30	136.14	135.69	NDH	(Zhou et al., 2010)
	จำนวนผลผลิตไข่ (90 ถึง 300 วัน)	124.09	115.93	111.83		
		TT	TC	CC		

จำนวนผลผลิตไข่ (ฟอง/ตัว/20 สัปดาห์)	49.90	40.60	45.90	Noi chicken	(Trong Ngu et al., 2015)
	TT	GT	GG		
อายุการให้ไข่ฟองแรก (วัน)	122.80	124.40	123.60	NDH	(H. Xu et al., 2011)
จำนวนผลผลิตไข่ (300 วัน)	93.26	96.50	95.52	NDH	(H. P. Xu et al., 2011)

หมายเหตุ: NDH: Ningdu Sanhuang chicken, II: insertion-insertion; ID: insertion-deletion; DD: deletion-deletion

พหุน ปณ ฑิโต ชีเว

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 งานทดลองที่ 1 ผลของค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

3.1.1 กลุ่มตัวอย่างประชากร และข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการตรวจสอบอิทธิพลของค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก โดยใช้ข้อมูลผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกที่เลี้ยงบนกรงตับขังเดี่ยว มีรูปแบบการผสมพันธุ์แบบผสมเทียม จำนวน 300 ตัว ภายใต้โรงเรือนระบบเปิด จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่

3.1.2 การเก็บข้อมูลลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

การเก็บข้อมูลสำหรับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกได้จากบันทึกลักษณะการให้ผลผลิตไข่แบบรายตัว จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ประกอบด้วย ลักษณะน้ำหนักตัวเมื่อให้ไข่ฟองแรก ลักษณะจำนวนผลผลิตไข่ 270 วัน ลักษณะอายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก ลักษณะน้ำหนักไข่ฟองแรก ลักษณะน้ำหนักไข่และผลผลิตไข่ต่อเดือน การคำนวณค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ใช้ข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นจากกรมอุตุนิยมวิทยาเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งมีการบันทึกสถิติอุณหภูมิแบบรายวันในช่วงเวลาที่แม่ไก่ให้ผลผลิตไข่

3.1.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลค่าดัชนีอุณหภูมความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ดังสมการต่อไปนี้

$$THI = T_d - [0.55 \times (RH/100)] \times [T_d - 58]$$

เมื่อกำหนด T_d คือ ค่าอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และ RH คือ ค่าความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์) หลังจากคำนวณค่า THI จัดกลุ่มค่า THI แบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม (Mader et al., 2006) ดังนี้

THI1 is THI ≤ 70
THI2 is ≤ 74 THI > 70
THI3 is ≤ 78 THI >74
THI4 is THI > 78

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยข้อมูลลักษณะการให้ผลผลิตไข่ โดยชุดคำสั่ง PROC MEANS วิเคราะห์อิทธิพลของค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ต่อประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตไข่ โดยใช้ชุดคำสั่ง PROC GLM การวิเคราะห์ทั้งหมดนี้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2002) โมเดลทางสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ อิทธิพลของสายพันธุ์ต่อประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตไข่ ดังสมการ

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + e_{ij}$$

เมื่อ

Y_{ij} คือ ลักษณะการให้ผลผลิตไข่

μ คือ ค่าเฉลี่ยรวมของลักษณะการให้ผลผลิตไข่

β_i คือ อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ (fixed effect) ได้แก่ ค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์

e_{ij} คือ ความคลาดเคลื่อน

3.2 งานทดลองที่ 2 ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

3.2.1 กลุ่มตัวอย่างประชากร และข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการตรวจสอบความสัมพันธ์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ ทำการศึกษาในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก โดยไก่แม่พันธุ์เลี้ยงบนกรงตับขังเดี่ยว มีการผสมพันธุ์แบบผสมเทียม จำนวน 281 ตัว ภายใต้โรงเรือนระบบเปิด จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่

3.2.2 การเก็บข้อมูลลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

การเก็บข้อมูลสำหรับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก ได้จากบันทึกลักษณะการให้ผลผลิตไข่แบบรายตัว จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่ อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ประกอบด้วย ลักษณะน้ำหนักตัวเมื่อให้ไข่ฟองแรก ลักษณะจำนวนผลผลิตไข่ ลักษณะอายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก ลักษณะน้ำหนักไข่ฟองแรก ลักษณะน้ำหนักไข่ และผลผลิตไข่ต่อเดือน

3.2.3 การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อสกัด DNA

เก็บตัวอย่างเลือดไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ เพื่อตรวจหารูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP โดยการเจาะเลือดบริเวณปีกปริมาณ 1 - 2 มิลลิลิตร/ตัว ใส่หลอดเก็บตัวอย่าง (test tube) โดยมี 0.5 M EDTA (Ethylene diamine tetrameric acid) อยู่ 100 ไมโครลิตร เพื่อป้องกันเลือดแข็งตัว และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการสกัด genomic DNA

3.2.4 การสกัด genomic DNA

ทำการสกัด genomic DNA โดยวิธีการดังต่อไปนี้ เนื่องจาก DNA ในเลือดของสัตว์ปีกจะมีอยู่ในทั้งเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง ดังนั้นจึงดูดเลือดปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยวิธีการ vortex แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง (ทำทั้งหมด 2 ครั้ง) เติม 20% SDS ปริมาตร 70 ไมโครลิตร, 1% Proteinase K ปริมาตร 25 ไมโครลิตร, 7.5M Na-acetate ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และ 5M GuHCl ปริมาตร 625 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยวิธีการ vortex นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-6 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 14,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ ปริมาตร 600 ไมโครลิตร จากนั้นเติม Absolute Isopropanol ปริมาตร 600 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ ให้สารเข้ากันจนเห็นตะกอนดีเอ็นเอ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 14,000 rpm นาน 5 นาที เพื่อตกตะกอนดีเอนเอ เทส่วนใสทิ้งเหลือไว้เฉพาะตะกอนดีเอ็นเอ เติม 75% Ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อล้างตะกอนดีเอ็นเอ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 14,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที เทส่วนใสทิ้งเหลือไว้เฉพาะตะกอน (ทำ 2 ครั้ง) ผึ่งตะกอนให้แห้ง หลังตะกอนแห้งแล้วเติมสารละลาย TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA) ปริมาตร 30-50 ไมโครลิตร (ขึ้นอยู่กับปริมาณตะกอนดีเอ็นเอ) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน water bath เป็นเวลานาน 3-6 ชั่วโมง หลังจากนั้น

ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 14,000 rpm นาน 5 นาที ดูดส่วนใสมาตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเครื่อง nano drop

3.2.5 การตรวจสอบปริมาณ และคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสง

การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ ด้วยเครื่อง nano drop เนื่องจากโปรตีน และกรดนิวคลีอิกดูดกลืนช่วงแสงที่มีความยาวคลื่นต่างกัน กรดนิวคลีอิกดูดกลืนแสงยูวีมีความยาวคลื่นสูงสุดประมาณ 260 นาโนเมตร ส่วนโปรตีนดูดกลืนแสงยูวีที่มีความยาวคลื่นสูงสุดประมาณ 280 นาโนเมตร สารละลายดีเอ็นเอสายคู่บริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้น 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร จะมีค่าดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร เท่ากับ 1 ค่าอัตราส่วนดูดกลืนแสงที่ A260 : A280 สามารถนำมาวิเคราะห์ว่าสารละลายดีเอ็นเอมีการปนเปื้อนด้วยโปรตีนหรืออาร์เอ็นเอหรือไม่ โดยอัตราส่วน A260 : A280 ของสารละลายดีเอ็นบริสุทธิ์ควรอยู่ระหว่าง 1.8 - 1.9 ถ้ามากกว่า 1.9 แสดงว่าปนเปื้อนอาร์เอ็นเอ ถ้าน้อยกว่า 1.8 แสดงว่าปนเปื้อนโปรตีน ซึ่งมีวิธีการดังนี้

1) เตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอ และเติมสารละลาย TE buffer จำนวน 20 ไมโครลิตร ลงไปในแต่ละหลอด

2) เปิดเครื่อง nano drop เช็ดหัวด้วยกระดาษเฉพาะ จากนั้นดูด TE buffer เพื่อหยดใส่ที่หัววัดเป็นการ set bank

3) เช็ดหัวด้วยกระดาษเช็ดเฉพาะ จากนั้นดูดดีเอ็นเอ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ในหลอดหยดใส่หัววัด เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร จากนั้นอ่านค่าที่แสดงในเครื่อง และสามารถคำนวณหาความเข้มข้นโดยสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

4) ถ้าดีเอ็นเอมีความเข้มข้นมากเกินไปสามารถทำให้เจือจางได้ โดยการเพิ่ม TE buffer เพื่อปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอแต่ละหลอด ให้มีปริมาณความเข้มข้นเท่ากันทุกหลอด (Sujirachato et al., 2020)

3.2.6 การเพิ่มปริมาณ ยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ในหลอดทดลอง (polymerase chain reaction; PCR)

องค์ประกอบต่าง ๆ ของสารที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR ประกอบด้วย เครื่อง DNA thermal cycler, DNA ต้นแบบ (DNA template), PCR buffer, Thermostable DNA polymerase (taq DNA polymerase) เป็นเอนไซม์ที่จะเร่งปฏิกิริยา, Deoxynucleotide 4 ชนิด (dNTP) คือ dATP, dCTP, dGTP และ dTTP, น้ำกลั่นไร้เชื้อ และ Primers 2 ชนิด คือ Forward primer และ Reverse primer ดังนี้

สำหรับ DRD2 (Trong Ngu et al., 2015)

Primer 1 Forward: 5´ tgcacataaaagcccactcactg 3´

Primer 2 Reverse: 5´ gcctgagctggtgggggg 3´

สำหรับ VIP (Ngu, 2016)

Primer 1 Forward: 5´ gaaacccatctcagtcatccta 3´

Primer 2 Reverse: 5´ accacctatttttcctttctac 3´

ขั้นตอนการทำปฏิกิริยา PCR ของยีน DRD2 และยีน VIP (Chaiwong & Sistayanarain, 2012; อำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ และธันยชัย สุระ, 2534) ผสมสารละลายในหลอด PCR โดยใช้ DNA template ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 1.5 mM $MgCl_2$ ปริมาตร 0.8 ไมโครลิตร, 1.0 U Taq DNA polymerase ปริมาตร 0.1 ไมครลิตร, 100 µM dNTP ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 12.5 pmol primer forward ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ12.5 pmol primer reverse ปริมาตร 1 ไมโครลิตร รวมปริมาตรทั้งหมด 10 ไมโครลิตร จากนั้นนำหลอด PCR ที่มีสารละลายผสมดังกล่าว ใส่ลงในเครื่อง DNA thermal cycler จากนั้นตั้งโปรแกรม ดังนี้

Initial denaturation	ที่อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 30 รอบ
Denaturation	ที่อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 45 วินาที
Primer annering	ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 1 นาที (ยีน DRD2)
	ที่อุณหภูมิ 58°C เป็นเวลา 1 นาที (ยีน VIP)
Final extension	ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 10 นาที

3.2.7 การตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ด้วยเทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

ใช้เทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ในการตรวจวิเคราะห์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP โดยใช้ PCR product ที่ได้จากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) 1 ชนิด ดังนี้ ยีน DRD2 ตัดด้วยเอนไซม์ *BseG*I และยีน VIP ตัดด้วยเอนไซม์ *Vsp*I โดยมีตำแหน่งการตัดจำเพาะของเอนไซม์ดังนี้

เอนไซม์ *BseG*I มีการตัดของเอนไซม์ที่ตำแหน่ง 5' GGATG^NN 3'

3' CCTAC^NN 5'

เอนไซม์ *Vsp*I มีการตัดของเอนไซม์ที่ตำแหน่ง 5' AT^TAAT 3'

3' TAAT^TA 5'

วิธีการการตรวจวิเคราะห์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP

ยีน DRD2 ตัดด้วยเอนไซม์ *BseG*I

1. PCR reaction mixture 10 µL (~0.1-0.5 µg of DNA)
2. nuclease-free water 18 µL
3. 10X Buffer Tango™ 2 µL
4. *BseG*I enzyme 1-2 µL

หลังจากนั้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-16 ชั่วโมง

ยีน VIP ตัดด้วยเอนไซม์ *Vsp*I

1. PCR reaction mixture 10 µL (~0.1-0.5 µg of DNA)
2. nuclease-free water 18 µL
3. 10X Buffer O 2 µL
4. *Vsp*I enzyme 1-2 µL

หลังจากนั้น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-16 ชั่วโมง

3.2.8 ตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ด้วยเครื่องแยกสารพันธุกรรมด้วยไฟฟ้า (Gel Electrophoresis)

1. เตรียม 2 % agarose gel
2. 0.5x TAE buffer
3. Gel star 10,000x (stock)
4. 100 bp ladder marker DNA
5. 6x loading dye
6. DNA ที่ผ่านขั้นตอนการใช้เทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) โดยการตัดด้วยเอ็นไซม์จำเพาะ (restriction enzyme)

เตรียม agarose ปริมาตร 2 กรัม ละลายใน 0.5X TAE buffer ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในไมโครเวฟเพื่อให้สารละลายที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30-45 วินาที จนกว่าเจลจะใสไม่มีตะกอน หลังจากนั้นพักเจลที่ละลายแล้ว ให้มีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส และเติม gel star ปริมาตร 3-5 ไมโครลิตร ละลายจนเข้ากันดีแล้วเทลงเพลท ทิ้งไว้จนกว่าเจลจะเซตตัว

เมื่อเจลเซตตัวดีแล้วให้เติม 0.5x TAE buffer จนท่วมเพลท และหยด 100 bp ladder marker DNA และ DNA เพื่อใช้ในการตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ ที่ผ่านขั้นตอนการใช้เทคนิค

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) โดยการตัดด้วยเอ็นไซม์จำเพาะ (restriction enzyme) ย้อมสี DNA ด้วย 6x loading dye จากนั้นหยดลงในแต่ละหลุม หลุมละ 1 ตัวอย่าง และเปิดเครื่อง gel Electrophoresis ด้วยกระแสไฟฟ้า 80 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำแผ่นเจลมาตรวจสอบปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ภายใต้แสงยูวี

3.2.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความถี่อัลลีล และความถี่จีโนไทป์

หลังจากตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกครบทุกตัวจะวิเคราะห์หาความถี่อัลลีล และความถี่จีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ตามวิธีของ Falconer and Mackay (1996) ดังสมการ

$$\text{ความถี่จีโนไทป์ (genotype frequency)} = \frac{\text{จำนวนสัตว์ที่มีจีโนไทป์ที่กำหนด}}{\text{จำนวนสัตว์ทั้งหมด}}$$

$$\text{ความถี่อัลลีล (allele frequency)} = \frac{\text{จำนวนอัลลีลที่กำหนด}}{\text{จำนวนอัลลีลทั้งหมด}}$$

