

การตรวจหาเครื่องหมายพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำและพันธุ์ชี

Detection of genetic marker associated with egg production traits in Pradu Hang Dam and Chee chickens

สุกัญญา เจริญศิลป์¹, มนต์ชัย ดวงจินดา^{1*}, สุภร กตเวทิน¹ และ พรพรรณดี โสพรรณรัตน์¹

Sukanya Charoensin¹, Monchai Daungjinda^{1*}, Suporn Katawatin¹

and Panwadee Sopannarath²

บทคัดย่อ: การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหายีนที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำและพันธุ์ชี จำนวน 230 และ 220 ตัวอย่าง ตามลำดับ และตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *24BP-PRL* ด้วยเทคนิค PCR ยีน *5FA-PRL*, *BMPR-IB*, *cGH*, *GnRHR* และ ยีน *NPY* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP จากการศึกษาพบว่าในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำไม่พบความสัมพันธ์ของยีน *BMPR-IB*, *cGH*, *GnRHR* และ *NPY* กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ แต่พบว่ายีน *5FA-PRL* และ *24BP-PRL* มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ และยีน *5FA-PRL* เป็น major effect ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ อย่างไรก็ตามยีนดังกล่าวตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ยากและต้นทุนสูง ดังนั้นยีน *24BP-PRL* ซึ่งมีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ที่ใกล้เคียงกับยีน *5FA-PRL* จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็น genetic marker สำหรับคัดเลือกลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำให้เพิ่มขึ้นได้ ในขณะที่ยีน *5FA-PRL* นั้นไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่ศึกษากับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี

คำสำคัญ: ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ, ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี, เครื่องหมายพันธุกรรม, ลักษณะการให้ผลผลิตไข่

ABSTRACT: The objective of the study was to detect genetic marker associated with egg production trait in Pradu Hang Dam and Chee chickens. A total of 230 Pradu Hang Dam and 220 Chee represented the sample size. *24BP-PRL* and *5FA-PRL*, *BMPR-IB*, *cGH*, *GnRHR* and *NPY* were genotyped by PCR and PCR-RFLP methods, respectively. The result revealed that in Pradu Hang Dam, the *5FA-PRL* and *24BP-PRL* genes were related with egg production trait ($P<0.05$) and *5FA-PRL* has a major effect on egg production trait. However, the *5FA-PRL* genotyping was more expensive and difficult than *24BP-PRL*. Thus, *24BP-PRL* might be appropriated as genetic marker for egg production trait as *24BP-PRL* showed similar effect as *5FA-PRL*. On contrary, non significant ($P>0.05$) association between genes and egg production trait was observed in Chee.

Keywords: Pradu Hang Dam, Chee, genetic marker, egg production

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002.

² ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900

* Correspondent author: monchai@kku.ac.th

บทนำ

กรมปศุสัตว์ได้พัฒนาและสร้างฝูงไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์แท้ของประเทศไทยร่วมกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) จำนวน 4 ฝูง ซึ่งไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประจำทางดามีคุณสมบัติที่โดดเด่นด้านการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตไข่เมื่อเทียบกับไก่พื้นเมืองทั่วไป (อุดมศรี และคณะ, 2551) และเหมาะสำหรับใช้เป็นไก่สายพ่อพันธุ์เพื่อผลิตไก่ลูกผสมพื้นเมืองในขณะเดียวกันพันธุ์นี้มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นไก่เนื้อไทยในอนาคต เนื่องจากมีขนสีขาวปลอดคล้ายกับไก่เนื้อทางการค้า จึงเหมาะสำหรับผลิตไก่พื้นเมืองเพื่อส่งออกในอนาคต นอกจากนี้ไก่พื้นเมืองทั้งสองพันธุ์ยังมีความโดดเด่นในด้านของคุณภาพเนื้อซึ่งเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวของไก่พื้นเมืองทั้งสองพันธุ์จึงเหมาะที่จะนำมาพัฒนาสายพันธุ์ เพื่อนำไปสู่ความสามารถในการผลิตไก่พื้นเมืองในระดับอุตสาหกรรม สำหรับจำหน่ายในตลาดระดับสูงไม่ว่าในประเทศหรือพัฒนาเป็นสินค้าส่งออกคุณภาพสูง อย่างไรก็ตามไก่พื้นเมืองทั้งสองพันธุ์ยังมีข้อด้อยในด้านสมรรถนะการให้ผลผลิตไข่ต่ำ ซึ่งส่งผลกระทบต่อผลผลิตลูกไก่ด้วย อย่างไรก็ตามในสภาพแวดล้อมที่มีการจัดการเดียวกันพบว่าไก่บางตัวสามารถให้ผลผลิตไข่มากกว่า 20 ฟอง/เดือน (สจ. และคณะ, 2549) แสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างด้านพันธุกรรมของสัตว์แต่ละตัว จึงทำให้มีแนวทางในการศึกษาพันธุกรรมที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตไข่ เพื่อประโยชน์ต่อการคัดเลือกไก่พื้นเมืองที่มีพันธุกรรมของลักษณะการให้ผลผลิตไข่มากกว่าเป็นพ่อแม่พันธุ์

ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคโนโลยีอนุพันธุ์ศาสตร์เพื่อประยุกต์ใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) ในการคัดเลือกสัตว์ เรียกว่า Marker Assisted Selection (MAS) ซึ่งช่วยเพิ่มความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ให้ไปถึงเป้าหมายได้รวดเร็วยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามลักษณะการให้ผลผลิตไข่เป็นลักษณะเชิงปริมาณที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (polygenes) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ยากที่จะศึกษาทั้งจีโนมว่ามี

