



## รายงานการวิจัย

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาจาก  
ยีนไมโทคอนเดรีย cytochrome b  
Genetic diversity of mitochondrial cytochrome b gene in  
Songkhla native pig



สำนักงานบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ  
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

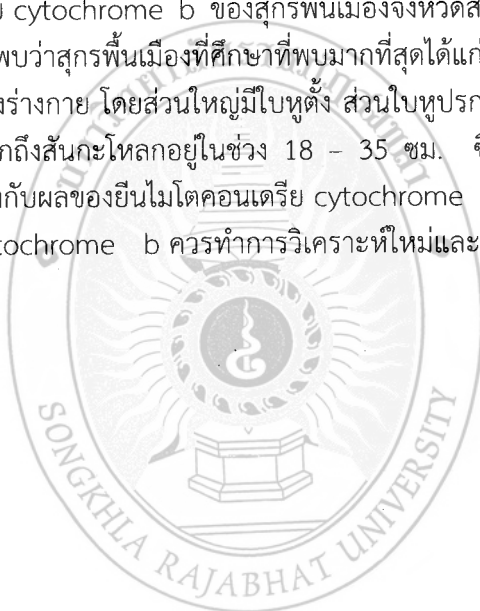
นายอภิชาติ พันชุกกลาง  
น.สพ.รัฐจวน อิศรรักษ์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณกองทุนวิจัย  
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

ชื่องานวิจัย ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาจากยีน  
ไมโทคอนเดรีย cytochrome b  
ผู้วิจัย นายอภิชาติ พันชุกกลาง  
น.สพ. รัญจวน อีสรรักษ์  
คณะ เทคโนโลยีการเกษตร  
ปี 2561

### บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และจำแนกสายพันธุ์ด้วยยีนไมโทคอนเดรีย cytochrome b ของสุกรพื้นเมืองจังหวัดสงขลา ตัวอย่างในการศึกษามีจำนวนรวมทั้งสิ้น 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองที่ศึกษาที่พบมากที่สุดได้แก่มีสีด้าเป็นพื้นและอาจมีสีขาวยแทรกเป็นบางตำแหน่งของร่างกาย โดยส่วนใหญ่มีใบหูตั้ง ส่วนใบหูปรกมีเป็นจำนวนน้อยที่สุด ความยาวหน้าทีวัดจากปลายจมูกถึงสันกะโหลกอยู่ในช่วง 18 - 35 ซม. ซึ่งผลของลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังกล่าวไม่สอดคล้องกับผลของยีนไมโทคอนเดรีย cytochrome b ที่ได้ อย่างไรก็ตามรูปแบบของยีนไมโทคอนเดรีย cytochrome b ควรทำการวิเคราะห์ใหม่และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank ใหม่อีกครั้ง



เลข Bib#	M A2300
	6 พ.ย. 2561
วันที่	
เลขเรียกหนังสือ	636.A22
	016ค

<b>Research Title</b>	Genetic diversity of mitochondrial cytochrome b gene in Songkhla native pig
<b>Researcher</b>	Apichart Punchukrang Runjuan Itsararuk
<b>Faculty</b>	Agricultural Technology
<b>Year</b>	2018

### Abstract

The objectives of this research were to study the genetic diversity and mitochondrial cytochrome b gene for identification of native pigs in Songkhla provinces. A total of 21 native pigs were selected as the studied samples. It was found that the most number of native pigs were basically black color with some of them had white markings at some spots of the body. The majority of them had erected ears, and the lease number had lopped ears. The face length, measured from the tip of snout to the apex of the head, of the pigs was in the range of 18 – 35 cm. The result of morphology is not related to a result any of mitochondrial cytochrome b gene. However, the patterns of mitochondrial cytochrome b gene was sequenced again, and the results confirmed direct sequencing of the GenBank database.

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ดร. ศรัณยา สติตย์ มั่นวิวัฒน์ สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ปรึกษางานวิจัยที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณบุคลากรและนักศึกษาคณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือในการทดลอง ทั้งเครื่องมืออุปกรณ์ และวัสดุ รวมทั้งให้การช่วยเหลือในการวิจัย ตลอดจนบุคลากรหน่วยงาน สถาบันวิจัยและพัฒนาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการให้คำแนะนำด้านการบริหารจัดการด้านทุน และเอกสารงานวิจัยจนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี



นายอภิชาติ พันชุกกลาง  
น.สพ.รัฐจวน อิศรรักษ์  
มีนาคม 2561

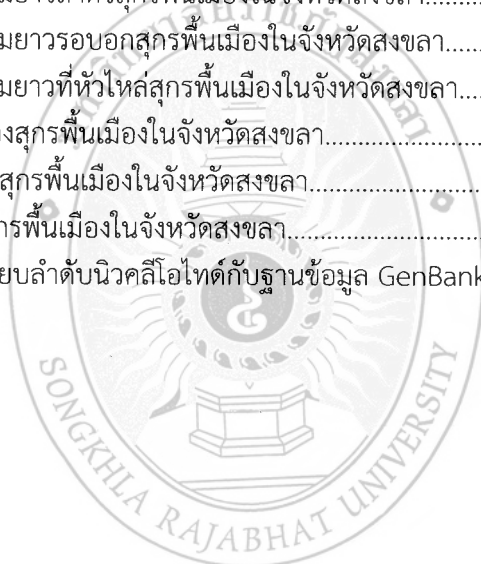
## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ .....	ก
Abstract .....	ข
กิตติกรรมประกาศ .....	ค
สารบัญ .....	ง
สารบัญตาราง .....	จ
สารบัญภาพ .....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ .....	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา .....	1
วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย .....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	2
ขอบเขตการวิจัย .....	2
บทที่ 2 ทฤษฎี .....	3
บทที่ 3 การทดลอง .....	8
บทที่ 4 ผลการทดลอง .....	10
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผล .....	18
เอกสารอ้างอิง .....	19
ภาคผนวก .....	21
ประวัติผู้วิจัย .....	23

## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1	จำนวนสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา ที่ใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา แยกเป็นรายอำเภอ.....8
2	สีขนของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....11
3	ลักษณะใบหูของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....11
4	ขนาดและลักษณะใบหูกว้างของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....12
5	ขนาดและลักษณะใบหูยาวของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....12
6	ลักษณะของความยาวหน้าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....13
7	ลักษณะของความยาวลำตัวสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....13
8	ลักษณะของความยาวรอบอกสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....14
9	ลักษณะของความยาวที่หัวไหล่สุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....14
10	จำนวนเต้านมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....14
11	ลักษณะท้องของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....15
12	น้ำหนักตัวของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา.....15
13	ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank.....16



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ไมโทคอนเดรีย (mitochondria).....	4
2 Phylogenetic tree ของ combined mtDNA sequence 27 แบบ.....	5
3 Phylogenetic tree ของ 29 haplotypes ของดีเอ็นเอในส่วนของยีน cytochrome b.....	6
4 Phylogenetic tree จำนวน 9 haplotypes ของดีเอ็นเอในส่วนของยีน cytochrome b.....	7
5 สุกরláตัวส่วนใหญ่สีดำมีสีขาวแซม.....	10
6 สุกরláตัวสีน้ำตาล แดงคอสีดำ.....	10
7 สุกরláตัวส่วนใหญ่สีน้ำตาลมีสีขาวแซม.....	10
8 สุกরláตัวสีดำล้วน.....	10
9 แผนภูมิต้นไม้พันธุกรรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมือง.....	17
ภาพผนวกที่ 1 แสดงแถบดีเอ็นเอที่สกัดแล้วนำมาตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส.....	21
ภาพผนวกที่ 2 แสดงแถบดีเอ็นเอผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มปริมาณของส่วน cytochrome b.....	22



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สุกรพื้นเมืองเป็นที่นิยมเลี้ยงในเขตพื้นที่ชนบท เพราะมีลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีอยู่หลายประการ เช่น สามารถปรับตัวได้ดีในสภาพอากาศร้อนและชื้นของประเทศไทย มีความสามารถในการใช้อาหารคุณภาพต่ำได้ดี ทนทานต่อโรคและแมลง (Rattanoronchart, 1994 : ครวญ และ มงคล 2547) โดยสุกรพื้นเมืองสามารถจำแนกตามรูปร่างลักษณะรูปพรรณสัณฐานภายนอกได้เป็น 4 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ลาด พันธุ์พวง พันธุ์ไหหลำ และพันธุ์ควาย ซึ่งปัจจุบันสุกรพื้นเมืองเหล่านี้ลดจำนวนลงอย่างมาก เนื่องจากค่านิยมของเกษตรกรที่ต้องการสุกรที่ให้ผลผลิตสูง จึงนำสุกรสายพันธุ์ต่างประเทศเข้ามาเลี้ยงทดแทน และอาจมีการผสมข้ามสายพันธุ์กับสุกรต่างประเทศ (Charoensook et al., 2013) สำหรับสุกรพื้นเมืองที่เลี้ยงในภาคใต้พบว่าเป็นสุกรพันธุ์ไหหลำ พันธุ์พวง และพันธุ์ลาด โดยในจังหวัดสงขลานั้นจะเรียกสุกรพื้นเมือง ว่าหมูขี้พริ้ว หรือหมูขี้ไก่ (ครวญ และ มงคล, 2547 : Charoensook et al., 2013) โดยพบว่าสุกรพื้นเมือง หมูขี้พริ้ว หรือหมูขี้ไก่ ที่เลี้ยงในจังหวัดสงขลาไม่สามารถจำแนกตามลักษณะรูปพรรณสัณฐานภายนอกประจำสายพันธุ์ได้อย่างชัดเจน อาจเกิดจากการผสมข้ามสายพันธุ์โดยขาดการวางแผนในการปรับปรุงพันธุ์ จึงมีความเสี่ยงต่อการสูญเสียพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองสูง ซึ่งในการวางแผนการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมของสัตว์พื้นเมือง หรือการวางแผนปรับปรุงพันธุ์สัตว์พื้นเมืองเพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ นั้น จำเป็นต้องทราบว่าสุกรพื้นเมืองที่เลี้ยงในแต่ละแหล่งมีความคล้ายคลึง หรือแตกต่างกันมากน้อยเพียงใด