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยข้อมูลลักษณะการให้ผลผลิตไข่ โดยชุดคำสั่ง PROC MEANS วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ต่อประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตไข่ โดยใช้ชุดคำสั่ง PROC GLM โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2002) โมเดลทางสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ อิทธิพลของสายพันธุ์ต่อประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตไข่ ดังสมการ

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + e_{ij}$$

เมื่อ

Y_{ij} คือ ลักษณะการให้ผลผลิตไข่

μ คือ ค่าเฉลี่ยรวมของลักษณะการให้ผลผลิตไข่

β_i คือ อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ (fixed effect) ได้แก่ รูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และรูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP

e_{ij} คือ ความคลาดเคลื่อน

บทที่ 4
ผลการทดลอง และอภิปราย

4.1 งานทดลองที่ 1 ผลของค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index (THI)) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

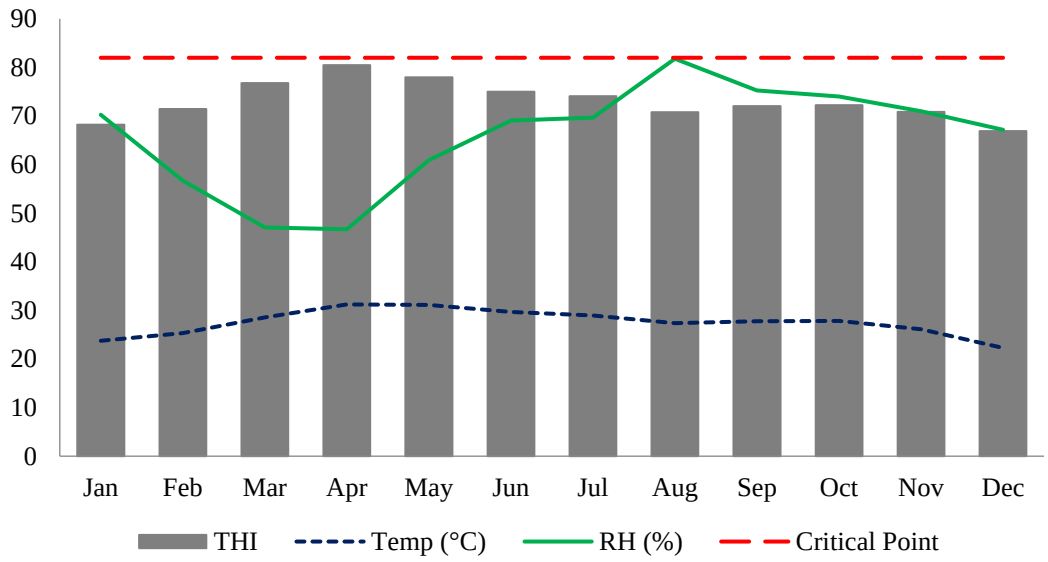
จากการศึกษาพบว่า ลักษณะน้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรกมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1,930.87 กรัม อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรกเท่ากับ 153.81 วัน มีน้ำหนักไข่ฟองแรกเท่ากับ 33.80 กรัม โดยมีน้ำหนักไข่เท่ากับ 44.80 กรัม มีจำนวนผลผลิตไข่ที่ 270 วัน และผลผลิตไข่เฉลี่ยต่อ 1 เดือน เท่ากับ 173.92 ฟอง และ 14.49 ฟอง ตามลำดับ (ตารางที่ 7) น้ำหนักตัวของแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรกของไก่พื้นเมืองเฉลี่ยเท่ากับ 1,850 กรัม น้ำหนักแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรกเท่ากับ 2,372 กรัม (Soipeth et al., 2017; มนทกานต์ กันแก้ว และเฉลิมพล บุญเจือ, 2560 ตามลำดับ) อายุการให้ไข่ฟองแรกของไก่ประดู่หางดำเท่ากับ 203 วัน (Boonkum et al., 2014) น้ำหนักไข่ฟองแรกของไก่สายพันธุ์เบตงเท่ากับ 38.53 กรัม (ปิ่น จันจุฬา และคณะ, 2534)

ตารางที่ 7 ข้อมูลเชิงพรรณนาของลักษณะผลผลิตไข่ 270 วัน ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ลักษณะ	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
น้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก (กรัม)	1,930.87	19.35	1,075.00	2,482.00
อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก (วัน)	153.81	11.75	128.00	198.00
น้ำหนักไข่ฟองแรก (กรัม)	33.80	5.94	18.00	58.00
น้ำหนักไข่ (กรัม)	44.80	3.05	32.28	54.36
ผลผลิตไข่ทั้งหมด 270 วัน (ฟอง)	173.92	28.76	70.00	211.00
ผลผลิตไข่ต่อเดือน (ฟอง)	14.49	3.04	8.67	23.44

แสดงอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ค่าของจุดวิกฤติที่ส่งผลต่อความเครียดของไก่ และค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ระหว่างเดือนมกราคม ถึง เดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2562 พบว่า ค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (THI) ในเดือนเมษายนสูงที่สุดที่ 80 (ภาพที่ 3) และจากงานวิจัยของ (Habeeb et al., 2018) ค่าของจุดวิกฤติที่ส่งผลต่อความเครียดของสัตว์ปีกคือค่าที่สูงกว่า 82 ดังนั้น

ในช่วงระยะเวลาดังกล่าว ประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก จึงไม่ได้รับผลกระทบจากความเครียดเนื่องจากความชื้น



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ค่าจุดวิกฤติ และค่าดัชนีอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ในปี พ.ศ. 2562

ข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ในช่วงเดือนมกราคม ถึง เดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 ในการศึกษานี้ เก็บข้อมูลโดยกรมอุตุนิยมวิทยาเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบรายวัน และนำมาคำนวณค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ดังแสดงในตารางที่ 8 ประเทศไทยแบ่งออกเป็น 3 ฤดูกาล ได้แก่ ฤดูหนาว (เดือนตุลาคม ถึงมกราคม) ฤดูร้อน (เดือนกุมภาพันธ์ ถึง พฤษภาคม) และฤดูฝน (เดือนมิถุนายน ถึง กันยายน) ซึ่งในเดือนเมษายน มีอุณหภูมิ และค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 31.23 องศาเซลเซียส และ 80.45 ตามลำดับ และเดือนธันวาคมมีค่าดัชนีอุณหภูมิ และความชื้นต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 66.89

ตารางที่ 8 สภาพแวดล้อมในช่วงการทดลองในปี พ.ศ. 2562

เดือน	อุณหภูมิ (℃)			ความชื้นสัมพัทธ์ (%)			THI
	ค่าเฉลี่ย	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ค่าเฉลี่ย	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	
มกราคม	23.73	21.10	26.10	70.30	64.00	89.00	68.25
กุมภาพันธ์	25.33	23.30	27.00	56.70	49.00	67.00	71.48
มีนาคม	28.54	26.20	31.20	47.10	40.00	52.00	76.80
เมษายน	31.23	28.90	33.40	46.70	40.00	60.00	80.45
พฤษภาคม	31.12	27.30	34.70	60.90	43.00	82.00	77.96
มิถุนายน	29.67	27.40	32.70	69.10	58.00	83.00	74.99
กรกฎาคม	28.97	24.50	32.70	69.70	56.00	92.00	74.12
สิงหาคม	27.37	24.90	29.20	81.80	67.00	91.00	70.80
กันยายน	27.77	25.40	29.50	75.30	66.00	85.00	72.05
ตุลาคม	27.81	24.50	29.80	74.00	66.00	90.00	72.27
พฤศจิกายน	26.15	24.60	28.20	71.00	64.00	80.00	70.84
ธันวาคม	22.28	17.70	25.40	67.20	49.00	78.00	66.89

เมื่อแบ่งกลุ่มของค่า THI ออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ THI1 คือ THI ≤ 70, THI2 คือ ≤ 74 THI > 70, THI3 คือ ≤ 78 THI >74 และ THI4 คือ THI > 78 จากนั้นวิเคราะห์อิทธิพลของกลุ่ม THI ต่อการให้ผลผลิตไข่ พบว่า THI4 มีอิทธิพลต่ออายุเมื่อให้ไข่ฟองแรกดีที่สุดเท่ากับ 144.59 วัน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่ม THI1 THI2 และTHI3 มีอายุเมื่อให้ไข่ฟองแรกเท่ากับ 161.40, 158.22 และ 156.17 วัน ตามลำดับ แต่ลักษณะน้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก น้ำหนักไข่ฟองแรก น้ำหนักไข่ ผลผลิตไข่ 270 วัน และผลผลิตไข่เฉลี่ย 1 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละกลุ่ม THI (ตารางที่ 9) จุดวิกฤติที่สามารถทำให้ไก่เกิดความเครียดได้จะอยู่ในระหว่างช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า 36 ถึง 37 องศาเซลเซียส โดยจากข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 8 พบว่า อุณหภูมิที่ต่ำที่สุด และอุณหภูมิที่สูงที่สุด ยังไม่ถึงค่าของอุณหภูมิวิกฤติ (Chaiyabutr, 2004) เช่นเดียวกับค่า THI ที่สูงที่สุดในกลุ่มที่ 4 ที่ 80.45 สอดคล้องกับการรายงานของ (Habeeb et al., 2018) ที่กล่าวว่าค่าของจุดวิกฤติที่จะส่งผลต่อความเครียดของไก่ก็ต่อเมื่อมีค่าสูงกว่า 82 ขึ้นไป ดังนั้น ค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์นี้จึงไม่ส่งผลกระทบต่อการให้ผลผลิตไข่และทำให้ไก่เกิดความเครียด

ตารางที่ 9 ผลของกลุ่มค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ ต่อผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ลักษณะ	กลุ่ม THI				P-value
	1	2	3	4	
น้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก (กรัม)	1,935.00	1,991.37	1,938.55	1,868.16	0.83
อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก (วัน)	161.40[a]	158.22[a]	156.17[a]	144.59[b]	<0.01
น้ำหนักไข่ฟองแรก (กรัม)	32.47	34.47	34.25	32.345	0.48
น้ำหนักไข่ (กรัม)	45.97	43.95	44.65	45.68	0.09
ผลผลิตไข่ทั้งหมด (ฟอง)	146.80	134.28	135.89	144.67	0.39
ผลผลิตไข่ต่อเดือน (ฟอง)	16.34	14.92	15.10	16.09	0.79

เมื่อศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ฤดู คือ ฤดูร้อนและฤดูฝน พบว่า ฤดูกาลที่แตกต่างกันทั้ง 2 ฤดู โดยฤดูร้อนมีอิทธิพลต่ออายุการให้ไข่ฟองแรกต่ำกว่าในฤดูฝน มีค่าเท่ากับ 138.40 และ 154.34 วัน ตามลำดับ ($P<0.05$) สำหรับลักษณะอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทั้ง 2 ฤดู (ตารางที่ 10) ทั้งนี้เนื่องมาจากอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของไก่ คือ 36-37 องศาเซลเซียส ซึ่งตรงกับช่วงฤดูร้อน (ตารางที่ 10) จากการรายงานของ (Chaiyabutr, 2004) ได้กล่าวว่า ฤดูกาลและสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยหลักสำหรับข้อจำกัดนี้ ซึ่งอุณหภูมิของไก่อยู่ระหว่าง 36 ถึง 37 องศาเซลเซียสสบายที่สุดในฤดูร้อน และ (Behura et al., 2016) รายงานว่าฤดูร้อนที่อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ที่ 31.71 องศาเซลเซียส ทำให้อายุการให้ไข่ฟองแรกดีที่สุดในไก่ เนื่องจากอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม อากาศร้อนทำให้ไก่อยู่สบาย สภาพแวดล้อมอยู่อาศัยมีผลต่อลักษณะทางสรีรวิทยาของแม่ไก่โดยเฉพาะแม่ไก่ที่เลี้ยงบนกรงตับที่ยกกรงสูงกว่าระดับพื้น

ตารางที่ 10 อิทธิพลของฤดูกาลต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่พันธุ์ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ลักษณะ	ฤดูกาล		P-value
	ฤดูร้อน	ฤดูฝน	
น้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก (กรัม)	1,839.70	1,934.01	0.33
อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก (วัน)	138.40[b]	154.34[a]	0.01
น้ำหนักไข่ฟองแรก (กรัม)	31.98	33.86	0.10
น้ำหนักไข่ (กรัม)	45.32	44.78	0.18
ผลผลิตไข่ทั้งหมด (ฟอง)	148.90	137.54	0.47
ผลผลิตไข่ต่อเดือน (ฟอง)	16.74	15.31	0.41

ค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมด 6 ลักษณะ คือ ลักษณะน้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก ลักษณะอายุการให้ไข่ฟองแรก ลักษณะน้ำหนักไข่เฉลี่ยของไข่ฟองแรก ลักษณะน้ำหนักไข่เฉลี่ยรวม ลักษณะผลผลิตไข่ทั้งหมด และลักษณะผลผลิตไข่เฉลี่ยต่อเดือน ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก มีค่าอยู่ระหว่าง -0.17 ถึง 0.90 โดยลักษณะผลผลิตไข่ทั้งหมดและลักษณะผลผลิตไข่เฉลี่ยต่อเดือน มีค่าสหสัมพันธ์สูงที่สุด (0.90) แสดงให้เห็นว่าผลผลิตไข่ทั้งหมด 270 วันที่สูงขึ้น จะส่งผลทางบวกให้ผลผลิตไข่เฉลี่ยต่อ 1 เดือน สูงขึ้นตามไปอีกด้วย นอกจากนั้นยังพบว่า ลักษณะน้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรกและอายุการให้ไข่ฟองแรกยังมีค่าสหสัมพันธ์เชิงบวกที่ 0.38 และลักษณะอายุการให้ไข่ฟองแรกและน้ำหนักไข่เฉลี่ยของไข่ฟองแรกมีค่าสหสัมพันธ์เชิงบวกอยู่ที่ 0.25 แต่พบว่า ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะน้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรกและการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดมีค่าสหสัมพันธ์เชิงลบ (-0.17) เช่นเดียวกับลักษณะอายุการให้ไข่ฟองแรกและน้ำหนักไข่เฉลี่ยรวม (-0.16) จากผลการศึกษาข้างต้น อายุการให้ไข่ฟองแรกและน้ำหนักไข่ฟองแรกมีค่าสหสัมพันธ์เชิงบวก และยังพบว่าอายุการให้ไข่ฟองแรกกับการให้ผลผลิตไข่ 270 วัน และน้ำหนักไข่ฟองแรกกับผลผลิตไข่ 270 วัน มีค่าสหสัมพันธ์ในเชิงลบ (Hidalgo et al., 2011)

ตารางที่ 11 ค่าสหสัมพันธ์ของการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ลักษณะ	HWFE	AFE	EWF	EW	TEP270	EM
HWFE	1.00	0.38	0.18	0.07	-0.17	-0.12
AFE		1.00	0.25	-0.16	-0.07	-0.02
EWF			1.00	-0.12	-0.06	-0.04
EW				1.00	0.07	0.01
TEP270					1.00	0.90
EM						1.00