ใดบ้างที่ควบคุมลักษณะผลผลิตไข่โดยตรง ในขณะเดียวกันการศึกษาเปรียบเทียบยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องและมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะนั้นๆ โดยตรงพร้อมกันเพื่อค้นหายีนที่มีอิทธิพลสูง (major effect) ที่เรียกว่า candidate gene approach นั้นเป็นวิธีการที่เป็นไปได้ และมีประสิทธิภาพในการตรวจหา genetic marker ได้แม่นยำ จากการรวบรวมข้อมูลการวิจัยพบว่ามียีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับลักษณะผลผลิตไข่และมีหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของยีนโพรแลคตินทำให้ไก่ให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้น เช่น ยีน prolactin ตำแหน่ง -358 (24BP-PRL) ที่มีการเพิ่มเข้ามาของเบสจำนวน 24 bp (24 bp insertion) (Jiang et al., 2005) และตำแหน่ง -2402 (5FA-PRL) พบเบส C สัมพันธ์กับการให้ผลผลิตไข่สูง (Enwright et al., 2003) นอกจากนี้ยังมียีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของ follicle และการตกไข่ (ovulation) เช่น ยีน *BMPR-IB* จากการศึกษาของ Wilson et al. (2001) พบว่ายีน *BMPR-IB* ที่ SNP ตำแหน่ง A287G บริเวณ intron 6 สัมพันธ์กับการเพิ่มอัตราการตกไข่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang et al. (2008) พบว่าไก่ที่มีจีโนไทป์ของยีน *BMPR-IB* รูปแบบ GA จะให้ผลผลิตไข่สูงกว่ารูปแบบอื่น ยีน *cGH* จากการศึกษาของ Feng et al. (1997) พบว่ายีน *cGH* สัมพันธ์กับอัตราการให้ไข่ (HDR) และไก่ที่มีอัลลีลรูปแบบ A1 จะให้ผลผลิตไข่สูงกว่ารูปแบบอื่น ยีน *GnRHR* จากการศึกษาของ Xu et al. (2007) พบว่าไก่ที่มีจีโนไทป์รูปแบบ Aa ของยีน *GnRHR* มีผลผลิตไข่สูงกว่ารูปแบบอื่นๆ และยีน *NPY* จากการศึกษาของ Xu et al. (2007) พบว่าไก่ที่รูปแบบจีโนไทป์ของยีน *NPY* รูปแบบ BB สามารถให้ผลผลิตไข่สูงกว่ารูปแบบอื่นๆ เช่นเดียวกับ Li et al. (2009) พบว่าไก่ที่มีอัลลีลรูปแบบ B สามารถให้ผลผลิตไข่สูงสุด

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีการรายงานความสัมพันธ์ของยีนดังกล่าวต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทย และจากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นยังสรุปไม่ได้ว่ายีนใดที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทย ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีนดังกล่าวกับ

ลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำและพันธุ์ซี โดยใช้วิธีการ candidate gene approach

วิธีการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาและการสกัดดีเอ็นเอ

สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดที่เส้นเลือดดำบริเวณใต้ปีกของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ และพันธุ์ซีเพศเมีย ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) สกว.-มช. จำนวน 253 และ 237 ตามลำดับ และไก่ไข่น้ำพันธุ์ไวท์เล็กฮอร์น จากฟาร์มสัตว์วิจัยหลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ จำนวน 50 ตัว ใช้เป็น

กลุ่มเปรียบเทียบ ใส่ตัวอย่างเลือดลงใน microtube 1.5 มล. ที่มี 0.5M EDTA ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ล้างเลือดทั้งหมด (whole blood) ด้วย 0.09% NaCl บั่นที่ความเร็ว 2500 rpm นาน 5 นาที และสกัด genomic DNA ตามวิธีของ Goodwin et al. (2007) ตรวจสอบ genomic DNA ด้วย 0.8% agarose gel electrophoresis บันทึกภาพด้วย gel documentation system (Lab focus, INC.)

ตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ด้วยเทคนิค PCR และ PCR-RFLP

เพิ่มปริมาณยีนโดยใช้ primer และอุณหภูมิ annealing ดังแสดงใน (Table 1)

Table 1 Detail information for primer

candidate gene/ enzyme	Sequence (5' to 3')	Tem. ¹ (°C)	PCR size (bp)	RFLP size (bp)	Reference
<i>24BP-PRL</i>	F:TTTAATATTGGTGGGTGAAGAGACA R:ATGCCACTGATCCTCGAAAACCTC	62	130,154	-	Cui et al. (2006)
<i>5FA-PRL/Alu I</i>	F:AGAGGCAGCCCAGGCATTTTAC R:CCTGGGTCTGGTTTGAAATT	64	439	439, 304, 160, 144,	Cui et al. (2006)
<i>BMPR-IB/Hind III</i>	F:GCTATGGGGAAGTCTGGATG R:TGCCTTT AATGTCTGCCGC	62	581	81, 54 287, 294	Zhang et al. (2008)
<i>cGH/Msp I</i>	F:ATCCCCAGGCAAACATCCTC R:CCTCGACATCCAGCTCACAT	64	770	529, 373, 241, 156	Feng et al. (1997)
<i>GnRHR/Blp I</i>	F:GGTGTCTGAGGCTCATTTCA R:TAGCAATCGCTTGCCAGA	62	400	235,135	Thakur et al. (2009)
<i>NPY/Dra I</i>	F:TCTCAGAGCTCCAACGTATGA R:ATATTCTGTGCCTGAACAACA	62	240	161, 79	Dunn et al. (2004)

¹indicated annealing temperature

ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ตรวจสอบ PCR product ด้วย 2% agarose gel และตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *24BP-PRL* ด้วยเทคนิค PCR จากนั้นตรวจสอบขนาดของยีนด้วย 3% agarose gel electrophoresis ส่วนยีน *5FA-PRL*, *BMPR-IB*, *cGH*, *GnRHR* และ *NPY* ตรวจสอบด้วยเทคนิค Restriction fragment length polymorphism-PCR (PCR-RFLP) โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ ดังแสดงใน

(Table 1) ซึ่งแต่ละ reaction (10 ไมโครลิตร) ประกอบด้วย 10Xbuffer 1.0 ไมโครลิตร, sterile water 7.40 ไมโครลิตร, Enzyme (10 unit/ไมโครลิตร) 0.1 ไมโครลิตร และ PCR-product 1.5 ไมโครลิตร แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C ตรวจสอบ RFLP fragment ด้วย 2% agarose gel electrophoresis บันทึกภาพด้วย gel documentation system (Lab focus, INC.)

วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นและองค์ประกอบของความแปรปรวนของลักษณะการให้ผลผลิตไข่

เนื่องจากข้อมูลที่ใช้เป็นข้อมูลจริงจากฟาร์ม (field data) ดังนั้นจึงต้องทำการตรวจสอบความผิดปกติของข้อมูลก่อนนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ด้วยโปรแกรม SAS ตามวิธีการของ มนต์ชัย (2544) เพื่อแก้ไขข้อมูลที่ผิดพลาดของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ ด้วยคำสั่ง PROC UNIVARIATE

วิเคราะห์องค์ประกอบของความแปรปรวนและความแปรปรวนร่วม (Variance and Covariance Component) ของลักษณะจำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน โดยวิธี Restricted Maximum Likelihood (REML) และประมาณค่าการผสมพันธุ์ (estimated breeding value, EBV) ด้วย Best linear unbiased predictor (BLUP) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป BLUPF90-ChickenPack โดยมีการปรับอิทธิพลของ ชุดฟัก, ชั่วรุ่น และอายุการให้ไข่ฟองแรก ซึ่งใช้โมเดลตัวสัตว์ (Animal model) ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ตามสมการ $y = X\beta + Za + \varepsilon$

การวิเคราะห์ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล

วิเคราะห์ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลของยีนที่ทำการศึกษาในประชากรไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ, พันธุ์ซี และไก่ไข่วัยฟักเล็กฮอร์น

จากสูตร

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

$$\text{ความถี่อัลลีล} = D + \frac{1}{2}H$$

เมื่อ D = เป็นความถี่ homozygous genotype, H = เป็นความถี่ heterozygous genotype

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีนกับลักษณะการให้ผลผลิตไข่

วิเคราะห์ค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ (EBV) ด้วยเทคนิค BLUP โดยใช้โมเดลตัวสัตว์ (animal model) ซึ่งปรับอิทธิพลของอายุแม่ไก่เมื่อให้ไข่ฟองแรก (Age at first egg: AFE) อิทธิพลของ

ชั่วรุ่น (Generation) และ อิทธิพลของชุดฟัก (Hatch) เป็นปัจจัยคงที่ และ อิทธิพลของตัวสัตว์เป็นปัจจัยสุ่ม

วิเคราะห์อิทธิพลของยีนต่อค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ (EBV) ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ และ พันธุ์ซี ด้วยวิธีการ General Linear Model (GLM) มีโมเดลดังนี้

$$y_{ijk} = \mu + \sum_{k=1}^g G_k + \varepsilon_{ijk}$$

เมื่อ y_{ijk} = ค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ (EBV), μ = overall mean, G_k = อิทธิพลของจีโนไทป์แต่ละยีน และ ε_{ijk} = ความคลาดเคลื่อน ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistic Analysis System V.6.02 (SAS, 1998) เพื่อตรวจหาความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ค่าเฉลี่ยของลักษณะการให้ผลผลิตไข่

จากการศึกษาค้นคว้าพบว่า ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำและพันธุ์ซีให้จำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน เฉลี่ย 45.22 ± 22.72 และ 47.10 ± 22.64 ฟอง ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าการศึกษาของ วุฒิชัย (2551) และ ศิริลักษณ์ (2552) พบว่าไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ซีมีจำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27 ฟอง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ประชากรที่นำมาศึกษาถูกปรับปรุงพันธุ์โดยใช้ดัชนีการคัดเลือกเข้าร่วมด้วย จึงส่งผลให้ประชากรนี้มีความก้าวหน้าทางพันธุกรรม และมีค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน มากกว่าที่เคยมีการวิจัยในอดีต

ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล

จากการศึกษาค้นคว้ายีนที่นำมาศึกษาในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ, พันธุ์ซี และ ไก่ไข่วัยฟักเล็กฮอร์น มีรูปแบบจีโนไทป์ที่มีความหลากหลายดังแสดงใน (Figure 1-6) และเมื่อพิจารณาอัลลีลที่มีความถี่สูงหรืออัลลีลที่พบมาก (common allele) พบความแตกต่างระหว่างพันธุ์เกิดขึ้นอย่างชัดเจนระหว่างไก่พื้นเมืองไทยกับไก่ไข่ โดยในไก่พื้นเมืองไทย

ทั้งสองพันธุ์มีอัลลีล D, T, A และ B ของยีน *24BP-PRL*, *5FA-PRL*, *BMPR-IB* และ *cGH* ตามลำดับ เป็น common allele ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในไก่พื้นเมืองจีน (Cui et al., 2006; Wada et al. 2008; Zhang et al., 2008; Thakur et al., 2009) แต่ในไก่ไข่พบผลตรงข้ามคือมีความถี่ของอัลลีลเหล่านี้ต่ำ แสดงให้เห็นว่าพันธุกรรมของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยและไก่ไข่มีความแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาความถี่จีโนไทป์รูปแบบ II, CC, GG และ AA ของยีน *24BP-PRL*, *5FA-PRL*, *BMPR-IB* และ *cGH* ตามลำดับ ในไก่พื้นเมืองไทยพบความถี่จีโนไทป์เหล่านี้ต่ำ สอดคล้องกับการศึกษาของ สุกัญญา,

