

หยาง เซิง หลิน : ความหลากหลายทางพันธุกรรมของสุกรพื้นเมืองไทย สุกรป่า และสุกร
จีนพันธุ์เซียนเปแบลค โดยการใช้ข้อมูลไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ และการเปรียบเทียบ
ลำดับเบสในส่วนของยีน cytochrome b. (GENETIC DIVERSITY OF THAI INDIGENOUS
PIGS, WILD BOARS AND CHINESE QIANBEI BLACK PIGS BASED ON
MICROSATELLITE DNA AND SEQUENCE POLYMORPHISM OF MITOCHONDRIA
DNA *CYTOCHROME* b GENE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ณ
ลำปาง, 162 หน้า.

จำนวนสุกรพันธุ์พื้นเมืองไทยลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่เมื่อเริ่มมีการนำสุกรพันธุ์
ต่างประเทศเข้ามาเพื่อปรับปรุงพันธุ์สุกรในช่วง ค.ศ. 1960 ครอบคลุมถึงปัจจุบันเป็นที่ทราบกันน้อย
เกี่ยวกับความผันแปรทางพันธุกรรมทั้งในอดีตและปัจจุบันของสุกรพื้นเมืองไทยที่มีฐานการศึกษา
ในระดับโมเลกุล ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จึงเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม
ระหว่างสุกรพื้นเมืองไทยสองประชากร (สุกรไทยภาคใต้ (ST) และสุกรไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
(NT)) สุกรป่า (WB) และสุกรจีนพันธุ์เซียนเปแบลค (CQB) โดยใช้ฐานการศึกษาตัวบ่งชี้
ไมโครแซทเทลไลท์ และเพื่อศึกษาเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนไซโตโครมบี ในระหว่างสุกรทั้งสี่
ประชากรนี้ และได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสุกรทั้งสี่ประชากรนี้กับสุกรพันธุ์
ต่างประเทศโดยการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนไซโตโครมบีด้วย ในเบื้องต้นได้ทำการทดลอง
เพื่อหาเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการนำมาสกัดจีโนมดีเอ็นเอ (genomic DNA) คือ จากตัวอย่างเลือด
และปมรากขน สำหรับนำมาใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ของไมโครแซทเทลไลท์ที่ตำแหน่ง S0225 และ
S0227 และของยีนไซโตโครม บีในไมโทคอนเดรีย ผลการทดลองชี้ว่าดีเอ็นเอที่ได้จากตัวอย่างเลือด
และปมรากขนสามารถใช้เป็นเทมเพลตสำหรับการทำพีซีอาร์ไมโครแซทเทลไลท์ และยีนไซโต
โครมบี ได้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงจะใช้การเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากปมรากขน เพราะเป็นวิธีการที่
ง่ายและไม่ทำให้สุกรบาดเจ็บ จากนั้นได้ทำการวิจัยหลักเพื่อประเมินค่าความผันแปรทางพันธุกรรม
ของสุกรพันธุ์ไทยทั้งสองประชากรโดยการใช้ไมโครแซทเทลไลท์ไพรมอร์จำนวน 12 ไพรมอร์
ผลการศึกษาพบว่าประชากรของสุกรไทยภาคใต้และสุกรไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือแสดงความ
เป็นเฮตเตอโรไซโกตเฉลี่ย (HE = 0.86 และ 0.84) และค่าพีไอซี (PIC; Polymorphism Information
Content) (0.82 และ 0.81) ซึ่งสูงกว่าสุกรพันธุ์ยุโรปและสุกรพันธุ์จีนบางพันธุ์ และพบว่าประชากร
ที่ศึกษาทั้งสี่ประชากรอยู่ในสมดุคลัสเตอร์ดี-วายเบิร์ก การวิเคราะห์สายสัมพันธ์ UPGMA ที่อาศัยฐาน
ระยะห่างทางพันธุกรรมตามมาตรฐาน Nei's D_A แสดงว่าสุกรพันธุ์จีนและสุกรพันธุ์ไทยทั้งสอง

ประชากรรวมกันอยู่ในสาขาเดียวกัน โดยมีค่า bootstrap 100% แต่สุกรป่ารวมอยู่ในอีกสาขาหนึ่ง จึงอนุมานว่าสุกรพื้นเมืองไทยมีจุดกำเนิดเดียวกันกับสุกรในประเทศจีนตอนใต้และตะวันตกเฉียงใต้ การศึกษาอีกประการหนึ่งเพื่อเปรียบเทียบลำดับเบสของดีเอ็นเอของยีน cytochrome b ของสุกรไทยภาคใต้ สุกรจีนพันธุ์เซียนเปแบลค และสุกรป่า ผลการศึกษาพบ ความผันแปรของนิวคลีโอไทด์จำนวน 8 ตำแหน่ง สามารถแยกความแตกต่างของแฮโปรไทป์ได้ 5 แบบ โดยพบ แฮโปรไทป์ 1 แบบ (HCS) ในประชากรสุกรไทยภาคใต้ พบแฮโปรไทป์ 3 แบบ (HC1, HC2, และ HCS) ในประชากรสุกรจีนพันธุ์เซียนเปแบลค และแฮโปรไทป์ 2 แบบในประชากรสุกรป่า ซึ่งจะเห็นได้ว่าสุกรจากภาคใต้มีแฮโปรไทป์ 1 แบบ (HCS) ตรงกับสุกรจีนพันธุ์เซียนเปแบลค และการวิเคราะห์ทางไฟโลเจเนติกแสดงว่า สุกรไทยภาคใต้มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับสุกรจีนพันธุ์เซียนเปแบลค ซึ่งสอดคล้องกับการอนุมานที่ว่าสุกรพื้นเมืองไทยอาจมีจุดกำเนิดเดียวกันกับสุกรในประเทศจีนตอนใต้และตะวันตกเฉียงใต้ นอกจากนี้ได้มีการบ่งชี้ตำแหน่งของเอนไซม์ตัดจำเพาะบนแฮโปรไทป์ทั้ง 5 แบบ