หมายเหตุ: HWFE คือ hen weight at first egg (g) หรือลักษณะน้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก (กรัม)
AFE คือ age at first egg (day) หรือลักษณะอายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก (วัน)
EWF คือ egg weight at first (g) หรือลักษณะน้ำหนักไข่ฟองแรก
EW คือ average egg weight at 270 day หรือลักษณะน้ำหนักไข่
TEP270 คือ total egg production at 270 day หรือลักษณะผลผลิตไข่ทั้งหมด
EM คือ average egg per mouth หรือลักษณะผลผลิตไข่ต่อเดือน

4.2 งานทดลองที่ 2 ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ลักษณะผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ประชากรที่ศึกษาครั้งนี้ คือ ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก มีอัตราการผสมติดอยู่ระหว่าง 79.95 ถึง 88.14 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักออกของไข่มีเชื้ออยู่ระหว่าง 83.07 ถึง 88.19 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12) พบว่าไก่เขียวห้วยทรายมีอัตราการผสมติดอยู่ที่ 77.38 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตราการฟักออกของลูกไก่อยู่ที่ 75.83 เปอร์เซ็นต์ (จันทร์แรม ศรีสุข และบัญชา ชุติมันตานนท์, 2560) พบว่า ไก่ชีอัตราการผสมติดของไข่ที่เอาเข้าฟักภายใน 1 วัน มีอัตราการผสมติดอยู่ที่ 96.67 เปอร์เซ็นต์ (Promkhen, 2019) และไก่เบตงอัตราการฟักออกของลูกไก่อยู่ที่ 79.96 เปอร์เซ็นต์ (Akaboot et al., 2019)

ตารางที่ 12 ข้อมูลของระบบสืบพันธุ์ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ระยะเวลา	ไข่เข้าฟักทั้งหมด (ฟอง)	ไข่มีเชื้อ (ฟอง)	อัตราการผสมติด (%)	อัตราการฟักออกของไข่มีเชื้อ (%)
สัปดาห์ที่ 1	1,104	931	84.33	85.50
สัปดาห์ที่ 2	1,071	944	88.14	84.22
สัปดาห์ที่ 3	952	809	84.98	83.07
สัปดาห์ที่ 4	846	728	86.05	88.19
สัปดาห์ที่ 5	808	646	79.95	86.84

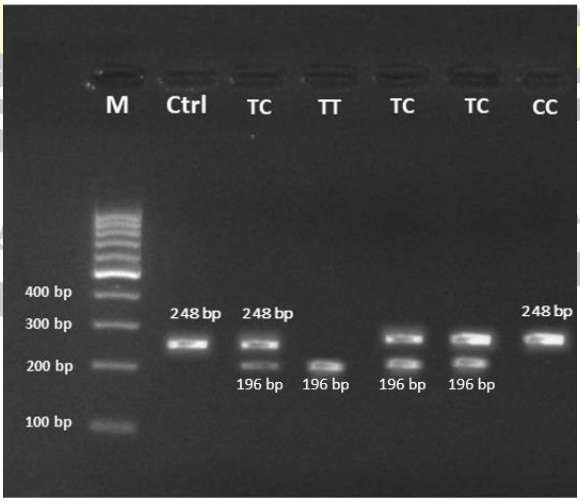
ข้อมูลค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุดของการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก จำนวน 281 ตัว พบว่า ลักษณะน้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรกมีค่าเท่ากับ 1,928.90 กรัม อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรกเท่ากับ 153.49 วัน น้ำหนักไข่ฟองแรกเท่ากับ 34.69 กรัม มีน้ำหนักไข่เฉลี่ยเท่ากับ 44.67 กรัม จำนวนผลผลิตไข่ และผลผลิตไข่เฉลี่ยต่อ 1 เดือน เท่ากับ 187.72 ฟอง และ 15.56 ฟอง ตามลำดับ (ตารางที่ 13) พบว่า ทำการศึกษาในประชากรไก่พื้นเมืองไทย พบว่า น้ำหนักแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรกเท่ากับ 1,681.58 กรัม น้ำหนักไข่ฟองแรกเท่ากับ 35.49 กรัม และมีน้ำหนักไข่เฉลี่ยเท่ากับ 43.00 กรัม (J. Tenzin et al., 2020) และอายุการให้ไข่ฟองแรกของไก่ประดู่หางดำเท่ากับ 203 วัน (Boonkum et al., 2014) และในไก่กระดูกดำได้กล่าวว่า น้ำหนักไข่ฟองแรกของไก่กระดูกดำเฉลี่ยเท่ากับ 35.14 กรัม (Suwanlee & Salagham, 2018)

ตารางที่ 13 ข้อมูลลักษณะผลผลิตไข่ตลอดทั้งปีของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ลักษณะ	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
น้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก (กรัม)	1928.90	19.36	1,075	2,482
อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก (วัน)	153.49	13.49	128	198
น้ำหนักไข่ฟองแรก (กรัม)	34.69	14.36	18	58
น้ำหนักไข่ (กรัม)	44.67	3.63	32	54
ผลผลิตไข่ทั้งหมด (ฟอง)	187.72	3.04	83	266
ผลผลิตไข่ต่อเดือน (ฟอง)	15.56	2.50	9	22

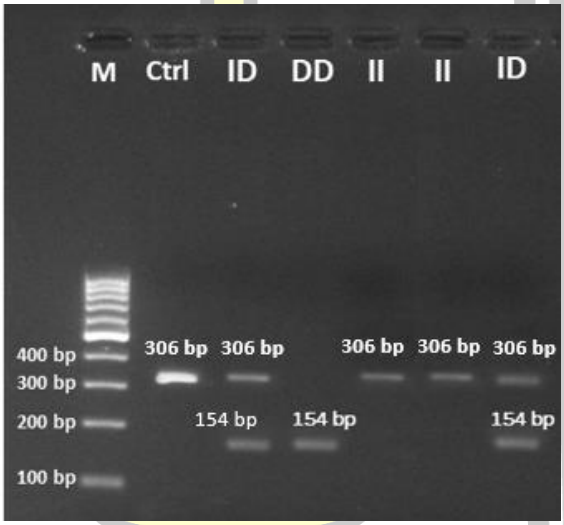
ความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

การศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก พบว่ามีรูปแบบจีโนไทป์ทั้งหมด 3 รูปแบบ ได้แก่ TT, TC และ CC (ภาพที่ 4) โดยยีน DRD2 มีขนาด 248 bp เมื่อนำมาตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *BseG*I พบว่า รูปแบบจีโนไทป์ CC พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 248 bp รูปแบบจีโนไทป์ TC พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 248 bp และ 196 bp และรูปแบบจีโนไทป์ TT พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 196 bp ทำการศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ในไก่ชีและไก่ประดู่หางดำ พบรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ TT, TC และ CC และมีขนาดชิ้นส่วนดีเอนเอ 248 bp และ 196 bp (Jigme Tenzin & Boonkum, 2020) และการศึกษายีน DRD2 ในไก่นอยประเทศเวียดนาม พบรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ TT, TC และ CC และมีขนาดชิ้นส่วนดีเอนเอ 248 bp และ 196 bp เช่นเดียวกัน (Trong Ngu et al., 2015) กล่าวว่า



ภาพที่ 4 ขนาดชิ้นยีนและรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2

การศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก พบว่ามีรูปแบบจีโนไทป์ทั้งหมด 3 รูปแบบ ได้แก่ II, ID และ DD (ภาพที่ 5) โดยยีน VIP มีขนาด 306 bp เมื่อนำมาตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Vsp*I รูปแบบจีโนไทป์ II พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 306 bp รูปแบบจีโนไทป์ ID พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 306 bp และ 154 bp และรูปแบบจีโนไทป์ DD พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 154 bp กล่าวว่าการศึกษายีน VIP ในไก่นอยประเทศเวียดนาม พบรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ II, ID และ DD และมีขนาดชิ้นส่วนดีเอนเอ 306 bp และ 154 bp (Trong Ngu et al., 2015) และไก่นอยประเทศเวียดนาม พบรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ II, ID และ DD และมีขนาดชิ้นส่วนดีเอนเอ 306 bp และ 154 bp (Ngu, 2016)



ภาพที่ 5 ขนาดชิ้นยีนและรูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP

เมื่อวิเคราะห์หาค่าความถี่จีโนไทป์ของยีน DRD2 ในประชากรไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก พบว่า รูปแบบจีโนไทป์ CC มีความถี่สูงที่สุด เท่ากับ 0.559 สำหรับรูปแบบจีโนไทป์ TC และ TT มีความถี่เท่ากับ 0.395 และ 0.046 ตามลำดับ มีความถี่อัลลีล C (0.755) สูงกว่า T (0.245) ดังแสดงในตารางที่ 14 ที่ได้ทำการศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ในไก่นอย พบรูปแบบจีโนไทป์และมีความถี่จีโนไทป์ คือ CC (0.76), TC (0.23) และ TT (0.01) ตามลำดับ และมีความถี่อัลลีล C (0.88) สูงกว่าอัลลีล T (0.12) (Trong Ngu et al., 2015) ทำการศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ในไก่ พบว่า จีโนไทป์และมีความถี่จีโนไทป์ คือ CC (0.33), TC (0.46) และ TT (0.21) ตามลำดับ และมีความถี่อัลลีล C (0.56) สูงกว่าอัลลีล T (0.44) (Dementieva et al., 2020) ทำการศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ในไก่ชีและไก่ประดู่หางดำ ในไก่ชีพบรูปแบบจีโนไทป์และมีความถี่จีโนไทป์ คือ CC (0.72), TC (0.27) และ TT (0.01) ตามลำดับ และมีความถี่อัลลีล C (0.85) สูงกว่าอัลลีล T (0.15) แต่ในไก่ประดู่หางดำพบว่า รูปแบบจีโนไทป์และมีความถี่จีโนไทป์ คือ CC (0.24), TC (0.51) และ TT (0.26) ตามลำดับ (Jigme Tenzin & Boonkum, 2020) และมีความถี่อัล

ลีล C (0.50) มีค่าเท่ากับอัลลีล T (0.50) และในไก่ประดู่หางดำพบว่า รูปแบบจีโนไทป์และมีความถี่จีโนไทป์ คือ CC (0.24), TC (0.51) และ TT (0.26) ตามลำดับ และมีความถี่อัลลีล C (0.50) เท่ากันกับอัลลีล T (0.50) (J. Tenzin et al., 2020)

สำหรับค่าความถี่จีโนไทป์ของยีน VIP พบว่า รูปแบบจีโนไทป์ II มีความถี่สูงที่สุด เท่ากับ 0.589 รูปแบบจีโนไทป์ ID และ DD มีความถี่เท่ากับ 0.282 และ 0.129 ตามลำดับ ความถี่อัลลีล I (0.729) สูงกว่า D (0.271) (ตารางที่ 14) ทำการศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP ในไก่นอย พบรูปแบบจีโนไทป์และมีความถี่จีโนไทป์ คือ II (0.58), ID (0.4) และ DD (0.02) ตามลำดับ และมีความถี่อัลลีล I (0.78) สูงกว่า D (0.22) (Trong Ngu et al., 2015) และทำการศึกษารูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP ในไก่นอยพบรูปแบบจีโนไทป์และมีความถี่จีโนไทป์ คือ II (0.64), ID (0.32) ตามลำดับ และ DD (0.04) และมีความถี่อัลลีล I (0.80) สูงกว่า D (0.20) (Wang et al., 2016)

ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก มีค่า Polymorphism information content (PIC) คือ ค่าที่ใช้แสดงความแตกต่างทางพันธุกรรมของดีเอ็นเอ เพื่อใช้แสดงความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์ เมื่อตรวจสอบโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายแต่ละตำแหน่ง พบว่าค่า PIC มากกว่า 0.5 บ่งชี้ถึงความหลากหลายที่สูง และค่า PIC น้อยกว่า 0.25 บ่งชี้ถึงความหลากหลายที่ต่ำ (Nagy et al., 2012) โดยค่า PIC ของยีน DRD2 มีค่าเท่ากับ 0.306 และยีน VIP มีค่า PIC เท่ากับ 0.321 (ตารางที่ 14) ความผันแปรของยีน DRD2 มีค่า average number of alleles (N_A) เท่ากับ 2.000, ค่า effective number of alleles (N_E) เท่ากับ 1.703 , ค่า observed heterozygosity (H_o) เท่ากับ 0.395 และค่า expected heterozygosity (H_E) เท่ากับ 0.369 และความผันแปรของยีน VIP มีค่า average number of alleles (N_A) เท่ากับ 2.000, ค่า effective number of alleles (N_E) เท่ากับ 1.752 , ค่า observed heterozygosity (H_o) เท่ากับ 0.281 และค่า expected heterozygosity (H_E) เท่ากับ 0.395 (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 14 ความถี่อัลลีลและความถี่จีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ยีน	ความถี่จีโนไทป์			รวม	ความถี่อัลลีล		PIC
DRD2	TT	TC	CC		T	C	
	0.046	0.395	0.559	1	0.245	0.755	0.306
	13	111	157	281	1.000		
VIP	II	ID	DD		I	D	
	0.589	0.282	0.129	1	0.729	0.271	0.321
	166	79	36	281	1.000		

หมายเหตุ: PIC คือ polymorphism information content

ตารางที่ 15 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ยีน	จำนวนสัตว์	N_A	N_E	H_o	H_E
DRD2	281	2.000	1.703	0.395	0.369
VIP	281	2.000	1.752	0.281	0.395

หมายเหตุ : N_A คือ average number of alleles, N_E คือ effective number of alleles, H_o คือ observed heterozygosity, H_E คือ expected heterozygosity

ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก พบว่า รูปแบบจีโนไทป์มีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่ต่อเดือน โดยรูปแบบจีโนไทป์ CC มีการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่เฉลี่ยต่อเดือนสูงที่สุด (198.39 ฟอง และ 16.53 ฟอง ตามลำดับ) ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับรูปแบบจีโนไทป์ TC (190.29 ฟอง และ 15.85 ฟอง ตามลำดับ) และจีโนไทป์ TT (186.46 ฟอง และ 15.53 ฟอง ตามลำดับ) ทำการศึกษายีน DRD2 ในไก่ พบว่า จีโนไทป์ CC (143.90 ฟอง) มีการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดสูงกว่าจีโนไทป์ TC (141.49 ฟอง) และจีโนไทป์ TT (143.30 ฟอง) (Dementieva et al., 2020) ดังแสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ลักษณะ	ยีน DRD2			P-value
	TT	TC	CC	
น้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก (กรัม)	1964.77	1930.14	1925.22	0.77
อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก (วัน)	156.46	153.74	152.79	0.44
น้ำหนักไข่ฟองแรก (กรัม)	33.01	34.52	33.36	0.25
น้ำหนักไข่ (กรัม)	45.07	44.88	44.72	0.87
ผลผลิตไข่ทั้งหมด (ฟอง)	186.46^b	190.29^b	198.39^a	0.02
ผลผลิตไข่ต่อเดือน (ฟอง)	15.53^b	15.85^b	16.53^a	0.02

ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP ต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก พบว่า รูปแบบจีโนไทป์ที่ต่างกันมีอิทธิพลต่อลักษณะผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่

ต่อเดือน โดยรูปแบบจีโนไทป์ DD มีการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่เฉลี่ยต่อเดือนสูงที่สุด (205.55 ฟอง และ 17.12 ฟอง ตามลำดับ) ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับรูปแบบจีโนไทป์ II (193.24 ฟอง และ 16.10 ฟอง ตามลำดับ) และจีโนไทป์ ID (192.59 ฟอง และ 16.05 ฟอง ตามลำดับ) (ตารางที่ 17) ได้ทำการศึกษายีน VIP ในไก่พื้นเมือง พบรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ จีโนไทป์ DD จีโนไทป์ II และจีโนไทป์ ID และพบว่า จีโนไทป์ DD มีจำนวนผลผลิตไข่สูงที่สุดจำนวน 124.09 ฟอง (Zhou et al., 2010)

ตารางที่ 17 ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP ต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ลักษณะ	ยีน VIP			P-value
	II	ID	DD	
น้ำหนักตัวแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก (กรัม)	1940.69	1903.89	1930.17	0.39
อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก (วัน)	152.44	154.91	154.14	0.20
น้ำหนักไข่ฟองแรก (กรัม)	33.73	33.86	34.04	0.94
น้ำหนักไข่ (กรัม)	45.04	44.41	44.56	0.28
ผลผลิตไข่ทั้งหมด (ฟอง)	193.24^{b}	192.59^{b}	205.55^{a}	0.03
ผลผลิตไข่ต่อเดือน (ฟอง)	16.10^{b}	16.05^{b}	17.12^{a}	0.03

พหูน ปณ ฑิโต ชีเว

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 งานทดลองที่ 1 ผลของกลุ่มดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index, THI) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นผลของค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (THI) ต่อการผลิตไข่ในไก่พันธุ์ประดู่หางดำเชียงใหม่ พบว่า THI4 มีอิทธิพลต่อลักษณะอายุเมื่อให้ไข่ฟองแรกเร็วที่สุด (144.59 วัน) ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับ THI1, THI2 และ THI3 โดยมี ($P < 0.05$) อายุเมื่อให้ไข่ฟองแรกเท่ากับ 161.40, 158.22 และ 156.17 วัน ตามลำดับ แต่กลุ่มของ THI ไม่มีอิทธิพลต่อลักษณะอื่นๆ ที่ศึกษา เมื่อศึกษาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะการให้ผลผลิตไข่ พบว่า ลักษณะผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่ต่อเดือน มีค่าสหสัมพันธ์สูงที่สุด คือ 0.90 แสดงให้เห็นได้ว่า เมื่อแม่ไก่ให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดสูง จะส่งผลทางบวกให้กับผลผลิตไข่ต่อเดือนสูงตามไปด้วย

5.2 งานทดลองที่ 2 ความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

การตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ด้วยวิธี PCR – RFLP พบว่า ยีน DRD2 มีขนาด 248 bp มีรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ จีโนไทป์ TT พบขนาดชิ้นยีน 196 bp, จีโนไทป์ TC พบขนาดชิ้นยีน 248 bp และ 196 bp และจีโนไทป์ CC พบขนาดชิ้นยีน 248 bp สำหรับยีน VIP มีขนาด 306 bp มีรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ จีโนไทป์ II พบขนาดชิ้นยีน 306 bp, จีโนไทป์ ID พบขนาดชิ้นยีน 306 bp และ 154 bp และจีโนไทป์ DD พบขนาดชิ้นยีน 154 bp

ความถี่อัลลีล และความถี่จีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก พบว่า ยีน DRD2 มีความถี่จีโนไทป์ ดังนี้ รูปแบบจีโนไทป์ CC (0.559) ที่มีค่าความถี่จีโนไทป์สูงกว่าจีโนไทป์ TC (0.395) และจีโนไทป์ TT (0.046) และมีความถี่อัลลีล C (0.755) มากกว่าความถี่อัลลีล T (0.245) นอกจากนั้น ยีน VIP มีความถี่จีโนไทป์ ดังนี้ จีโนไทป์ II (0.589) มีค่าความถี่จีโนไทป์สูงกว่า จีโนไทป์ ID (0.282) และจีโนไทป์ DD (0.129) และมีความถี่อัลลีล I (0.729) มากกว่าความถี่อัลลีล D (0.271)

ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 ต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก พบว่า รูปแบบจีโนไทป์ CC มีการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่ต่อเดือนสูงที่สุด (198.39 ฟอง และ 16.53 ฟอง ตามลำดับ) ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับรูปแบบจีโนไทป์ TC

(190.29 ฟอง และ 15.85 ฟอง ตามลำดับ) และจีโนไทป์ TT (186.46 ฟอง และ 15.53 ฟอง ตามลำดับ)

ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน VIP ต่อการให้ผลผลิตไข่ในไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก พบว่า รูปแบบจีโนไทป์ DD มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ทั้งหมดและผลผลิตไข่ต่อเดือนสูงที่สุด (205.55 ฟอง และ 17.12 ฟอง ตามลำดับ) ซึ่งมีการให้ผลผลิตไข่สูงกว่าจีโนไทป์ II (193.24 ฟอง และ 16.10 ฟอง ตามลำดับ) และจีโนไทป์ ID (192.59 ฟอง และ 16.05 ฟอง ตามลำดับ)

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน Dopamine Receptor D2 type (DRD2) และยีน Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ของไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก ควรคัดเลือกไก่ ที่มีรูปแบบจีโนไทป์ CC (ยีน DRD2) และรูปแบบจีโนไทป์ DD (ยีน VIP) เนื่องจากจีโนไทป์ดังกล่าวมีความสัมพันธ์ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่สูงกว่าจีโนไทป์รูปแบบอื่นที่พบจากการศึกษาในครั้งนี้ การคัดเลือกด้วยวิธี genetic marker เป็นวิธีการคัดเลือกที่ใช้ต้นทุนในการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์สูงและมีขั้นตอนซับซ้อน แต่เป็นวิธีคัดเลือกที่ลดระยะเวลาในการคัดเลือก เนื่องจากสามารถคัดเลือกได้จากสัตว์อายุน้อย ไม่ต้องรอให้แสดงการให้ผลผลิต และมีความแม่นยำสูง เพราะคัดเลือกจากยีนโดยตรง เหมาะแก่การนำไปใช้ประโยชน์ โดยมีกลุ่มเป้าหมาย คือ กลุ่มเกษตรกรที่เป็นเครือข่ายผลิตลูกไก่ประดู่หางดำของกรมปศุสัตว์

พหูน ปณฺฑิโต ชีเว

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กนก เชาวภายี, ธัมวาสร, ศ., วิริยา ลุ้งใหญ่ และพรรณวดี โลพรรณรัตน์. (2558). พารามิเตอร์ทางพันธุกรรมและรูปแบบทางพันธุกรรมของยีนโปรแลคตินสำหรับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่เบตง (สายเคยู). http://www.thai-explore.net/file_upload/submitter/file_doc/7133fbce4480c669bcda7fcfcbf0a89b257d.pdf.

กรเกียรติ วงศ์ไพศาลสิน. (2555). การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการหาล าดับสารพันธุกรรมรุ่นใหม่ในงานนิติพันธุศาสตร์. Thai J. Genet., S(1), 52–56.

กานดา ล้อแก้วมณี. (2558). ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพไข่. Journal, Kasetsart Extension, 60(2), 1–8.

กานดา ล้อแก้วมณี, อลิษา ประมูล และอนุวัติ โคตรมณี. (2559). ผลของการเสริมดอกทองกวาวผงในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า, 34(3), 86–95.

จักร อารันยกานนท์ และอรพร หมื่นพล. (2557). การเปลี่ยนระดับของโดพามีน และสเตียรอยด์บางชนิดที่มีผลต่อการพัฒนารัง ไข่ของกุ้งก้ามกราม Macrobrachium rosenbergii (De Man, 1879). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร.

จันทร์แรม ศรีสุข และบัญชา ชุติมันตานนท์. (2560). ผลของระบบการเลี้ยงและปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมรรถนะการสืบพันธุ์ ของไก่เขียวห้วยทราย ภายใต้สภาพการเลี้ยงของศูนย์กระจายพันธุ์สัตว์ปีก ณ โครงการห้วยองคตอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 61, 68–70.

ญาณิศา รัชดาภรณ์วานิช และจิรสิน พันธุ์โสดา. (2018). ผลของการใช้ใบหม่อนหมักในอาหารไก่ไข่ ต่อสมรรถภาพการผลิตไข่ คุณภาพไข่ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ (Vol. 61, Issue 2).

ณัฐวัฒน์ ตันพล. (2556). การทดสอบไก่ลูกผสมระหว่างไก่พันธุ์เซี่ยงไฮ้กับไก่ไข่ทางการค้าเพื่อพัฒนาเป็น สายแม่พันธุ์ของไก่เนื้อลูกผสมพื้นเมือง และความสัมพันธ์ของยีน Gonadotropin-releasing hormone receptor กับผลผลิตไข่. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ธานี ศรีวงศ์ชัย. (2550). การหาตำแหน่งยีนและการประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช.

บัณฑิตา ทักขนนท์. (2014). ผลของรูปแบบการเลี้ยงไก่ไข่ต่อสมรรถนะการให้ผลผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอล และองค์ประกอบของกรดไขมันในไข่. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ปิ่น จันจุฬา, วรวิทย์ วณิชาภิชาติ, ธำรง ทองจำรูญ และสมศักดิ์ เหล่าเจริญสุข. (2534). การเลี้ยงไก่เบตงในหมู่บ้านใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ของประเทศไทย : 2. การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ของไก่เบตง การเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์ซาก และลักษณะการผลิตไข่ของไก่เบตง. วทม. (เกษตรศาสตร์), 1–15.

พรพิมล ใจไหว, สุพล ปานพาน และอมรรัตน์ วรรณโชติ. (2554). โครงการ “การศึกษาระบบการเลี้ยงไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่เป็น นอาชีพที่ยั่งยืน ของกลุ่มเกษตรกร จังหวัดเชียงราย.”

มนทกานต์ กันแก้ว และเฉลิมพล บุญเจือ. (2560). สมรรถภาพการเจริญเติบโต และลักษณะเมื่อให้ไข่ฟองแรกของไก่ลูกผสม ประดู่หางด าเชียงใหม่-เล็กฮอร์นขาว (Vol. 62, Issue 2).

วุฒิพงษ์ อินทรธรรม. (2556). พันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์สัตว์.

สุจิตรา สราวิช, วรวิทย์ รักสงฆ์, จิรศักดิ์ ศรีเมฆารัตน์, จิระพันธ์ ห้วยแสน และกมลพร กำขันตี. (2557). การพัฒนาฝูงพ่อแม่พันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชีด้วยดัชนีการคัดเลือก. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร, ฉบับพิเศษ(1), 112–118.

อัจฉรัตน์ สุวรรณภักดิ์. (2559). หมู่บ้านผลิตไก่พื้นเมืองครบวงจร.

อำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ และธันยชัย สุระ. (2534). ความรู้พื้นฐานเรื่องเวชพันธุศาสตร์. In วาสารโหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต (Vol. 1, Issue 4, p. 1).

Akaboot, P., Wannikorn, S., & Kongsuwan, S. (2019). Factors affecting the hatchability of Betong eggs. KHON KAEN AGR. J., 47(1), 853–856.

Behura, N. C., Kumar, F., Samal, L., Sethy, K., & Behera, K. (2016). Use of Temperature-Humidity Index (THI) in energy modeling for broiler breeder pullets in hot and humid climatic conditions. Journal of Livestock Science, 7(January), 75–83. https://www.researchgate.net/profile/Lipismita_Samal2/publication/294154444_Use_of_Temperature-Humidity_Index_in_Energy_Modeling_for_Broiler_Breeder_Pullets_in_Hot_and_Humid_Climatic_Conditions/links/5741d4e108ae9f741b375343/Use-of-Temperature-Humidity-In

Boonkum, W., Duangjinda, M., Laopaiboon, B., & Saowaphak, P. (2013). Possibility of genetic for egg production trait in egg line of Thai synthetic chickens. Agricultural Sci. J., 44(1), 163–166.

Boonkum, W., Duangjinda, M., Laopaiboon, B., & Vongpralub, T. (2014). Effects of heat stress on genetic parameters and egg production in Pradu Hang Dam Thai native chickens. KHON KAEN AGR. J. 42.

Buctot, F. F., & Espina, D. M. (2015). Breeding Performance and Egg Quality of Red Jungle Fowl (Gallus gallus L.) Under Confinement System. Science, Engineering and Technology, 3, 65–75.

Chaiwong, S., & Sistayanarain, A. (2012). Optimization of Nested Polymerase Chain Reaction Conditions for Ampli fi cation of NS5B Gene Region of Hepatitis C Virus Genotype 6 ÊÀÒÇÐ · ÕèàËÁÒÐÊÁÊÓËÃÑº ¡ ÒÃ · Ó nested polymerase chain reaction à¾ × èÍà¾ÔèÁ » ÃÔÁÒ³ÂÕ¹ÃÔàÇ³ NS5B ¢ Í § à ª × éÍäÇÃÑÊ µ Ñ. 40(2).

Chaiyabutr, N. (2004). Physiological reactions of poultry to heat stress and methods to reduce its effects on poultry production. Thai J. Vet. Med, 34(2), 17–30.

Chao, C. H., & Lee, Y. P. (2001). Relationship between reproductive performance and immunity in Taiwan Country chickens. Poultry Science, 80(5), 535–540. https://doi.org/10.1093/ps/80.5.535

Dana, N., vander Waaij, E. H., & van Arendonk, J. A. M. (2011). Genetic and phenotypic parameter estimates for body weights and egg production in Horro chicken of Ethiopia. Tropical Animal Health and Production, 43(1), 21–28. https://doi.org/10.1007/s11250-010-9649-4

Dementieva, N. V., Fedorova, E. S., Krutikova, A. A., Mitrofanova, O. V., Stanishevskaya, O. I., Pleshanov, N. V., Smaragdov, M. G., Kudinov, A. A., Terletsky, V. P., & Romanov, M. N. (2020). Genetic variability of indels in the prolactin and dopamine receptor d2 genes and their association with the yield of allanto-amniotic fluid in russian white laying hens. Agricultural Sciences, 26(3), 373–379. https://doi.org/10.15832/ankutbd.483561

Englmaierová, M., Tůmová, E., Charvátová, V., & Skřivan, M. (2014). Effects of laying hens housing system on laying performance, egg quality characteristics, and egg microbial contamination. Animal Science, 59(8), 345–352. https://doi.org/10.17221/7585-cjas

Gjorgovska, N., Filev, K., Levkov, V., Gjorgjievski, S., Kostov, V., & Nastova, R. (2016). The effect of feed rich in DHA on egg production, egg components and DHA content in yolk. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 22(Supplement 1), 10–14.