(2552); Jiang et al. (2005), Cui et al. (2006); Zhang et al. (2008) และ Thakur et al. (2009) พบความถี่ของจีโนไทป์เหล่านี้ในไก่พื้นเมืองต่ำเช่นกัน อีกทั้งพบว่าจีโนไทป์เหล่านี้มีความสัมพันธ์กับผลผลิตไข่สูงในขณะเดียวกันในไก่ไข่พบผลตรงกันข้ามคือมีความถี่ของจีโนไทป์รูปแบบเหล่านี้สูง ดังแสดงใน (Table 2) อาจเป็นไปได้ว่าไก่ไข่ถูกคัดเลือกเพื่อเพิ่มผลผลิตไข่ จึงพบจีโนไทป์รูปแบบที่สัมพันธ์กับผลผลิตไข่สูงมีความถี่สูง ดังนั้นมีความเป็นไปได้หากคัดเลือกจีโนไทป์รูปแบบเหล่านี้ในไก่พื้นเมืองไทย อาจจะทำให้ไก่พื้นเมืองไทยมียืนที่ให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นได้

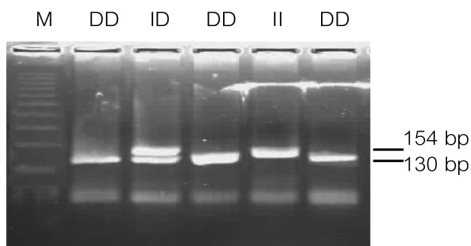


Figure 1 PCR pattern of 24BP-PRL with 3% agarose gel electrophoresis

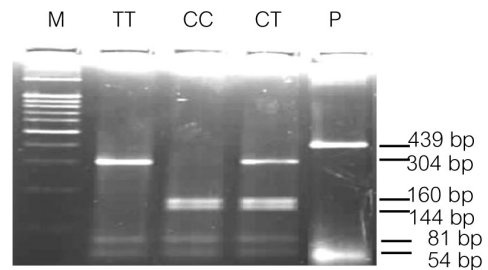


Figure 2 RFLP pattern of 5FA-PRL (*Alu I*)

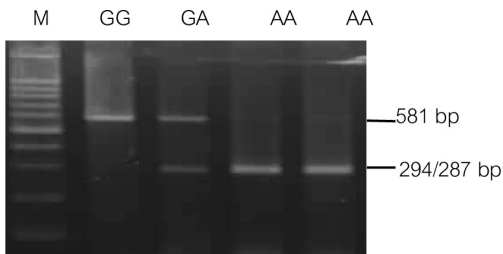


Figure 3 RFLP pattern of BMPR-IB (*Hind III*)

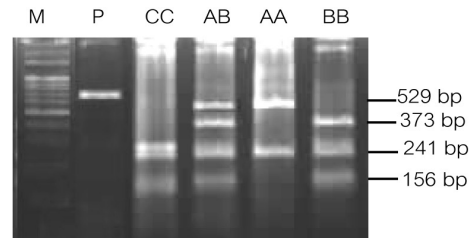


Figure 4 RFLP pattern of GH (*Msp I*)

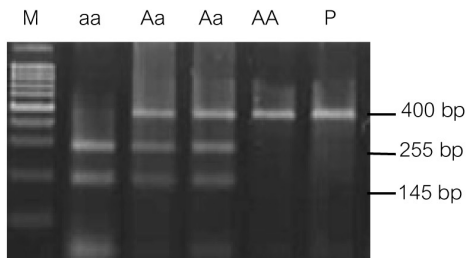


Figure 5 RFLP pattern of GnRHR (*Bsp I*)

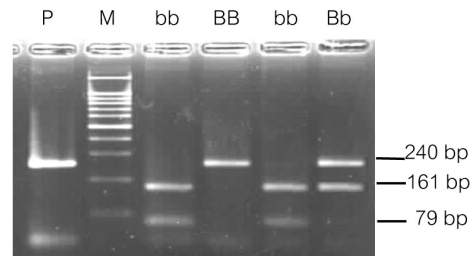


Figure 6 RFLP pattern of NPY (*Dra I*)

Table 2 Allele and genotype frequency of candidate gene in Pradu Hang Dam (PD), Chee (CH) and White leghorn (WL)

Candidate gene/chicken breed	N	Genotype frequency			Gene frequency			χ^2	
<i>24BP-PRL</i>		II	ID	DD	I	D			
PD	244	0.07	0.45	0.48	0.29	0.71		1.49	
CH	235	0.004	0.22	0.78	0.11	0.89		1.68	
WL	59	0.44	0.44	0.12	0.66	0.34		0.02	
<i>5FA-PRL</i>		CC	CT	TT	C	T			
PD	244	0.05	0.45	0.50	0.28	0.72		4.56	
CH	234	0.01	0.28	0.71	0.15	0.85		1.47	
WL	46	0.43	0.48	0.09	0.67	0.33		0.36	
<i>BMPR-IB</i>		GG	GA	AA	G	A			
PD	250	0.07	0.42	0.50	0.28	0.72		0.45	
CH	229	0.09	0.45	0.46	0.31	0.69		0.65	
WL	57	0.39	0.47	0.14	0.62	0.38		0.003	
<i>GnRHR</i>		A2A2	A1A2	A1A1	A2	A1			
PD	248	0.01	0.24	0.75	0.13	0.87		1.31	
CH	234	0.02	0.16	0.82	0.10	0.90		1.65	
WL	58	0.00	0.00	1.00	0	1		.	
<i>NPY</i>		BB	Bb	bb	B	b			
PD	250	0.06	0.40	0.53	0.27	0.73		0.30	
CH	228	0.08	0.39	0.52	0.28	0.72		0.12	
WL	57	0.04	0.47	0.49	0.27	0.73		2.20	
<i>cGH</i>		AA	AB	BB	CC	A	B	C	
PD	244	0.02	0.09	0.83	0.05	0.07	0.88	0.05	239.76*
CH	236	0.03	0.25	0.69	0.03	0.15	0.82	0.03	217.58*
WL	57	0.86	0.14	0.00	0.00	0.93	0.07	0.00	0.00

^{1/} $\chi^2_{(1,0.01)} = 6.63$, * Indicated $P < 0.05$, () = average of egg number at 300 days of age

