KHON KAEN AGR. J. 48 (3): 527-534 (2020)./doi:10.14456/kaj.2020.48.

ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน *MyoD* ต่อน้ำหนักตัว และอัตราการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ มข. 55 ไก่พื้นเมืองลูกผสม และไก่เนื้อ

Association of *MyoD* gene with body weight and growth rate in Thai native chickens Pradu hangdam morkhor 55 crossbreds and Broiler

ผกาแก้ว ทาระเกต[1,3], บัญญัติ เหล่าไพบูลย์[2] และสจี กัณหาเรียง[1,2,3*]

Pakakeaw Tharaket[1,3], Banyat Laopaiboon[2] and Sajee Kunhareang[1,2,3*]

บทคัดย่อ: อัตราการเจริญเติบโตเป็นลักษณะที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มผลผลิตในไก่พื้นเมือง จากรายงานบทบาทและความสัมพันธ์ของยีน *MyoD* มีความเกี่ยวข้องกับการพัฒนากล้ามเนื้อและการเจริญเติบโตในสัตว์ปีก การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *MyoD* ต่อลักษณะการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมืองไทย การศึกษาใช้ไก่ทดลอง 5 กลุ่ม ๆ ละ 100 ตัว ได้แก่ ไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 (PD), ไก่จีนดำ (CB), ไก่เนื้อทางการค้า (Brolier), ไก่พื้นเมืองลูกผสมพ่อประดู่หางดำ มข.55 x แม่จีนดำ (PD x CB), และไก่พื้นเมืองลูกผสมพ่อจีนดำ x แม่ประดู่หางดำ มข.55 (CB x PD) ที่เลี้ยงในโรงเรือนแบบเปิด ให้น้ำและอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีน 21%CP และ 18%CP ตามอายุของไก่โดยให้แบบกินเต็มที่ ทำการศึกษาความหลากหลายของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP ผลการศึกษาพบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* จำนวน 3 รูปแบบ คือ จีโนไทป์ AA, AB และ BB ในไก่เนื้อทางการค้าพบความถี่จีโนไทป์ AA สูงที่สุดเท่ากับ 0.64 ในไก่พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพ่อจีนดำ x แม่ประดู่หางดำ มข.55 มีความถี่จีโนไทป์ AB สูงที่สุดเท่ากับ 0.48 ส่วนความถี่จีโนไทป์ BB พบสูงที่สุด ในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 เท่ากับ 0.58 โดยความถี่อัลลีล A พบความถี่สูงในไก่เนื้อทางการค้า และไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้ง 2 กลุ่ม ส่วนความถี่อัลลีล B พบความถี่สูงในกลุ่มไก่พื้นเมืองทั้งพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 และไก่จีนดำ เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์รูปแบบยีน *MyoD* กับอัตราการเจริญเติบโต พบว่า จีโนไทป์ AA มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่อายุ 2 สัปดาห์ ในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 และไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้งสองสายพันธุ์ และพบความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ AA และ BB ต่ออัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันที่สูงกว่าจีโนไทป์ AB ในไก่จีนดำที่ช่วงอายุ 0-8, 0-10 และ 0-12 สัปดาห์ การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* ที่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 และไก่พื้นเมืองลูกผสม จึงมีความเป็นไปได้ในการพัฒนายีน *MyoD* เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมเพื่อใช้ในการคัดเลือกลักษณะการเพิ่มน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองไทยและไก่พื้นเมืองลูกผสมต่อไป

คำสำคัญ: ยีน Myogenic Differentiation (*MyoD*), เครื่องหมายพันธุกรรม, การเจริญเติบโต, ไก่พื้นเมือง

Received May 27, 2019

Accepted November 20, 2019

[1] สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

[1] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

[2] ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

[2] Research and development network center for animal breeding (Native chicken), Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

[3] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สบว.) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

[3] Center of Excellence on Agricultural Biotechnology (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok, Thailand