ปัจจุบันมีการนำความรู้ทางอนุพันธุศาสตร์ในระดับดีเอ็นเอ มาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองของไทย เช่น เครื่องหมายพันธุกรรม ได้แก่ microsatellite และ AFLP (Yang et al., 2012; Chaweewan et al., 2014) และลำดับของนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย (mitochondrial DNA) (นิชนันท์ ชูเกิด และคณะ, 2551; Yang et al., 2012) โดยลำดับของนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย ที่นิยมใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกร เป็นส่วนของยีน cytochrome b เนื่องจากเป็นยีนที่สามารถนำมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมได้อย่างสะดวกพบว่ามีค่าความหลากหลายสูง และแปรผันเป็นโปรตีนที่มีความจำเพาะ

จากการรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นพบว่า ในจังหวัดสงขลามีการเลี้ยงสุกรพื้นเมืองกระจายอยู่ทั่วไปในพื้นที่ 6 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง คลองหอยโข่ง ระโนด สทิงพระ สะบ้าย้อย และจะนะ และคาดว่าจะมีความหลากหลายทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามจากการศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในประเทศไทยที่ผ่านมา ยังไม่พบรายงานข้อมูลพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงสนใจที่จะศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา โดยใช้ลักษณะรูปพรรณสัณฐานภายนอก และลำดับของนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียส่วนของยีน cytochrome b



**วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย**

1. เพื่อจำแนกสายพันธุ์ของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา โดยใช้ลักษณะภายนอกและลำดับของนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ cytochrome b
2. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา เปรียบเทียบกับสุกรพื้นเมืองสายพันธุ์อื่นๆ จากฐานข้อมูล Genbank

**ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. ได้ข้อมูลพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการอนุรักษ์สายพันธุ์สัตว์พื้นเมือง
2. ได้ข้อมูลในการวางแผนการปรับปรุงสายพันธุ์สัตว์พื้นเมืองของจังหวัดสงขลา

**ขอบเขตการวิจัย**

การศึกษาครั้งนี้จำกัดเฉพาะสุกรพื้นเมืองที่เลี้ยงในจังหวัดสงขลา



## บทที่ 2

### ทฤษฎี

#### 1. พันธุ์สุกรพื้นเมือง

สุกรพื้นเมืองเป็นสุกรที่นิยมเลี้ยงในประเทศไทยมาเป็นระยะเวลาช้านาน โดยส่วนมากเลี้ยงอยู่ตามหมู่บ้านในชนบท และพวกชาวไทยภูเขา Rattanaronchart (1994) และ Charoensook et al. (2013) ได้แบ่งสุกรพื้นเมืองที่เลี้ยงตามท้องถิ่นต่างๆ ในประเทศไทยตามลักษณะ รูปร่างลักษณะ ภายนอกออกเป็น 4 สายพันธุ์คือ

**พันธุ์ไหหลำ** พบในภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทยตามลำตัวมีสีดำปน ส่วนท้องจะมีสีขาวท้องยาน จมูกยาวและแอนเล็กน้อย คางย้อย ไหล่กว้าง หลังแอน ตะโพกเล็กมีอัตราการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ดีกว่าสุกรพันธุ์พื้นเมืองทั้งหมด ให้ลูกตกกินเก่งและทนทานต่อสภาพอากาศ น้ำหนักโตเต็มที่ประมาณ 110-120 กิโลกรัม

**พันธุ์ควาย** พบมากทางภาคเหนือของประเทศไทย สีคล้ายกับสุกรพันธุ์ไหหลำแต่พันธุ์ควายลำตัวมีสีดำ หูใหญ่ปรกเล็กน้อย หลังแอน ท้องยาน เมื่ออายุมากขึ้นจะหยาบย่นตามอายุ เป็นสุกรที่มีขนาดใหญ่ น้ำหนักโตเต็มที่ประมาณ 125-150 กิโลกรัม

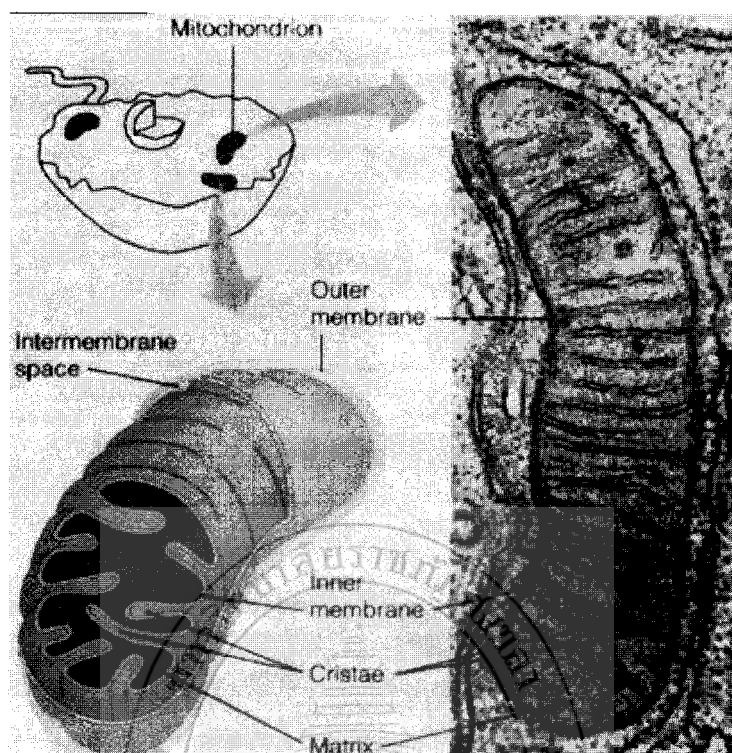
**พันธุ์พวง** เลี้ยงกันมากตามภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มีขนสีดำทั้งตัว มีสีขาวบนแขนข้างเล็กน้อย จมูกยาว ลำตัวขนาดเกือบเท่าพันธุ์ไหหลำ หลังแอน ใบหูใหญ่หนา ผิวหนังหยาบ แม่สุกรโตเต็มที่ขนาดประมาณ 80 – 100 กิโลกรัม

**พันธุ์ราด** เลี้ยงตามภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง โดยจัดเป็นสุกรขนาดเล็ก ลำตัวสั้น มีซี่โครง 8-9 ซี่ หนักประมาณ 60-80 กิโลกรัม หูเล็กตั้ง หน้าเล็กแหลมคล้ายหนู ว่องไว ปราดเปรียว ขุดคุ้ยหากินตามป่าแก่ง

สุกรพื้นเมืองจัดเป็นพวกสุกรมัน (Lard type) มีอัตราการเจริญเติบโตช้า แต่สามารถปรับตัวได้ดีต่อสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น สามารถใช้อาหารคุณภาพต่ำในการเจริญเติบโตได้ดี และมีภูมิต้านทานต่อโรคปากเท้าเปื่อยและพยาธิภายใน (Rattanaronchart, 1994)

#### 2. ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย (mitochondrial DNA)

ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่พบเฉพาะในเซลล์ของยูคาริโอตที่ใช้ ออกซิเจนในการหายใจ โดยรูปร่างของไมโทคอนเดรียมีลักษณะเป็นก้อนกลม หรือก้อนรี มีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.1-1.0 ไมครอน ความยาวประมาณ 5-10 ไมครอน หรือมากกว่า มีเยื่อหุ้มสองชั้น ซึ่งเป็นชนิดยูนิตเมมเบรน เยื่อชั้นในมีลักษณะเป็นท่อ หรือเยื่อที่พับพับกันอยู่เรียกว่า crista ท่อนี้จะยื่นเข้าไปในส่วนของ matrix ซึ่งเป็นของเหลวของสารประกอบหลายชนิด โดยไมโทคอนเดรียพบในยูคาริโอตเกือบทุกชนิด เซลล์แต่ละเซลล์มีไมโทคอนเดรียไม่เท่ากัน โดยทั่วไปพบไมโทคอนเดรียมากในเซลล์ที่มีอัตราเมตาบอลิซึมสูง เช่น เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เซลล์ต่อม เซลล์ที่กำลังเจริญเติบโต เป็นต้น (ลัดดา, 2547) โดยแสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) (ปรียานันท์, 2549)