ผลการตรวจสอบสมมติฐานความถี่ของยีนในประชากร ด้วยวิธี Chi-square test พบว่าการคัดเลือกไก่พื้นเมือง ไทยพันธุ์ประดู่หางดำและพันธุ์ซี ชั่วโมงที่ 1 และ 2 ด้วย ดัชนีการคัดเลือกลักษณะน้ำหนักตัวที่อายุ 16 สัปดาห์ ลักษณะความกว้างหน้าอกที่ 16 สัปดาห์ และลักษณะ จำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน กระทั่งต่อความถี่ ของจีโนไทป์และความถี่ของยีน *cGH* ของไก่พื้นเมือง

ไทยพันธุ์ประดู่หางดำและพันธุ์ซีไม่อยู่ในภาวะสมดุล ตามกฎของ Hardy-Weinberg ($P < 0.01$) ส่วนยีน *24BP-PRL*, *5FA-PRL*, *BMPR-IB*, *GnRHR* และ *NPY* อยู่ในภาวะสมดุลตามกฎของ Hardy-Weinberg แสดงให้เห็นว่าปัจจัยเนื่องจากการคัดเลือกมีผลต่อ การเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีน เนื่องจากการคัดเลือก เป็น gene force ที่สำคัญปัจจัยหนึ่ง

ความสัมพันธ์ของเครื่องหมายพันธุกรรมกับลักษณะการให้ผลผลิตไข่และแนวทางการนำไปใช้เครื่องหมายพันธุกรรมในไก่พื้นเมืองไทย

ผลการวิเคราะห์อิทธิพลของยีนต่อลักษณะจำนวนไข่สะสมจนถึงอายุ 300 วัน (phenotype) พบว่าไม่สามารถตรวจพบความสัมพันธ์ของยีนต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยทั้งสองพันธุ์ ดังแสดงใน (Table 3) ทั้งนี้อาจเนื่องจากข้อมูล phenotype จะรวมอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมและการจัดการอื่นๆ ไว้ด้วย กล่าวคือจากอิทธิพลดังกล่าวทำให้มีความแปรปรวนซึ่งกระทบต่อค่าเฉลี่ยลิสด์แควร์ของจีโนไทป์ข้างต้น จึงไม่พบความแตกต่างในการทดสอบอิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่

จากการทดสอบอิทธิพลของยีนต่อค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ (EBV) ในไก่พื้นเมืองไทย

พันธุ์ประดู่หางดำ ด้วยวิธี GLM พบว่ายีน *BMPR-IB*, *cGH*, *GnRHR* และ *NPY* ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะผลผลิตไข่ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าไก่พื้นเมืองให้ผลผลิตไข่ที่แตกต่างกันเป็นผลของระยะเวลาการแสดงพฤติกรรม การฟักไข่ของไก่แต่ละตัวที่แตกต่างกัน โดยเป็นอิทธิพลหลักของฮอร์โมนโพรแลคติน (Eltayep et al., 2010) แต่ยีนเหล่านี้มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของฟอลลิเคิล (Contijoch et al., 1993; Apa et al., 1994; Wilson et al., 2001; Naor., 2009)

แต่พบว่ายีน *5FA-PRL* และ *24BP-PRL* มีความสัมพันธ์กับลักษณะผลผลิตไข่อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยไก่ที่มีจีโนไทป์รูปแบบ CC ของยีน *5FA-PRL* และ II ของยีน *24BP-PRL* จะมีค่าเฉลี่ยลิสด์แควร์ของค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่สูงกว่ารูปแบบอื่นๆ ดังแสดงใน (Table 4)

Table 3 Least square means (LSMeans) of genotype effect on egg production trait (phenotype) in Pradu Hang Dam (PD) and Chee (CH)

Candidate genes	Breeds	LSMeans of Genotypes				SEM	P-value
<i>24BP-PRL</i>		II	ID	DD			
	PD	46.29 (17)	42.79 (109)	46.29 (118)	3.38	0.1809	
	CH	. (1)	49.24 (51)	54.23 (183)	2.26	0.1353	
<i>5FA-PRL</i>		CC	CT	TT			
	PD	52.04 (12)	42.38 (111)	45.65 (121)	3.68	0.1801	
	CH	49.52 (3)	51.20 (65)	53.94 (166)	5.37	0.6524	
<i>BMPR-IB</i>		GG	GA	AA			
	PD	44.98 (18)	43.50 (106)	45.59 (126)	3.46	0.5850	
	CH	55.75 (20)	52.10 (104)	54.50 (105)	3.00	0.3732	
<i>GnRHR</i>		aa	Aa	AA			
	PD	41.46 (2)	42.40 (59)	45.15 (187)	8.38	0.8663	
	CH	59.84 (4)	50.17 (38)	53.95 (192)	5.05	0.3689	
<i>NPY</i>		BB	Bb	bb			
	PD	45.81 (16)	42.32 (101)	45.73 (133)	3.79	0.4266	
	CH	55.21 (19)	53.20 (90)	53.91 (119)	3.09	0.9274	
<i>cGH</i>		AA	AB	BB	CC		
	PD	41.78 (6)	43.99 (23)	44.02 (202)	40.67 (13)	5.16	0.8092
	CH	42.53 (7)	50.48 (58)	55.18 (164)	42.53 (7)	5.05	0.1080

Table 4 Least square means (LSMeans) of genotype effect on egg production trait (EBV) in Pradu Hang Dam (PD) and Chee (CH)