* Corresponding author: ksajee@kku.ac.th

ABSTRACT: Increasing body weight and growth rate is an important aspect for poultry production. Many reported on the role of *MyoD* genes associated with muscle development and growth rate in poultry. The objective of this study was to identify the patterns and association of *MyoD* gene with body weight and growth rate in Thai native chickens. A total of 5 groups of 100 each were Pradu hangdam morkhor 55 (PD), Chinese black bone (CB), Broiler, and 2 crossbred chickens according Pradu hangdam morkhor 55 x Chinese Black Bone (PD x CB), and Chinese Black Bone x Pradu hangdam morkhor 55 (CB x PD). All chickens were fed ad libitum within the 20%CP and 18%CP commercial broiler diet, which associated with nutrient requirement of chicken, and raised open house system. This study was to investigate of the *MyoD* gene patterns by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. The results showed three genotypes of *MyoD* gene (AA, AB and BB), the broiler had highest genotype frequencies was AA genotype (0.64), Crossbred Chinese Back Bone x Pradu hangdam morkhor 55 had highest genotype frequencies was AB genotype (0.48), Pradu hangdam morkhor 55 had highest genotype frequencies was BB genotype (0.58). While broiler and both Crossbred had the highest frequencies of A allele, but native chicken including Pradu hangdam morkho 55 and Chinese black bone were represented the highest frequencies of B alleles. Association of *MyoD* gene and body weight showed that genotype AA was associated with increased body weight at 2 weeks in Thai native chicken (PD) and both their crossbred, the results showed that genotype AA and BB were associated with growth rate more than genotype AB in Chinese black bone, at 0-8, 0-10 and 0-12 weeks. These results indicated that genetic variation of *MyoD* gene may be involved in body weight and growth rate in Thai native chicken (Pradu hangdam morkho 55) and their crossbred. Therefore, the finding suggests that variation of *MyoD* gene are compromising to use as genetic marker to improve body weight in Thai native and crossbred chickens.

Keywords: Myogenic Differentiation (*MyoD*), Genetic Markers, Growth rate, Thai native chicken

บทนำ

ไก่พื้นเมืองเป็นไก่ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ด้วยเนื้อไก่พื้นเมืองมีคุณภาพเนื้อที่โดดเด่น รสชาติอร่อย เนื้อนุ่มแน่นและมีไขมันน้อย (Jaturasitha et al., 2012) ส่งผลให้ราคาของไก่พื้นเมืองสูงกว่าไก่เนื้อทางการค้า 2-3 เท่า (Wattanachant et al., 2004) ไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 ได้รับการพัฒนาพันธุ์มากกว่า 10 ปี มีคุณลักษณะที่โดดเด่น คือ มีลักษณะการเจริญเติบโตที่ดี ปริมาณไขดก และปริมาณเนื้อหน้าอกมาก (บัญญัติ และคณะ, 2553) ใช้ระยะเวลาการเลี้ยง 3 ถึง 4 เดือน ก็สามารถจำหน่ายได้ (นริศรา และคณะ, 2555) ส่วนไก่ดำและผลิตภัณฑ์จากไก่ดำจัดเป็นอาหารสุขภาพชนิดหนึ่ง เป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภค และมีแนวโน้มความต้องการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ผู้บริโภคมีความเชื่อว่าผลิตภัณฑ์จากไก่ดำมีสรรพคุณช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ช่วยรักษาโรคเบาหวาน โรคโลหิตจาง รวมทั้งภาวะแทรกซ้อนหลังคลอด (Tian et al., 2007) และในเนื้อไก่ดำมีส่วนประกอบของสารต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เพิ่มศักดิ์ และคณะ (2547) รายงานว่าเนื้อไก่ดำมีสารเมลานิน (melanin) และคาร์โนซีน (carnosine) โดยสารเมลานินและคาร์โนซีนเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ในไก่ดำมีคาร์โนซีนมากกว่าไก่ทั่วไป 2 เท่า (PhysOrg, 2006) แต่ไก่ดำยังมีข้อจำกัดเรื่องรสชาติไม่ดี เนื้อมีกลิ่นคาว เพื่อลดกลิ่นคาวของไก่ดำ ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จึงได้ทำการผสมข้ามระหว่างไก่ดำกับไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 ได้ไก่ที่มีคุณสมบัติเฉพาะที่ดีขึ้น คือ โตเร็ว และเนื้อมีรสชาติดี เป็นไก่สายพันธุ์ลูกผสมที่มีเนื้อรสชาติดีใกล้เคียงกับไก่