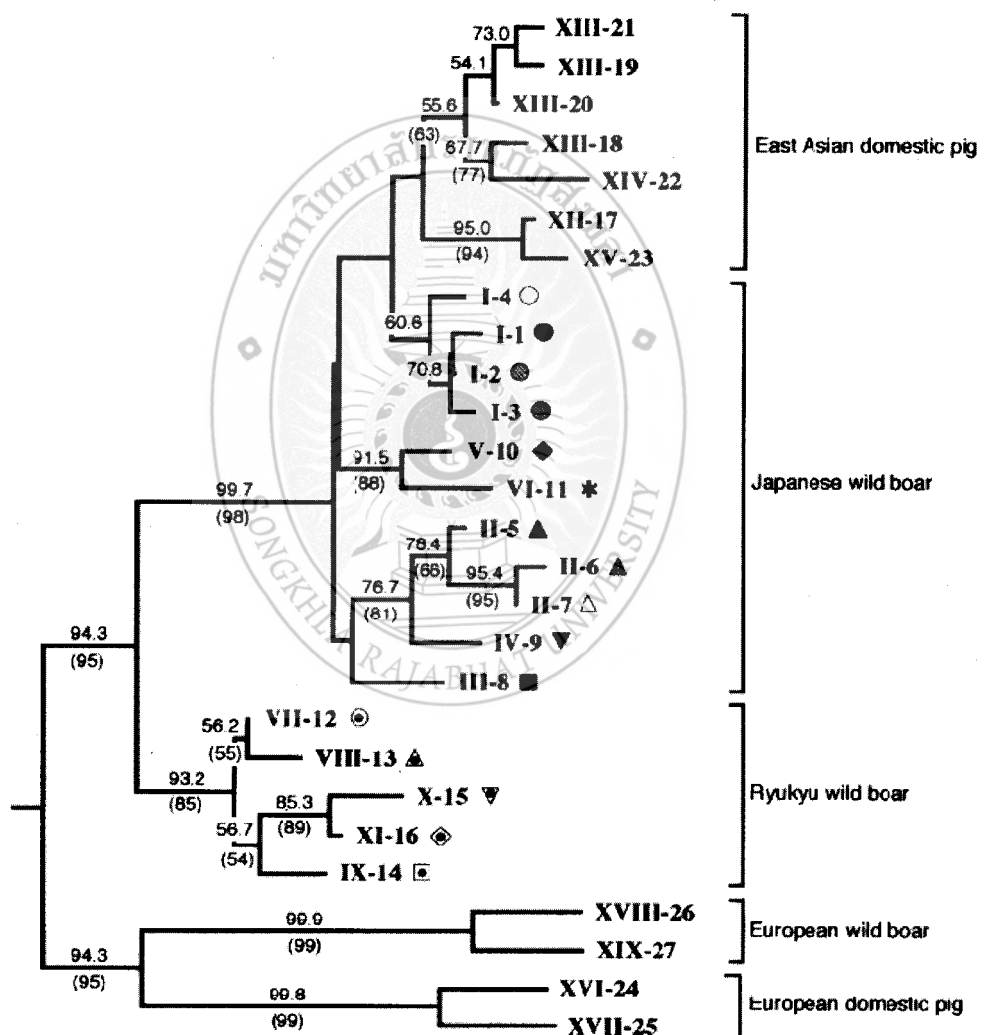
ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียมีรูปร่างเป็นวงแหวนเกลียวคู่เช่นเดียวกับดีเอ็นเอในคอร์โรพลาส แต่ขนาดมีความแปรผันมากในสิ่งมีชีวิตต่างกัน ตั้งแต่ 16 กิโลเบสในไมโทคอนเดรียของมนุษย์ ส่วนในพืชมีมากถึง 200-2,000 กิโลเบสในพืช แต่จำนวนยีนที่พบในไมโทคอนเดรียของพืชและสัตว์ไม่ต่างกัน โดยดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยทั่วไปมีขนาด ประมาณ 16-17 กิโลเบส ขนาดแตกต่างกันไปตามแต่ละสปีชีส์ ประกอบด้วย อาร์เอ็นเอถ่ายโอน (transfer RNA หรือ tRNA) 22 ชนิด อาร์เอ็นเอไรโบโซม (ribosomal RNA) 2 ชนิด (12S และ 16S) และยีนควบคุมการสร้างโปรตีน 13 ชนิด (Arnason and Janke , 2002 ; Arnason et.al, 2002)

ในสุกรพบว่าดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียที่มีขนาด 16,613 bp ประกอบด้วย อาร์เอ็นเอถ่ายโอน 22 ชนิด อาร์เอ็นเอไรโบโซม 2 ชนิด (12S และ 16S) และยีนควบคุมการสร้างโปรตีน 13 ชนิด (Lin et al., 1999)

### 3. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และจำแนกสายพันธุ์สุกรโดยการวิเคราะห์ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย

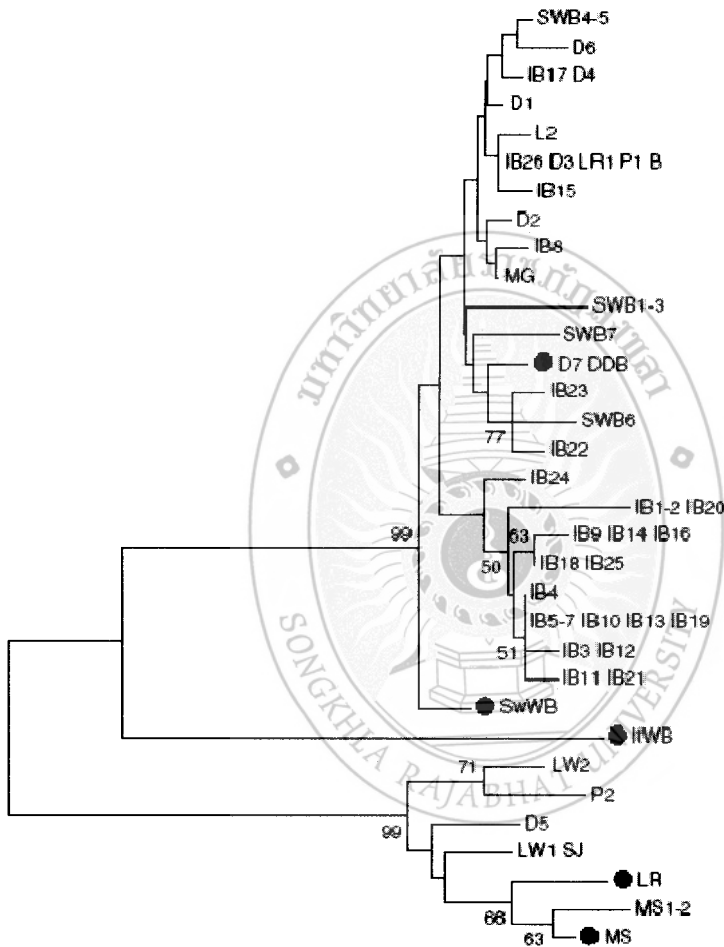
จากความรู้ทางอนุพันธุศาสตร์ในระดับดีเอ็นเอ ได้มีการนำไปสู่การพัฒนาเทคนิคใหม่ซึ่งนำมาใช้ในการตรวจสอบความหลากหลาย และวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตได้มีการใช้เอ็นไซม์ตัดจำเพาะในการศึกษาวิวัฒนาการของสัตว์โดยใช้ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย เนื่องจากดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียมีจำนวนมากกว่าดีเอ็นเอจากนิวเคลียส และมีอัตราการเกิดวิวัฒนาการสูงกว่าดีเอ็นเอจากนิวเคลียส (Bidd, 1981)

Watanabe et al. (1999) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมของสุกร Japanese wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) และ Ryukyu wild boar (*Sus scrofa riukiuanus*) โดยใช้ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียของสุกร 94 ตัว Japanese wild boar 59 ตัว สุกร Ryukyu wild boar 13 ตัว และสุกรพันธุ์อื่นๆ 22 ตัว พบว่าสามารถแสดง combined mtDNA sequence 27 แบบ และความหลากหลายของดีเอ็นเอในส่วนของยีน cytochrome b ของไมโทคอนเดรีย 19 haplotypes จากความแตกต่างของลำดับเบส 38 ตำแหน่งซึ่งสามารถแยก Japanese wild boar และ Ryukyu wild boar ออกเป็นคนละสายพันธุ์ได้ดังภาพที่ 2