การศึกษาเพื่อประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยการสร้างไฟโลเจเนติกทรีด้วยวิธี Neibor-Joining โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของลำดับเบสในยีน cytochrome b จำนวน 14 แฮโปรไทป์ที่เป็นตัวแทนของสุกรไทยภาคใต้ สุกรไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สุกรจีนพันธุ์เซียนเปแบลค และสุกรป่า และใช้ 15 แฮโปรไทป์ที่เป็นตัวแทนของสุกรพันธุ์ต่างประเทศที่มีข้อมูลอยู่ใน Genbank ผลการวิเคราะห์ชี้ว่าสุกรไทยจากภาคใต้และสุกรจีน 5 พันธุ์ (ได้แก่พันธุ์ จินหัว โรงซาง เหมยซาน เสียง เซียนเปแบลค) และสุกรไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือบางส่วนมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกันอย่างใกล้ชิด การศึกษารั้งนี้ชี้แนะว่าสุกรป่าในประเทศไทยอาจจะสามารถจัดอยู่ในกลุ่มพันธุกรรมเดียวกันกับสุกรป่าของเอเชียอาคเนย์อื่น ๆ ได้

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

ปีการศึกษา 2550

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

YANG SHENGLIN : GENETIC DIVERSITY OF THAI INDIGENOUS
PIGS, WILD BOARS AND CHINESE QIANBEI BLACK PIGS BASED ON
MICROSATELLITE DNA AND SEQUENCE POLYMORPHISM OF
MITOCHONDRIA DNA *CYTOCHROME* b GENE. THESIS ADVISOR :
ASSOC. PROF. PONGCHAN NA-LAM PANG, Ph.D., 162 PP.

DIVERSITY/INDIGENOUS PIGS/WILD BOARS/CHINESE QIANBEI BLACK
PIGS /mtDNA/POLYMORPHISM

The number of Thai indigenous pigs has been rapidly decreasing since exotic breeds were first introduced for breeding improvement in 1960s. Until now, little is known about previous or current genetic variations of indigenous Thai pigs based on molecular level studies. Therefore, the objectives of this study were to find genetic diversity among Southern Thai pigs (ST), Northeastern Thai pigs (NT), wild boars (WB), and Chinese Qianbei Black pigs (CQB), based on microsatellite markers, and to determine the sequences polymorphism of mtDNA cytochrome b gene (*Cyt b*) among these four pig populations. Phylogenetic relationships among these four pig populations based on sequences polymorphism of mtDNA *Cyt b* gene were also studied in this research. A preliminary experiment was conducted to compare different DNA sources from blood and hair root samples for PCR reaction based on microsatellite loci S0225 and S0227 and mtDNA *Cyt b* gene. Results indicted that DNA from all hair root samples could be used as templates for microsatellite PCR, and *Cyt b* gene PCR. Therefore, hair root sample can be used as the DNA source

because sampling method was simple and less harmful to pigs. The major research was to evaluate genetic variations of the two Thai indigenous pig populations using 12 microsatellite primers. NT and ST pig populations exhibited higher average expected heterozygosity ($H_E = 0.86$ and 0.84) and Polymorphism Information Content (PIC) values (0.82 and 0.81) than European pig breeds and some Chinese pig breeds. The four populations studied were in Hardy-Winberg equilibrium ($P < 0.05$). A UPGMA tree based on Nei's D_A standard genetic distances showed that CQB pigs and NT and ST pigs were clustered into the same branches with a 100% bootstrap support value, but WB were clustered into another branch. An inference was made that the Thai native pigs might have the same origin as pigs of south or southwest China. The other study was to examine the sequence polymorphism of ST pigs, CQB pigs and WB pigs and to evaluate the phylogenetic relationships based on *Cyt b* gene fragment; a total of the 5 haplotypes with 8 polymorphic nucleotide sites were detected. Only one haplotype (HCS) was found in ST pigs. Three different haplotypes (HC1, HC2 and HCS) were detected in CQB pigs. There were two haplotypes (HWB1 and HWB2) in WB pigs; furthermore, ST pigs shared the haplotype with the CQB pigs. Additionally, restriction enzyme sites were also identified on 5 haplotypes of *Cyt b* genes. Phylogenetic analysis showed that ST pigs had a close genetic relationship with CQB pigs, which was consistent with the inference that Thai native pigs might have the same origin as pigs of south or southwest China.

Phylogenetic trees were also constructed based on the Neighbor-Joining method using 14 haplotypes representing ST, NT, CQB, and WB pig breeds and 15 haplotypes representing exotic breeds from Genbank. Analytical results indicated that ST pigs and five Chinese domestic pig breeds (including, Jinhua, Rongchang,