Habeeb, A. A., Gad, A. E., & Atta, M. A. (2018). Temperature-Humidity Indices as Indicators to Heat Stress of Climatic Conditions with Relation to Production and Reproduction of Farm Animals. International Journal of Biotechnology and Recent Advances, 1(1), 35–50. https://doi.org/10.18689/ijbr-1000107

Haseeb Malik, M., Moaeen-Ud-Din, M., Bilal, G., Ghaffar, A., Danish Muner, R., Kaukab Raja, G., & Ahmad Khan, W. (2018). Development of amplified fragment length polymorphism

(AFLP) markers for the identification of Cholistani cattle. Archives Animal Breeding, 61(4), 387–394. https://doi.org/10.5194/aab-61-387-2018

Hidalgo, A. M., Martins, E. N., dos Santos, A. L., de Quadros, T. C. O., Ton, A. P. S., & Teixeira, R. (2011). Caracterização genética da idade ao primeiro ovo, da produção e do peso dos ovos em linhagens de codornas. Revista Brasileira de Zootecnia, 40(1), 95–99. https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000100013

Kammongkun, J., Sopha, D., & Leotaragul, A. (2015). Economic Returns of Pradu-Hangdum Chiang_mai chicken kept in floor pen and free range systems. KHON KAEN AGR. J., 43(1), 231–236.

Kunhareang, S., Duangjinda, M., Boonkum, W., & Charoensin, S. (2012). Detection of 24BP-PRL and VIPR-1 patterns associated with egg production traits in Thai Native Chickens. KHON KAEN AGR. J., 40(2), 351–356.

Mader, T. L., Davis, M. S., & Brown-Brandl, T. (2006). Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. Journal of Animal Science, 84(3), 712–719. https://doi.org/10.2527/2006.843712x

Magothe, T. M., Muhuyi, W. B., & Kahi, A. K. (2007). Genetic Parameter Estimates for Egg and Body Weights of Indigenous Chicken in Kenya. Animal Breeding and Genetics, Ic, 3–6.

Nagy, S., Poczai, P., Cernák, I., Gorji, A. M., Hegedűs, G., & Taller, J. (2012). PICcalc: An online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. Biochemical Genetics, 50(9–10), 670–672. https://doi.org/10.1007/s10528-012-9509-1

Nakkuntod, M., & Kongbungkerd, A. (2015). Identification of Aerides orchids using polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (PCR - RFLP) based on chloroplast DNA. Thai J. Genet., 8(3), 160–166.

Ngu, C. T. V. and N. T. (2016). Single Nucleotide Polymorphisms in Candidate Genes Associated With\r\nEgg Production Traits in Native Noi Chicken of Vietnam. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences, 1(1), 162–170. http://www.rroij.com/open-access/single-nucleotide-polymorphisms-in-candidate-genes-associated-withegg-production-traits-in-native-noi-chicken-of-vietnam-.php?aid=66562

Niknafs, S., Nejati-Javaremi, A., Mehrabani-Yeganeh, H., & Fatemi, S. A. (2012). Estimation of genetic parameters for body weight and egg production traits in Mazandaran native chicken. Tropical Animal Health and Production, 44(7), 1437–1443. https://doi.org/10.1007/s11250-012-0084-6

Nonta, U., & Saenkhunthow, Chatchawan Prasert, K. (2005). Study on the System of Production and Marketing of Thai Native Chicken In Mahasarakham Province. 1–25.

Oleforuh-okoleh, V. U. (2011). Estimation of Genetic Parameters and Selection for Egg Production Traits in a Nigerian Local Chicken Ecotype. Agricultural and Biological Science, 6(12), 2006–2009.

Orunmuyi, M., Oni, O. O., Adeyinka, I. A., & Asiribo, O. E. (2007). Gentic parameter estimates for plasma alkaline phosphatase activity and reproductive traits in two strains of Rhode Island chickens. Animal Science, 1(2), 76–81.

Promket, D., Ruangwittayanusorn, K., & Somchan, T. (2013). The study of meat quality on crossbred native chicken (Chee). KHON KAEN AGR. J. 41, 41(1), 394–399.

Promkhen, T. (2019). Effect of Egg Storage Duration on Hatchability and Chick Quality.

Sapkota, S., & , N.R. Devkota, N. A. G. and N. B. (2017). EVALUATION OF EGG LAYING AND EGG QUALITY PARAMETERS OF LOCAL CHICKEN SAKINI (Gallus gallus domesticus) OF NEPAL. Agriculture and Forestry University, 1, 181–188.

Soipeth, U., Nawannaporn, C., Chalermsan, N., Yeamkong, S., Rattanapradit, P., Laorodphan, N., Jaipong, P., Charoensook, R., Numthuam, S., Tossaporn Incharoen, Noppanatpitak, S., & Yoysakul, A. (2017). Diversity of Thai Indigenous Leuang Hang Kao Chicken Follow Standard of Perfection in Phitsanulok Province. KHON KAEN AGR. J. 45, 45(1), 684–689.

Sujirachato, K., Tirawatnapong, S., Mimae, N., Inon, S., Kaewdouengdee, A., & Worasuwannarak, W. (2020). The Study of the Yield of DNA Extracted From Hairs of Postmortem Cases. Ramathibodi Medical Journal, 43(2), 9–18. https://doi.org/10.33165/rmj.2020.43.2.224635

Suwanlee, S., & Salagham, I. (2018). Productive Performance of Thai Indigenous Crossbred Chicken between Pradu Hangdam Sire and Broiler-Layer Dam. KHON KAEN AGR. J., 46(3), 517–524.

Tenzin, J., Chankitisakul, V., & Boonkum, W. (2020). Association of polymorphisms of physiological candidate genes with phenotype and estimated breeding values of reproductive and growth traits in thai indigenous chickens. Genetics and Molecular Research, 19(1), 1–12. https://doi.org/10.4238/gmr18504

Tenzin, Jigme, & Boonkum, W. (2020). Potential genetic markers and their association with production traits in Thai Pradu Hang Dam and Chee native chickens. KHON KAEN AGR. J., 48(1), 211–220.

Thanthip, S. (2016). Effect of Acidifier on Laying Performance and Egg Quality of Laying Hens.

Trong Ngu, N., Thanh Vu, C., Hong Nhan, N. T., Hong Xuan, N., Trong An, N., & Nhan Dung, T. (2015). Effects of genetic polymorphisms on egg production in indigenous Noi chicken. Experimental Biology and Agricultural Sciences, 3(6), 487–493. https://doi.org/10.18006/2015.3(6).487.493

Wang, Y., Hui, X., Wang, H., Kurban, T., Hang, C., Chen, Y., Xing, J., & Wang, J. (2016). Association of H-FABP gene polymorphisms with intramuscular fat content in Three-yellow chickens and Hetian-black chickens. Animal Science and Biotechnology, 7(1), 1–8. https://doi.org/10.1186/s40104-016-0067-y

Xu, H. P., Zeng, H., Zhang, D. X., Jia, X. L., Luo, C. L., Fang, M. X., Nie, Q. H., & Zhang, X. Q. (2011). Polymorphisms associated with egg number at 300 days of age in chickens. Genetics and Molecular Research, 10(4), 2279–2289. https://doi.org/10.4238/2011.October.3.5

Xu, H., Zeng, H., Luo, C., Zhang, D., Wang, Q., Sun, L., Yang, L., Zhou, M., Nie, Q., & Zhang, X. (2011). Genetic effects of polymorphisms in candidate genes and the QTL region on chicken age at first egg. BMC Genetics, 12(1), 33. https://doi.org/10.1186/1471-2156-12-33

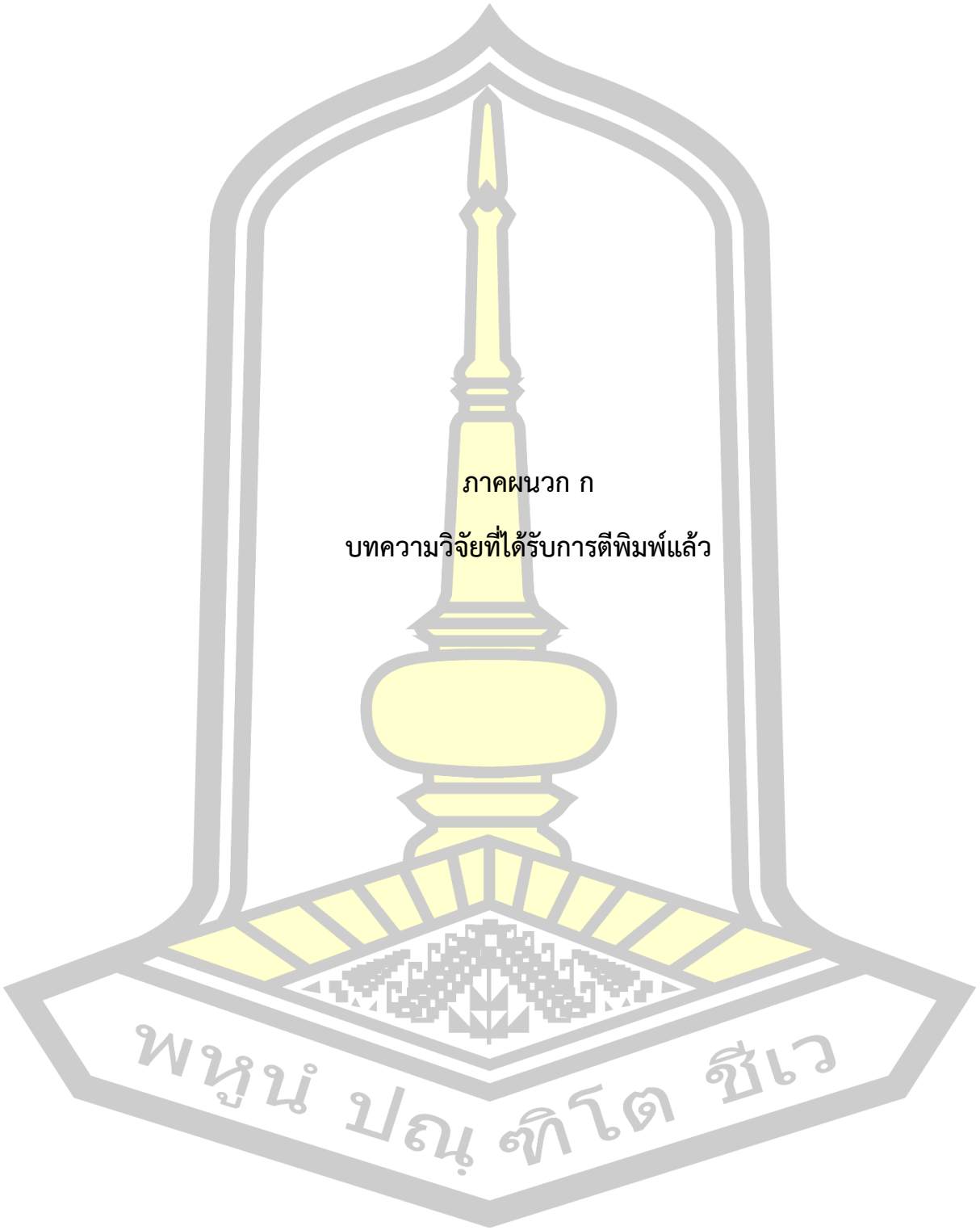
Yunjie, T., Su, Y., Wang, K., Zhang, X., Tong, H., & Gao, Y. (2010). Gene expression of heart and adipocyte fatty acid-binding protein in chickens by FQ-RT-PCR. Animal Sciences, 23(8), 987–992. https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90556

Yupaporn, C., Israel, R., Nattakarn, S., & Sunanta, Kosolsirilaksana Chalermchai, H. (2005). Effects of Ambient Temperature upon the Neuroendocrine Regulation and the Mechanism(s) Mediating the Reproductive Cycle of the Female Native Thai Chicken.

Zhou, M., Du, Y., Nie, Q., Liang, Y., Luo, C., Zeng, H., & Zhang, X. (2010). Associations between polymorphisms in the chicken VIP gene, egg production and broody traits. British Poultry Science, 51(2), 195–203. https://doi.org/10.1080/00071661003745786

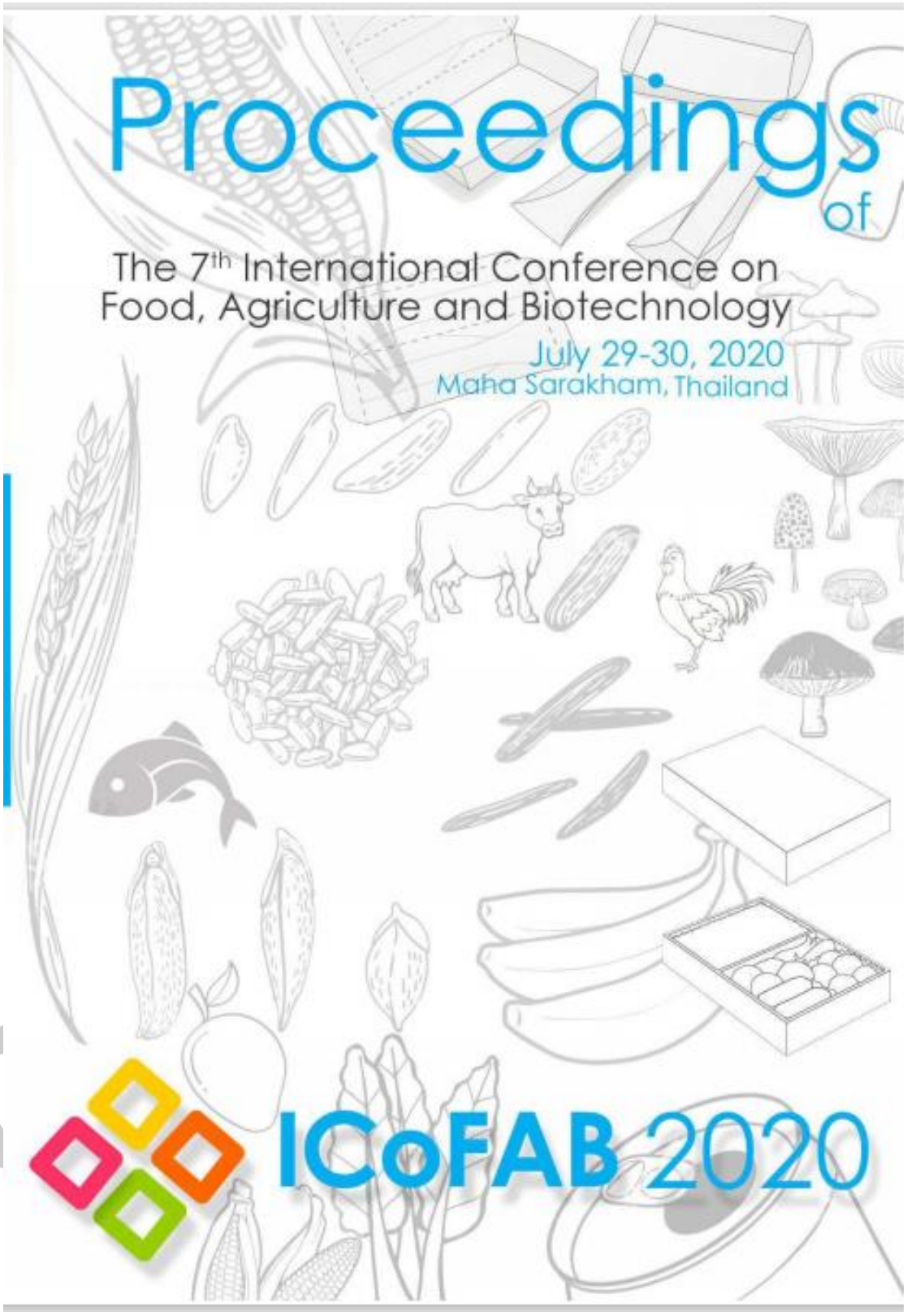
Zonuz, A. Y., Alijani, S., Mohammadi, H., Rafat, A., & Daghigh Kia, H. (2013). Estimation of genetic parameters for productive and reproductive traits in Esfahan native chickens. Journal of Livestock Science and Technologies, 1(2), 34–38. http://lst.uk.ac.ir

ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

บทความวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์แล้ว


Proceedings
of
The 7th International Conference on
Food, Agriculture and Biotechnology
July 29-30, 2020
Maha Sarakham, Thailand
ICoFAB 2020

Contents

Full paper	Page
Development of Kombucha and its functional property from agricultural waste (fermented tea broth) *Sawarin Wispen*	1
Effect of background color and nitrite stress on cooked shrimp color of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) *Kritch Poomkaew*	10
Effect of Gelation Addition on Physico-Chemical Characteristics of Bastard Oleaster Gummy Jelly *Krittalak Pasakawee*	16
Effect of Pectic Oligosaccharides from Fruit Peels as Prebiotic in Animal Feed *Pornpan Saenphoom*	23
Factors affecting the implementation of GAP among banana (Gros Michel) growers in Ban Lat district, Phetchaburi province, Thailand *Almerice Enold*	29
In Vitro Cytotoxicity of *Cordyceps militaris* Extracts on Different Human Cancer Cell Lines *Jitsuda Kullawat*	38
In vitro digestibility of fishmeal reduction diet in combination with protease enzyme by Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) digestive enzyme *Pornpot Putnuan*	44
Investigation the Physical, Mechanical Properties of Edible Film from Riceberry flour *Walaiporn Hemso*	51
Method Validation for Quantitative Determination of Gallic Acid from *Acacia concinna* (Willd.) D.C. *Chiramet Auranwiwat*	59
Phytochemicals and Antioxidation of Fractionated Sugarcane Extracts: Suphanburi 50 Variety *Phongsathorn Motham*	65
Preparation and characterization of water hyacinth cellulose/keratose composite films *Patcharida Chaosri*	74
Pro-Inflammation Cytokine Secretion of Peripheral Blood Mononuclear Cells by Edible Mushroom	83

Sinee Siricoon

Quality Characteristics of Reduced-Fat Vienna Sausage Using Rice Flour and Skim Milk Powder Mixture as a Fat Replacer 90
Wichanard Sakunwiwat

Rice Straw Hydrolysate as a Promising Culture Medium for Astaxanthin Production by the Red Yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous* 100
Pasinee Phoproek

The effect of drying with controlling relative humidity of drying air on the color and texture of mango sheet products 111
Kwanchanok Prachunchonakorn

The Effect of Temperature Humidity Index (THI) on Egg Production in Pradu-Hangdum Chaing Mai High Egg Production Strain Chickens 119
Kamonnate Pimrueng

The Nutritive Value and Bioactive Compounds of Alfalfa (*Medicago sativa*) Grown at Burapha University, Sa Kaeo Campus 127
Supreena Srisaikham

Neuroblastoma Cell-Line Toxicity due to Increased Alzheimer's-Related Proteins and Cell Death Subsequent to High-Dose Palmitic Acid Exposure 135
Phansa Phitthayaphong

Effects of Mash Feed, Sinking Feed and Floating Feed on Growth Performance, Feed Utilization and Hematology of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) 143
Muhammad Kamruzzaman

ICoFAB2020
doi: 10.14457/MSU.res.2020.17 International Conference on Food, Agriculture and Biotechnology

THE EFFECT OF TEMPERATURE HUMIDITY INDEX (THI) ON EGG PRODUCTION IN PRADU-HANGDUM CHAING MAI HIGH EGG PRODUCTION STRAIN CHICKENS

KAMONNATE PIMRUENG[1], DOUNGNAPA PROMKET[1]*,
KHANITTA PENGMEESRI[1], JENNARONG KAMMONGKUN[2]

[1]Animal Science, Department of Agricultural Technology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand
[2]Chiang Mai Livestock Research and Breeding Center, San Pa Tong, Chiang Mai 50120, Thailand

*Corresponding author: napakran@hotmail.com

Abstract:

The purpose of this research was to study the effects of climate changes on egg production under Chiang Mai Livestock Research and Breeding Center in Chiang Mai Province. This study was conducted from 300 Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production strain chickens. The data record collected from April 2019 until March 2020. The study indicated that, the weather was hot and humid. The temperature ranged from 22.28-31.23°C and humidity range were 46.70-81.80%. The highest temperature in May (31.12°C) and April (31.23°C) the lowest temperature in December (22.28°C). Daily temperature and humidity data from meteorological measurements in Chiang Mai were recorded daily over the duration of the trial period were used to calculate the temperature humidity index (THI). The THI group for effect on egg production composition was set to 4 groups (THI1 is THI ≤ 70, THI2 is ≤ 74 THI > 70, THI3 is ≤ 78 THI >74 and THI4 is THI > 78). The highest THI values (THI 4) effect on age at first egg (AFE), THI4 (144.59 day) was lower than THI1 (161.40 day), THI2 (158.22 d) and THI3 (156.17 d). AFE in summer season was lower than raining season. The correlation between TEP270 and average egg at 1 mouth (AEM) traits were found the highest correlation (0.90). Moreover, the correlation between weight at first egg (HWFE) and age at first egg (AFE) was 0.38, it meaning that HWFE resulting in AFE faster.

Keywords: Temperature humidity index (THI); Egg production; Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production strain

Introduction

Thailand is located in area hot weather conditions are associated with animal production capability. Especially in hot summer and rainy season, high humidity will affect the body temperature of chickens (Amnuay *et al*., 2011). Higher temperatures and humidity are effected of the environment caused by heat stress directly affects the decline in egg production. The impact is increasing and can survive for a long time. The body temperature of hen is maintained 40.0-42.2 °C by thermoregulatory mechanism when the environmental temperature is within the thermoneutral zone poultry are homoeothermic. If the thermoregulation mechanism is insufficient to maintain homeothermy, the body temperature begins to rise and eventually cause to death from heat stress (Ilker & Simsek. 2013). The upper critical temperature for chickens were between 36 and 37°C are most comfortable. Health, productivity is maximized and stress is minimized at the thermoneutral zone.

Growth rate and egg production of the native chickens under conventional rearing system in villages are very low. During the past several decades, importation of exotic breeds

have increased risk of extinction (Shahram *et al*., 2012). Haiping *et al*. (2011) report the age at first egg is one of the direct indicators for sexual maturation in female chickens. Moreover, Wuttigrai *et al*. (2014) reported mean of age at first egg (day) on Pradu Hangdum chickens was 203 day and Suchittra *et al*. (2015) reported mean of age at first egg (day) on Chee native chickens was 211 day. Egg production is an important economic characteristic in the poultry industrial (Wuttigrai *et al*., 2014). Nowadays, Thai native chickens have relatively low egg production. From the report found that native chickens was 3-5 sets of eggs each year, 13 eggs each set (Pin *et al*., 2004). Jennarong *et al*. (2014) studying Thai native chicken in Pradu-Hangdum Chiang Mai using the pure lines of Pradu-Hangdum Chiang Mai under Chiang Mai Livestock Research and Breeding Center and evaluation genetic parameter on egg production. The goal for breeding and selection provide Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production strain chickens.

The temperature humidity index (THI) is an indication of the calculation form environmental temperature and humidity caused by heat stress conditions. Therefore, temperature and humidity variation may affect behavioral changes and physiology of the hens. The resultant heat stress comes from the interactions among air temperature, humidity, radiant heat and air speed, where the air temperature plays the major role. Laying hens can produce more number and more big eggs in indoor environmental temperature between 13-24 °C (Ilker & Simsek, 2013). The effect of heat stress on chickens found high mortality, decreased feed intake, low laying rate, egg weight in laying hens (Oguntunji & Alabi, 2010; Mutibvu *et al*., 2017; Cicero *et al.*, 2018).

The objective of this study was to determine effects of temperature humidity index (THI) on egg production in Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production strain chickens.

Materials and Methods

Animal and egg production data, the study was conducted from 300 Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production strain chickens under the open house with battery cages system in Chiang Mai Livestock Research and Breeding Center, SanPaTong District, Chiang Mai Province. The width and length of cages are width × length × high were 20×30×40 cm. All chickens were fed by raised in battery cages; solitary confinement has an artificial mating pattern.

The analysis of climate changes (temperature humidity index; THI) on egg production in Pradu-Hangdum Chiang Mai high egg production Strain Chickens was focused. This study useds data recorded data of individual egg production, include hen weight at first egg (HWFE), age at first egg (AFE), egg weight at first (EWF), average egg weight at 270 day (AEW270), total egg production at 270 day (TEP270) and average egg at 1 mouth (AEM).

Meteorological measurements in Chiang Mai were recorded daily over the duration of the trial period (Average temperature: degree Celsius) and Relative humidity (Average humidity: percentage). According to the method of (Mutibvu *et al*., 2017). The data record collected from April 2019 until March 2020.

The temperature and relative humidity data (from April 2019 until March 2020) obtained from the records of the meteorological center closest to each meteorological measurements in Chiang Mai. The weather information included daily temperature and relative humidity recorded every 3 h, which were used to calculate the temperature humidity index (THI) by using the equation bellow (Mader *et al*., 2006).

$$THI = T_d - [0.55x(RH/100)] \times [T_d - 58]$$

Where T_d is temperature in degrees Celsius and RH is relative humidity as a percentage. After calculating the THI value dividing the THI group into 4 groups as follows: THI1 is THI ≤ 70, THI2 is ≤ 74 THI > 70, THI3 is ≤ 78 THI >74 and THI4 is THI > 78.

Statistical analysis

The means of egg production traits were analyzed using PROC MEANS (SAS, 1998). The correlation among production traits used PROC CORR. The effect of THI on egg production traits was performed using the GLM procedure. The means between variables were considered significantly different at $P < 0.05$ (SAS, 1998).

Results and Discussion

Table 1 shows the means, standard deviation (SD), minimum and maximum for egg production characteristics of Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production Strain Chickens. This study showed the means of hen weight at first egg (HWFE) was 1,930.87 g. Moreover, means of age at first egg (AFE), egg weight at first (EWF), average egg weight at 270 day (AEW270), total egg production at 270 day (TEP270) and average egg at 1 mouth (AEM) were 153.81 day., 33.80 g., 44.80 g., 137.92 egg, 16.33 egg, respectively. According with Worawit *et al.* (1998) reported mean of weight at first egg of hen was 1,900 g. which similarly with this study. But, Wuttigrai *et al.* (2014) reported mean of age at first egg (day) in Pradu Hangdum chickens was 203 day. and accordance with Pin *et al.* (2004) reported mean of egg weight at first in Betong chickens was 38.53 g. and Natthakan (2015) reported mean of egg weight at first in black-bone chicken was 35.14 g.

Table 1: The descriptive data of egg production in Pradu-Hangdum Chiang Mai high egg production strain chickens.

Traits	Means	SD	Minimum	Maximum
HWFE	1,930.87	19.35	1,075.00	2,482.00
AFE	153.81	11.75	128.00	198.00
EWF	33.80	5.94	18.00	58.00
AEW270	44.80	3.05	32.28	54.36
TEP270	137.92	28.76	70.00	211.00
Traits	**Means**	**SD**	**Minimum**	**Maximum**
AEM	16.33	3.04	8.67	23.44

Note: ^{ab}means within a row with different superscripts different significant ($P<0.05$)
HWFE is hen weight at first egg (g), AFE is age at first egg (day), EWF is egg weight at first (g), AEW270 is average egg weight at 270 day, TEP270 is total egg production at 270 day, AEM is average egg at 1 mouth

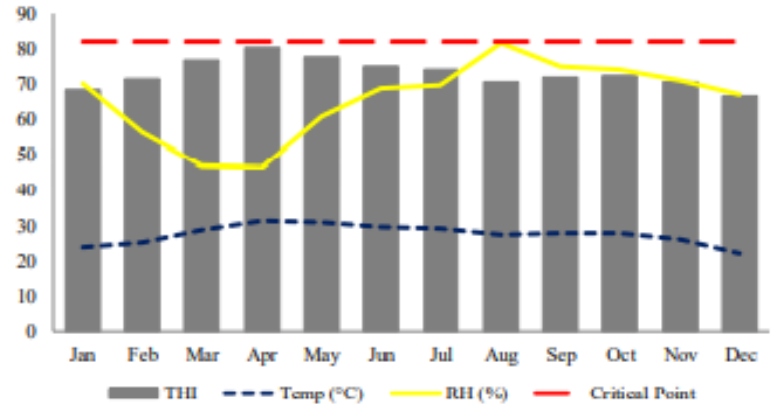


Figure 1: Average temperature, relative humidity and temperature humidity index (THI) variation during year of 2019.

Figure 1 shows temperature, relative humidity, temperature humidity index (THI) and critical point that can affect chickens due to heat stress. The highest temperature add THI found on April. Moreover, the temperature and THI values in this study were lower than 80 which had on effect on egg production. Habeeb *et al.* (2018) showed critical point that can affect productivity in chickens due to heat stress when THI over 82.

Table 2: Environmental conditions during the experimental periods.