Candidate genes	Breed	Genotype			SEM	P-value	
24BP-PRL		II	ID	DD			
	PD	1.30a (17)	-2.27b (105)	0.20a (108)	2.31	0.0202	
	CH	1.69 (1)	0.42 (45)	0.41 (174)	1.16	0.8542	
5FA-PRL		CC	CT	TT			
	PD	2.12a (12)	-2.29b (108)	-0.15a (110)	2.42	0.0323	
	CH	0.62 (3)	0.39 (60)	0.42 (156)	0.83	0.9852	
BMPR-IB		GG	GA	AA			
	PD	0.37 (18)	-0.92 (98)	-0.22 (114)	2.29	0.6704	
	CH	0.92 (18)	1.00 (101)	0.60 (101)	0.98	0.4517	
GnRHR		aa	Aa	AA			
	PD	-3.52 (2)	1.27 (54)	1.48 (174)	2.66	0.6002	
	CH	1.49 (4)	0.67 (34)	0.36 (182)	1.07	0.5114	
NPY		BB	Bb	bb			
	PD	-0.55 (16)	-0.33 (94)	0.11 (120)	2.32	0.8755	
	CH	0.8 (19)	1.01 (87)	0.71 (114)	0.97	0.6486	
cGH		AA	AB	BB	CC		
	PD	0.71 (6)	-0.23 (23)	0.51 (189)	-2.02 (12)	2.63	0.6583
	CH	0.06 (6)	1.41 (53)	1.2 (154)	0.69 (7)	1.08	0.5414

^{a, b} means within a row with no common superscript are different significantly ($P < 0.05$). The number in () = number of sample.

ทั้งนี้เนื่องจากตำแหน่ง -2402 บริเวณโปรโมเตอร์ 5' flanking region ของยีน *PRL* เมื่อเบส C เปลี่ยนไปเป็นเบส T จะทำให้เกิด CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) ซึ่ง C/EBP- α เป็นโปรตีนประเภท basic region-leucine zipper (B-ZIP) โดยเป็น transcription factor ของการแสดงออกของยีน *PRL* ที่ pituitary ในเซลล์ GHFT1-5 ทำให้ไก่แสดงพฤติกรรม การฟักไข่เพิ่มขึ้นและให้ผลผลิตไข่ลดลง (Enwright et al., 2003) เช่นเดียวกับ Xu et al. (2010) ซึ่งรายงาน ว่าไก่ที่มีความถี่ของการแสดงพฤติกรรมฟักไข่สูง (broody frequency) จะให้ผลผลิตไข่ต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบอัลลีล T เป็น common allele ในไก่พื้นเมืองไทยซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีพฤติกรรมการฟักไข่สูงและมีผลผลิตไข่ต่ำ ในขณะที่ C/EBP- β จะยับยั้งการแสดงออกของยีน *PRL*

ในขณะเดียวกันยีน *24BP-PRL* ซึ่งเป็นยีนโพรแลคติน ตำแหน่ง -358 ณ ตำแหน่งดังกล่าวหากมีการเพิ่มเข้ามาของเบส 24 bp (24 bp insertion) จะเกี่ยวข้องกับ การเพิ่มผลผลิตไข่ ทั้งนี้เนื่องจากตำแหน่ง -358 เมื่อ มีการเพิ่มเข้ามาของเบส 24 bp (24 bp insertion) บริเวณ 5' flanking region ของยีน *PRL* จะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มผลผลิตไข่ เนื่องจาก 24 bp insertion คือ binding site ของยีน ecotropic viral integration site-1 encoded factor (Evi-1) (Cui et al., 2005) ซึ่ง Evi-1 เป็นโปรตีนยับยั้ง (repressor protein) ที่มี zinc finger domains อยู่สองตำแหน่ง คือ ZF1-7 และ ZF8-10 โดยทั้งสองตำแหน่งจะเป็น binding site ของ Smad3 และ CtBP1 ตามลำดับ ซึ่งโปรตีนทั้งสองเป็น transcription factor เมื่อเกิด interaction ระหว่าง Evi-1, Smad3 และ CtBP1 จะมีผลต่อการทำงานของ

transforming growth factor- β (TGF- β) ถูกยับยั้งทำให้ยีนเป้าหมายไม่เกิดการแสดงออกซึ่ง TGF- β เป็นโปรตีนที่ยับยั้งการเจริญเติบโต (Izutsu et al., 2001) อีกทั้งยังมีรายงานว่า Evi-1 เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแสดงออกของยีนที่เป็นโปรตีนยับยั้งอยู่หลายยีน (Izutsu et al., 2002) จึงมีความเป็นไปได้ว่าไก่ไข่แสดงพฤติกรรมการฟักไข่ลดลงและมีผลผลิตไข่เพิ่มขึ้น เนื่องจากส่วนใหญ่ในไก่ไข่จะพบ 24 bp insertion บริเวณ 5' flanking region ของยีน *PRL* ซึ่งส่งผลให้ Evi-1 ยับยั้งการแสดงออกของยีน *PRL* (Enwright et al., 2003; Cui et al. 2005; Jiang et al., 2005) เช่นเดียวกับ Cui et al. (2006) พบว่าไก่ที่มีรูปแบบจีโนไทป์ II สัมพันธ์กับผลผลิตไข่สูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบอัลลีล I เป็น common allele ในไก่ไข่ และพบอัลลีล D เป็น common allele ในไก่พื้นเมืองไทย ดังนั้นจึงอาจใช้ 24 bp insertion เป็น genetic marker สำหรับคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยให้มีผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นได้

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ายีน *5FA-PRL* และ *24BP-PRL* มีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่อย่างเห็นได้ชัด และเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง homozygous ของยีน *5FA-PRL* พบว่าไก่ที่มีจีโนไทป์รูปแบบ CC และ TT มีค่าเฉลี่ยลิสต์แควร์ของค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งยีน *24BP-PRL* ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะพบจำนวนไก่พื้นเมืองที่มีจีโนไทป์รูปแบบ CC และ II ต่ำ และพบว่าจีโนไทป์รูปแบบ heterozygous มีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ต่ำสุด ซึ่งขัดแย้งกับ Cui et al. (2006) พบว่าจีโนไทป์รูปแบบ TT และ DD มีอิทธิพลต่ำสุด ทั้งนี้อาจเป็นผลของพันธุ์ที่ศึกษาต่างกัน (breed specific) จึงมีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ต่างกัน (Hossain, 1992)