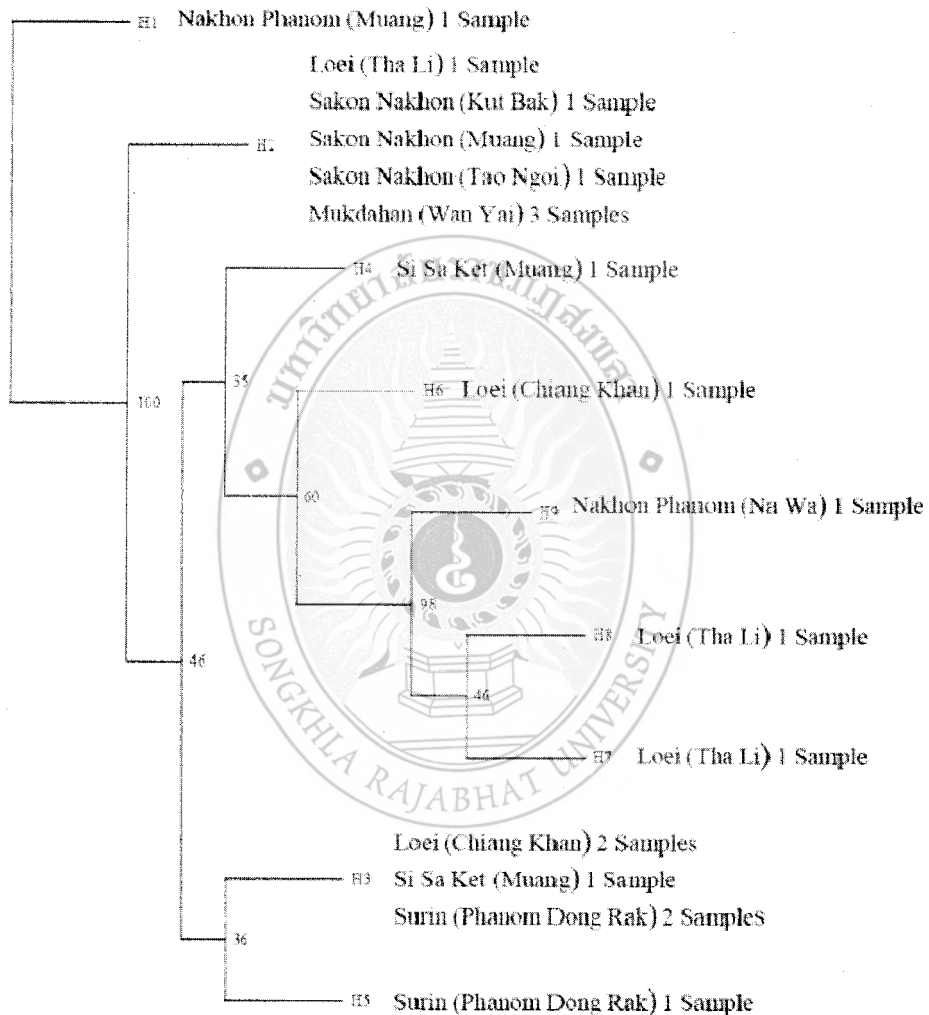
ภาพที่ 2 Phylogenetic tree ของ combined mtDNA sequence 27 แบบ (ตัวเลขอารบิก) และความหลากหลายของดีเอ็นเอในส่วนของยีน cytochrome b ของไมโทคอนเดรีย 19 (ตัวเลขโรมัน) (Watanabe et al., 1999)

Alves et al. (2003) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกร 3 กลุ่ม คือ Iberian pig, Spanish wild boars และ domestic pig โดยใช้การศึกษาจากดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียของสุกร 51 ตัว (Iberian pig 26 ตัว Spanish wild boars 7 ตัวและ domestic pig 18 ตัว) โดยสามารถแบ่งกลุ่มของสุกรได้ 29 haplotypes โดยดูจากตำแหน่งเบสที่แตกต่างกันในส่วนของยีน cytochrome b และ D-loop ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 Phylogenetic tree ของ 29 haplotypes ของดีเอ็นเอในส่วนของยีน cytochrome b ของ ไมโทคอนเดรียและ D-loop (Alves et al., 2003)

นิชนันท์ และคณะ (2551) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากจำนวนสุกร 19 ตัว ที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดเลย สกลนคร นครพนม มุกดาหาร ศรีสะเกษ และสุรินทร์ โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนยีน cytochrome b ของไมโทคอนเดรียพบว่าสุกรพื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือสามารถแบ่งได้เป็น 9 haplotype จากความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ 43 ตำแหน่งดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 Phylogenetic tree จำนวน 9 haplotypes ของดีเอ็นเอในส่วนของยีน cytochrome b ของไมโทคอนเดรีย (นิชนันท์ และคณะ, 2551)

Yang et al. (2012) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองของไทยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 61 ตัว จากจังหวัดสกลนคร นครพนม มุกดาหาร ศรีสะเกษ เลย และสุรินทร์ กับสุกรจากจังหวัดนครศรีธรรมราช ซึ่งใช้เป็นตัวแทนจากภาคใต้จำนวน 23 ตัว สุกรป่าจำนวน 7 ตัว และสุกร Chinese Quianbei black pig จำนวน 21 ตัวโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนยีน cytochrome b ของไมโทคอนเดรีย โดยสามารถแบ่งกลุ่มของสุกรได้ 18 haplotypes

### บทที่ 3

#### การทดลอง

ตัวอย่างสัตว์ทดลองทำการสำรวจและเก็บข้อมูลของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาพื้นที่ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง จะนะ คลองหอยโข่ง รัตภูมิ และกระแสสินธุ์ จากนั้นทำการศึกษาเทคนิคอนุพันธุศาสตร์ระดับดีเอ็นเอ ณ. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางการแพทย์ ชั้น 6 อาคาร 62 คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

#### 3.1 การศึกษาพันธุกรรมจากลักษณะรูปร่างภายนอก

ศึกษารูปร่างลักษณะภายนอก ได้แก่ สีผิว สีขน ขนาดใบหู ความยาวหน้า ความกว้างของหน้า ความยาวลำตัว ความยาวรอบอก ความสูงที่หัวไหล่ และจำนวนเต้านม พร้อมถ่ายภาพประกอบลักษณะของสุกรพื้นเมือง

#### 3.2 จำนวนตัวอย่างในการศึกษาด้านอนุพันธุศาสตร์ระดับดีเอ็นเอ

เก็บตัวอย่างเลือดสุกรพื้นเมืองจากพื้นที่ 5 อำเภอ จำนวนในแต่ละอำเภอแสดงดังตารางที่ 3.1 และสุกรสายพันธุ์แท้เลี้ยงเพื่อการค้าจำนวน 2 ตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบ

ตารางที่ 1 จำนวนสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา ที่ใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา แยกเป็นรายอำเภอ

อำเภอ	จำนวน (ตัว)
เมือง	4
จะนะ	6
คลองหอยโข่ง	4
รัตภูมิ	4
กระแสสินธุ์	3
<b>รวม</b>	<b>21</b>

#### 3.3 วิธีการเก็บตัวอย่างเลือด

เจาะเลือดจาก Jugular vein บริเวณลำคอของสุกรจำนวนตัวละ 5 ml ใส่ในหลอดแก้วที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด EDTA แล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  จนกว่าจะนำออกมาสกัดดีเอ็นเอ ในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางการแพทย์

#### 3.4 การสกัดดีเอ็นเอจากเลือด

นำเลือดของสุกรที่ได้ไปสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด Genomic DNA Extraction Kit ตามขั้นตอนและกระบวนการในคู่มือการสกัดดีเอ็นเอของชุดสกัด

#### 3.5 การเพิ่มขึ้นส่วนของ DNA ด้วยเทคนิค PCR

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเลือดสุกรพื้นเมือง มาทำการเพิ่มชิ้นส่วนของ DNA ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ในส่วนของลำดับนิวคลีโอไทด์ในไมโทคอนเดรียตำแหน่งยีน cytochrome b โดยใช้คู่ primer และวิธีการตามรายงานของ Watanabe et al. (1999) โดยได้ทำการเพิ่มลำดับดีเอ็นเอของไพรเมอร์ M13 เพื่อความสะดวกในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ จึงทำให้ไพรเมอร์มีลำดับดังนี้

Cytochrome b-F 5'-CACGACGTTGAAAACGACGAATTCATCGTTGTCATTCAACTACA -3'

Cytochrome b-R 5'-GGATAACAATTTACACAGGGAATTCCTCCTTCTCTGGTTTACAAG-3'

ส่วนประกอบของการทำปฏิกิริยา PCR ประกอบด้วย 100 ng/ $\mu$ L DNA template จำนวน 1 ไมโครลิตร, 10  $\mu$ M dNTP mix จำนวน 400  $\mu$ M, 25 mM MgCl<sub>2</sub> จำนวน 2 mM, ไพรเมอร์ forward และ reverse อย่างละ 0.4 ไมโครโมล และ 5 U/ $\mu$ L Taq DNA polymerase จำนวน 0.1 ยูนิต ในปริมาตรรวมสุทธิ 25 ไมโครลิตร โดยตั้งอุณหภูมิและเวลาในการทำ PCR ตามขั้นตอน ดังนี้ (1) initial denaturation 94 °C เวลา 10 นาที (2) denaturation 94 °C เวลา 30 วินาที, annealing 54 °C เวลา 30 วินาที และ extension 72 °C เวลา 45 วินาที จำนวน 5 รอบ (3) final extension 72 °C เวลา 5 นาที ทำการแยกขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR บนเจลอะกาโรส 1% ย้อมด้วย ethidium bromide แล้วตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวี

### 3.6 การแยกดีเอ็นเอเป้าหมาย

ดีเอ็นเอเป้าหมายที่ได้จากข้อ 3.5 นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธีการและขั้นตอนของชุดสกัด PCR DNA Fragment Extraction kit

### 3.7 วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA Sequencing)

นำดีเอ็นเอเป้าหมายที่ถูกทำให้บริสุทธิ์แล้วจากข้อ 3.6 ส่งวิเคราะห์ตรวจหาลำดับ นิวคลีโอไทด์ (DNA Sequencing)

### 3.8 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์

นำผลที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA Sequencing) มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีในฐานข้อมูลของสุกรที่เก็บรวบรวมไว้จาก Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ด้วยวิธีการ BLAST (The Basic Local Alignment Search Tool)

### 3.9 การวิเคราะห์วิวัฒนาการและสร้างแผนภูมิทางวิวัฒนาการ

ใช้โปรแกรมทางชีวสารสนเทศ MEGA เวอร์ชัน 6 ทำการวิเคราะห์วิวัฒนาการ เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลด้วยวิธีการ Clustal W จากนั้นวิเคราะห์ความหลากหลายโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ด้วย Kimura 2-parameter หรือ K2P model (Kimura, 1980) และวิเคราะห์แผนภูมิทางวิวัฒนาการด้วยวิธีการ Neighbour-Joining (NJ) ที่มีค่า bootstrap 1000



## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 1. การศึกษาพันธุ์กรรมจากลักษณะรูปร่างพื้นฐานภายนอก

##### 1.1 สีสัตว์

จากตัวอย่างสุกรพื้นเมืองที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางพันธุศาสตร์จำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาส่วนใหญ่จำนวน 9 ตัว คิดเป็น 42.86 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะสีลำตัวส่วนใหญ่สีดำมีสีขาวแซมบริเวณเท้าหรือขา ได้ท้อง หน้าผาก และพู่หาง จุดขาวแซมนี้อาจมีครบทุกประการดังกล่าวหรือมีเป็นบางประการก็ได้ (ภาพที่1) ลักษณะที่รองลงมาสุกรขนสีน้ำตาล แดงคอสีดำ จำนวน 4 ตัว คิดเป็น 19.04 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่2) สุกรที่มีสีน้ำตาลมีสีขาวแซมบริเวณเท้าหรือขา ได้ท้อง หน้าผากจำนวน 3 ตัว คิดเป็น 14.28 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่3) สุกรที่ลักษณะสีดำน้อยจำนวน 3 ตัว คิดเป็น 14.29 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่4) และตัวอย่างที่เหลือเป็นส่วนน้อยที่มีลักษณะสีลำตัวน้ำตาลแดงจำนวน 2 ตัว คิดเป็น 9.52 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 2)



ภาพที่ 5 สุกรลำตัวส่วนใหญ่สีดำมีสีขาวแซม



ภาพที่ 6 สุกรลำตัวสีน้ำตาล แดงคอสีดำ



ภาพที่ 7 สุกรลำตัวส่วนใหญ่สีน้ำตาลมีสีขาวแซม



ภาพที่ 8 สุกรลำตัวสีดำน้อย

ตารางที่ 2 สีขนของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

อำเภอ	หมายเลข	สีขน	จำนวน (ตัว)
เมือง	NP001	ลำตัวดำล้วน	1
	NP002	ลำตัวดำ เท้าขาว ขาขาว หน้าขาว	1
	NP003	ลำตัวดำ ขนหางสีน้ำตาล	1
	NP004	ลำตัวน้ำตาล ขนเท้าดำ	1
จะนะ	NP005, NP006	ลำตัวดำ ท้องขาว เท้าขาว	2
	NP007	ลำตัวดำ หน้าขาว	1
	NP008	ลำตัวน้ำตาล	1
	NP009	ลำตัวน้ำตาล หน้าดำ แฝงคอดำ	1
	NP010	ลำตัวดำล้วน	1
คลองหอยโข่ง	NP011, NP012	ลำตัวน้ำตาล แฝงคอดำ	2
	NP013, NP014	ลำตัวดำล้วน	2
รัตภูมิ	NP015	ลำตัวน้ำตาล แฝงคอดำ	1
	NP016	ลำตัวดำ เท้าขาว	1
	NP017	ลำตัวน้ำตาลแดง ท้องขาว เท้าขาว	1
	NP018	ลำตัวน้ำตาล ท้องขาว เท้าขาว	1
กระแสสินธุ์	NP019, NP020	ลำตัวดำ ท้องขาว	2
	NP021	ลำตัวดำ ท้องขาว เท้าขาว	1

## 2. ลักษณะใบหู

จากตัวอย่างสุกรพื้นเมืองที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลามีลักษณะใบหูตั้งจำนวน 19 ตัว คิดเป็น 90.48 เปอร์เซ็นต์ และลักษณะมีใบหูปรกจำนวน 2 ตัว คิดเป็น 9.52 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ลักษณะใบหูของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

อำเภอ	ใบหูปรก (ตัว)	ใบหูตั้ง (ตัว)
เมือง	2	4
จะนะ	-	6
คลองหอยโข่ง	-	3
รัตภูมิ	-	4
กระแสสินธุ์	-	3
<b>เปอร์เซ็นต์</b>	<b>9.52</b>	<b>90.48</b>

### 3. ขนาดและลักษณะใบหูกว้าง

จากตัวอย่างสุกรพื้นเมืองที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาส่วนใหญ่มีขนาดและลักษณะใบหูกว้างอยู่ในช่วง 8 - 17 เซนติเมตร (ตารางที่ 4 )

ตารางที่ 4 ขนาดและลักษณะใบหูกว้างของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

จำนวน(ตัว)	ความกว้างสูงสุด (ซม.)	ความกว้างต่ำสุด (ซม.)
4	17	9
6	11	8
4	10	8
4	12	8
3	12	8

### 4. ขนาดและลักษณะใบหูยาว

จากตัวอย่างสุกรพื้นเมืองที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาส่วนใหญ่มีขนาดและลักษณะใบหูยาวอยู่ในช่วง 8 - 22 เซนติเมตร (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ขนาดและลักษณะใบหูยาวของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

จำนวน(ตัว)	ความกว้างสูงสุด (ซม.)	ความกว้างต่ำสุด (ซม.)
4	22	9
6	12	8
4	12	9
4	12	9
3	13	9

## 5. ความยาวหน้า

จากตัวอย่างสุกรพื้นเมืองที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาส่วนใหญ่มีความยาวหน้าโดยวัดจากสันกะโหลกถึงปลายจมูกอยู่ในช่วง 18 - 35 เซนติเมตร (ตารางที่ 6) ซึ่งจากการสังเกตพบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลามีลักษณะเป็นสองแบบที่ชัดเจนคือ แบบหน้าสั้น และแบบหน้ายาว

ตารางที่ 6 ลักษณะของความยาวหน้าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

จำนวน(ตัว)	ความกว้างสูงสุด (ซม.)	ความกว้างต่ำสุด (ซม.)
4	35	18
6	24	19
4	27	22
4	26	21
3	24	22

## 6. ความยาวลำตัว

จากตัวอย่างสุกรที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลาที่มีความยาวลำตัวที่วัดจากสันกะโหลกถึงโคนหางอยู่ในช่วง 55 - 170 เซนติเมตร (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ลักษณะของความยาวลำตัวสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

จำนวน(ตัว)	ความกว้างสูงสุด (ซม.)	ความกว้างต่ำสุด (ซม.)
4	170	98
6	90	55
4	86	72
4	106	56
3	94	61

### 7. ความยาวรอบอก

จากตัวอย่างสุกรที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลามีความยาวรอบอกอยู่ในช่วง 44 – 137 เซนติเมตร (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ลักษณะของความยาวรอบอกสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

จำนวน(ตัว)	ความกว้างสูงสุด (ซม.)	ความกว้างต่ำสุด (ซม.)
4	137	101
6	82	55
4	61	44
4	90	59
3	82	56

### 8. ความสูงที่หัวไหล่

จากตัวอย่างสุกรที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลามีความสูงที่หัวไหล่อยู่ในช่วง 42 – 68 เซนติเมตร (ตารางที่ 9 )

ตารางที่ 9 ลักษณะของความยาวที่หัวไหล่สุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

จำนวน(ตัว)	ความกว้างสูงสุด (ซม.)	ความกว้างต่ำสุด (ซม.)
4	68	46
6	50	35
4	57	54
4	60	43
3	55	42