Month	Temperature (°C)			Relative humidity (%)			THI
	Means	Minimum	Maximum	Means	Minimum	Maximum	
January	23.73	21.10	26.10	70.30	64.00	89.00	68.25
February	25.33	23.30	27.00	56.70	49.00	67.00	71.48
March	28.54	26.20	31.20	47.10	40.00	52.00	76.80
April	31.23	28.90	33.40	46.70	40.00	60.00	80.45
May	31.12	27.30	34.70	60.90	43.00	82.00	77.96
June	29.67	27.40	32.70	69.10	58.00	83.00	74.99
July	28.97	24.50	32.70	69.70	56.00	92.00	74.12
August	27.37	24.90	29.20	81.80	67.00	91.00	70.80
September	27.77	25.40	29.50	75.30	66.00	85.00	72.05
Month	**Temperature (°C)**			**Relative humidity (%)**			**THI**
	Means	**Minimum**	**Maximum**	**Means**	**Minimum**	**Maximum**	
October	27.81	24.50	29.80	74.00	66.00	90.00	72.27
November	26.15	24.60	28.20	71.00	64.00	80.00	70.84
December	22.28	17.70	25.40	67.20	49.00	78.00	66.89

Table 2 shows of temperature, relative humidity and temperature humidity index (THI) by Meteorological Department from Chiang Mai province. Mean maximum and minimum of temperature, relative humidity and calculated THI by the experimental period are shown in

table 2. There are 3 seasons in Thailand: winter season (October to January), summer season (February to May) and raining season (June to September). The highest temperature (31.23), THI (80.45) and lowest humidity (46.70) was found on April which in summer season.

The effect of temperature humidity index (THI) of all 4 groups on egg production in Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production Strain Chickens was found in AFE. The AFE trait on THI4 (144.59 day) was lower than THI1 (161.40 day), THI2 (158.22 d) and THI3 (156.17 d). For means of HWFE, EWF, AEW270, TEP270 and AEM among THI groups were not significant difference (Table 3). Narongsak (2004) reported the upper critical temperature for chickens was between 36 and 37°c is most comfortable. Health, productivity is maximized and stress is minimized at the thermoneutral zone. Habeeb *et al.* (2018) showed critical point that can effect chickens due to heat stress when THI over 82. Therefore, the AFE of THI4 in maximum at 80.45 shows that THI4 is still in a comfortable range of animals.

Table 3: The effected of THI groups on egg production in Pradu-Hangdum Chiang Mai high egg production strain chickens.

Traits	THI groups				P-value
	1	2	3	4	
HWFE	1,935.00	1,991.37	1,938.55	1,868.16	0.83
AFE	161.40^{a}	158.22^{a}	156.17^{a}	144.59^{b}	<0.01
EWF	32.47	34.47	34.25	32.345	0.48
AEW270	45.97	43.95	44.65	45.68	0.09
TEP270	146.80	134.28	135.89	144.67	0.39
AEM	17.14	16.42	16.16	16.59	0.79

Note: ^{ab}means within a row with different superscripts different significant (P<0.05)
HWFE is hen weight at first egg (g), AFE is age at first egg (day), EWF is egg weight at first (g), AEW270 is average egg weight at 270 day, TEP270 is total egg production at 270 day, AEM is average egg at 1 mouth.
Temperature humidity index THI1 is THI ≤ 70, THI2 is ≤ 74 THI > 70, THI3 is ≤ 78 THI >74 and THI4 is THI > 78.

Table 4: Egg production (LSM ± SD) between summer and rainning in Pradu-Hangdum chiang Mai high egg production strain chickens.

Traits	Seasons		P-value
	summer	raining	
HWFE	1,839.70	1,934.01	0.33
AFE	138.40^{b}	154.34^{a}	0.01
EWF	31.98	33.86	0.10
AEW270	45.32	44.78	0.18
TEP270	148.90	137.54	0.47
AEM	16.74	16.31	0.41

Note: ^{ab}means within a row with different superscripts different significant (P<0.05)
HWFE is hen weight at first egg (g), AFE is age at first egg (day), EWF is egg weight at first (g), AEW270 is average egg weight at 270 day, TEP270 is total egg production at 270 day, AEM is average egg at 1 mouth
Summer is February to May, raining is June to September, Winter is October to January

Table 4 shows egg production (LSM ± SD) of the different seasons in Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production Strain Chickens. For the effect of seasons, AFE in summer was the best is significant different. For HWFE, EWF, AEW270, TEP270 and AEM was no significant different in the seasons (P<0.05). Narongsak (2004), the genetic potentiality of poultry would not be utilized fully. The main season for this restriction is environment

constraints. In accordance with Behura *et al.* (2016) reported summer at means temperature was 31.71°C, so age at first egg is summer in chickens (138.40 day). Because of influence from the environment found that the hot weather makes the chicken stay comfortable. Housing system effect on the thermos physiological traits of hens by higher in battery cage than the deep litter system. Narongsak (2004) showed a comfortable temperature for chickens was between 36 ◦C and 37◦C in the summer.

Table 5: The correlation of egg productions in Pradu-Hangdum Chiang Mai high egg production strain chickens.

Traits	HWFE	AFE	WFE	AEW270	TEP270	AEM
HWFE	1.00	0.38	0.18	0.07	-0.17	-0.12
AFE		1.00	0.25	-0.16	-0.07	-0.02
EWF			1.00	-0.12	-0.06	-0.04
AEW270				1.00	0.07	0.01
TEP270					1.00	0.90
AEM						1.00

Note: HWFE is hen weight at first egg (g), AFE is age at first egg (day), EWF is egg weight at first (g), AEW270 is average egg weight at 270 day, TEP270 is total egg production at 270 day, AEM is average egg at 1 mouth

Table 5 shows the correlation of egg productions in Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production strain chickens. The correlation on egg productions between -0.17 to 0.90. The result showed correlation between TEP270 and AEM traits was the highest correlation (0.90). The highest correlation of this study showed that, the chickens high TEP270 and high AEM also. A positive correlation was found between HWFE and AFE (0.38) and between AFE and EWF (0.25). In addition, HWFE was negatively correlated with TEP270 (-0.17). Moreover, the correlations between AFE and AEW270 was negatively relationship (-0.16). In accordance with Oke *et al.* (2004) reported percentage lean was positive correlated with body weight and weight at first egg. Moreover, Hidalgo *et al.* (2011) reported percentage lean was positive correlated with age at first egg and egg weight. But, age at first and egg production, weight at first egg and egg production were negatively correlated.

Conclusions

Results of this study indicate the effect of temperature humidity index (THI) on egg production in Pradu-Hangdum Chiang Mai high Egg Production strain chickens. The AFE trait on THI4 (144.59 day) was lower than THI1 (161.40 day), THI2 (158.22 d) and THI3 (156.17 d). For HWFE, EWF, AEW270, TEP270 and AEM among THI groups not significant difference. AFE in summer season was lower than raining season. The correlation between TEP270 and AEM traits was found the highest correlation (0.90).

Acknowledgements

I would like to thank faculty of technology Mahasarakham University, Maha Sarakham, Thailand for financial support. Chiang Mai Livestock Research and Breeding Center, Thailand, for data of egg productions, which were the main information of this research.

References

Amnuay, M., Suvit, B. & Montakan, K. (2011). Environmental improvement for high milk production for small scale farmers in western Thailand. 52(1), 0211-035.

Behura, N. C., Kumar, F., Samal, L., Sethy, K., Behera, K. & Nayak, G.D. (2016). Use of Temperature-Humidity Index (THI) in energy modeling for broiler breeder pullets in hot and humid climatic conditions. J. Livestock Sci. 7, 75-83.

Cicero, H. O., Cohen, J., Rankine, D., Taylor, M., Cambell, J. & Stephenson, T. (2018). Characterizing heat stress on livestock using the temperature humidity index (THI)—prospects for a warmer Caribbean. 18, 2329-2340.

Habeeb, A. A., Gad, A. E. & Atta, M. A. (2018). Temperature-humidity indices as indicators to heat stress of climatic conditions with relation to production and reproduction of farm animals. ISSN: 2639-4529.

Hidalgo, A. M., Nunes,M. E., Santos, A. L., Quadros, T., Ana, P. S. & Rafael, T. (2011). Genetic characterization of egg weight, egg production and age at first egg in Quails. (1), 95-99.

Ilker, K. and Simsek, E. (2013). The effects of Heat stress on egg production and quality of laying hens. 12(1), 42-47.

Jennarong, K., Chalermpon, B., Choosak, P. & Amnuay, L. (2014). Effect of layer breed, storage temperature and time on egg quality. Khon Kaen AGR. J. 42(1), 223-229.

Mader, T. L., Davis, M. S. & Brown-Brandl, T. (2006). Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. Anim. Sci. J. 84(3), 712-719.

Mutibvu, T., Chimonyo, M. & Halimani, TE. (2017). Physiological responses of slow-growing chickens under diurnally cycling temperature in a hot environment. Poul. Sci. J. 19, 567-576.

Narongsak, C. (2004). Physiological reactions of poultry to heat stress and methods to reduce its effects on poultry production. Thai J. 34(2), 17-30.

Natthakan, M. (2015). Egg production and reproductive performance of royal project black-bone chicken in parent generation. 2(1): 28-38.

Oke, U. K., Herbert, U. & Nwachukwu, E. N. (2004). Association between body weight and some egg production traits in the guinea fowl (Numida meleagris galeata. Pallas). 62, 1155-1159.

Oguntunji, A.O. and Alabi, O.M. (2010). Influence of high environmental temperature on egg produvtion and shell quality a review. 66, 739-749.

Pin, C., Worawit, W., Thumrunk, T. & Somsak, L. (2004). Village betong chicken production in three southernmost Thailand: A Study of phenotypic characteristics, growth, carcass Yield and Egg Performance of Betong chickens. Khon Kaen AGR. J. 20(3), 278-288.

SAS. 1998. SAS User's Guide. Version 6.12. SAS. Inst., Cary, NC.

Worawit, W., Suk, W., Saim, Kh. & Banjub, H. (1998). A comparative study on egg production of 4 commercial hybrid layer strains. 33(8), 1-35.

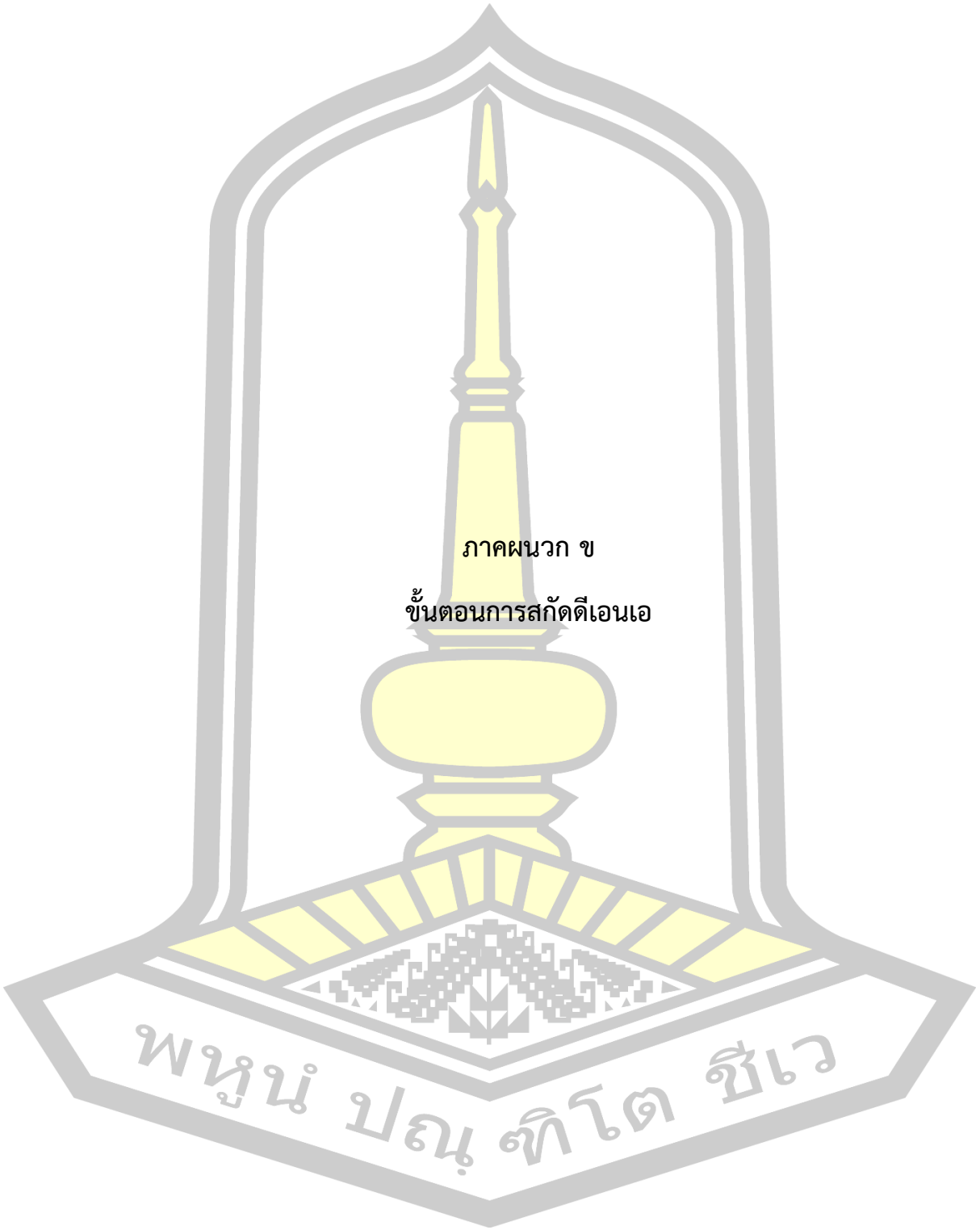
Shahram, N., Ardeshir N. J., Hassan, M. Y. & Seyed, A. F. (2012). Estimation of genetic parameters for body weight and egg production traits in Mazandaran native chicken. Trop. Anim. Health Prod. 44, 1437–1443.

Suchittra, S., Worawit, S., Jisasak, S. & Kamonporn, Kh. (2015). Development of parent stock of Thai indigenous chicken: Chee. 112-118.

Wuttigrai, B., Monchai, D., Banyat, L. & Thevin, V. (2014). Effects of heat stress on genetic parameters and egg production in Pradu Hang Dam Thai native chickens. Khon Kaen AGR. J. 42(3), 319-328.

Xu, H., Zeng, H., Luo, Ch., Zhang, D., Wang, Q., Sun, L., Yang, L., Zhou, M., Nie, Q. & Zhang, X. (2011). Genetic effects of polymorphisms in candidate genes and the QTL region on chicken age at first egg. 1-9.

Yukubu, A., Ekpo, E. & Oluremi, O.I.A. (2018). Physiological Adaptation of Sasso Laying Hens to the Hot-Dry Tropical Conditions. 83(2), 187-193.