อย่างไรก็ดีเมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลระหว่างยีน *5FA-PRL* และ *24BP-PRL* ต่อค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่พบว่ายีน *5FA-PRL* มีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่สูงกว่ายีน *24BP-PRL*

ดังแสดงใน (Table 3) จึงอาจกล่าวได้ว่ายีน *5FA-PRL* เป็น major effect ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ แต่เมื่อพิจารณาการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ พบว่ายีน *5FA-PRL* ตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR-RFLP ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Alu I* ในการตรวจสอบซึ่งยากกว่าและต้นทุนสูงกว่าเทคนิค PCR โดยเป็นเทคนิคที่ primer สามารถ amplify อัลลีลของยีน *24BP-PRL* ได้โดยตรง ดังนั้นยีน *24BP-PRL* ที่ซึ่งมีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ใกล้เคียงกับยีน *5FA-PRL* น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็น genetic marker สำหรับคัดเลือกลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำให้มีผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้พบว่าจีโนไทป์รูปแบบ CC ของยีน *5FA-PRL* และจีโนไทป์รูปแบบ II ของยีน *24BP-PRL* มีความถี่ต่ำ ดังนั้นแนวทางการศึกษาต่อไปควรเพิ่มความถี่ของจีโนไทป์ดังกล่าว โดยการสร้างฝูงไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำและพันธุ์ซี ด้วยการจับคู่ผสมระหว่าง II x II และ CC x CC และเมื่อพิจารณาแนวทางการนำไปใช้ของยีน *24BP-PRL* และ *5FA-PRL* มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในการคัดเลือกจริง เนื่องจากมีความถี่จีโนไทป์มากกว่า 5% (Biscarini et al. 2010)

อย่างไรก็ตามไม่สามารถตรวจพบความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่ศึกษากับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ซี ทั้งนี้อาจเป็นผลของพันธุ์ที่ศึกษาต่างกัน (breed specific) จึงมีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ต่างกัน (Hossain, 1992)

สรุป

จากการศึกษาการตรวจหาเครื่องหมายพันธุกรรมที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ พบว่ายีน *BMPr-IB*, *GH*, *GnRHR* และ *NPY* ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะผลผลิตไข่ แต่พบว่ายีน *5FA-PRL* และ *24BP-PRL*

มีความสัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ และพบว่ายีน 5FA-PRL เป็น major effect ของลักษณะการให้ผลผลิตไข่ แต่เนื่องจากยีน 5FA-PRL มีการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ยากและต้นทุนสูงกว่ายีน 24BP-PRL ดังนั้นยีน 24BP-PRL ซึ่งมีอิทธิพลต่อลักษณะการให้ผลผลิตไข่ที่ใกล้เคียงกับยีน 5FA-PRL จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็น genetic marker สำหรับคัดเลือกลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำให้เพิ่มขึ้นในอนาคต ในขณะเดียวกัน การศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถตรวจพบความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่ศึกษากับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์นี้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) สกว.-มช. และจากโครงการพัฒนาผู้พ่อแม่พันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำและชีด้วยดัชนีการคัดเลือกโดยดำเนินการที่มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรวิทยาดงหลวง วิทยาเขตกาฬสินธุ์ พาร์มสัตว์วิจัยหลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และขอบคุณ คุณวุฒิไกร บุญคุ้ม และ คุณวุฒิชัย เคนไชยวงศ์ ที่ให้คำปรึกษาทางด้านสถิติ กลุ่มนักศึกษาปรับปรุงพันธุ์ทุกท่านที่ให้คำปรึกษา

เอกสารอ้างอิง

มนต์ชัย ดวงจินดา. 2544. การใช้โปรแกรม SAS เพื่อวิเคราะห์งานวิจัยทางสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วุฒิชัย เคนไชยวงศ์. 2551. ผลตอบแทนการคัดเลือกของลักษณะการเจริญเติบโตเมื่อใช้ดัชนีการคัดเลือกโดยการจำลองข้อมูลในไก่พื้นเมืองพันธุ์นี้. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

ศิริลักษณ์ ชำนาญเชื้อ. 2552. การประมาณกราฟการให้ผลผลิตไข่และการจำลองการคัดเลือกเพื่อเป็นสายแม่ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์นี้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สจี้ กัณหาเรียง, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, พรณทิพย์ เกษแก้ว และ วรางคนา แดนสีแก้ว. 2549. การศึกษาสมรรถนะการให้ไข่ ส่วนประกอบฟองไข่ และระยะเวลาของการผสมติดภายหลังการผสมพันธุ์ในแม่ไก่พื้นเมือง. น. 358-367. ใน: การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 เรื่องก้าวทันสมัยกับปศุสัตว์ไทย ณ โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิด จ.ขอนแก่น 40000 24 มกราคม 2549. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สุกัญญา เจริญศิลป์ และมนต์ชัย ดวงจินดา. 2552. การค้นหารูปแบบ candidate marker ของยีน Prolactin (PRL) และ Neuropeptide Y (NPY) ที่สัมพันธ์กับลักษณะการให้ผลผลิตไข่ในไก่พื้นเมืองไทย. น. 103-108. ใน: การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 5 เรื่องปศุสัตว์ไทยในกระแสเศรษฐกิจถดถอย. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

อุดมศรี อินทรโชติ, ธีระชัย ช่อไม้, อำนวย เลี้ยวธารากุล, ทวีศิลป์ จินดาง และ ชูศักดิ์ ประภาสวัสดิ์. 2551. การสร้างฝูงพื้นฐานไก่พื้นเมืองไทยจำนวน 4 พันธุ์. น. 15-23. ใน: การประชุมเชิงปฏิบัติการ ครั้งที่ 2 เรื่องการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ไก่พื้นเมือง ณ โรงแรม เอเชียแอร์พอร์ท 24-25 กรกฎาคม 2551. อ.ลำลูกกา, ปทุมธานี.