### 9. จำนวนเต้านม

จากตัวอย่างสุกรที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลามีจำนวนเต้านมอยู่ในช่วง 12 – 14 เต้า (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 จำนวนเต้านมของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

อำเภอ	จำนวน(ตัว)	สูงสุด (เต้า)	ต่ำสุด (เต้า)
เมือง	4	12	12
จะนะ	6	12	12
คลองหอยโข่ง	4	14	12
รัตภูมิ	4	12	12
กระแสสินธุ์	3	12	12

## 10. ลักษณะท้อง

จากตัวอย่างสุกรที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลามีลักษณะท้องธรรมดาจำนวน 13 ตัว คิดเป็น 61.90 เปอร์เซ็นต์ และมีลักษณะท้องย้อยจำนวน 8 ตัว คิดเป็น 38.10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ลักษณะท้องของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

อำเภอ	ลักษณะท้องย้อย (ตัว)	ลักษณะท้องธรรมดา (ตัว)
เมือง	-	4
จะนะ	4	2
คลองหอยโข่ง	-	3
รัตภูมิ	1	3
กระแสดินธุ์	3	-
เปอร์เซ็นต์	38.10	61.90

## 11. น้ำหนักตัว

จากตัวอย่างสุกรที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลามีน้ำหนักอยู่ในช่วง 32 - 175 กิโลกรัม (ตารางที่ 12 )

ตารางที่ 12 น้ำหนักตัวของสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

อำเภอ	จำนวน(ตัว)	สูงสุด (กก.)	ต่ำสุด (กก.)	เฉลี่ย (กก.)
เมือง	4	175	87	65.5
จะนะ	6	60	32	15.3
คลองหอยโข่ง	4	83	67	37.5
รัตภูมิ	4	70	36	26.5
กระแสดินธุ์	3	60	62	30.6

## 2. การเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ cytochrome b กับฐานข้อมูล

ตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน cytochrome b ผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีในฐานข้อมูลโดยใช้โปรแกรม BLAST จากฐานข้อมูล GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

การเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีในฐานข้อมูล GenBank พบว่าเป็นลักษณะของสุกรพื้นเมือง (*Sus scrofa*) ทั้งหมด 21 ตัว โดยมีจำนวน 17 ตัว มีความคล้ายคลึงกับสุกรพันธุ์ Jeuma pig (97%) ส่วนอีกจำนวน 4 ตัว มีความคล้ายคลึงกับสุกรพันธุ์ Guanling (99%)

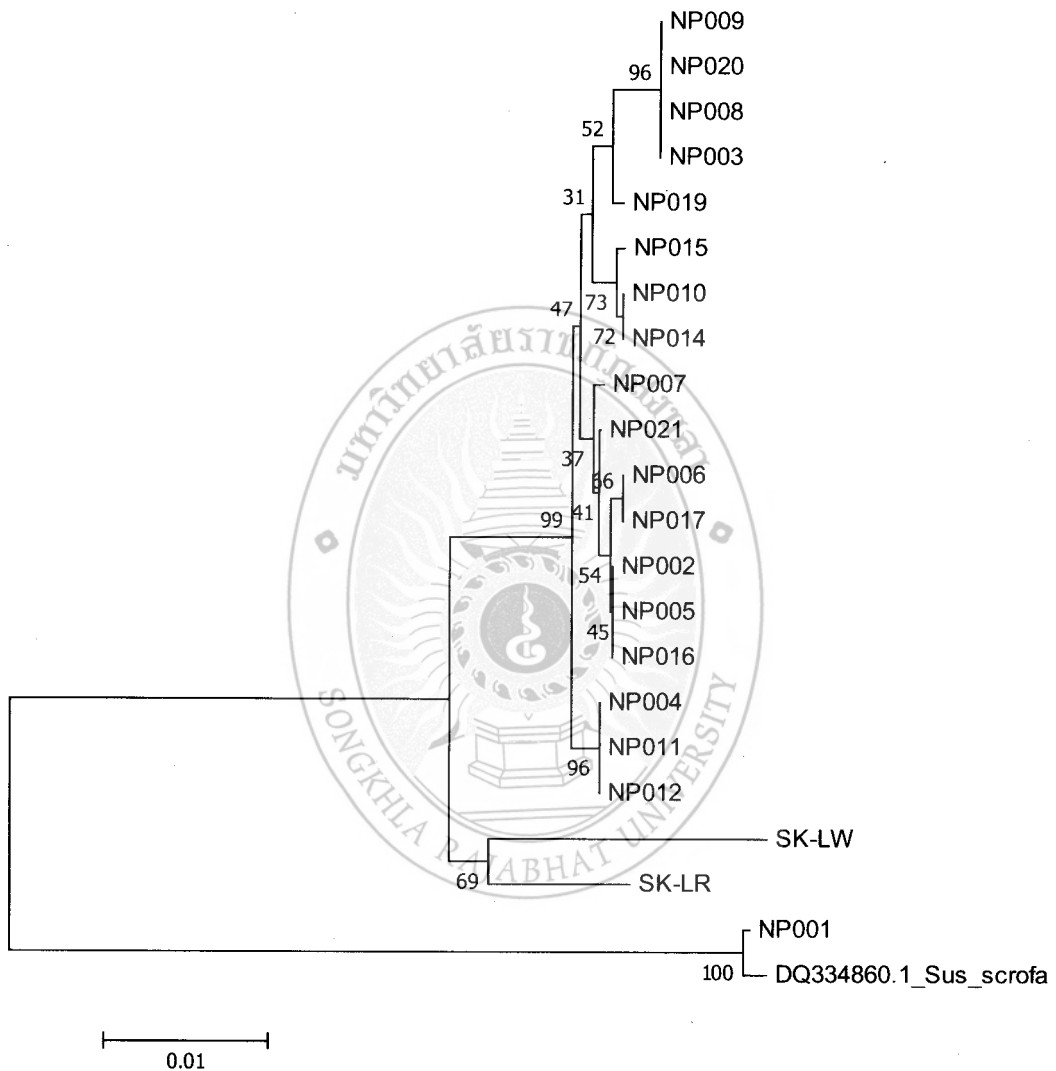
**ตารางที่ 13** ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูล GenBank

หมายเลข	แหล่งที่พบ	ความคล้ายคลึง	
		GenBank (BLAST)	Accession Number
NP001	เมือง	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP002	เมือง	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP003	เมือง	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP004	เมือง	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP005	จະนะ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP006	จະนะ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP007	จະนะ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP008	จະนะ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP009	จະนะ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP010	จະนะ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP011	คลองหอยโข่ง	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP012	คลองหอยโข่ง	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP013	คลองหอยโข่ง	incomplete	incomplete
NP014	คลองหอยโข่ง	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP015	รัตภูมิ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP016	รัตภูมิ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP017	รัตภูมิ	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP018	รัตภูมิ	incomplete	incomplete
NP019	กระเสสินธุ์	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP020	กระเสสินธุ์	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1
NP021	กระเสสินธุ์	<i>Sus scrofa</i> (100%)	GU135678.1

**3. ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการทางพันธุกรรมของสุกรพันธุ์พื้นเมืองด้วยยีน cytochrome b**

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของสุกรพื้นเมืองกับฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม Clustal W วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยการสร้าง Phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม MEGA 6.0 ใช้วิธีการ Neighbour-Joining (NJ) ที่มีค่า bootstrap จำนวน 1000 รอบ วิเคราะห์ความหลากหลายโดยใช้วิธี Kimura 2-parameter หรือ K2P model (Kimura, 1980) พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มของสุกรพื้นเมืองจำนวน 19 ตัวอย่าง (2 ตัวอย่างข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ไม่สมบูรณ์) ได้ออกเป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 สุกรพื้นเมืองหมายเลข NP009, NP020, NP008, NP003, NP019, NP015, NP010 และ NP014 กลุ่มที่ 2 มีความสัมพันธ์อยู่ในกลุ่มเดียวกันได้แก่สุกรพื้นเมืองหมายเลข NP007, NP021, NP006, NP017, NP002, NP005 และ NP016 กลุ่มที่ 3 มีความสัมพันธ์อยู่ในกลุ่มเดียวกันได้แก่สุกรพื้นเมืองหมายเลข NP004, NP011 และ NP012 ในขณะที่สุกรพื้นเมืองหมายเลข NP001 อยู่ในกลุ่มที่ 4 โดยใช้ข้อมูล

เปรียบเทียบเป็นสุกรสายพันธุ์แลนด์เรซ (SK-LR) สุกรพันธุ์ลาร์จไวท์ (SK-LW) และสุกรอ้างอิงจากฐานข้อมูล GenBank ที่ accession number DQ334860.1 (*Sus scrofa*) (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 แผนภูมิต้นไม้พันธุกรรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองโดยใช้วิธีการ Neighbour-Joining (NJ) ที่มีค่า bootstrap จำนวน 1000 รอบ วิเคราะห์ความหลากหลายโดยใช้วิธี Kimura 2-parameter หรือ K2P model (Kimura, 1980)



## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากตัวอย่างสุกรที่ศึกษาจำนวน 21 ตัว พบว่าสุกรทุกตัวมีสีดำเป็นพื้นและอาจมีสีขาวแซมบริเวณพื้นที่ท้อง หน้าผาก ขาเท้า และ ปลายหาง เป็นบางตำแหน่งของร่างกายพบมากที่สุด ลักษณะที่รองลงมาสีลำตัวดำ ขนน้ำตาล ส่วนลักษณะสีน้ำตาลแซมบริเวณพื้นที่ท้อง หน้าผาก เท้า และ ปลายหาง มีจำนวนเท่ากับลักษณะที่มีสีดำล้วน และมีน้ำตาลแดงพบน้อยมาก ตัวอย่างสุกรที่ศึกษาส่วนมากมีลักษณะหูตั้ง ใบหูกว้างอยู่ใน ช่วง 8 – 17 เซนติเมตร และใบหูยาวอยู่ในช่วง 8 – 22 เซนติเมตร โดยส่วนใหญ่มีความยาวหน้าอยู่ในช่วง 18 – 35 เซนติเมตร มีความสูงที่หัวไหล่อยู่ในช่วง 42 – 68 เซนติเมตร มีความยาวลำตัวอยู่ในช่วง 55 – 170 เซนติเมตร และความยาวรอบอกอยู่ในช่วง 44 – 137 เซนติเมตร สุกรที่ศึกษามีจำนวนเต้านมอยู่ในช่วง 10 – 14 เต้า มีน้ำหนักโดยประมาณอยู่ในช่วง 32 – 175 กิโลกรัม และมีเพศผู้ 1 ตัว เพศเมีย 20 ตัว

การใช้ยีน cytochrome b สามารถนำมาในการจำแนกสุกรพันธุ์พื้นเมืองได้ออกเป็น 4 กลุ่ม ซึ่งพบว่าสอดคล้องกับลักษณะทางภายนอกที่จำแนกสุกรพันธุ์พื้นเมืองได้ออกเป็น 4 กลุ่มตามลักษณะสีที่แสดงออก กลุ่มที่ 1 สุกรพื้นเมืองหมายเลข NP009, NP020, NP008, NP003, NP019, NP015, NP010 และ NP014 เป็นกลุ่มสุกรที่มีสีลำตัวสีดำล้วน มีบางส่วนเป็นสีน้ำตาล หรือลำตัวสีน้ำตาลล้วน มีบางส่วนเป็นสีดำ และลำตัวสีดำ ท้องสีขาว กลุ่มที่ 2 สุกรพื้นเมืองหมายเลข NP007, NP021, NP006, NP017, NP002, NP005 และ NP016 เป็นกลุ่มสุกรที่มีสีลำตัวสีดำหรือสีน้ำตาลแดง และมีสีขาวในส่วนหน้า ส่วนท้อง หรือข้อเท้าอยู่ด้วย กลุ่มที่ 3 สุกรพื้นเมืองหมายเลข NP004, NP011 และ NP012 เป็นกลุ่มสุกรที่มีลำตัวสีน้ำตาล มีแผงคอและข้อเท้าสีดำ ในขณะที่สุกรพื้นเมืองหมายเลข NP001 เป็นสุกรกลุ่มที่มีลำตัวสีดำล้วน แต่บางกลุ่มอาจไม่สามารถแบ่งสุกรออกเป็นกลุ่มตามลักษณะสีได้อย่างชัดเจนเช่นกลุ่มที่ 1

อย่างไรก็ตามการใช้ยีน cytochrome b มาใช้ในการจำแนกสุกรพันธุ์พื้นเมือง ควรมีการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำเนื่องจากบางครั้งผลที่ได้มาอาจทำให้ไม่สามารถจำแนกลักษณะสุกรพันธุ์พื้นเมืองออกจากกันได้ชัดเจนนัก นิชนันท์ และคณะ (2551) ได้แยกความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมือง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนยีน cytochrome b ออกเป็น 9 haplotype จากความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ 43 ตำแหน่ง โดยไม่สามารถจำแนกลักษณะสุกรพันธุ์พื้นเมืองออกจากกันได้

## เอกสารอ้างอิง

- ครวญ บัวศิริ และ มงคล เทพรัตน์, (2547) “การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสุกรพื้นเมืองที่เป็นอาชีพเสริมของเกษตรกรในอำเภอสะบ้าย้อย จังหวัดสงขลา” รายงานการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยี: 52 น.
- นิชนันท์ ชูเกิด,พงษ์ชาญ ณ ลำปาง และ สุรินทร์ บุญอนันตสนสาร, (2551) “การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมือง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนยีน cytochrome b,” แก่นเกษตร 36: 247-253.
- ปริญนันท์ แสนโกชน์, (2549) “เซลล์และองค์ประกอบของเซลล์”  
<http://student.nu.ac.th/nokcy/lesson1.htm>.
- ลัดดา เอกสมทราเมษฐ์ (2547) “ชีววิทยาของเซลล์” สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ : 225 น.
- Alves, E., Ovilo, C., Rodri'guez, C. and Sili'o, L. (2003) Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relationships among Iberian pig and other domestic and wild pig population, *Animal Genetic*. 34: 319-324.
- Arnason, U. and Jank A. (2002). Mitogenomic analyses of eutherian relationship *Cytogenet. Genome Research*. 96: 20-32.
- Arnason, U., Adegoke J.A., Bodin K., Born E.W., Esa Y.B., Gullberg A., Nilson M., Short R.V., Xu X.F. and Jank A. (2002). Mammalian mitogenomic relationship and the Root of the eutherian tree. *Proceedind of the National Academy of Science of the United Stage of America*. 99: 8151-8156
- Bidd, M.J. (1981). Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell*. 26: 167-180
- Charoensook, R., Knorr, C., Brenig, B. and Gatphayak, K. (2013). Thai pigs and cattle production, genetic diversity of livestock and strategies for preserving animal genetic resources. *Maejo Internationalof Science and Technology*.7(01): 113-132.
- Chaweewan, K., Duangjinda, M.and Klomtong, P. (2014). Genetic diversity of Thai indigenous pigs using microsatellite markers.*Proceedings of the 16th AAAP Animal Science Congress Vol. II* : 212-215.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotid  sequence. *Journal of Molecular Evolution*. 16: 111-120.
- Lin, C.S., Sun, Y.L., Liu, C.Y. Yang, P.C., Chang, L.C., Cheng, I.C. Mao, S.J. and Huang, M.C. (1999). Complete nucleotide sequence of pig (*Sus scrofa*) mitochondrial genome and dating evolutionary divergence within Artiodactyla. *Gene*. 236: 107-114

Rattanonchart, S. 1994. Present situation of Thai native pigs. Department of Animal Science, Chaing Mai University, Thailand. 23p.

Thomas, C. (2009). Plant barcode soon to become reality. *Science* 325: 526.

Watanobe, T.N., Okumura, N., Ishiguro, M., Nakano, A., Matsui, M. Sahara. And M. Komatsu (1999). Genetic relationship and distribution of Japanese wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) and Ryukyu wild boar (*Sus scrofa riukiuanus*) analysis by mitochondrial DNA. *Molecular Ecology*. 8:1509-1512.

Yang, S.L., Surintorn, B., Pongchan, N.L., Uthairat, N.N. and Shi, Z.H. (2012). Genetic variation and population structure of Thai indigenous pig populations based on microsatellite DNA markers. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11(4) 509-516



## ภาคผนวก

### 1. ผลการสกัดดีเอ็นเอ

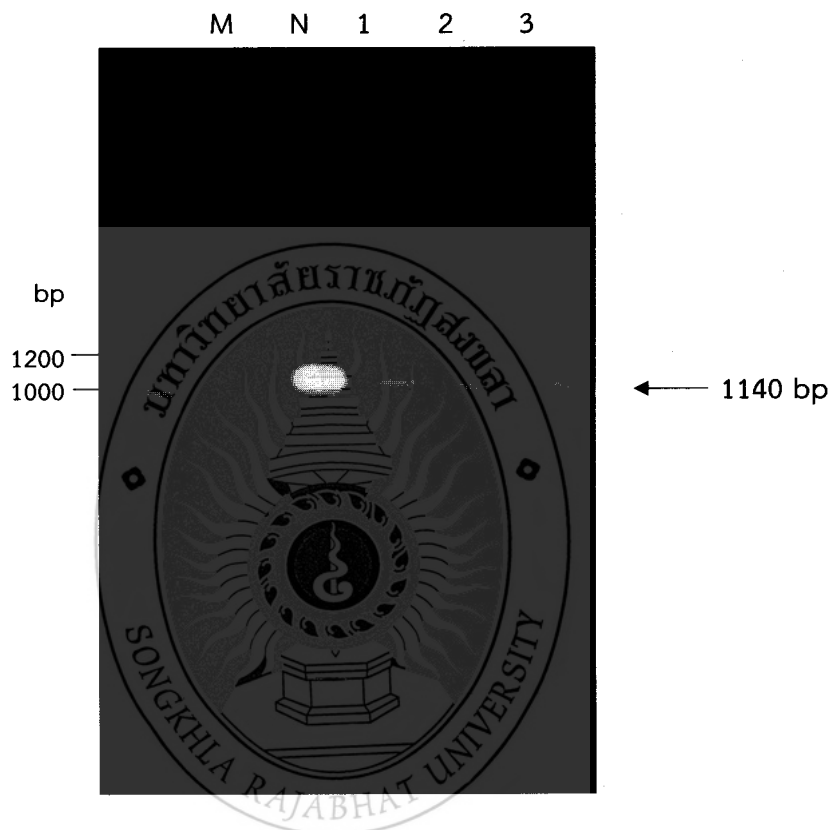
สกัดดีเอ็นเอจากเลือดสุกรพื้นเมืองตัวอย่าง โดยชุดสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด Genomic DNA Extraction Kit และนำมาตรวจสอบโดยใช้อะกาโรสเจล 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน พบว่าสามารถสกัดดีเอ็นเอออกมาได้ โดยจีโนมิกส์ดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดเดียว และมีความคมชัดดังลักษณะของแถบดีเอ็นเอ (ภาพผนวกที่ 1)