ประดู่หางดำ และกลิ่นคาวลดลง

ลักษณะการเจริญเติบโตในไก่ถูกควบคุมด้วยปัจจัยจากพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ด้วยเหตุนี้ปัจจุบันจึงมีการใช้ความรู้ด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลเพื่อช่วยในการคัดเลือกเพิ่มขึ้น ยีน Myogenic differentiation (*MyoD*) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเปลี่ยนแปลงของกล้ามเนื้อ regulating muscle การพัฒนากล้ามเนื้อโครงร่าง จึงมีความสัมพันธ์ต่อการเจริญเติบโตในไก่ ในสัตว์ปีกยีน *MyoD* ตั้งอยู่บนโครโมโซม 5 มีขนาด 4.2 kb ประกอบไปด้วยส่วน exon 3 ส่วน และ intron 2 ส่วน มีรายงานจุดกลายพันธุ์บนยีน *MyoD* โดยพบการเปลี่ยนแปลงเบสไซโตซิน (Cytosine) ไปเป็นไทมีน (Thymine) ที่ตำแหน่ง g.11579368 (C>T) บริเวณ exon1 มีความสัมพันธ์กับลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อในไก่พื้นเมืองของประเทศจีน และมีค่าความถี่และรูปแบบจีโนไทป์ที่แตกต่างกัน (Yang el al., 2015) เช่น การศึกษายีน *MyoD* ในไก่พื้นเมืองของประเทศจีน พบรูปแบบจีโนไทป์มีความสัมพันธ์กับลักษณะของเส้นใยกล้ามเนื้อ (Yang et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีรายงานความสัมพันธ์ของยีน *MyoD* ต่อลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะซากในโคเนื้อของประเทศเกาหลี (Bhuiyan et al., 2009) การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจุด SNP ของยีน *MyoD* กับลักษณะคุณภาพเนื้อในโคเนื้อของประเทศจีน (Ujan et al., 2011) เป็นต้น ซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโต รสชาติเนื้อสัตว์และเนื้อสัมผัส (Yin et al, 2011; Yang et al, 2015; Kim et al, 2017) จากการตรวจเอกสารชี้ให้เห็นว่ายีน *MyoD* มีความเกี่ยวข้องกับลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะเส้นใยกล้ามเนื้อ และมีความหลากหลายของรูปแบบจีโนไทป์ในไก่พื้นเมืองของต่างประเทศ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานความสัมพันธ์ของยีน *MyoD* กับลักษณะการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองไทย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้เพื่อตรวจหาความหลากหลายรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนต่อลักษณะการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 ไก่จีนดำ ไก่พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพ่อประดู่ มข.55 x แม่จีนดำ และไก่พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพ่อจีนดำ x แม่ประดู่ มข.55 เพื่อหาความเป็นไปได้ในการพัฒนายีน *MyoD* เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมช่วยในการคัดเลือกลักษณะการเจริญเติบโตในไก่พื้นเมืองไทยต่อไป

วิธีการศึกษา

ไก่ที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ใช้ไก่ทั้งหมด 500 ตัว ได้แก่ ไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 (PD) (ชั่วรุ่นที่ 7) ไก่จีนดำ (CB), ไก่พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพ่อประดู่หางดำ มข.55 x แม่จีนดำ (PD x CB), ไก่พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพ่อจีนดำ x แม่ประดู่หางดำ มข.55 (CB x PD) และไก่เนื้อทางการค้า (broiler) จำนวนกลุ่มละ 100 ตัวอย่าง โดยไก่พื้นเมืองได้รับการสนับสนุนจากศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น การเลี้ยงให้อาหารไก่เนื้อทางการค้า 2 ระยะคือ ระยะไก่เล็ก 21%CP ในระยะ 0-4 สัปดาห์ และไก่รุ่น 19%CP ในระยะ 4-12 สัปดาห์ ไก่ทุกกลุ่มให้กินอาหารชนิดเดียวกันและน้ำแบบเต็มที่ เลี้ยงในโรงเรือนแบบเปิด ของหมวดสัตว์ปีก สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การบันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโต

บันทึกข้อมูลลักษณะการเจริญเติบโตของไก่ทั้ง 5 กลุ่ม ประกอบด้วย น้ำหนักตัว (body weight, BW) ที่อายุแรกเกิด, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (average daily gain, ADG) ที่ช่วงอายุ 0-4, 0-6, 0-8, 0-10 และ 0-12 สัปดาห์ ยกเว้นไก่เนื้อทางการค้า ทำการเลี้ยงและเก็บข้อมูลที่อายุ 0-6 สัปดาห์