ภาคผนวก ข

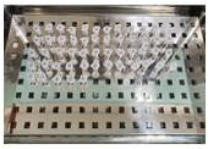
ขั้นตอนการสกัดดีเอนเอ

DNA Extraction

Blood 1-2 ml + EDTA 1 ml

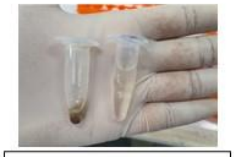
Whole blood 50 µl

Add
20% SDS (70 µl)
1% Proteinase K (25 µl)
7.5 M Na-acetate (50 µl)
5 M GuHCl (625 µl)



Water bathat 60 °C (3 – 6 h)

Centrifuge 14,000 rpm
(5 min)



Keep supernatant in
new microtube

Add Absolute Isopropanol
(600 µl) (Flip up/down)

Centrifuge
14,000 rpm (5 min)

Discard supernatant
Keep DNA Precipitate

75% Ethanol (500 µl)
14,000 rpm 1 min (2 times)

Discard supernatant
Keep DNA Precipitate

To Dry DNA Precipitate 30 min

TE buffer (30-50 µl) and
Water bath at 37 °C (2 h)

Check concentration of genomic DNA

ภาคผนวก ค

ขั้นตอนเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง (polymerase chain reaction, PCR)

polymerase chain reaction, PCR

DNA Template

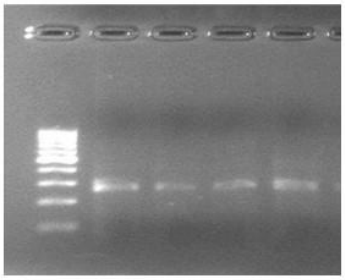
PCR Mixed

Add	
- DNA Template	1 µl
- 10X PCR buffer	1 µl
- MgCl2	0.8 µl
- dNTP	1 µl
- Primer-F	1 µl
- Primer-R	1 µl
- dH2O	4.1 µl
- Tag polymerase	0.1 µl
Total	10 µl

Initial denaturation	at 94°C for 3 min
Denaturation	at 94°C for 45 sec
Primer annering	at 60°C for 1 min (DRD2 gene) at 58°C for 1 min (VIP gene)
Final extension	at 72°C for 10 min
Total	30 times

PCR-Product + 6X loading dye 4 µl

2% agarose gel



Dye with gelstar for 5-10 min and recorded DNA bands

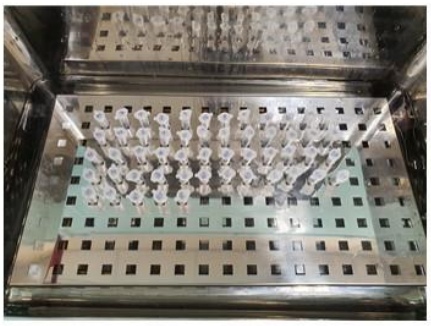
ภาคผนวก ง

การตรวจหารูปแบบจีโนไทป์ของยีน DRD2 และยีน VIP ด้วยวิธี Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP

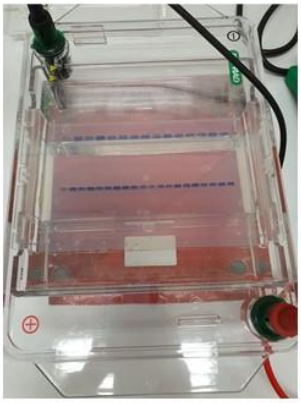
Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP

DNA Product → Restriction enzyme →

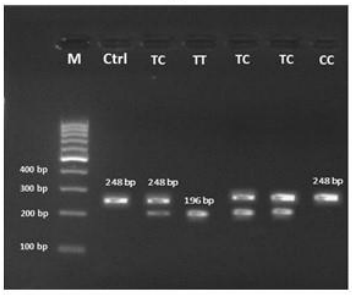
Add	
PCR Product	1.5 µl
10X PCR buffer	1.5 µl
nuclease-free water	6.75 µl
Restriction enzyme	0.25 µl



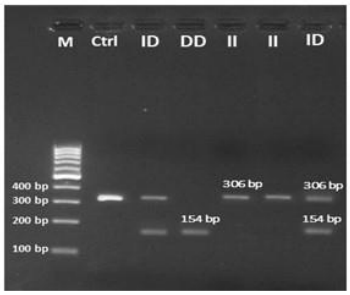
Warm up for 1-16 h
*BseG*I enzyme at 55 °C with DRD2 gene
*Vsp*I enzyme at 37 °C with VIP gene



2% agarose gel and dye with Gel star for 5-10 min



Genotype DRD2 gene
genotype TT = 196 bp
genotype TC = 248 bp and genotype 196 bp
genotype CC = 248 bp



Genotype VIP gene
genotype II = 306 bp
genotype ID = 306 bp and genotype 154 bp
genotype DD = 154 bp

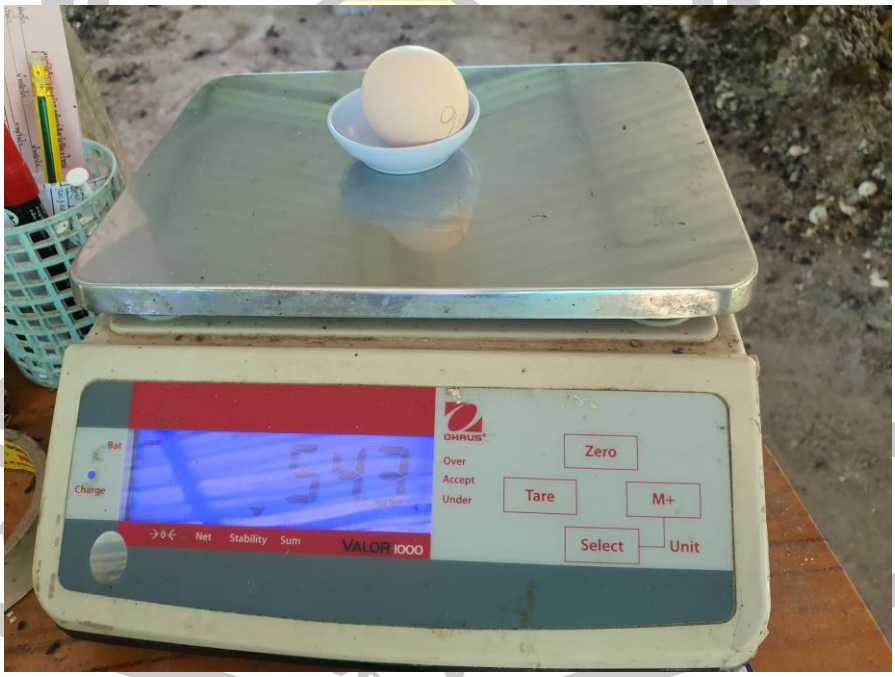
ภาคผนวก จ

ภาพประกอบการทดลอง

ภาพที่ 1 ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดกเพศเมีย

ภาพที่ 2 เครื่องชั่งน้ำหนัก

ภาพที่ 3 การบันทึกข้อมูลการให้ผลผลิตไข่



ภาพที่ 4 การเก็บน้ำหนักไข่ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่สายพันธุ์ไข่ดก

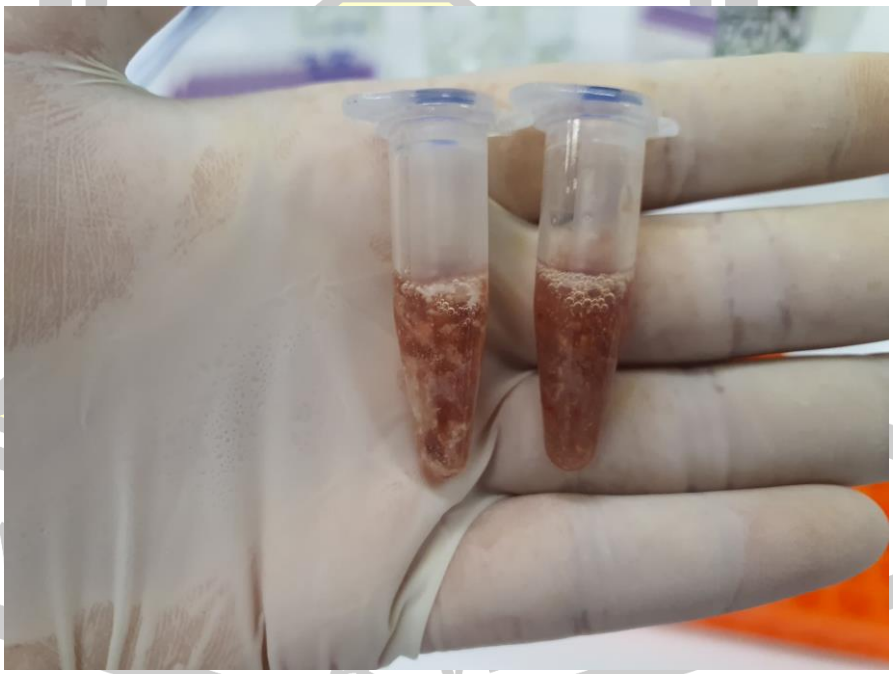
ภาพที่ 5 การเจาะเลือดไก่บริเวณใต้ปีก

ภาพที่ 6 ตัวอย่างเลือดไก่ 1-1.5 มิลลิลิตร

ภาพที่ 7 ตู้เก็บตัวอย่างเลือดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 8 เตรียมสารเคมีในการสกัด DNA

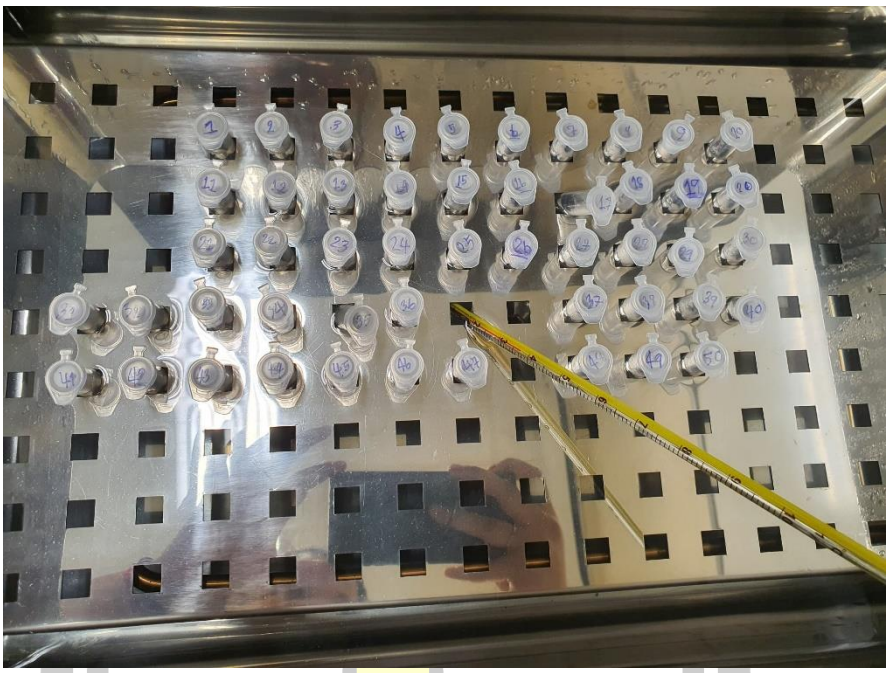
ภาพที่ 9 เตรียมตัวอย่างเลือดปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในการสกัดดีเอ็นเอ



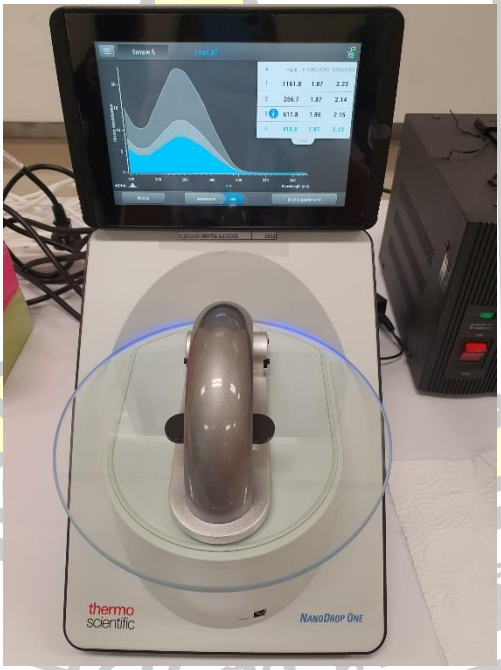
ภาพที่ 10 ขั้นตอน DNA binding เติมสารเคมี 4 ชนิด คือ 20% SDS, 7.5 M Na-acetate, 1% Protease K และ 5M Guanidine HCl

ภาพที่ 11 ขั้นตอน DNA binding นำตัวอย่างที่บ่มเสร็จใส่เครื่องปั่นเหวี่ยงอัตโนมัติ

ภาพที่ 12 ตะกอนดีเอ็นเอ

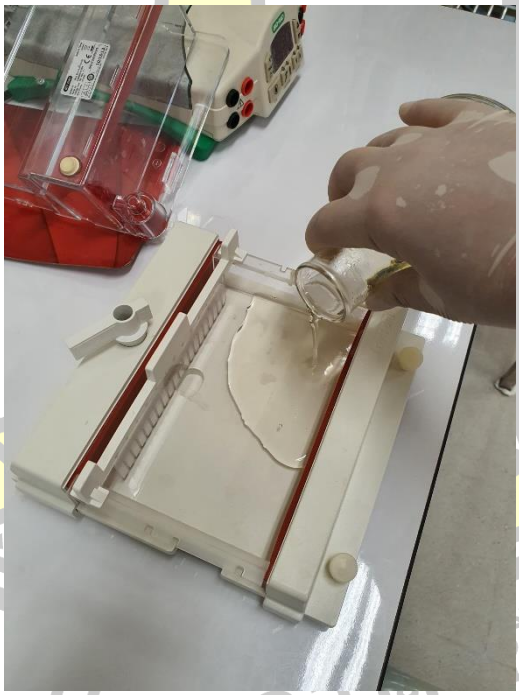


ภาพที่ 13 ขั้นตอน DNA Elution เติม TE buffer นำไปบ่มใน water bath อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะได้ Purified DNA



ภาพที่ 14 ตรวจคุณภาพ และความบริสุทธิ์ของ DNA โดยเครื่อง Nanodrop

ภาพที่ 15 ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง DNA thermal cycler



ภาพที่ 16 การเตรียม agarose gel

\

ภาพที่ 17 ตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ด้วยเครื่อง gel electrophoresis

พหูน ปณ ฑิโต ชีเว

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวกมลเนตร พิมพ์เรือง
วันเกิด	วันที่ 19 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2539
สถานที่เกิด	อำเภอจตุรพักตรพิมาน จังหวัดร้อยเอ็ด
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 55 หมู่ 8 บ้านดงเมืองจอก ตำบลศรีโคตร อำเภอจตุรพักตรพิมาน จังหวัดร้อยเอ็ด รหัสไปรษณีย์ 45180
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2554 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนพระกุมารร้อยเอ็ด อำเภอเมือง จังหวัดร้อยเอ็ด พ.ศ.2557 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสตรีศึกษา อำเภอเมือง จังหวัดร้อยเอ็ด พ.ศ.2561 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ.2563 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาสัตวศาสร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

พหูน ปณฺ ฑิโต ชีเว