Apa, R., A. Lanzone, and F. Micheli. 1994. Growth hormone induces invitro maturation of follicle and cumulus-enclosed rat oocytes. Mol. Cell. Endocrinol. 106: 207-212.

Biscarini, F., H. A. Mulder, H. Bovenhuis, and M. P. J. Calus. 2010. Estimating Between And Within Line Variation Based On Pedigree And Genomic Relationship Matrix In Laying Hens. 9th world congress on genetics applied to live stock production, Leipzig, Germany, August 1-6, 2010.

Contijoch, A. M., S. Malamed, J. K. McDonald, and J. P. Advis. 1993. Neuropeptide Y regulation of LHRH release in the median eminence immunocytochemical and physiological evidence in hens. Neuroendocrinology. 57:135-145.

- Cui, J. X., H. L. Du, and X. Q. Zhang. 2005. Polymorphisms and bioinformatics analysis of chicken prolactin gene. *Hereditas*. 27:208-214.
- Cui, J. X., H. L. Du, Y. Liang, X. M. Deng, N. Li, and X. Q. Zhang. 2006. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production. *Poultry Sci*. 85: 26-31.
- Eltayeb N. M., C. E. Wani, and I. A. Yousif. 2010. Assessment of broodiness and its influence on production performance and plasma prolactin level in native chicken of the Sudan. *Asian J Poult Sci*.
- Enwright, J. F., M. A. Kawecki-Crook, T. C. Voss, F. Schaufele, and R. N. Day. 2003. A PIT-1 homeodomain mutant blocks the intranuclear recruitment of the CCAAT/enhancer binding protein alpha required for prolactin gene transcription. *Mol. Endocrinol*. 17:209-222.
- Falconer, D.S., and T. F. C. Mackey, 1996. Introduction to quantitative genetics. 4th edition. Longman, Oxford.
- Feng, P. X., U. Kuhnlein, S. E. Aggrey, J. S. Gavora, and D. Zadworny. 1997. Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in White leghorn strain. *Poultry sci*. 76:1770-1775.
- Goodwin, W., A. Linacre, and S. Hadi. 2007. An introduction to forensic genetics. John Wiley & Sons Ltd, England.
- Hossain, M. S. 1992. Comparative study on egg production and feed efficiency of different breeds of poultry under intensive and rural conditions in Bangladesh. *Livest. Res. for Rural Development*. 4. (online).
- Izutsu, K., M. Kurokawa, Y. Imai, K. Maki, K. Mitani, and H. Hirai. 2001. The corepressor CtBP interacts with Evi-1 to repress transforming growth factor beta signaling. *Blood*. 97:2815-2822.
- Izutsu, K., M. Kurokawa, Y. Imai, M. Ichikawa, T. Asai, K. Maki, K. Mitani, and H. Hirai. 2002. The t(3;21) fusion product, AML1/Evi-1 blocks AML1-induced transactivation by recruiting CtBP. *Oncogene* 21:2695-2703.
- Jiang, R. S., G. Y. Xu, X. Q. Zhang, and N. Yang. 2005. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. *Poultry Sci*. 84:839-845.
- Li, H. F., W. Q. Zhu, K. W. Chen, X. Wu, Q. P. Tang, Y. S. Gao, W. T. Song, and H. L. Xu. 2009. Polymorphism in NPY and IGF-I genes associate with reproductive traits in Wenchang chicken. *Afr. J. Biotechnol*. 8:4744-4748.
- Naor, Z. 2009. Signaling by G-protein-coupled receptor (GPCR): studies on the GnRH receptor. *Front. Neuroendocrinology*. 30:10-29.
- Neungrutai Promwatee and Monchai Duangjinda. 2010. Association of single nucleotide polymorphisms in *GHSR*, *IGF-I*, *cGH* and *IGFBP2* gene with growth traits in Thai Native Chickens. Proceedings 14th AAAP Animal Science Congress. Pingtung, Taiwan, ROC. August 23-27, 2010.
- SAS. 1998. User's Guide: V.6.12. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Thakur, M. S., S. N. S. Parmar, M. V. Chaudhari, and J. K. Bhardwaj. 2009. Growth hormone gene polymorphism and its association with egg production in Kadaknath chicken. *Livestock Research for Rural Development*. 21. Available: <http://www.lrrd.org/lrrd21/8/thak21132.htm>. Accessed Oct. 22, 2010.
- Wada, Y., Y. Nakamura, Y. Jiang, R. Matsuda, S. Abe, and K. Anan. 2008. Relationship between 24-bp insertion of prolactin promoter region and performance traits in the selected population of Silkie chicken. *JPN. J. Poult. Sci*. 45:82-86.
- Wilson, T., X. Y. Wu, J. L. Juengel, I. K. Ross, J. M. Lumsden, E. A. Lord, K. G. Dodds, G. A. Walling, J. C. McEwan, A. R. O. Connell, K. P. McNatty, and G. W. Montgomery. 2001. Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. *Biol. Reprod*. 64: 1225-1235.
- Xu, H., X. Shen, M. Zhou, M. Fang, H. Zeng, Q. Nie, and X. Zhang. 2010. The genetic effects of the dopamine D1 receptor gene on chicken egg production and broodiness traits. *BMC Genet*. 11-17.
- Xu, W. U., H. F. Li, Y. M. Jiao, T. Q. Ping, C. K. Wei, W. J. Yu, G. Y. Shi, T. Y. Jie, Y. Y. Bo, and Z. W. Qi. 2007. Association of Gonadotropin releasing hormone receptor (GnRHR) and Neuropeptide Y (NPY) genes' polymorphisms with egg laying traits in Wenchang chicken. *Agr. Sci*. 6:499-504.

- Zhang, B. N., H. Tang, L. Kang, Y. H. Ma, D. G. Cao, Y. Lu, M. Hou, and Y. L. Jiang. 2008. Association of single nucleotide polymorphisms in BMPR-IB gene with egg production in a synthetic broiler line. *Asian. Austral J. Anim.* 21:628-632.