การเก็บตัวอย่างเลือดและการสกัดดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างเลือดจากไก่ทุกตัว โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณใต้ปีก (wing vein) โดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 24 ความยาว 1 นิ้ว ปริมาตร 500 ไมโครลิตรต่อตัว ใส่หลอดทดลอง ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด 0.5M EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นล้างเซลล์เม็ดเลือดด้วย 0.9% NaCl การสกัดดีเอ็นเอใช้วิธี Guanidine hydrochloride ดัดแปลงจาก Goodwin et al. (2007) จากนั้นตรวจสอบความเข้มข้นและคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงชนิดนาโน (Nano-Drop2000, Wilmington, Delaware USA)

การตรวจสอบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP

ดีเอ็นเอที่สกัดได้ถูกนำไปเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนยีน *MyoD* โดยใช้เทคนิค PCR ในแต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ที่มีความเข้มข้น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 10X PCR-buffer ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, $MgCl_2$ ปริมาตร 0.8 ไมโครลิตร, dNTPs ความเข้มข้น 1mM ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, Primer forward (TGC-GTGAGCAGGAGGATG) และ Primer reverse (TTCCTCCTTGTAGTCCAGC) (Yang et al., 2015) อย่างละปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 5 U/µl Taq DNA Polymerase ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรด้วย sterile water ให้มีปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร โดยมีวงรอบการทำ PCR ดังนี้ เริ่ม initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 30 รอบ ดังนี้ denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที, primer annealing ที่อุณหภูมิ 66 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, Primer extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที และ Final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หลังจากสิ้นสุดปฏิกิริยาการเพิ่มชิ้นส่วนยีนแล้ว นำชิ้นส่วนยีนมาตรวจสอบด้วย 2% agarose gel electrophoresis และย้อมด้วย gel star® (Gelstar INC.NY) เมื่อได้ชิ้นยีนส่วนที่ต้องการแล้วทำการย่อยชิ้นส่วนยีน *MyoD* ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิด *BccI* ตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีนด้วย 8% polyacrylamide gel electrophoresis จากนั้นทำการบันทึกภาพแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV และบันทึกจีโนไทป์ของสัตว์แต่ละตัวเพื่อนำไปวิเคราะห์ผลในขั้นตอนต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SAS V9.0 (SAS, 2002) รายละเอียดดังนี้ 1) ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีลตามวิธีของ Falconer and Mackey (1996) ด้วยชุดคำสั่ง Proc frequency 2) ทดสอบ Hardy-Weinberg equilibrium เพื่อทดสอบความสมดุลของยีนในประชากรของไก่แต่ละพันธุ์ ด้วย Chi-square test ($\mathbf{X}^2$) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* กับข้อมูลน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักตัวที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ที่ช่วงอายุ 0-4, 0-6, 0-8, 0-10 และ 0-12 สัปดาห์ โดยใช้คำสั่ง Proc GLM มีโมเดล ดังนี้

$$y_{ijk} = \mu + breeds_i + sex_j + genotype_k + \mathcal{E}_{ijk}$$

เมื่อ y_{ijk} = ค่าสังเกต (น้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักตัวที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ที่ช่วงอายุ 0-4, 0-6, 0-8, 0-10 และ 0-12 สัปดาห์), μ = ค่าเฉลี่ยของลักษณะที่ศึกษา, $breeds_i$ = อิทธิพลเนื่องจากสายพันธุ์ (i = ไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55, ไก่จีนดำ, ไก่พื้นเมืองลูกผสมพ่อประดู่หางดำ มข.55 x แม่จีนดำ, ไก่พื้นเมืองลูกผสมพ่อจีนดำ x แม่ประดู่หางดำ มข.55, ไก่เนื้อทางการค้า), sex_j = อิทธิพลของเพศ (j = เพศผู้ และ เพศเมีย), $genotype_k$ = อิทธิพลเนื่องจากรูปแบบจีโนไทป์ (k = จีโนไทป์ AA, AB และ BB), $\mathcal{E}_{ijk}$ = ความคลาดเคลื่อน หากความถี่ของจีโนไทป์พบต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ของฝูง จะไม่นำมาคำนวณหาความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนกับลักษณะที่ศึกษา

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล

ผลการตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* ในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55, ไก่จีนดำ, ไก่พื้นเมืองระหว่างลูกผสมพ่อประดู่หางดำ มข.55 x แม่จีนดำ, ไก่พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพ่อจีนดำ x แม่ประดู่หางดำ มข.55 และไก่เนื้อทางการค้า ในไก่ทั้ง 5 กลุ่ม พบความหลากหลายของรูปแบบจีโนไทป์ 3 รูปแบบ คือ จีโนไทป์ AA, AB และ BB บนโครโมโซม 5 exon1 ณ จุดตัดที่เบสจำเพาะของ enzyme *BccI* (PCR Product ขนาด 414 bp) (**Figure 1**) และความถี่จีโนไทป์และความถี่อัลลีล แสดงดัง **Table 1**