ภาพผนวกที่ 1 แสดงแถบดีเอ็นเอที่สกัดแล้วนำมาตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส บน 1% agarose ใน TBE buffer เป็นเวลา 60 นาที ที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ โดยหมายเลข 1 เป็นแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder

## 2. ผลการเพิ่มขึ้นส่วนของดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ส่วนของตำแหน่งยีน cytochrome b

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเลือดของสุกรพื้นเมืองที่เลี้ยงบริเวณมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ในตำแหน่งจำเพาะบริเวณยีน cytochrome b โดยใช้คู่ Primer และวิธีการตามรายงานของ Watanabe et al. (1999)



ภาพผนวกที่ 2 แสดงแถบดีเอ็นเอผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มปริมาณของส่วน cytochrome b แล้วนำมาตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส บน 1% agarose ใน TBE buffer เป็นเวลา 60 นาที ที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ โดยที่ M เป็นแถบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 bp plus ในขณะที่ N คือ Negative Control และหมายเลข 1-4 ดีเอ็นเอผลผลิตที่ได้จากการทำเทคนิคพีซีอาร์

## ประวัติผู้วิจัย

### หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ-สกุล : นายอภิชาติ พันชุกกลาง  
: Mr.Apichart Punchukrang
2. เลขบัตรประจำตัวประชาชน : 3 7001 00186 41 4
3. ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ (พนักงานมหาวิทยาลัย)
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก : โปรแกรมวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง  
จังหวัดสงขลา 90000  
E-mail; [punchukrang@gmail.com](mailto:punchukrang@gmail.com)

### 5. ประวัติการศึกษา

ปีที่สำเร็จการศึกษา	คุณวุฒิ	มหาวิทยาลัย
2551	วท.ม. เทคโนโลยีชีวภาพทาง การเกษตร	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
2547	วท.บ. สัตวศาสตร์ (เกียรตินิยม อันดับ 2)	สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยา เขตพระนครศรีอยุธยา หันตรา

6. สาขาวิชาการที่เชี่ยวชาญ : Molecular genetics, Bioinformatic

### 7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

#### 7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย

#### 7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย

- การศึกษาเบื้องต้นของดีเอ็นเอบาร์โค้ดจากสุกรพื้นเมืองในจังหวัดสงขลา

#### 7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

Punchukrang, A. and C. Leelayuwat. (2552) Database analysis of MIC-E (PERB11.5), a ligand to NKG2D: Indication of a nucleotide deletion leading to a frame shift mutation and pseudogene. งานประชุมเนื่องในโอกาสการสถาปนาครบรอบ 30 ปี คณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Punchukrang, A., T. Thongaram, L. Eurwilaichitr and K. Srikijkasemwat. (2008). Genetic Diversity of Bacterial Population in Bovine Rumen. The 13th Animal Science Congress of the Asian - Australasian Association of Animal Production Societies. Hanoi-Vietnam September 22- 26, 2008.

Chanathip Thammakarn, Apichart Puchukrang, Kanya Jirajoenrat and Kanokrat Srikijkasemwat. Sex Identification of Some Psittacine Birds by Polymerase Chain Reaction. Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine . Vol 2. No 2. July – December 2007 (p. 30-34)

ปรีชา รอดอิม, วาสนา มานิช, สุนันท์ กลิ่นประทุม, อภิชาติ พันชูกลาง และพรรณปพร กองแก้ว. คุณภาพของ ต้นข้าวโพดฝักอ่อนหมักและการยอมรับของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมชุมชนหุบมะกล่ำ. “รวมบทความวิจัย” การประชุมเสนอผลงานวิจัยของเครือข่ายบริหารการวิจัยภาคกลางตอนล่างประจำปี พ.ศ. 2551. หน้า 139-144.

#### 7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ





**ผู้ร่วมวิจัย**

1. ชื่อ-สกุล : นายรัฐจวน อิศรรักษ์  
: Mr.Runjuan Itsararuk
2. เลขบัตรประจำตัวประชาชน : 3 3009 00195 25 0
3. ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ (พนักงานมหาวิทยาลัย)
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก

โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา  
ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000 โทรศัพท์ 074-321425 โทรสาร 074-336964  
E-mail; Runjuan\_it@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา : สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต (สพ.บ.)  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2546
6. สาขาวิชาการที่เชี่ยวชาญ : สัตวแพทย์ และการผสมเทียม
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

**7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย**

**7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย**

**7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว**

- สุรศักดิ์ คชภักดี, โกเมนทร์ ศิริบุพงค์, ประเสริฐ ศรีสมโภชน์, อนุชิต สุนทรพิธ และรัฐจวน อิศรรักษ์. 2550. ลักษณะภายนอกที่สำคัญของโคชนภาคใต้. การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวรครั้งที่ 6 “เกษตรปลอดภัย ห่วงใยสิ่งแวดล้อม พร้อมใจถวายในหลวง”. 20-21 มิถุนายน 2550. คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร; หน้า 11-12
- รัฐจวน อิศรรักษ์, ณรงค์ ทองช่วย, สายทิพย์ หึงดำขาว, โนราลัย หะยีลาเต๊ะ และสุรศักดิ์ คชภักดี. 2550. ลักษณะภายนอกที่สำคัญของโคพื้นเมืองภาคใต้ในจังหวัดพัทลุง. การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวรครั้งที่ 6 “เกษตรปลอดภัย ห่วงใยสิ่งแวดล้อม พร้อมใจถวายในหลวง”. 20-21 มิถุนายน 2550. คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร; หน้า 13-14
- อุไรวรรณ ทองแกมแก้ว, ไพบุลย์ ประโมจณีย์, สุศักดิ์ คชภักดี และรัฐจวน อิศรรักษ์. 2551. โครงการชุมชนร่วมสร้างในเขตปฏิรูปที่ดิน: แนวทางการปลูกพืชร่วมยางพารา. การประชุมทางวิชาการและนำเสนอผลงาน “วิกฤตเกษตรและอาหารสู่กระบวนการวิจัยเพื่อพัฒนาการเกษตรในภาคใต้” งานทักษิณวิชาการ งานเกษตรแฟร์ ครั้งที่ 4 16-20 สิงหาคม 2551. มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง; 27-36

636-A22  
๐๗๖๙



รัฐจวน อิศรรักษ์, สุรศักดิ์ คชภักดี และธีรพล อาจไพรินทร์. 2551. อิทธิพลของปุยมูลโคและปุ๋ยยูเรียต่อผลผลิต และส่วนประกอบทางเคมีของหญ้าหว่ายข้อ. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลวิชาการ ครั้งที่ 1 “ถ่ายทอดงานวิจัยสู่สังคมเพื่อการพัฒนาอย่างยั่งยืน” ระหว่างวันที่ 27-29 สิงหาคม 2551. มหาวิทยาลัยราชมงคลศรีวิชัย; 668-677

อนันตเดช แยมหอม, วรพจน์ เหล่าสิงห์, ศุภลักษณ์ รามณีย์, อาแอเสาะ อับดุลเลาะ, รัฐจวน อิศรรักษ์ และสุรศักดิ์ คชภักดี. 2551. ลักษณะทั่วไปและสภาพการเลี้ยงโคพื้นเมืองภาคใต้ในตำบลแหลมโตนด. นำเสนอในงานการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัย. มหาวิทยาลัยทักษิณ

ตรีลักษณ์ เครือสุวรรณ, พงศ์วัฒนา อภิชาติบุตร, อนุวัตร สุวรรณมณี, รัฐจวน อิศรรักษ์ และสุรศักดิ์ คชภักดี. 2551. ลักษณะทั่วไปและสภาพการเลี้ยงโคพื้นเมืองภาคใต้เพศผู้ในอำเภอป่าพะยอม. นำเสนอในงานการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัย. มหาวิทยาลัยทักษิณ

#### 7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ