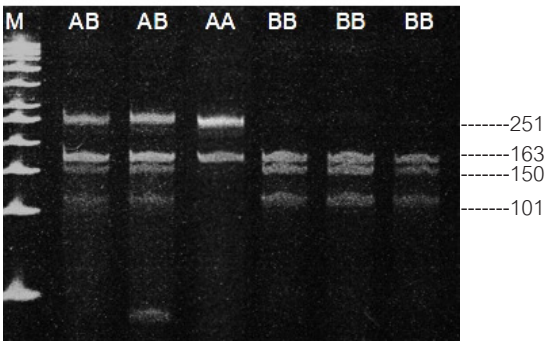

Figure 1 PCR-RFLP patterns of *MyoD*/*BccI* in Thai native Pradu hangdam morkho 55, Chinese black bone, crossbred and broiler chickens. (M = 50 bp DNA Ladder) M is 50 bp DNA Ladder, The AA, AB, and BB are genotypes of *MyoD* gene.

เมื่อพิจารณาความถี่จีโนไทป์ของยีน *MyoD* พบว่า ในไก่เนื้อทางการค้ามีความถี่จีโนไทป์ AA สูงที่สุดเท่ากับ 0.64 ไก่พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพ่อจีนดำ x แม่ประดู่หางดำ มข.55 มีความถี่จีโนไทป์ AB สูงที่สุดเท่ากับ 0.48 ส่วนไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 มีความถี่จีโนไทป์ BB สูงที่สุด เท่ากับ 0.58 เมื่อตรวจสอบความถี่จีโนไทป์ของยีน *MyoD* ในกลุ่มประชากรไก่ทั้ง 5 กลุ่ม พบว่าอัตราส่วนของจีโนไทป์ไม่อยู่ในสมดุลตามกฎของ Hardy-Weinberg ยกเว้นไก่พื้นเมืองลูกผสมระหว่างพ่อจีนดำ x แม่ประดู่หางดำ มข.55 ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าไก่ที่นำมาทำการศึกษานั้นผ่านกระบวนการคัดเลือกพันธุ์ของศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) จึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีน *MyoD* ในบางกลุ่มประชากร โดยความถี่อัลลีล A พบความถี่สูงในไก่เนื้อทางการค้า (0.74) และความถี่สูงรองลงมาในไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้ง 2 กลุ่ม และเป็นที่น่าสังเกตว่าพบอัลลีล A ในประชากรไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข. 55 และไก่จีนดำต่ำกว่าไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้ง 2 กลุ่ม ส่วนความถี่อัลลีล B พบสูงที่สุดเท่ากับ 0.62 ในกลุ่มไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 และไก่จีนดำ (**Table 1**) และมีรายงานของ Yang et al. (2015) พบความถี่อัลลีล C (0.625) ของยีน *MyoD* ที่มีค่าสูงในไก่พื้นเมืองของประเทศจีน จากผลการศึกษายีน *MyoD* บางอัลลีลน่าจะมีความจำเพาะในกลุ่มไก่พื้นเมือง ดังนั้นยีน *MyoD* จึงมีโอกาสที่จะใช้ความถี่อัลลีลในการจัดกลุ่มไก่พื้นเมืองได้

Table 1 Genotypes and alleles frequencies of *MyoD* gene in Thai native Pradu hangdam morkho 55, Chinese black bone, crossbred and broiler chickens.

Breeds	N	Genotype frequencies			Allele frequencies		$\chi^2_{(1,0.05)}$ =3.84
		AA	AB	BB	A	B	
PD	99	0.34(34)	0.08(8)	0.58(57)	0.38	0.62	68.06
CB	99	0.26(26)	0.24(24)	0.49(49)	0.38	0.62	23.53
PDxCB	99	0.62(61)	0.21(21)	0.17(17)	0.72	0.28	21.00
CBxPD	90	0.42(38)	0.48(43)	0.10(9)	0.66	0.34	0.40
Broiler	98	0.64(63)	0.20(20)	0.15(15)	0.74	0.26	21.01

PD, Pradu hangdum morkho 55; CB, Chinese black bone; PDxCB, crossbred (Pradu hangdam morkho 55 x Chinese black bone); and CBxPD, crossbred (Chinese black bone x Pradu hangdam morkho 55).

ความสัมพันธ์ของยีน *MyoD* กับน้ำหนักตัว และอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์รูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* กับน้ำหนักตัวแรกเกิด น้ำหนักตัวที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน ที่ช่วงอายุ 0-4, 0-6, 0-8, 0-10 และ 0-12 สัปดาห์ ในไก่ทั้ง 5 กลุ่ม พบความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน *MyoD* กับลักษณะที่ทำการศึกษาในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55, ไก่จีนดำ และไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้งสองกลุ่ม แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน *MyoD* กับลักษณะที่ศึกษาในไก่เนื้อทางการค้า (Table 2)

ผลการวิเคราะห์รูปแบบของยีน *MyoD* ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์ของยีนกับน้ำหนักแรกเกิดเฉลี่ยของไก่ทั้ง 5 กลุ่ม แต่พบว่ารูปแบบยีน *MyoD* มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่อายุ 2 สัปดาห์ ในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 และไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้งสองกลุ่ม โดยรูปแบบจีโนไทป์ AA จะมีน้ำหนักตัวเมื่ออายุ 2 สัปดาห์สูงกว่ารูปแบบจีโนไทป์ AB และ BB สอดคล้องกับรายงานบทบาทของยีน *MyoD* มีความสำคัญในการควบคุมการเปลี่ยนแปลงและการพัฒนากล้ามเนื้อโครงร่าง และการเจริญเติบโตในระยะเริ่มต้นของการมีชีวิต (Wei and Bruce., 2001) นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *MyoD* กับอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในไก่จีนดำที่ช่วงอายุ 0-8, 0-10 และ 0-12 สัปดาห์ โดยรูปแบบจีโนไทป์ AA และ BB มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช่วงอายุ 0-8, 0-10 และ 0-12 สัปดาห์ มากกว่ารูปแบบจีโนไทป์ AB (Table 2) และมีรายงานว่าความแปรปรวนของยีน *MyoD* มีผลต่อขนาดและความหนาแน่นของเส้นใยกล้ามเนื้อในไก่พื้นเมืองของประเทศจีน (Yang et al., 2015) และพบรายงานความสัมพันธ์ของยีน *MyoD* ต่อลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะซากในโคเนื้อของประเทศเกาหลี (Bhuiyan et al., 2009) ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการคัดเลือกไก่ที่มีจีโนไทป์ AA น่าจะมีผลในการคัดเลือกไก่พื้นเมืองประดู่หางดำ มข.55 และไก่พื้นเมืองลูกผสม

ดังนั้นการศึกษาประชากรไก่ 5 กลุ่ม จึงมีความน่าจะเป็นที่จะนำรูปแบบจีโนไทป์ AA มาพัฒนาเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมเพื่อช่วยในการคัดเลือกลักษณะน้ำหนักตัวในไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ มข.55 และไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้งสองกลุ่มได้ และรูปแบบจีโนไทป์ AA และ BB ของยีน *MyoD* มาพัฒนาเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมเพื่อช่วยในการคัดเลือกลักษณะอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในไก่พื้นเมืองลูกผสมพ่อจีนดำแม่ประดู่หางดำ

สรุป

การศึกษาครั้งนี้พบความหลากหลายของรูปแบบยีน *MyoD* ในไก่พื้นเมืองประดู่หางดำ มข.55, ไก่จีนดำ, ไก่พื้นเมืองลูกผสมพ่อประดู่หางดำ มข.55 x แม่จีนดำ, ไก่พื้นเมืองลูกผสมพ่อจีนดำ x แม่ประดู่หางดำ มข.55 และไก่เนื้อทางการค้าที่แตกต่างกัน และพบว่ารูปแบบจีโนไทป์ AA ของยีน *MyoD* มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มน้ำหนักตัวที่อายุ2สัปดาห์ในไก่พื้นเมืองประดู่หางดำ มข.55 และไก่พื้นเมืองลูกผสมทั้งสองกลุ่ม อีกทั้งยังพบว่ารูปแบบจีโนไทป์ AA และ BBของยีน *MyoD* มีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในไก่จีนดำที่ช่วงอายุ 0-8, 0-10 และ 0-12 สัปดาห์ ผลการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *MyoD* ในไก่พื้นเมือง และมีความเป็นไปได้ในการใช้รูปแบบจีโนไทป์ AA และ BB ของยีน *MyoD* เพื่อเป็นเครื่องหมายพันธุกรรมช่วยในการคัดเลือกลักษณะน้ำหนักตัวและอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันในไก่พื้นเมืองพันธุ์แท้และลูกผสมต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE) ที่สนับสนุนทุนการวิจัย (AG-BIO/59-001-015) ศูนย์เครือข่ายวิจัยและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนและพันธุ์สัตว์และหมวดสัตว์ปีก สาขาวิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนสถานที่ทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณทองสา บัวสุข ที่ให้คำแนะนำด้านการทำแลปในห้องปฏิบัติการกลางด้านปรับปรุงพันธุ์สัตว์

Table2 Least square means of variation of *MyoD* gene on growth performance in Thai native Pradu hangdam morkho 55, Chinese black bone, crossbred and broiler chickens.

Breeds	genotypes	Growth traits											
		BW (g)							ADG (g/day)				
		0	2	4	6	8	10	12	0-4	0-6	0-8	0-10	0-12
PD	AA (n=34)	31.40	116.48^{a}	264.46	497.90	773.01	1091.09	1367.76	8.27	11.01	13.10	14.98	15.70
	AB (n=8)	31.14	114.58^{a}	266.39	468.02	727.28	1008.37	1306.93	8.51	10.61	12.88	14.30	15.61
	BB (n=57)	31.79	109.46^{b}	253.66	489.91	758.62	1058.80	1357.43	7.96	10.98	13.07	14.79	15.93
	SEM	1.29	5.97	15.09	25.27	40.28	62.05	72.61	0.53	0.59	0.72	0.88	0.86
CB	AA (n=26)	35.53	136.81	328.41	679.50	1057.97	1419.27	1680.31	10.70	15.87	18.96^{a}	20.74^{a}	20.70^{a}
	AB (n=24)	35.12	130.48	321.68	695.64	1033.10	1379.49	1659.68	10.20	15.69	17.76^{b}	19.17^{b}	19.26^{b}
	BB (n=49)	35.12	131.18	330.58	698.77	1047.57	1439.65	1699.57	10.77	16.31	18.72^{a}	20.90^{a}	20.86^{a}
	SEM	1.81	6.44	15.53	34.11	49.30	74.45	98.70	0.55	0.81	0.88	1.07	1.18
PDxCB	AA (n=61)	35.18	129.50^{a}	309.59	631.61	911.67	1283.14	1555.37	9.84	14.25	15.72	17.92	18.22
	AB (n=21)	33.65	122.54^{ab}	309.82	617.82	930.81	1273.02	1623.41	9.67	13.6	15.35	17.09	17.87
	BB (n=17)	35.27	132.02^{a}	320.91	636.87	942.89	1340.99	1640.80	10.13	14.22	16.18	18.50	18.92
	SEM	1.55	7.05	20.12	33.85	63.14	86.76	98.50	0.71	0.8	1.07	1.25	1.18
CBxPD	AA (n=38)	33.09	133.60^{a}	331.15^{a}	653.26^{a}	960.26^{a}	1327.49^{a}	1629.12	10.51	14.56	16.29	18.15	18.54
	AB (n=43)	31.71	123.02^{b}	294.75^{b}	577.87^{b}	851.12^{b}	1192.50^{b}	1493.37	9.63	13.47	15.14	17.24	18.12
	BB (n=9)	31.91	129.74^{ab}	319.01^{a}	631.07^{a}	936.50^{a}	1280.23^{a}	1560.97	10.22	14.28	16.2	17.94	18.30
	SEM	1.33	5.93	18.67	36.55	48.38	79.48	100.29	0.66	0.86	0.85	1.13	1.20
Broiler	AA (n=63)	45.24	263.39	1055.43	2157.60	-	-	-	36.08	50.26	-	-	-
	AB (n=20)	44.87	266.10	1070.88	2196.48	-	-	-	34.87	47.70	-	-	-
	BB (n=15)	44.04	257.93	1049.17	2159.66	-	-	-	36.06	50.68	-	-	-
	SEM	1.63	14.95	64.13	104.99	-	-	-	2.29	2.48	-	-	-

^{a,b} means within column without common superscript different significantly ($P<0.05$), PD = Pradu hangdum morkho 55, CB = Chinese black bone, PDxCB = Crossbred (Pradu hangdam morkho 55 x Chinese Black Bone), and CBxPD = Crossbred (Chinese Black Bone x Pradu hangdam morkho 55)

เอกสารอ้างอิง

นริศรา สวยรูป, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, วุฒิไกร บุญคุ้ม และมนต์ชัย ดวงจินดา. 2555. สมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำและชี่ที่เลี้ยงด้วยอาหารไก่เนื้อและอาหารไก่ไข่. แก่นเกษตร. 40 (ฉบับพิเศษ 2): 248-252.

บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, มนต์ชัย ดวงจินดา, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, เกษม นันทชัย, และวุฒิไกร บุญคุ้ม. 2553. การทดสอบสมรรถนะการเจริญเติบโตและความนุ่มเนื้อในไก่ลูกผสมที่ได้จากไก่พ่อพันธุ์พื้นเมืองไทยกับไก่แม่พันธุ์ทางการค้า. แก่นเกษตร. 38:373-384.

เพิ่มศักดิ์ ศิริวรรณ, อภิชัย รัตนวราหะ, สุภานัน พิมสาร, วิชิต สนลอย, และศุภฤกษ์ นาคกิตเศรษฐ์. 2547. การศึกษาเบื้องต้นในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ไก่กระดูกดำ. สัตวบาล. 68:44-53.

Bhuiyan, M.S.A., N.K. Kim, Y.M. Cho, D. Yoon, K.S. Kim, J.T. Jeon, and J.H. Lee. 2009. Identification of SNPs in *MYOD* gene family and their associations with carcass traits in cattle. Livest. Sci. 126: 292–297.

Falcorner, D. S. and T. F. C. Mackey. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th Edition. Longman, Oxford.

Jaturasitha, S., V. Leangwunta, A. Leotaragul, A. Phongphaew, T. Apichartsrungkoon, N. Simasathikul, T. Vearasilp, L. Worachai and U. ter Meulen. 2002. A comparative study of Thai native chicken and Broiler on productive performance, carcass and meat quality. Available: https://pdfs.semanticscholar.org/16d3/c934ee92fe62744ced979d035df04ca95c8b.f?_=2.106419075.1252508388.1573947833-1326147920.1537756766. Accessed Dec. 20, 2016.

Goodwin, W., A. Linacre, and S. Hadi. 2007. An Introduction to Forensic Genetics. John Wiley & Sons Ltd., Chicheste.

Kim, S. W., J. H. Lee, B. C. Park, and T. S. Park. 2017. Myotube differentiation in clustered regularly interspaced short palindromic repeat/Cas9-mediated *MyoD* knockout quail myoblast cells. Asian Aust. J. Anim. Sci. 7: 1029-1036.

PhysOrg. 2006. Black-Bone silky fowl: an odd bird with meat to crow about. Available: http://www. physorg.com/news77370660.html. Accessed: Jan. 18, 2019.

SAS. 2002. User's Guide: Statistics, V.9.0. SAS Institute Inc., Cary. NC.

Tian, Y., M. Xie, W. Wang, H. Wu, Z. Fu, and L. Lin. 2007. Determination of carnosine in blackbone silky fowl (*Gallus gallus domesticus* Brisson) and common chicken by HPLC. Eur. Food Res. Technol. 226:311-314.

Ujan, J. A., L. S. Zan, H. B. Wang, S. A. Ujan, C. Adoligbe, H. C. Wang, and S. F. Biao. 2011. Lack of an association between a single nucleotide polymorphism in the bovine myogenic determination 1 (*MyoD*1) gene and meat quality traits in indigenous Chinese cattle breeds. Genet. Molec. Res. 10: 2213-2222.

Wattanachant, S., S. Benjakul, and D. A. Ledward. 2004. Composition, color, and texture of Thai indigenous and broiler chicken muscles. Poult. Sci. 83:123-128.

Wei, Q. and M. P. Bruce. 2001. Regulation of *MyoD* Function in the Dividing Myoblast. Laboratory of Biochemistry, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda.

Yang, Z.Q., Y. Qing, Q. Zhu, X. L. Zhao, Y. Wang, D. Y. Li, Y. P. Liu, and H. D. Yin. 2015. Genetic effects of polymorphisms in myogenic regulatory factors on chicken muscle fiber traits. Asian Aust. J. Anim. Sci. 6:782-787.

Yin, H., Z. Zhang, X. Lan, X. Zhao, Y. Wang and Q. Zhu. 2011. Association of *MyF5, MyF6* and *MyoG* gene polymorphisms with carcass traits in Chinese meat type quality chicken populations. J. Anim. Vet. Adv. 10:704-708.